

République Algérienne Démocratique Et Populaire



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE MOHAMED KHIDER BISKRA



FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET  
DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
Département des Sciences de la matière

**THESE**

Présentée par

**CHEBAKI Rachid**

En vue de l'obtention du diplôme de :

**DOCTORAT EN SCIENCES**

**Option : Chimie Organique**

**Intitulée**

**Synthèse, Caractérisation et étude  
computationnelle des composés hétérocycliques  
à intérêt biologique**

Devant la commission d'Examen

M <sup>me</sup> . HARKATI Dalal	Prof	Université de Biskra	Présidente
M. DIBI Ammar	Prof	Université de Batna 1	Examineur
M. BOUHLALEG Lazhar	MCA	Université de Batna 2	Examineur
M. BOUMEDJANE Youcef	Prof	Université de Biskra	Directeur de thèse



FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET  
DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
Département des Sciences de la matière

**THESE  
DE  
DOCTORAT EN SCIENCES**

Présentée par  
**CHEBAKI Rachid**

---

Synthèse, caractérisation et étude  
computationnelle des composés  
hétérocycliques à intérêt biologique

---

**Jury**

*Prof. D. HARKATI, Université de Biskra, Présidente.*

*Prof. M. DIBI Ammar, Université de Batna 1, Examineur*

*MCA. L. BOUHLALEG, Université de Batna 2, Examineur*

*Prof. Y. BOUMEDJANE, Université de Biskra, Directeur de thèse*

*2021/2022*

*A Lynda, Haroun et Yahya Amin*

*A l'âme de ma fille Maryam*

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie Moléculaire et Environnement (LCME) au sein de l'équipe de Chimie Informatique et Pharmaceutique. Département des sciences de la matière, de l'Université de Mohammed Khider Biskra sous la direction de Monsieur **Youcef BOUMEDJANE**.

Je tiens particulièrement à remercier mon directeur de travail, Monsieur **Youcef BOUMEDJANE**, Professeur à l'Université de Biskra, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, pour ses orientations, ses conseils, sa disponibilité, sa gentillesse et surtout sa confiance tout au long de ce travail. Je le remercie également pour tous les efforts qu'il a consentis sans cesse durant la rédaction de cette thèse.

Mes remerciements vont également à Madame le Professeur **Dalal HARKATI**, de l'Université de Biskra, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de cette thèse.

Je tiens particulièrement à exprimer mes remerciements le Professeur **Ammar DIBI**, de l'Université de Batna et Monsieur le Maître de conférences (A) **Lazhar BOUHLALEG**, de l'Université de Batna 1, pour avoir aimablement accepté de juger ce modeste travail.

Je remercie chaleureusement Lynda, ma femme, pour son soutien, sa compréhension et sa patience durant toutes ces années. Sans son aide, ce travail n'aurait pas pu être réalisé.

Je remercie mes collègues, professionnels ou non, pour leurs encouragements quant à la réalisation de ce travail.

Je ne saurais oublier toute ma famille, particulièrement mes parents, qui m'ont toujours soutenu et encouragé dans cette longue et pénible épreuve que représente ce travail et mes frères Mohammed, Karim, Walid, Sofiane et ma sœur Naama.

## TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES SCHEMAS

LISTE DES TABLEAUX

LISTES DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

**INTRODUCTION GENERALE**

**CHAPITRE I Rappel bibliographique sur les modes de formation des**

<b>hétérocycles .....</b>	<b>01</b>
I-1. Étude bibliographique sur le noyau pyrazolique.....	01
I-1.1. Caractère aromatique du pyrazole.....	01
I-1.2 Réactivité chimique du pyrazole.....	02
I-1.3 Réactions acido-basiques.....	03
I-1.4. Nomenclature des pyrazoles et le système conjugué.....	03
I-1.5. Les travaux antérieurs sur les méthodes de synthèse de cycle pyrazole.....	04
I-1.6. Propriétés biologiques des dérivés pyrazoliques.....	09
a. Activité antibactérienne et antifongique.....	10
b. Activité anticancéreuse.....	11
c. Activité anti-inflammatoire et analgésique.....	12
d. Activité antituberculeuse.....	13
e. Activité antivirale.....	13
f. Activité AntiFAAH.....	14
g. Activité anti-Alzheimer.....	15
h. Activité antidiabétique.....	15
i. Activité antipaludique.....	16
I-2. Étude bibliographique sur le noyau thiazole.....	17
I-2.1. Les méthodes de synthèse de cycle thiazole.....	17
a. La synthèse de Hantzsch.....	18
b. Synthèse de Gabriel.....	18
c. Synthèse de Cook-Heilborn.....	19
d. Synthèse de Tcherniac.....	20

I-2.2. Propriétés biologiques des dérivés thiazoliques.....	22
Conclusion.....	26
<b>CHAPITRE II Méthodes et techniques.....</b>	<b>27</b>
II.Introduction.....	28
II.1. Contexte théorique des techniques spectroscopiques expérimentales utilisées.....	28
II.1.1. Spectrophotométrie UV-vis.....	28
II.1.2. Spectrophotométrie Infra-rouge.....	30
II.1.3. Spectroscopie RMN.....	33
II.2. Les méthodes théoriques.....	38
II.2.1. Les méthodes quantiques .....	39
II.2.2. La mécanique moléculaire.....	40
II.2.3. La dynamique moléculaire.....	41
II-3. Moléculaire docking.....	42
II.3.1. Matériels et Méthodes.....	44
a. Banque de données sur les protéines (PDB).....	44
b. Mcule.....	44
c. AutoDockTools.....	44
d. Discovery Studio.....	45
II.3.2. Le docking rigide vers l'introduction de la flexibilité.....	46
II.3.2. Le Redocking .....	46
II.4. Activité biologique .....	47
II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante.....	47
II.4.2. L'activité antibactérienne.....	48
Conclusion .....	49
<b>CHAPITRE III RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>51</b>
III.1. Introduction.....	52
III.2. Synthèse des cycles pyrazoles substitués .....	53
III.2.1. Etude spectrale.....	56
a. Analyse FT-IR.....	56
b. Spectroscopie RMN <sup>1</sup> H et RMN <sup>13</sup> C.....	57
III.3. Synthèse de cycle thiazole.....	60
III.3.1. Etude spectrale.....	62
a. Analyse FT-IR .....	62

b. Analyse par RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C.....	63
RMN <sup>1</sup> H du proton.....	63
RMN <sup>13</sup> C du composé.....	63
III.4. Etude théorique.....	65
III.4.1. Etude théorique de cycle pyrazole .....	65
a. Théorie des OMF.....	68
b. Etude électronique.....	68
c. Surfaces à potentiel électrostatique moléculaire (MPE).....	64
d. Propriétés optiques.....	70
III.4.2. Etude théorique de cycle thiazole.....	71
III.5. Activité biologique.....	80
III.5.1. Activité antibactérienne.....	80
III.5.2. Activité antioxydante.....	81
III.6. Moléculaire Docking.....	83
Conclusion.....	86
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>88</b>
<b>Références.....</b>	<b>91</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>105</b>

---

## LISTE DES FIGURES

### CHAPITRE I

<b>Figure I-1.</b> Formule chimique de pyrazole.....	01
<b>Figure I-2.</b> Structure des pyrazoles.....	01
<b>Figure I-3.</b> Équilibre tautomérique du cycle pyrazole.....	02
<b>Figure I-4.</b> Comportement acide du pyrazole.....	03
<b>Figure I-5.</b> Le système de dénomination des pyrazoles et des systèmes apparentés.....	04
<b>Figure I-6.</b> Médicaments pharmaceutiques contenant une unité pyrazole.....	10
<b>Figure I-7.</b> Structure du composé antibactérienne et antifongique à base de pyrazole...	11
<b>Figure I-8.</b> Structure du composé anticancéreuse à base de pyrazole.....	12
<b>Figure I-9.</b> Structure du composé anti-inflammatoire et analgésique à base de pyrazole	13
<b>Figure I-10.</b> Structure du composé antituberculeuse à base de pyrazole.....	13
<b>Figure I-11.</b> Structure du composé antivirale à base de pyrazole.....	14
<b>Figure I-12.</b> Structure du composé AntiFAAH à base de pyrazole.....	15
<b>Figure I-13.</b> Structure du composé anti-Alzheimer à base de pyrazole.....	15
<b>Figure I-14.</b> Structure du composé antidiabétique à base de pyrazole.....	16
<b>Figure I-15.</b> Structure du composé antipaludique à base de pyrazole.....	16
<b>Figure I-16.</b> Exemples de molécules thiazoliques dans divers produits pharmaceutiques.....	17
<b>Figure I-17.</b> Médicaments pharmaceutiques contenant une unité thiazole.....	23
<b>Figure I-18.</b> Structure du composé antibactérienne et antifongique à base de thiazole.....	23
<b>Figure I-19.</b> Structure du composé anti-inflammatoire à base de thiazole.....	24
<b>Figure I-20.</b> Structure du composé anticonvulsivante à base de thiazole.....	25
<b>Figure I-21.</b> Structure du composé antibactérienne à base de thiazole.....	25
<b>Figure I-22.</b> Structure des composés antifongique à base de thiazole.....	26
<b>CHAPITRE II</b>	
<b>Figure II-1.</b> Spectres UV-vis de différentes concentrations d'un colorant.....	29
<b>Figure II-2.</b> Effet du rayonnement électromagnétique sur les molécules.....	31
<b>Figure II-3.</b> Gamme d'absorption IR.....	32
<b>Figure II-4.</b> Orientations du spin nucléaire d'un échantillon aligné (parallèle et antiparallèle) avec la direction d'un champ magnétique externe $B_0$ .....	34
<b>Figure II-5.</b> Graphique de $^1\text{H}$ -RMN et $^{13}\text{C}$ -RMN.....	35



<b>Figure II-6.</b> Les spectre COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ et HSQC.....	37
<b>Figure II-7.</b> Spectre HMBC.....	38
<b>Figure II-8.</b> Docking moléculaire.....	42
<b>CHAPITRE III</b>	
<b>Figure III.1.</b> Spectres FT-IR des composés (1) et (2).....	57
<b>Figure III-2.</b> Spectres RMN $^1\text{H}$ du composé (1).....	58
<b>Figure III.3.</b> Spectres RMN $^1\text{H}$ du composé (2).....	58
<b>Figure III.4.</b> Spectres RMN $^{13}\text{C}$ du composé (1).....	59
<b>Figure III.5.</b> Spectres RMN $^{13}\text{C}$ du composé (2).....	60
<b>Figure III.6.</b> Spectre FT-IR de composé (3).....	63
<b>Figure III.7.</b> Spectre RMN $^1\text{H}$ de composé (3).....	64
<b>Figure III.8.</b> Spectre RMN $^{13}\text{C}$ de composé (3).....	65
<b>Figure III-9.</b> Structures moléculaires optimisées (1) et (2).....	66
<b>Figure III-10.</b> Orbitales frontières (HOMO-LUMO) des composés (1) et (2).....	69
<b>Figure III-11.</b> Potentiel électrostatique moléculaire (MEP) des composés (1) et (2).....	70
<b>Figure III-12.</b> Potentiel électrostatique expérimental des composés (1) et (2).....	71
<b>Figure III-13.</b> Les spectres UV-Vis expérimentaux des composés (1) et (2).....	72
<b>Figure III-14.</b> Principales transitions électroniques dans l'ultraviolet-visible des composés (1) et (2).....	73
<b>Figure III-15.</b> Structure et Conformation 3D du noyau thiazole.....	74
<b>Figure III-16.</b> Structure optimale de la molécule (3).....	74
<b>Figure III-17.</b> Orbitales frontières (HOMO-LUMO) des composés (3).....	76
<b>Figure III-18.</b> Potentiel électrostatique de la molécule (3) ; (a) : MEP, (b) : contour 2D.....	77
<b>Figure III-19.</b> Spectre UV-vis du composé (3).....	79
<b>Figure III-20.</b> Principales transitions électroniques dans l'ultraviolet-visible du composé (3).....	80
<b>Figure III-21.</b> Activité antioxydante des composés (1-3) à l'aide de DPPH.....	82
<b>Figure III-22.</b> Les interactions de liaison 2D et 3D du composé (1-3).....	86

---

## LISTE DES SCHEMAS

### CHAPITRE I

<b>Schéma I-1.</b> Synthèse de pyrazoles 1,3,5-substitués à partir d'acétoacétate d'éthyle.....	04
<b>Schéma I-2.</b> Synthèse de pyrazoles à partir de cétones acétyléniques.....	05
<b>Schéma I-3.</b> Synthèse de 3-trifluorométhylpyrazoles par cyclisation de cétones acétyléniques.....	05
<b>Schéma I-4.</b> Synthèse de pyrazole à partir de cétone $\alpha$ , $\beta$ -éthylénique.....	06
<b>Schéma I-5.</b> Synthèse de pyrazole par réaction de cyclocondensation de la cétone $\alpha$ , $\beta$ -éthylénique.....	06
<b>Schéma I-6.</b> Synthèse de pyrazoles à partir de $\alpha$ -oxocétène O, N-acétals et énamino-dicétone.....	07
<b>Schéma I-7.</b> Synthèse de pyrazole par cycloaddition 1,3-dipolaire de $\alpha$ -diazocétate d'éthyle.....	08
<b>Schéma I-8.</b> Synthèse de pyrazole par réaction de cycloaddition de sydnone et l'alcyne.....	08
<b>Schéma I-9.</b> Synthèse du pyrazole par cycloaddition 1,3-dipolaire de diphenylnitrilimine et d'alcène.....	09
<b>Schéma I-10.</b> La synthèse de Hantzsch de dérivé de thiazole.....	18
<b>Schéma I-11.</b> La synthèse de Gabriel de dérivé thiazolique.....	19
<b>Schéma I-12.</b> La synthèse de Cook-Heilborn de dérivé de thiazole.....	19
<b>Schéma I-13.</b> La synthèse de Tcherniac de dérivé de thiazole.....	20
<b>Schéma I-14.</b> Synthèse des 5-arylthiazole.....	21
<b>Schéma I-15.</b> Synthèse des thiazoles 2,5-disubstitués.....	21
<b>Schéma I-16.</b> Synthèse de 5-aryl-2-aminothiazole à partir d'azotures de vinyle.....	21
<b>Schéma I-17.</b> Synthèse des 2-aminothiazoles.....	22
<b>Schéma I-18.</b> Synthèse des thiazoles 4,5-disubstitué.....	22

### CHAPITRE III

<b>Schéma III-1.</b> Protocole réactionnel générale.....	53
<b>Schéma III-2.</b> Obtention de cycle pyrazole.....	54
<b>Schéma III-3.</b> Les dérivés pyrazoliques substituées.....	55
<b>Schéma III-4.</b> Mécanisme général de la synthèse de pyrazole.....	55
<b>Schéma III-5.</b> Synthèse de dérivé thiazolique composé (3).....	61
<b>Schéma III-6.</b> Mécanisme réactionnel de la formation de thiazole.....	62

---

## LISTE DES TABLEAUX

### CHAPITRE III

<b>Tableau III-1.</b> Propriétés physiques des composés (1,2).....	56
<b>Tableau III-2.</b> Propriétés physiques de produit (3).....	62
<b>Tableau III-3.</b> Les longueurs des liaisons (en Å), les angles (en degré) des composés synthétisés.....	67
<b>Tableau III-4.</b> Les descripteurs chimiques intramoléculaires (en eV) pour les réactifs (1) et (2).....	68
<b>Tableau III-5.</b> Les longueurs des liaisons (en Å), les angles (en degré) de composé (3).....	75
<b>Tableau III-6.</b> Les descripteurs chimiques intramoléculaires (en eV) de composé (3)..	75
<b>Tableau III-7.</b> Charges atomiques de Mulliken calculées pour le composé (3).....	78
<b>Tableau III-8.</b> Activités antibactériennes des composés (1-3) dans un test de diffusion sur gélose.....	81
<b>Tableau III-9.</b> Valeurs docking moléculaire des composés (1-3) contre l'ADN gyrase d' <i>E. coli</i> (PDB ID : 6RKV).....	84

---

## LISTES DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

<b>A°</b>	Ångström
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>δ</b>	Déplacement chimique
<b>λ</b>	Longueur d'onde
<b>μg</b>	Microgramme
<b>μl</b>	Microlitre
<b>ΔE</b>	Écart énergétique
<b>ΔG</b>	Énergie libre
<b>1,2...</b>	Symboles utilisés pour les composés mentionnés dans la littérature
<b>(1), (2)...</b>	Symboles utilisés pour les composés synthétisés dans cette étude
<b>1D</b>	Monodimensionnel
<b>2D</b>	Bidimensionnel
<b>3D</b>	Tridimensionnel
<b>AMP</b>	Ampicilline
<b>AcOH</b>	Acide acétique
<b>ADN</b>	Acide DésoxyriboNucléique
<b>ADT</b>	AutoDock Tools
<b>AINS</b>	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
<b>B3LYP</b>	Becke 3-Parameter Lee-Yang-Parr
<b>CCM</b>	Chromatographie sur couche mince
<b>CE<sub>50</sub></b>	Concentration efficace 50
<b>cm</b>	Centimètre
<b>CMI</b>	Concentration minimale d'inhibition
<i>d</i>	Doublet
<i>d</i>	diffuse
<b>DEPT</b>	Density Functional Theory
<b>DFT</b>	Distortionless enhancement by polarisation transfer
<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde
<b>DPPH</b>	Diphényl picrylhydrazyle
<b>E</b>	Énergie
<b>ev</b>	Électronvolt

---

<b>Et</b>	Énergie totale
<b>EtOH</b>	Ethanol
<b>FAAH</b>	fatty acid amide hydrolase
<b>HCl</b>	Chlorure d'hydrogène
<b>HMBC</b>	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
<b>HOMO</b>	Highest Occupied Molecular Orbital
<b>HIF</b>	Hypoxia-Inducible Factor
<b>HSV</b>	virus herpès simplex
<b>HSQC</b>	Heteronuclear single quantum coherence spectroscopy
<b>IC50</b>	Concentration inhibitrice 50
<b>IR</b>	Infra-rouge
<b>KSCN</b>	thiocyanate de potassium
<b>LUMO</b>	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
<b>MCF</b>	Michigan Cancer Foundation
<b>Me</b>	Méthyle
<b>MEP</b>	Potentiel électrostatique moléculaire
<b>MES</b>	Modèles d'électrochoc maximal
<b>ml</b>	Millilitre
<b>mm</b>	Millimètre
<b>MN</b>	Micro-onde
<b>Net<sub>3</sub></b>	Triéthylamine
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>p</b>	principal
<b>P<sub>2</sub>S<sub>5</sub></b>	Pentasulfure de diphosphore
<b>PC-3</b>	Lignée tumorale humaine de prostate
<b>PDB</b>	Protein Data Bank
<b>PF<sub>6</sub></b>	Hexafluorophosphate
<b>Ph</b>	Phényl
<b>pKa</b>	Constante de dissociation acide
<b>PPA</b>	Peste porcine africaine
<b>ppm</b>	Partie par million
<b>PTZ</b>	Pentylènetétrazole
<b>R</b>	Radical

---

<b>R<sup>2</sup></b>	Régression
<b>Rdt</b>	Rendement
<b>Rf</b>	Retention Factor
<b>s</b>	Singulet
<b>TCT</b>	Tétracyanoéthylène
<b>TD-DFT</b>	Time-dependent density functional theory
<b>Tfus</b>	température de fusion
<b>uma</b>	Unité masse atomique
<b>UV</b>	Ultraviolet
<b>VIH</b>	Virus de l'immunodéficience humaine
<b>VSV</b>	Virus de la stomatite vésiculeuse
<b>Zn(OTf)<sub>2</sub></b>	Triflate de zinc

Les abréviations ont généralement été indiquées sous la forme la plus couramment utilisée dans la littérature.

---

## Introduction générale

Les produits organiques constituent une thématique de recherche très importante si on se fie au nombre de publications sortant depuis des années. En effet, les composés hétérocycliques contenant des hétéroatomes comme l'azote, soufre et l'oxygène sont également présente des d'activités biologiques <sup>1</sup> et pharmacologiques <sup>2</sup> très intéressantes, on les retrouve dans de nombreux composés herbicides, fongicides et insecticides et de même dans dans l'environnement contre la corrosion. Par ailleurs, les travaux réalisés sur la synthèse et l'étude des propriétés des hétérocycles de type pyrazoles, thiazoles, pyrones, thiadiazoles, oxadiazoles et autres ont donné jusque-là des résultats prometteurs et désirables. L'importance de ce domaine de recherche est liée au fait que ces composés peuvent s'employer aux produits toxiques et inacceptables.

D'autre part, c'est dans ce sens de la recherche que l'on peut situer notre travail à savoir, la synthèse et la caractérisation des dérivés pyrazoliques et thiazoliques qui peuvent être utilisés plus tard dans divers domaines, notamment comme composés biologiquement actifs ou même comme des médicaments.

La modélisation moléculaire c'est une méthode de calcul théorique pour évaluer les propriétés physiques et chimiques de la molécule à étudier. Ces méthodes peuvent être : la mécanique quantique semi-empirique, ou la mécanique moléculaire. La mécanique moléculaire nécessite l'étude d'une réaction chimique et pour évaluer l'énergie du système en tenant compte de la nature quantique de la liaison chimique. Dans ce travail, nous avons choisi la Théorie Fonctionnelle de la Densité (DFT) qui est une Théorie Fonctionnelle) qui est un bon compromis entre précision et temps de calcul.

Le docking moléculaire *in silico* a pour objectif de prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir de composés isolés. Cette méthode est particulièrement plus simple à mettre en œuvre, moins coûteuse et plus rapide que l'utilisation de méthodes expérimentales *in vitro*. Les logiciels de docking sont donc des instruments très utiles en biologie, en pharmacie et en médecine, car les sites actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique (enzyme) d'intérêt thérapeutique, généralement une protéine (récepteur), afin

---

<sup>1</sup> K.M. Ghoneim, S. El-Basil, A.N. Osaman, M.M. Said, S.A. Megahed, Rev. Roum. Chim. 36 **1991** 1355.

<sup>2</sup> J.H. Musser, R.E. Brown, B. Love, K. Baily, H. Jones, R. Kahen, F. Haung, A. Khandwala, M. Leibowitz, J. Med. Chem. 27 **1984** 121.

---

d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée. Dans ce travail, on se propose d'étudier la réactivité chimique des composés synthétisés en utilisant des approches théoriques et on a étudié aussi la réactivité biologique des hétérocycles à cinq chaînons par la technique docking moléculaire.

Outre l'introduction et la conclusion générale, ce travail se divise en trois parties :

❖ Dans le premier chapitre, qui est subdivisé en deux parties, après un bref rappel sur l'intérêt des dérivés de cycle pyrazole ainsi que leurs méthodes de préparation, nous donnerons un aperçu bibliographique sur la réaction de condensation de dérivés acétyl acétone et l'hydrazine pour former les pyrazoles trisubstitué 1,3,5 correspondants. Nous rapporterons aussi les différentes méthodes de synthèses des cycles thiazoles et leurs intérêts biologiques. Nous comparerons, également, les différentes voies de synthèse relatives à la réaction de cyclisation, permettant d'accéder aux hétérocycles à cinq chaînons diversement substitués.

❖ Dans la deuxième partie, qui sera consacrée aux différentes méthodes de caractérisation physico-chimique telles que les méthodes spectroscopiques, qui nous permettent de faire des analyses quantitatives et qualitatives utilisées pour déterminer, caractériser les structures et aussi les méthodes biologiques *in vitro* et déterminer le type d'interaction des liaisons par le docking moléculaire et aussi l'étude computationnel par l'utilisation de DFT.

❖ Dans la dernière partie qui sera réservée aux résultats auxquels nous sommes parvenus, seront exposés et commentés les résultats théoriques et expérimentaux et les activités biologiques *in vitro* et *in silico*.

Enfin, on terminera par une conclusion générale sur le travail. Cette thèse a fait l'objet d'une publication internationale, dont une copie figure en annexe

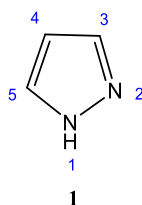


## I-Rappel bibliographique sur les modes de formation des hétérocycles

### I-1. Étude bibliographique sur le noyau pyrazolique

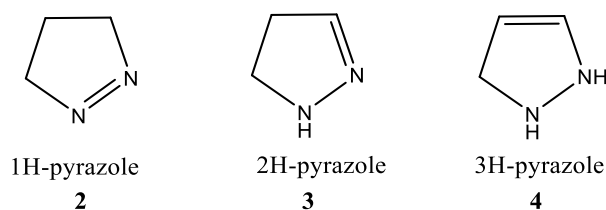
#### I-1.1. Caractère aromatique du pyrazole

Le pyrazole **1** sont des molécules synthétiques inexistantes dans la nature, sont des hétérocycliques insaturées et aromatiques dérivées de la famille de pyridine. De formule chimique  $C_3H_4N_2$ , elles possèdent un cycle à cinq chaînons avec deux atomes d'azote en position 1 et 2. Parmi les deux azotes, l'un est basique et l'autre est de nature neutre. L'aromaticité dans les systèmes pyrazolique apparaît à partir de la paire d'électrons non partagés sur l'azote -NH et les quatre électrons  $\pi$ .



**Figure I-1.** Formule chimique de pyrazole

Le pyrazole existe sous trois formes partiellement réduites, à savoir la 1-pyrazoline **2**, la 2-pyrazoline **3** et la 3-pyrazoline **4** (Figure I-1) <sup>1</sup>.



**Figure I-2.** Structure des pyrazoles

Ces structures sont également des systèmes aromatiques attribués à leurs cadres cycliques planaires conjugués avec six électrons  $\pi$  hautement délocalisés. Il ressort de diverses recherches expérimentales que la longueur de la liaison entre les atomes en position 3 et 4 a une valeur élevée <sup>2</sup>. Les dérivés de 2-pyrazolines **3** sont des systèmes

<sup>1</sup> Md, J. A.; Ozair, A.; Perwaiz, A.; Mohammad, J. N., A Review on Pyrazole chemical entity and Biological Activity. *International J. Pharm. Sci. Res.* **2015**, 6, 1433.

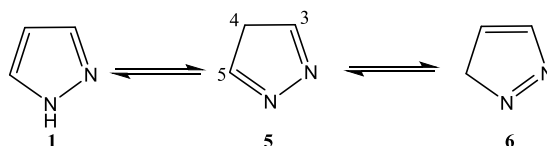
<sup>2</sup> Dewangan, D.; Kumar, T.; Alexander, A.; Nagori, K.; Tripathi, D. K., Pyrazole : Their Chemistry and Pharmacological Potentials. A Review *Curr. Pharmac. Res. Sat.* **2003**, 4, 36.

hétérocycliques de type pyrazoline les plus couramment examinés et connus <sup>3</sup> (Figure I-2).

### I-1.2 Réactivité chimique du pyrazole

La réactivité chimique du pyrazole **1** peut être décrite par l'effet d'atomes individuels dans le cycle. L'atome d'azote en position 2 est de nature modérément basique réagit donc avec les centres électrophiles des réactifs facilement, par contre l'atome d'azote en position 1 n'est pas réactif mais cède son H<sup>+</sup> dans l'existence de la base.

L'effet combiné de deux atomes d'azote dans le cycle pyrazole réduit la densité de charge au niveau du carbone 3 et 5 qui rendant vacants pour l'attaque par des réactifs électrophiles, d'autre part l'élimination de H<sup>+</sup> au niveau du carbone 3 peut avoir lieu en présence d'une base forte qui se termine par l'ouverture du cycle facilement. L'addition d'ions H<sup>+</sup> aux pyrazoles provoque la formation d'ions pyrazolium qui sont moins susceptibles de subir une attaque électrophile au carbone 4. Ces anions du pyrazole sont beaucoup moins réactifs d'une attaque nucléophile <sup>4</sup>.



**Figure I-3.** Équilibre tautomérique du cycle pyrazole.

En raison de leurs squelettes cycliques planaires conjugués avec des liaisons  $\pi$  hautement délocalisés, des diverses propriétés significatives des pyrazoles ont été étudiées en les comparant aux propriétés des analogues du benzène ou les hétérocycles comme la pyridine <sup>5</sup>. Des différentes formes tautomères (**5** et **6**) peuvent également être écrites pour

<sup>3</sup> Arunachalam, S.; Gowrishankar, N. L.; Krishnan, A.; Prakash, M.; Muhsin, T.; Naseena, U.; Poornima, G., A brief review on pyrazole derivatives possessing various pharmacological and biological evaluation. *World J. Pharm. Pharma. Sci.* **2018**, 5, 1496.

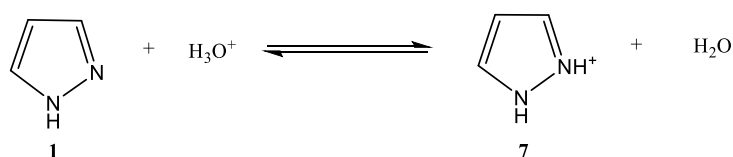
<sup>4</sup> Raj, K. B., Heterocyclic Chemistry. *New International Publishers.* **2007**, 4th edn.

<sup>5</sup> Krygowski, T. M.; Anulewicz, R.; Cyrafiski, M. K.; Puchala, A.; Rasata, D., Separation of the energetic and geometric contribution to the aromaticity. Part IX. Aromaticity of pyrazoles in dependence on the kind of substitution. *Tetrahedron.* **1998**, 54, 12295.

les hétérocycles de pyrazole non substitué qui peut être illustré dans trois structures tautomères <sup>6</sup> (Figure I-3).

### I-1.3 Réactions acido-basiques

Le pyrazole **1** non substitué montre une acidité due au groupe -NH présent en position 1. La valeur de pKa du pyrazole **1** est calculée expérimentalement comme étant de 14.21, ce qui est égal comparativement à la valeur de pKa du 1,3-diaza-2,4-cyclopentadiène (imidazole) (Figure I-4).



**Figure I-4.** Comportement acide du pyrazole.

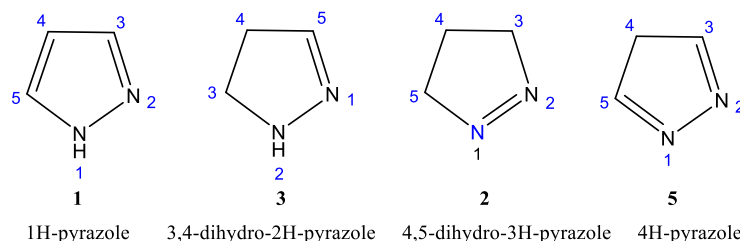
Il est rapporté dans les travaux de la littérature que dans l'état excité de la pyrazoline (**2-4**) qui sont normalement une nature basique. Un processus de transfert de charge conjugué intermoléculaire existe surtout dans la partie conjuguée (-C<sub>3</sub>-N<sub>2</sub>-N<sub>1</sub>-) dans le cycle pyrazole. Les atomes de carbone en position 4 et position 5 ne sont pas conjugués de manière intermoléculaire avec la partie restante du cycle pyrazole <sup>7</sup>.

### I-1.4. Nomenclature des pyrazoles et le système conjugué

Les pyrazoles et les systèmes cycliques peuvent être désignés comme 1H, 2H, 3H et 4H-pyrazoles, mais 2H et 3H-pyrazoles (**3** et **2**) sont appelés pyrazolines. Les désignations 1H, 2H, 3H et 4H avant le terme « pyrazole » indiquent la position de l'atome d'hydrogène, qui ressemble au système de numérotation le plus bas pour l'azote ou à l'emplacement de la saturation (Figure I-5).

<sup>6</sup> Behr, L. C.; Fusco, R.; Jarboe, C. H., *The Chemistry of Heterocyclic Chemistry : Pyrazoles, Pyrazolines, Pyrazolidines, Indazoles and Condensed Rings*. Wiley & Sons: London. **1967**, 113.

<sup>7</sup> Ciccolini, C.; Mari, M.; Lucarini, S.; Mantellini, F.; Piersanti, G.; Favi, G., Polycyclic Indolines by an Acid-Mediated Intramolecular Dearomative Strategy: Reversing Indole Reactivity in the Pictet-Spengler-Type Reaction *Adv. Synth. Cat.* **2018**, 360, 4060.

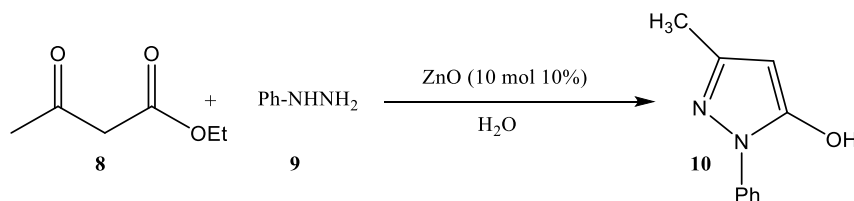


**Figure I-5.** Le système de dénomination des pyrazoles et des systèmes apparentés.

### I-1.5. Les travaux antérieurs sur les méthodes de synthèse de cycle pyrazole

Les pyrazoles substitués par des groupements hétéroamantiques et aromatiques possèdent de nombreuses activités biologiques et pharmacologiques très intéressantes. Les différentes voies de synthèse de noyau pyrazolique ont subi de nombreuses modifications depuis les premières synthèses décrites par Knorr <sup>8</sup> et Huisgen <sup>9</sup>. Au cours de cette étude, nous présenterons les principales méthodes généralement utilisées pour l'accès aux pyrazoles substitués particulièrement par des groupements aromatiques ou hétéroaromatiques. Nous nous basons surtout sur la cyclocondensation de l'hydrazine et de ses dérivés sur les systèmes carbonylés.

Le groupe de Girish et coll. <sup>10</sup> ont décrit un protocole catalysé par nano-ZnO pour la synthèse de dérivés pyrazoliques **10** substitués en C-1, C-3 et C-5 par une réaction de condensation de phénylhydrazine **9** avec de l'acétoacétate d'éthyle **8** (Schéma I-1). L'avantage de cette réaction est donné par des pyrazoles correspondants avec de bons rendements et une bonne régiosélectivité.



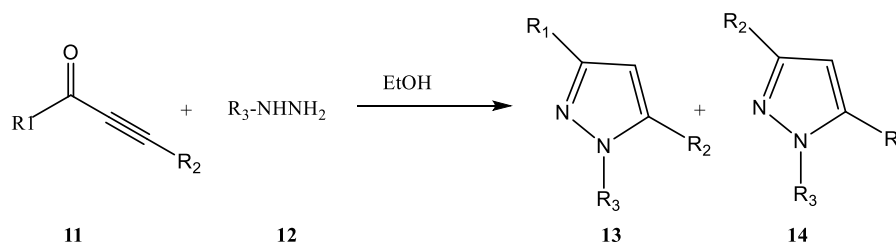
**Schéma I-1.** Synthèse de pyrazoles 1,3,5-substitués à partir d'acétoacétate d'éthyle.

<sup>8</sup> Knorr, L., Einwirkung von Acetessigester auf Phenylhydrazin, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1883** 16 2597.

<sup>9</sup> (a) Huisgen, R.; Grashley, R.; Gotthardt, H.; Schmidt, R., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1962**, 1, 48. (b) Clovis, J. S.; Fliege, W.; Huisgen, R., *Chem. Ber.* **1983**, 116, 3062.

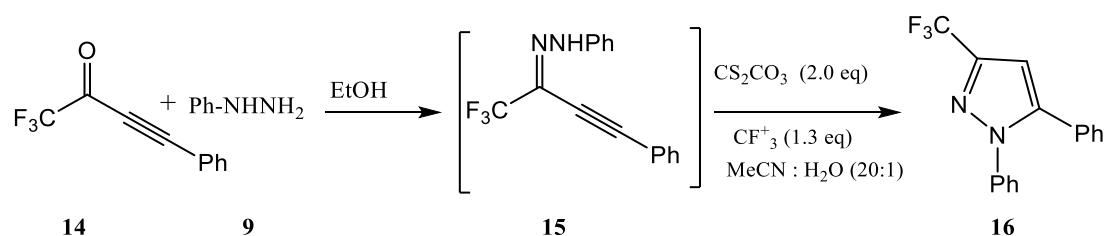
<sup>10</sup> Girish, Y.R.; Kumar, K.S.S.; Manasa, H.S.; Shashikanth, S., ZnO : An Ecofriendly, Green Nano-catalyst for the Synthesis of Pyrazole Derivatives under Aqueous Media. *J. Chin. Chem. Soc.* **2014**, 61, 1175–1179.

La réaction de cyclocondensation des dérivés d'hydrazine **12** sur les cétones acétyléniques **11** pour former des pyrazoles est connue depuis plus des années. La réaction est abordée à un mélange de régioisomères **11**.



**Schéma I-2.** Synthèse de pyrazoles à partir de cétones acétyléniques.

Guojing et coll. <sup>12</sup> ont rapporté une nouvelle méthode efficace pour la synthèse de 3-trifluorométhylpyrazoles **16** avec de bons rendements par trifluorométhylation /cyclisation des cétones acétyléniques **14** sur la phénylhydrazine **9** dans un solvant polaire (éthanol). Les conditions optimales ont été obtenues lorsque le rapport **15** avec le réactif Togni à former le composé **16** à 70% de rendement isolé (**Schéma I-3**).



**Schéma I-3.** Synthèse de 3-trifluorométhylpyrazoles par cyclisation de cétones acétyléniques.

Rao et coll. <sup>13</sup> décrit la condensation d'une cétone  $\alpha, \beta$ -éthylénique **17** avec le p- (4- (tert-butyl) phényl) hydrazine **18** en présence de triflate de cuivre et de 1-butyl-3-méthylimidazolium hexafluorophosphate (PF6) comme catalyseurs, pour accéder à la pyrazoline **19**. Le pyrazole trisubstitué 1,3,5 correspondant **20** a été obtenu après une oxydation

<sup>11</sup> Moureu, C.; Delange, R., Over some Acetylenketone and over a new method to the synthesis of  $\beta$ -Diketones. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1901**, 25, 302.

<sup>12</sup> Ji, G.; Wang, X.; Zhang, S.; Xu, Y.; Ye, Y.; Li, M., Synthesis of 3-trifluoromethylpyrazoles via trifluoromethylation/cyclization of  $\alpha, \beta$ -alkynic hydrazones using a hypervalent iodine reagent. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 4361.

<sup>13</sup> Rao, V.K.; Tiwari, R.; Chhikara, B.S.; Shirazi, A.N.; Parang, K.; Kumar, A., Copper triflate-mediated synthesis of 1,3,5-triarylpyrazoles in [bmim][PF6] ionic liquid and evaluation of their anticancer activities. *RSC Adv.* **2013**, 3, 15396.

in situ de cette pyrazoline **19**. Le protocole réactionnel a donné des 1,3,5-triarylpyrazole avec de bons rendements (environ 82%) via une addition-cyclocondensation en une seule étape entre les chalcones **17** et les arylhydrazines **18**. Le catalyseur peut être réutilisé en excès sans perte d'activité catalytique (Schéma I-4).

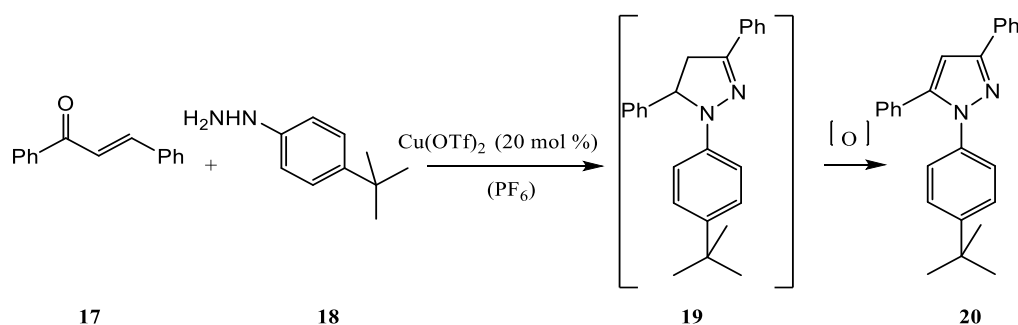


Schéma I-4. Synthèse de pyrazole à partir de cétone  $\alpha$ ,  $\beta$ -éthylénique.

De même, un procédé de synthèse de pyrazoles 1,3,5-trisubstitués à partir d'une cétone  $\alpha$ ,  $\beta$ -éthylénique a été décrit par le groupe de Pannala et collaborateurs <sup>14</sup>. La cyclocondensation de cétone  $\alpha$ ,  $\beta$ -éthylénique **21** avec le phénylhydrazine **9** (1.2 éq.) dans l'acide acétique et en présence d'iode (1.0 éq.) a donné le pyrazole **22** correspondant avec un bon rendement (70%) (Schéma I-5).

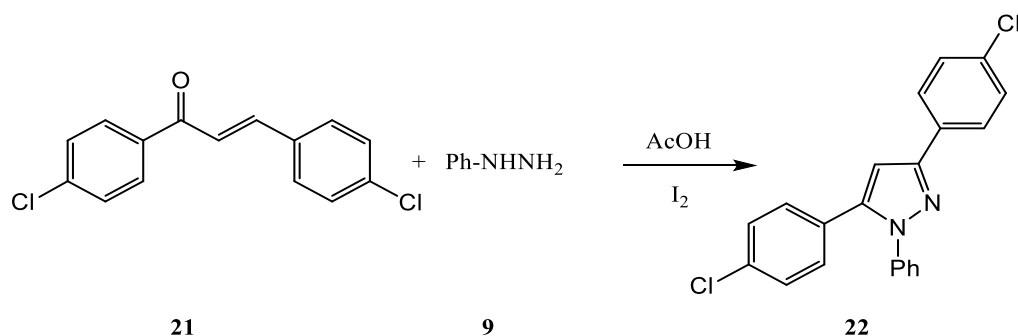
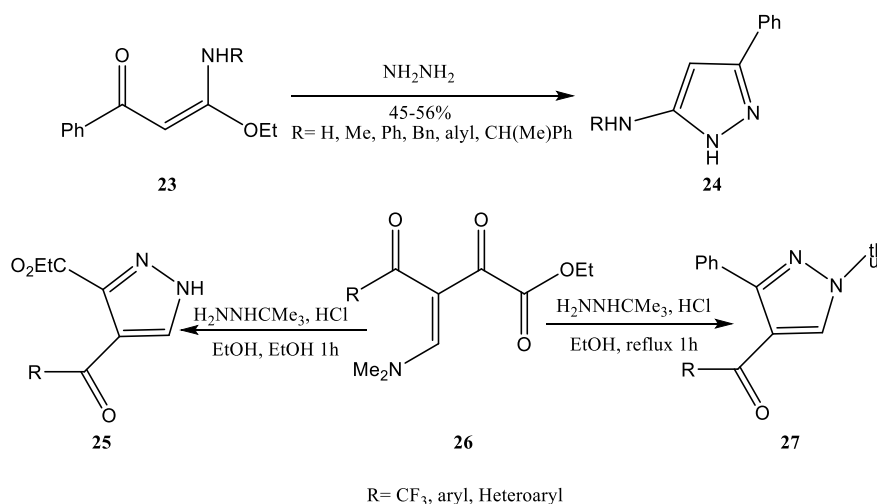


Schéma I-5. Synthèse de pyrazole par réaction de cyclocondensation de la cétone  $\alpha$ ,  $\beta$ -éthylénique.

Les 5-amino-3-phénylpyrazoles **24** ont été préparés à partir de  $\alpha$ -oxocétène O, N-acétal **23** sur divers dérivés d'hydrazine pour conduire des pyrazoles régiosélectives. La cyclocondensation de l'énaminodicétone non symétrique **26** sur les dérivés d'hydrazine a été

<sup>14</sup> Ponnala, S.; Prasad, S.D., Iodine-Mediated Synthesis of 2-Arylbenzoxazoles, 2-Arylbenzimidazoles, and 1,3,5-Trisubstituted Pyrazoles. *Synth. Commun.* **2006**, 36, 2189.

étudiée dans le cas de la tert-butylhydrazine et de la carboxyméthylhydrazine pour donner les différents pyrazoles **25** et **27** qui sont obtenus de manière régiospécifique et avec de bons rendements (74- 94%). Il est à noter que dans le cas de la carboxyméthylhydrazine, la réaction conduit directement au NH-pyrazole correspondant **15** (Schéma I-6).



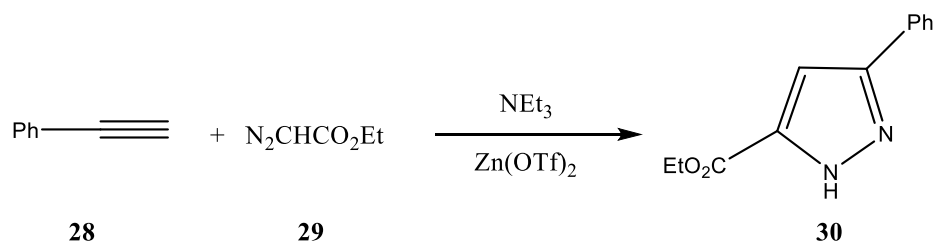
**Schéma I-6.** Synthèse de pyrazoles à partir de  $\alpha$ -oxocétène O, N-acétals et énamino-dicétone.

D'autres méthodes permettant d'accéder au noyau pyrazole impliquent des réactions de cycloaddition [3 + 2] entre un alcyne (ou une oléfine) et des composés 1,3-dipolaires tels que les composés diazo ou les nitrilimines.

He et coll. <sup>16</sup> ont étudié l'action de  $\alpha$ -diazoacétate d'éthyle **29** sur le phénylpropargyl **28** dans la triéthylamine et en présence de triflate de zinc comme catalyseur, cette réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire permet de conduire au pyrazole **30** correspondant avec un bon rendement (89%). Les conditions de réaction simples et efficaces, rendent cette méthode potentiellement utile dans la synthèse organique (Schéma I-7).

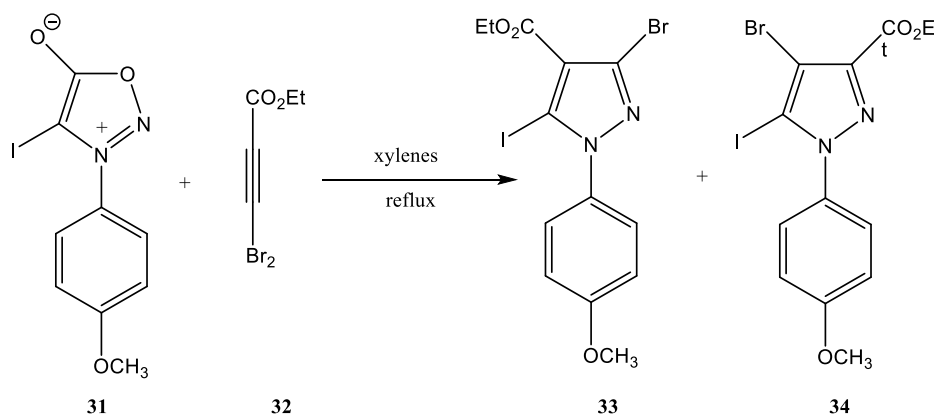
<sup>15</sup> Rosa, F.A.; Machado, P.; Vargas, P.S.; Bonaccorso, H.G.; Zanatta, N.; Martins, M.A., Straightforward and regiospecific synthesis of pyrazole-5-carboxylates from unsymmetrical enaminodiketones. *Synlett*. **2008**, 1673.

<sup>16</sup> He, S.; Chen, L.; Niu, Y.-N.; Wu, L.-Y.; Liang, Y.-M., 1,3-Dipolar cycloaddition of diazoacetate compounds to terminal alkynes promoted by Zn (OTf)<sub>2</sub>: An efficient way to the preparation of pyrazoles. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 2443.



**Schéma I-7.** Synthèse de pyrazole par cycloaddition 1,3-dipolaire de  $\alpha$ -diazoacétate d'éthyle.

Les pyrazoles peuvent être obtenus par une réaction de cycloaddition de sydnone. Delaunay et ses collaborateurs <sup>17</sup> ont présenté la synthèse des deux pyrazoles substitués et régioisomères **33** et **34** via une réaction de cycloaddition entre une sydnone **31** et un alcyne **32**. La réaction s'est achevée en 15 h, donnant le mélange de 5-iodopyrazoles régioisomères **33** et **34** avec un rendement supérieur à 84%. Les deux pyrazoles ont été facilement séparés par chromatographie sur gel de silice, et identifiés par les méthodes spectroscopiques usuelles (Schéma I-8).



**Schéma I-8.** Synthèse de pyrazole par réaction de cycloaddition de sydnones et l'alcyne.

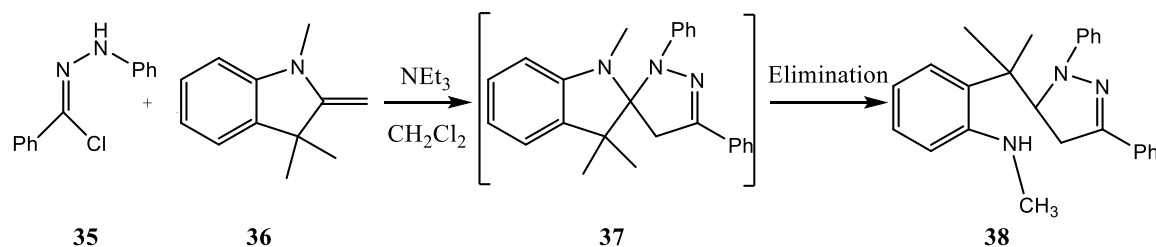
Dadiboyena et coll. <sup>18</sup> décrivent la synthèse du 1,3,5-pyrazole trisubstitué **38** par cycloaddition 1,3-dipolaire de diphénylnitrilimine **35** avec un alcène **36** dans le

<sup>17</sup> Delaunay, T.; Genix, P.; Es-Sayed, M.; Vors, J.-P.; Monteiro, N.; Balme, G. A., Modular Sydnone Cycloaddition/Suzuki-Miyaura Cross-Coupling Strategy to Unsymmetrical 3,5-Bis (hetero) aromatic Pyrazoles. *Org. Lett.* **2010**, 12, 3328.

<sup>18</sup> Dadiboyena, S.; Valente, E.J.; Hamme, A.T. A., novel synthesis of 1,3,5-trisubstituted pyrazoles through a spiro-pyrazoline intermediate via a tandem 1,3-dipolar cycloaddition/elimination. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 291.



dichlorométhane en présence de triéthylamine. Le pyrazole **38** trisubstitué, isolé avec un bon rendement 88% (Schéma I-9).



**Schéma I-9.** Synthèse du pyrazole par cycloaddition 1,3-dipolaire de diphenylnitrilimine et d'alcène.

### I-1.6. Propriétés biologiques des dérivés pyrazoliques

Le pyrazole est un important motif hétérocyclique aromatique à cinq chaînons ayant deux atomes N adjacents et trois atomes de carbone <sup>19, 20</sup>. Les molécules portant le noyau pyrazole présentent un large spectre d'applications pharmaceutiques et biologiques telles que ; anticancéreuses, anti-inflammatoires <sup>21</sup>, antifongiques <sup>22</sup>, antibactériennes, anti-insecticides <sup>23</sup>, analgésiques, antivirales, anticonvulsivantes<sup>24</sup>, antidiabétiques, antipyrétiques, antiarythmiques, anti -déresseur, anti-hyperglycémiant, antioxydant, herbicide <sup>25</sup>.

<sup>19</sup> Du, K.; Mei, Y. J.; Cao, X. T.; Zhang, P. F.; Zheng, H., The Synthesis of Pyrazole Derivatives Based on Glucose. *Int. J. Chem. Eng. Appl.* **2013**, 4, 238.

<sup>20</sup> Zhang, X.; Kang, J.; Niu, P.; Wu, J.; Yu, W.; Chang, J., I<sub>2</sub>-Mediated Oxidative C–N Bond Formation for Metal-Free One-Pot Synthesis of Di-, Tri-, and Tetrasubstituted Pyrazoles from  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Aldehydes/Ketones and Hydrazines. *Org. Chem.* **2014**, 79, 10170.

<sup>21</sup> Dadiboyena, S.; Nefzi, A., Synthesis of functionalized tetrasubstituted pyrazolyl heterocycles. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 5258.

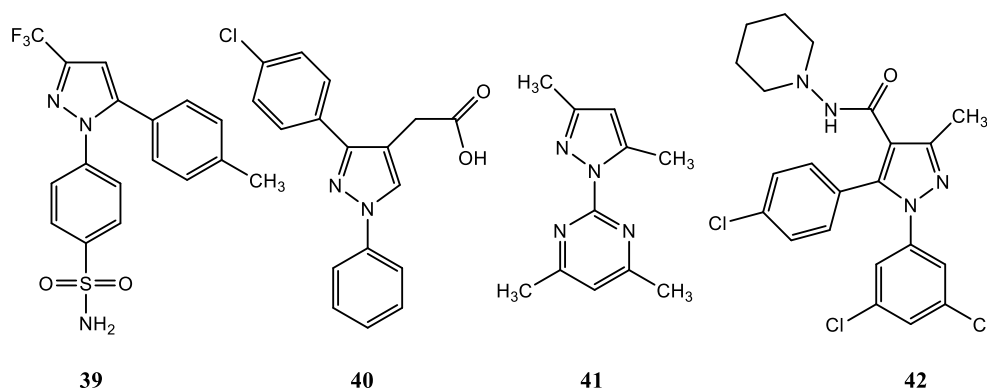
<sup>22</sup> Harigae, R.; Moriyama, K.; Togo, H., Preparation of 3,5-Disubstituted Pyrazoles and Isoxazoles from Terminal Alkynes, Aldehydes, Hydrazines, and Hydroxylamine. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 2049.

<sup>23</sup> Ashok, D.; Devulapally, M.G.; Gundu, S.; Aamate, V. K.; Chintalapally, S., Synthesis and antimicrobial evaluation of novel pyrazole-annulated oxygen-containing macrocycles. *J. Heterocyclic. Chem.* **2016**, 52(8), 609

<sup>24</sup> A. Bekhit, A.; Aziem, T. A., Design, synthesis and biological evaluation of some pyrazole derivatives as anti-inflammatory-antimicrobial agents *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 1935.

<sup>25</sup> Mert, S.; Kasmogullan, R.; Ica, T.; Colak, F.; Altun, A.; Ok, S., Synthesis, structure-activity relationships, and in vitro antibacterial and antifungal activity evaluations of novel pyrazole carboxylic and dicarboxylic acid derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 78, 86.

En effet, la phénazone a été le premier pyrazole commercialisé comme un agent antipyrétique <sup>26</sup>. Maintenant, le potentiel médicinal fascinant du pyrazole pourrait être analysé par les listes de médicaments disponibles sur le marché tels que ; Célécoxib **39** <sup>27</sup>, Lonazolac **40** <sup>28</sup>, Mepirizole **41** <sup>29</sup>, Rimonabant **42** <sup>30</sup> etc.



**Figure I-6.** Médicaments pharmaceutiques contenant une unité pyrazole.

#### a. Activité antibactérienne et antifongique

Le pyrazole est un motif hétérocyclique, qui a été utilisé pour faire l'augmentation de l'infection bactérienne et de la résistance aux antibiotiques <sup>31</sup>, par exemple, Célécoxib **39** est un médicament antibactérien contenant le noyau pyrazole et qui est disponible sur le marché par ce nom <sup>32</sup>, mais toujours il existe un grand besoin de développer de nouveaux médicaments antibactériens.

<sup>26</sup> Siu, A.; Hao, M. H.; Dixit, V.; Lai, W. G., Celecoxib is a substrate of CYP2D6: Impact on celecoxib metabolism in individuals with CYP2C9\*3 variants. *Drug. Metab. Pharmacok.* **2018**.

<sup>27</sup> Abdellatif, K. R. A.; Fadaly, W. A. A.; Elshaier, Y. A. M. M.; Ali, W. A. M.; Kamel, G. M., Non-acidic 1,3,4-trisubstituted-pyrazole derivatives as lonazolac analogs with promising COX-2 selectivity, anti-inflammatory activity and gastric safety profile. *Bioorg. Chem.* **2018**, 77, 568.

<sup>28</sup> Onoa, G. B.; Moreno, V., Study of the modifications caused by cisplatin, transplatin, and Pd(II) and Pt(II) mepirizole derivatives on pBR322 DNA by atomic force microscopy. *Int. J. Pharm.* **2002**, 245, 55.

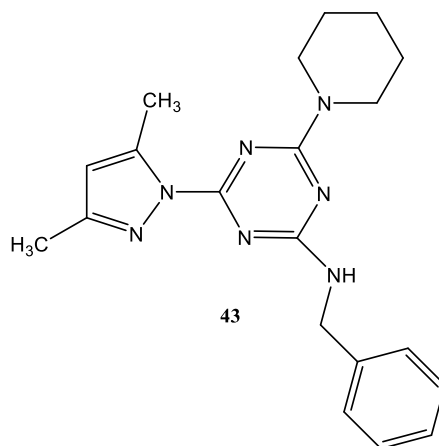
<sup>29</sup> Porcu, A.; Melis, M.; Turecek, R.; Ullrich, C.; Mocci, I.; Bettler, B.; Gessa, G.L.; Castelli, M.P., Rimonabant, a potent CB1 cannabinoid receptor antagonist, is a Gai/o protein inhibitor. *Neuropharmacology*, **2018**, 133, 107-120.

<sup>30</sup> Shi, C.; Ma, C.; Ma, H.; Zhou, X.; Cao, J.; Fan, Y.; Huang, G., *Tetrahedron*, **2016**, 72, 4055.

<sup>31</sup> Aggarwal, V.K.; de Vicente, J.; Bonnert, R.V., A novel one-pot method for the preparation of pyrazoles by 1,3-dipolar cycloadditions of diazo compounds generated in situ. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 5381.

<sup>32</sup> Yadav, J.; Reddy, B.S.; Srinivas, M.; Prabhakar, A.; Jagadeesh, B., Montmorillonite KSF clay-promoted synthesis of enantiomerically pure 5-substituted pyrazoles from 2,3-dihydro-4H-pyran-4-ones. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 6033.

Une nouvelle molécule et ses dérivés de *s*-triazine contenant le cycle pyrazole a été synthétisée par le groupe de Sharma et coll <sup>33</sup>. qui ont étudié son activité antimicrobienne et antifongique contre la croissance de plusieurs micro-organismes. Le composé **43** a montré une activité antibactérienne contre les souches bactériennes : *P. aeruginosa*, *M. luteus* et *S. aureu* résistant à la méthicilline.



**Figure I-7.** Structure du composé antibactérienne et antifongique à base de pyrazole.

### b. Activité anticancéreuse

Globalement, le cancer est la deuxième cause majeure d'augmentation du taux de mortalité après les maladies cardiovasculaires <sup>34</sup> malgré de nombreux traitements tels que la chimiothérapie <sup>35</sup>. Les médicaments contenant un cycle pyrazole ont créé un espace unique dans le domaine de la chimie médicinale en concurrence avec d'autres médicaments pour le traitement du cancer tels que le crizotinib <sup>36</sup> et l'encorafinib <sup>37</sup>. Afin de développer de nouveaux médicaments anticancéreux. Une série de dérivés de 1,4,6,7-tétrahydropyrano [4,3-c] pyrazole

<sup>33</sup> Sharma, A.; Ghabbour, H.; Khan, S.T.; de la Torre, B.G.; Albericio, F.; El-Faham, A., Novel pyrazolyl-*s*-triazine derivatives, molecular structure and antimicrobial activity. *J. Mol. Struct.* **2017**, 1145, 244.

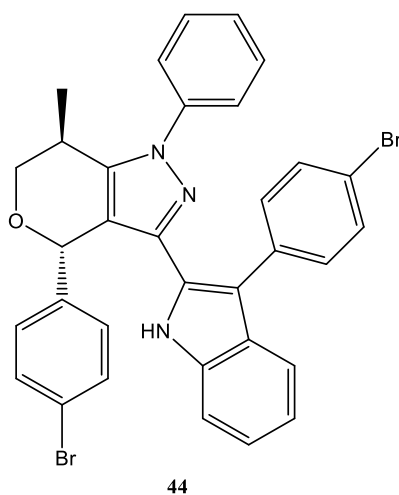
<sup>34</sup> Huang, Y.R.; Katzenellenbogen, J.A., Regioselective synthesis of 1,3,5-triaryl-4-alkylpyrazoles: Novel ligands for the estrogen receptor. *Org. Lett.* **2000**, 2, 2833.

<sup>35</sup> Ponnala, S.; Prasad, S.D., Iodine-Mediated Synthesis of 2-Arylbenzoxazoles, 2-Arylbenzimidazoles, and 1,3,5-Trisubstituted Pyrazoles. *Synth. Commun.* **2006**, 36, 2189.

<sup>36</sup> Rosa, F.A.; Machado, P.; Vargas, P.S.; Bonacorso, H.G.; Zanatta, N.; Martins, M.A. Straightforward and regiospecific synthesis of pyrazole-5-carboxylates from unsymmetrical enaminodiketones. *Synlett.* **2008**, 1673.

<sup>37</sup> He, S.; Chen, L.; Niu, Y.-N.; Wu, L.-Y.; Liang, Y.-M., 1,3-Dipolar cycloaddition of diazoacetate compounds to terminal alkynes promoted by Zn (OTf)<sub>2</sub>: An efficient way to the preparation of pyrazoles. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 2443.

ont été synthétisés et testés *in vitro* pour leur activité antitumorale contre quatre lignées cellulaires cancéreuses humaines (MCF-7, EC-109, HGC -27 et PC-3). Le composé **44** a montré l'activité inhibitrice la plus puissante contre HGC-27 et PC-3 <sup>38</sup>.



**Figure I-8.** Structure du composé anticancéreuse à base de pyrazole.

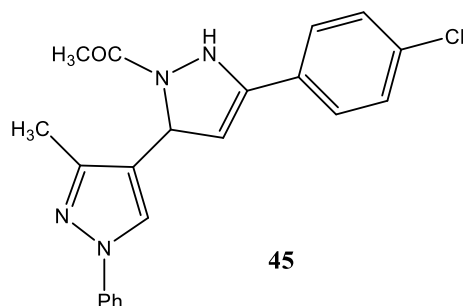
### c. Activité anti-inflammatoire et analgésique

L'utilisation à long terme d'anti-inflammatoires non stéroïdiens devient la cause d'ulcérations gastriques et de saignements <sup>39</sup>. La synthèse d'AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiens) aux effets moins nocifs a attiré l'attention des pharmaciens. L'équipe de Girisha <sup>40</sup> a synthétisé une nouvelle série de 1-acétyl/propyl-3-aryl-5-(5-chloro-3-méthyl-1-phényl-1H-pyrazol-4-yl)-2-pyrazolines et criblé pour les analgésiques et les anti-inflammatoires. Le composé **45** a montré une bonne activité anti-inflammatoire comparable à celle des médicaments standards pentazocine et diclofénac sodique, respectivement.

<sup>38</sup> Wang, F.-Q.; Yang, H.; He, B.; Jia, Y.-K.; Meng, S.-Y.; Zhang, C.; Liu, H.-M.; Liu, F.-W., A novel domino approach for synthesis of indolyl tetrahydropyrano[4,3-*c*] pyrazole derivatives as anticancer agents. *Tetrahedron*. **2016**, *72*, 5769.

<sup>39</sup> Rykowski, A.; Branowska, D., Ring transformation of 3-halo-1,2,4-triazines with  $\alpha$ -chlorocarbanions: A novel route to pyrazoles with sulfonyl, sulfonamido and sulfonyloxy groups. *Heterocycles*. **1996**, *10*, 2095.

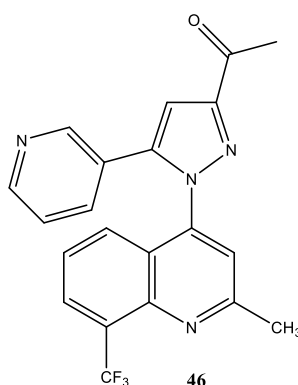
<sup>40</sup> Girisha, K.S.; Kalluraya, B.; Narayana, V.; Padmashree, V., Synthesis and pharmacological study of 1-acetyl/propyl-3-aryl-5-(5-chloro-3-méthyl-1-phényl-1H-pyrazol-4-yl)-2-pyrazoline. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4640.



**Figure I-9.** Structure du composé anti-inflammatoire et analgésique à base de pyrazole.

#### d. Activité antituberculeuse

La conception, la synthèse et l'activité antituberculeuse *in vitro* d'une nouvelle série de pyrazole-3-carboxamides substitués par 8-trifluorométhyl quinoléine (Figure I-10) ont été décrites par Nayak et collaborateurs <sup>41</sup>. Le composé **46** a montré une activité d'inhibition significative contre la souche *M. tuberculosis* H37Rv avec une CMI de 3,13 µg/mL, ce qui est comparable à l'activité du médicament standard, éthambutol.



**Figure I-10.** Structure du composé antituberculeuse à base de pyrazole.

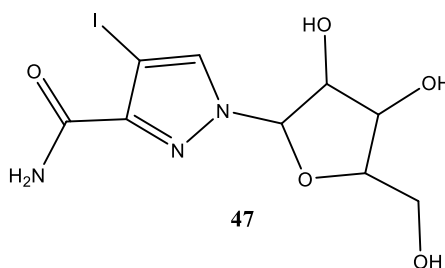
#### e. Activité antivirale

Plusieurs ribonucléozides de pyrazole et de pyrazolo[4,3-*d*]-1,2,3-triazine-4-one (Figure I-11) ont été préparés par le groupe de Manfredini <sup>42</sup> et testés *in vitro* pour les activités

<sup>41</sup> Nayak, N.; Ramprasad, J.; Dalimba, U., Design, Synthesis, and Biological Evaluation of New 8-Trifluoromethylquinoline Containing Pyrazole-3-carboxamide Derivatives. *J. Heterocycl. Chem.* **2017**, 54, 171.

<sup>42</sup> Manfredini, S.; Bazzanini, R.; Baraldi, P.G.; Guarneri, M.; Simoni, D.; Marongiu, M.E.; Pani, A.; La Colla, P.; Tramontano, E., Pyrazole-related nucleosides. Synthesis and antiviral/antitumor activity of some substituted pyrazole and pyrazolo[4,3-*d*]-1,2,3-triazin-4-one nucleosides. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 917.

antivirales contre l'herpès simplex de type 1 (HSV-1), la peste porcine africaine (PPA), la polio, le coxsackie, le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV) et le VIH-1. Parmi les nucléosides pyrazoles, le composé **47** a montré une multiplication sélective et inhibée du VIH-1 dans les cellules C8166 infectées de manière aiguë.

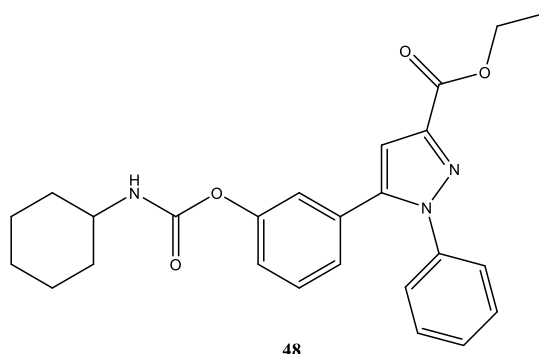


**Figure I-11.** Structure du composé antivirale à base de pyrazole.

#### f. Activité AntiFAAH

La dégradation des neurotransmetteurs par FAAH (fatty acid amide hydrolase) entraînant des douleurs neuropathiques a posé un défi aux scientifiques. Afin de trouver des composés puissants avec des activités inhibitrices souhaitées, en 2015 Tabrizi et ses collègues ont synthétisé une série de dérivés de pyrazole contenant une fraction carbamate de phényl cyclohexyle. Parmi ces composés actifs sélectionnés, le composé **48** (Figure I-12) s'est avéré être l'inhibiteur le plus vigoureux contre la FAAH avec une  $CI_{50} = 11 \mu\text{M}$  encore plus élevée que le médicament de référence CAY10499 ( $CI_{50} = 14 \mu\text{M}$ )<sup>43</sup>.

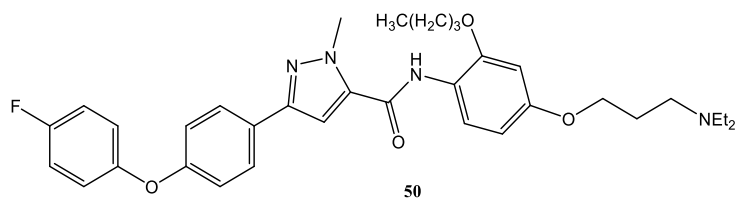
<sup>43</sup> Rahimizadeh, M.; Pordel, M.; Bakavoli, M.; Rezaeian, S.; Sadeghian, A., Synthesis and antibacterial activity of some new derivatives of pyrazole. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, 26, 317.



**Figure I-12.** Structure du composé AntiFAAH à base de pyrazole.

### g. Activité anti-Alzheimer

Dans un effort pour développer de nouveaux inhibiteurs du récepteur des produits finaux de glycation avancée (RAGE) pour le traitement de la maladie d'Alzheimer, une série de pyrazole-5-carboxamides a été synthétisée par Han et collaborateurs évalué pour l'activité anti-Alzheimer. Les résultats ont indiqué que les analogues les plus actifs **50** présentaient des activités inhibitrices plus élevées et présentaient des effets significatifs de réduction de l'A $\beta$ -cérébral dans le cerveau ainsi qu'une solubilité aqueuse favorable <sup>44</sup>.



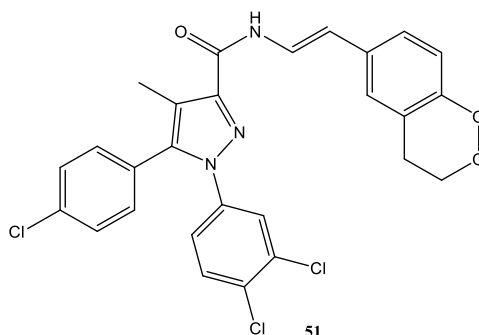
**Figure I-13.** Structure du composé anti-Alzheimer à base de pyrazole.

### h. Activité antidiabétique

L'équipe de Hernández-Vázquez ont rapporté la conception, la synthèse et l'activité antidiabétique de nouveaux N'-arylidène pyrazole-3-carbohydrazides (Figure I-14). Le composé **51** a présenté un effet hypoglycémiant remarquable avec une réduction de 90 % de la glycémie plasmatique <sup>45</sup>.

<sup>44</sup> Han, Y.T.; Kim, K.; Choi, G.-I.; An, H.; Son, D.; Kim, H.; Ha, H.-J.; Son, J.-H.; Chung, S.-J.; Park, H.-J., Pyrazole-5-carboxamides, novel inhibitors of receptor for advanced glycation end products (RAGE). *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 79, 128.

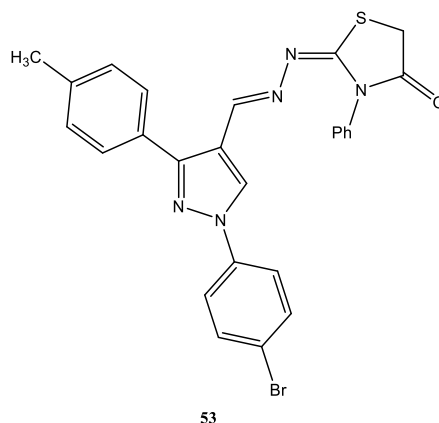
<sup>45</sup> Hernández-Vázquez, E.; Salgado-Barrera, S.; Ramírez-Espinosa, J.J.; Estrada-Soto, S.; Hernández-Luis, F., Synthesis and molecular docking of N'-arylidene-5-(4-chlorophenyl)-1-(3,4-dichlorophenyl)-4-methyl-



**Figure I-14.** Structure du composé antidiabétique à base de pyrazole.

### i. Activité antipaludique

Une nouvelle série de dérivés du pyrazole a été synthétisée et évaluée pour leur activité antipaludique *in vivo* contre des souris infectées par *Plasmodium berghei* et les dérivés les plus actifs ont été examinés plus avant pour leur activité antipaludique *in vitro* contre la souche résistante à la chloroquine (RKL9) de *Plasmodium falciparum*. Le composé **53** avait plus de 90 % d'activité de suppression des parasites par rapport à celle trouvée avec le médicament standard de référence antipaludique, le phosphate de chloroquine et avait des valeurs  $IC_{50}$  inférieures à celles de la chloroquine <sup>46</sup>.



**Figure I-15.** Structure du composé antipaludique à base de pyrazole.

1Hpyrazole-3-carbohydrazides as novel hypoglycemic and antioxidant dual agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, 24, 2298.

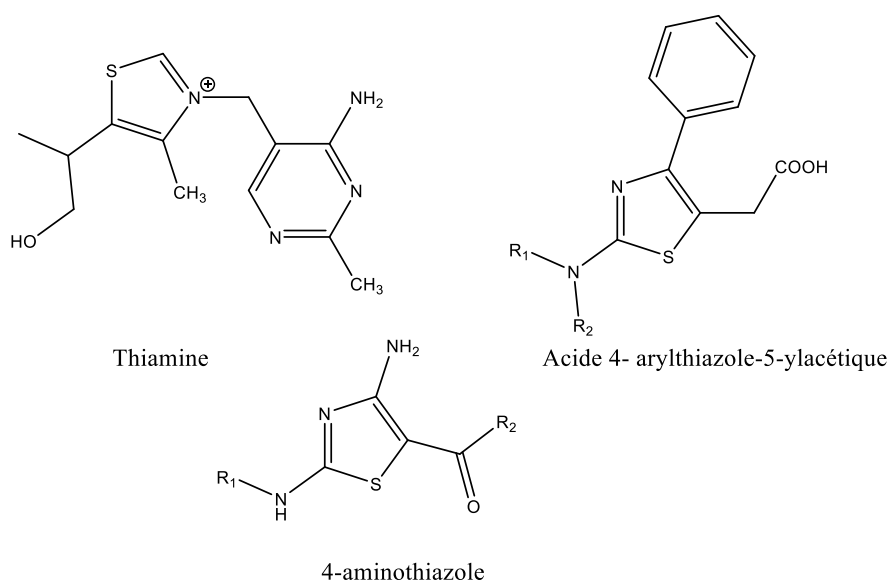
<sup>46</sup> Bekhit, A.A.; Hassan, A.M.M.; Abd El Razik, H.A.; El-Miligy, M.M.M.; El-Agroudy, E.J.; Bekhit, A.E.-D.A. New heterocyclic hybrids of pyrazole and its bioisosteres: Design, synthesis and biological evaluation as dual acting antimalarial-antileishmanial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 94, 30.



## I-2. Étude bibliographique sur le noyau thiazole

### I-2.1. Les méthodes de synthèse de cycle thiazole

Le noyau thiazole se rencontre dans de nombreux et divers produits naturels <sup>47,48</sup> et pharmaceutiques et médicinales <sup>49,50</sup> avec un large éventail d'activités biologiques. Comme, la vitamine B1 (thiamine) <sup>51</sup>, l'acide 4-arylthiazole-5-ylacétique et 4-aminothiazole ont aussi montré une activité antioxydante importante et anti-inflammatoire <sup>52</sup> (Figure I-16). Les thiazoles constituent l'un des groupes de composés les plus considérés dans la chimie hétérocyclique, leur structure est présente dans divers domaines thérapeutiques, biologiques et agricoles.



**Figure I-16.** Exemples de molécules thiazoliques dans divers produits pharmaceutiques.

<sup>47</sup> Takahashi, M.; Shinamoto, T., Chemical compositions and antioxidant/ anti-inflammatory activities of steam distillate from freeze-dried onion (*Allium cepa* L.) Sprout. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 10462.

<sup>48</sup> Nielsen, D. S.; Hoang, H. N.; Lohman, R.; Diness, F.; Fairlie, D. P., Total synthesis, structure, and oral absorption of a thiazole cyclic peptide, sanguinamide A. *Org. Lett.* **2012**, 14, 5720.

<sup>49</sup> Andreani, A.; Rambaldi, M.; Leoni, A.; Locatelli, A.; Bossa, R.; Fraccari, A.; Galatulas, I.; Salvatore, G., Potential antitumor agents. 24.1 synthesis and pharmacological behavior of imidazo[2,1-b]thiazole guanylylhydrazones bearing at least one chlorine. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 2852.

<sup>50</sup> Kelly, W. L.; Hillson, N. J.; Walsh, T. C., Excision of the epothilone synthetase B cyclization domain and demonstration of in trans condensation/cyclodehydration activity. *Biochemistry.* **2005**, 44, 13385.

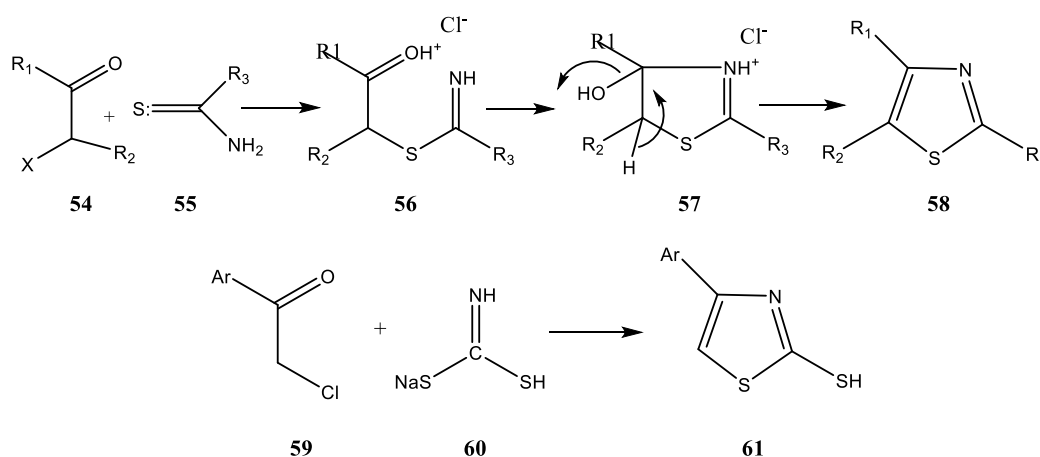
<sup>51</sup> Siddiqui, N.; Arshad, M. F.; Ahsan, W.; Alam, M. S., Thiazoles : a valuable insight into the recent advances and biological activities. *Int J Pharm Sci Drug Res.* **2009**, 1(3), 136.

<sup>52</sup> Hirai, K.; Hugimoto, H., Syntheses of 2-disubstituted-amino-4-arylthiazol-5-ylalkanoic acids. *Chem. Pharm. Bull.* **1977**, 25, 2292.

Il existe de nombreux protocoles pour la construction du système cyclique thiazole, dans cette partie, nous présentons diverses voies de synthèse permettant l'accès aux cycles thiazoliques substitués telles que présentées dans la littérature.

### a. La synthèse de Hantzsch

Hantzsch <sup>53</sup> a rapporté la première synthèse de thiazole en 1887 par la réaction de  $\alpha$ -halocétone ou de l'aldéhyde avec le thioamide. Le dithiocarbonate d'ammonium est également utilisé à la place des thioamides pour la synthèse de dérivés de thiazole.



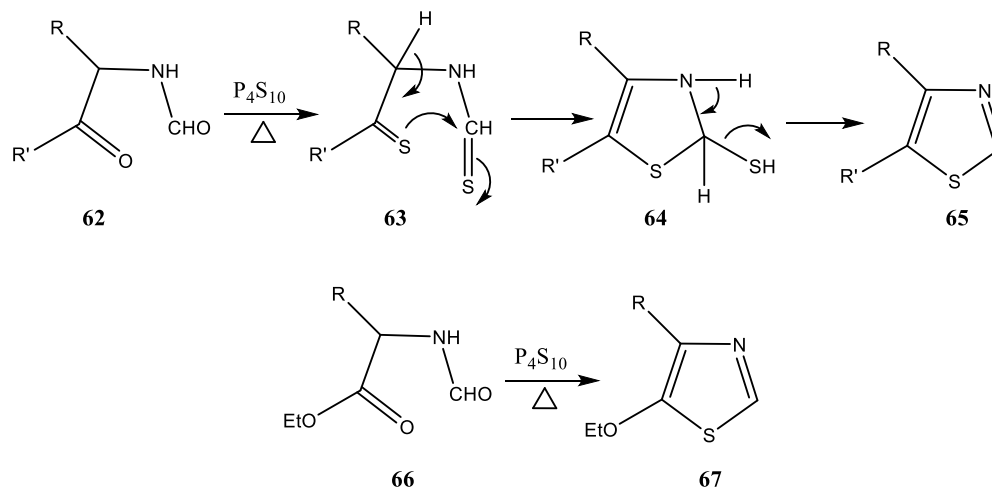
**Schéma I-10.** La synthèse de Hantzsch de dérivé de thiazole.

### b. Synthèse de Gabriel

La synthèse de Gabriel <sup>54</sup> est une méthode importante est très utilisée pour la synthèse des motifs thiazoliques substitués en C-2 et C-5 a été préparé à partir de la réaction de  $\alpha$ -acylaminoacétone ou d'aminoacétale dans la resence d'une quantité quatalitique de pentasulfure de phosphore  $P_4S_{10}$  (Schéma I-11).

<sup>53</sup> Bramley, S. E.; Dupplin, V.; Goberdhan, D. G.; & Meakins, G. D., The Hantzsch thiazole synthesis under acidic conditions : change of regioselectivity. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. **1987**, 639-643.

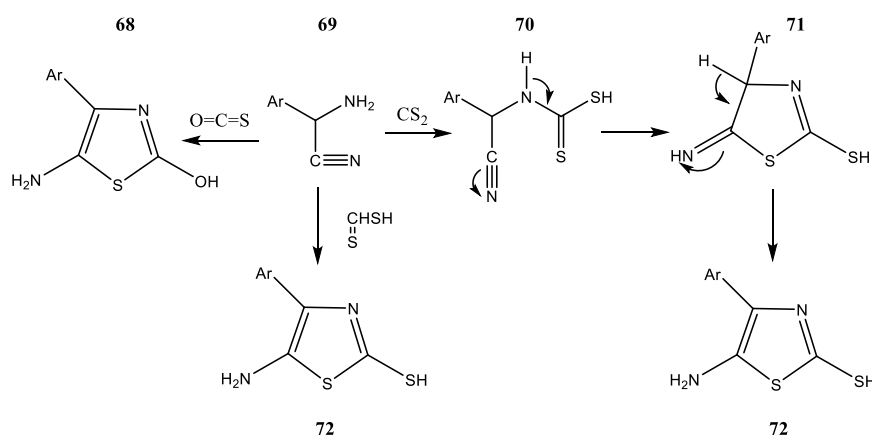
<sup>54</sup> Mishra, C. B.; Kumari, S.; Tiwari, M., Thiazole: A promising heterocycle for the development of potent CNS active agents. *European journal of medicinal chemistry*. **2015**, 92, 1-34.



**Schéma I-11.** La synthèse de Gabriel de dérivé thiazolique

### c. Synthèse de Cook-Heilborn

La synthèse de Cook-Heilborn<sup>55</sup> est un protocole polyvalent pour la construction de 5-aminothiazole à partir de la réaction de  $\alpha$ -aminonitrile avec du dithioacide ou des esters dans le disulfure de carbone, oxysulfure de carbone, et isothiocyanates à température ambiante. La réaction nécessite des conditions très douces. Le mécanisme réactionnel se fait par l'attaque nucléophile des électrons de soufre à l'atome de carbone du nitrile qui formant une liaison sigma soufre-carbone dans une cyclisation intramoléculaire pour former un composé 5-imino-thiazole (Schéma I-12)

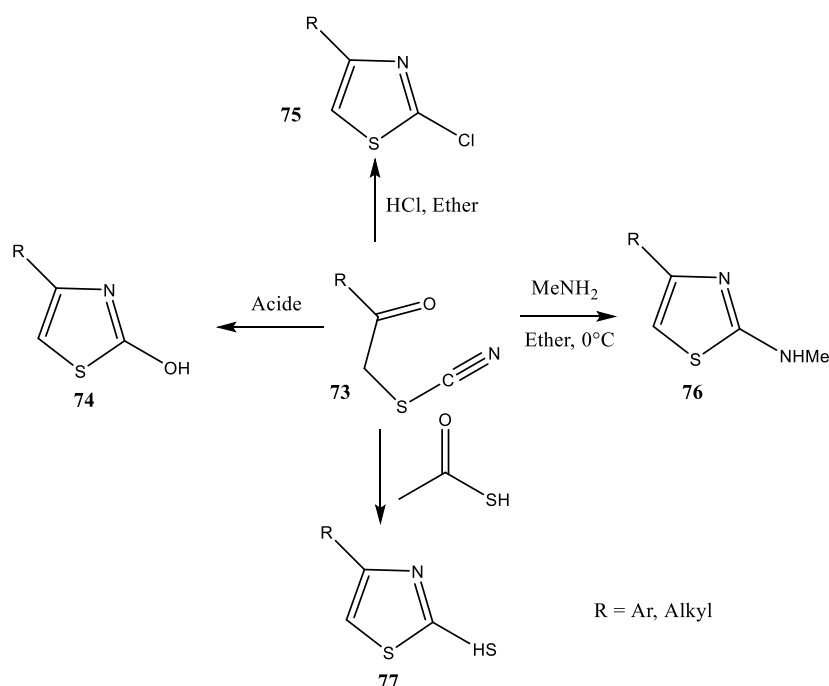


**Schéma I-12.** La synthèse de Cook-Heilborn de dérivé de thiazole.

<sup>55</sup> Li, J. J., Name reactions in heterocyclic chemistry, *John Wiley & Sons*, 2004, Vol. 3.

#### d. Synthèse de Tcherniac

La cyclisation intramoléculaire de  $\alpha$ -thiocyanatocétone dans l'acide chlorhydrique (HCl) dans un milieu aqueux a permis de donner le 2-hydroxy-4-aryl/alkylthiazole **74**, tandis que la cyclisation dans l'acide chlorhydrique HCl étheré sec a produit le 2-chloro-4-aryl/alkylthiazole **75**. En revanche, la réaction de  $\alpha$ -thiocyanatocétone avec la méthylamine comme une base dans l'éther à 0°C a permis de former le 2-méthylamino-4-aryl/alkylthiazole **76**. Cependant, la cyclisation en présence de thioacide a donné le 2-mercapto-4-arylthiazole **77**<sup>56</sup> comme le montre le (Schéma I-13)



**Schéma I-13.** La synthèse de Tcherniac de dérivé de thiazole.

Le traitement des N, N-diformylaminométhyl-aryl-cétones **78** dans la présence de  $\text{P}_2\text{S}_5$  et de la triéthylamine dans le chloroforme comme un solvant a permis de donner directement le 5-arylthiazole **79** avec de bons rendements<sup>57</sup>.

<sup>56</sup> Tcherniac, J., Berichte. **1892**, 25, 2067.

<sup>57</sup> Sheldrake, P. W.; Matteucci, E.; McDonald, E., Facile Generation of a Library of 5-Aryl-2-arylsulfonyl-1,3-thiazoles, *Synlett* **2006**, 460.

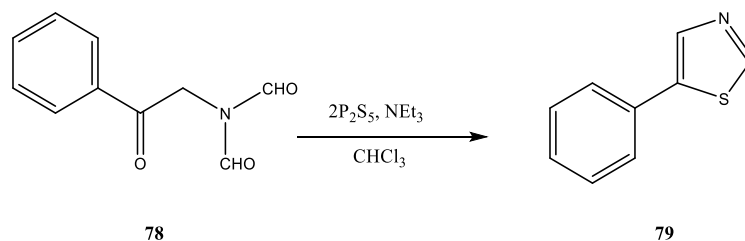


Schéma I-14. Synthèse des 5-aryltiazole.

La condensation de deux composants catalysés par l'iodure cuivreux d'aldoximes, d'anhydride et de thiocyanate de potassium (KSCN) dans du toluène à 120 °C a fourni des thiazoles 2,5-disubstitués **82** avec de bons rendements dans des conditions de réaction très douces (schéma I-15) <sup>58</sup>.

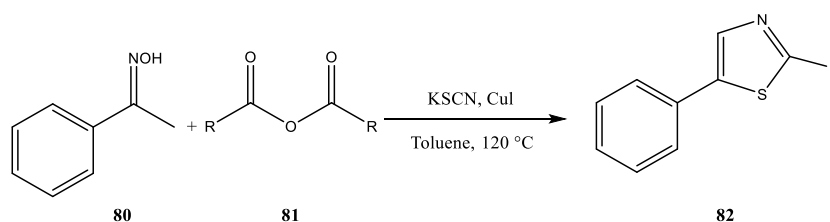


Schéma I-15. Synthèse des thiazoles 2,5-disubstitués.

Les 5-aryl-2-aminothiazoles **85** ont été synthétisés par une réaction de cyclisation catalysée par l'acétate de Pd (II) d'azotures de vinyle et de thiocyanates de potassium dans la présence de bromure de Fe (III) comme promoteur <sup>59</sup>.

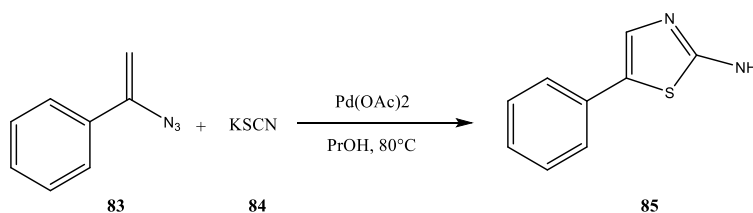
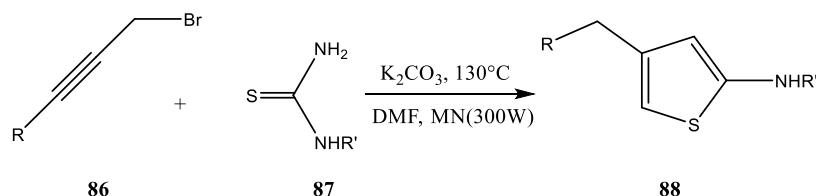


Schéma I-16. Synthèse de 5-aryl-2-aminothiazole à partir d'azotures de vinyle.

<sup>58</sup> Tang, X.; Yang, J.; Zhu, Z.; Zheng, M.; Wu, W.; Jiang, H., Access to Thiazole via Copper-Catalyzed [3+1+1]-Type Condensation Reaction under Redox-Neutral Conditions *J. Org. Chem.* **2016**, 81, 11461.

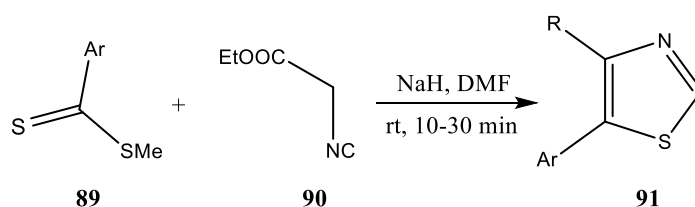
<sup>59</sup> Castagnolo, D.; Pagano, M.; Bernardini, M.; Botta, M., Domino Alkylation-Cyclization Reaction of Propargyl Bromides with Thioureas/Thiopyrimidinones: A New Facile Synthesis of 2-Aminothiazoles and 5H-thiazolo[3,2-a]pyrimidin-5-ones. *Synlett.* **2009**, 2093.

L'alkylation et la cyclisation de bromure de propargyle **86** avec la thiourée **87** a donné des 2-aminothiazole sous irradiation aux micro-onde cette réaction est régiosélective <sup>60</sup>.



**Schéma I-17.** Synthèse des 2-aminothiazoles.

Une synthèse simple et efficace de thiazoles 4,5-disubstitué **91** a été rapportée par la cyclisation induite par une base d'isocynoacétate d'éthyle **90** avec des arèncarbodithioate **89** dans des conditions douces et avec de bons rendements (Schéma I-18) <sup>61</sup>.



**Schéma I-18.** Synthèse des thiazoles 4,5-disubstitué.

## I-2.2. Propriétés biologiques des dérivés thiazoliques

De nombreux composés organiques à activité biologique contiennent des motifs de thiazole dans leur squelette. Les thiazoles sont présents dans de nombreux produits naturels tels que les métabolites secondaires des organismes végétaux et marins. Les activités biologiques de ces thiazoles ont été évaluées et étudiées en tant que sont des principes actifs utilisés pour fabriquer de nouveaux médicaments.

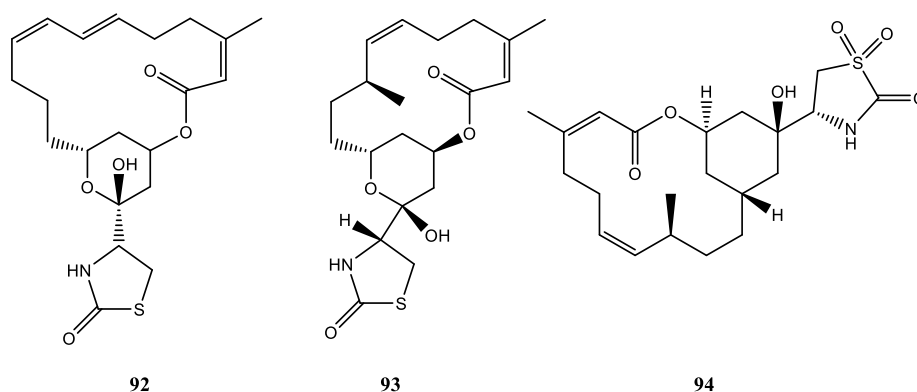
A titre d'exemple, les dérivés de latrunculine A, B et oxalatrunculine B (**92-94**) sont mesurés biologiquement comme inhibiteurs pour une tumeur de la prostate et comme activateurs de HIF-1 pour une tumeur du sein <sup>62,63</sup>.

<sup>60</sup> Chen, B.; Guo, S.; Guo, X.; Zhang, G.; Yu, Y., Selective Access to 4-Substituted 2-Aminothiazoles and 4-Substituted 5-Thiocyano-2-aminothiazoles from Vinyl Azides and Potassium Thiocyanate Switched by Palladium and Iron Catalysts *Org. Lett.* **2015**, 17, 4698.

<sup>61</sup> Lingaraju, G. S.; Swaroop, T. R.; Vinayaka, A. C.; Kumar, K. S. S.; Sadashiva, M. P.; Ragappa, K. S., Synthesis, 2012, 44, 1373-1379.

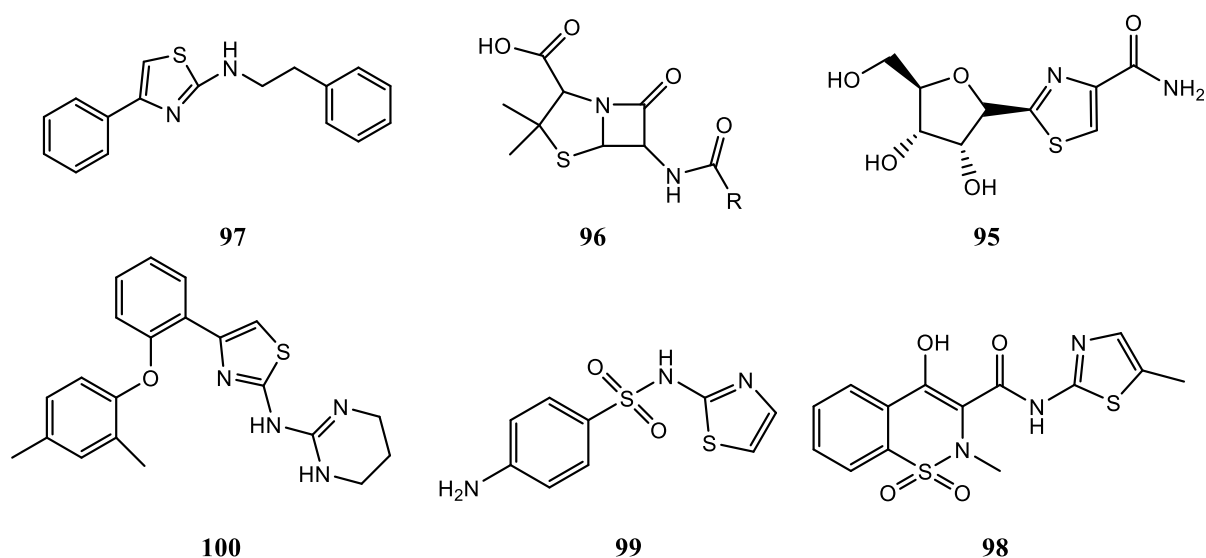
<sup>62</sup> Rouf, A.; Tanyeli, C., Bioactive thiazole and benzothiazole derivatives, *Eur. J., Med. Chem.* **2015**, 97, 911.

<sup>63</sup> Jin, Z., Muscarine, imidazole, oxazole, and thiazolealkaloids, *Nat. Prod. Rep.* **2011**, 28, 1143.



**Figure I-17.** Médicaments pharmaceutiques contenant une unité thiazole.

Les thiazoles sont d'une grande importance en pharmacologie et thérapeutiques, du fait de leurs caractéristiques structurales et leurs activités biologiques diverses comme néoplasiques **95**, des antibiotiques **96**, des anti-inflammatoires **97**, des anti-ulcéreux **98**, des antimicrobiens **99**, des antifongiques **100** et bien d'autres <sup>64</sup> (Figure I-18).



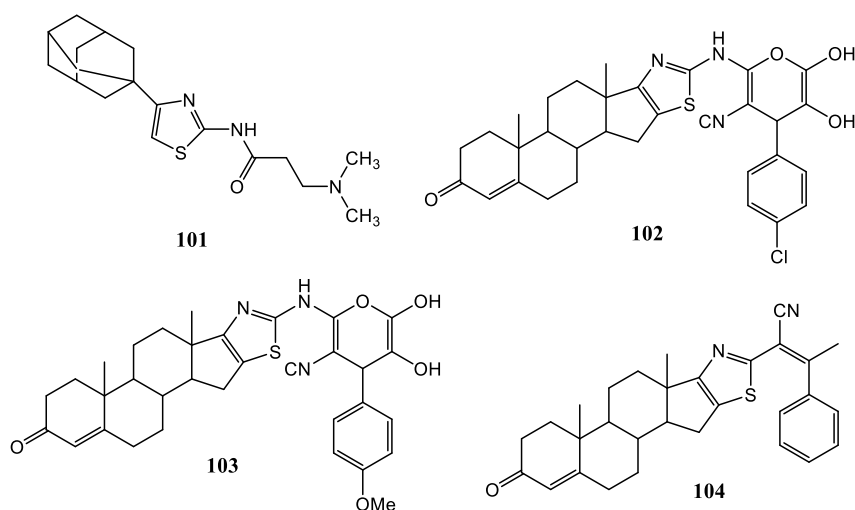
**Figure I-18.** Structure du composé antibactérienne et antifongique à base de thiazole.

La plupart des composés contenant du thiazole biologiquement actif ont des substitutions aux positions 2 et 4 ou à l'une d'entre elles. Il a été constaté que ces substitués

<sup>64</sup> Arora, P.; Narang, R.; Nayak, S.; Singh, S.; Judge, V., 2, 4-Disubstituted thiazoles as multitargeted bioactive molecules *Med. Chem. Res.* **2016**, 25, 1717.

confèrent aux composés des propriétés biologiques différentes en fonction de la différence des substitués eux-mêmes.

L'équipe de Kouatly et al.<sup>65</sup> ont préparé des composés contenant le fragment thiazole **101** dans sa structure pour mesurer ses propriétés anti-inflammatoires. En effet, Mohareb et al.<sup>66</sup> ont préparé une série de composés (**102-104**) contenant le cycle thiazolique et mesuré son pouvoir inflammé.



**Figure I-19.** Structure du composé anti-inflammatoire à base de thiazole.

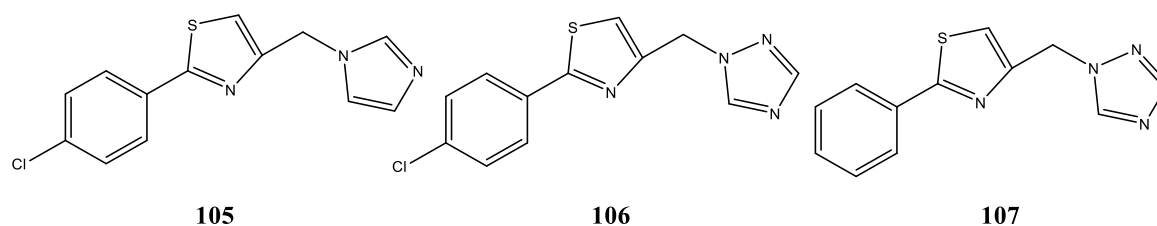
Les composés (**105-107**)<sup>67</sup> ont présenté une activité anticonvulsivante élevée lorsque cette activité a été mesurée *in vivo* chez les souris à l'aide des modèles d'électrochoc maximal (MES) et de pentylène-tétrazole (PTZ) comme le montre (Figure I-20).

<sup>65</sup> Kouatly, O.; Geronikaki, A.; Kamoutsis, C.; Hadjipavlou-Litina, D.; Eleftheriou, P., Adamantane derivatives of thiazolyl-*N*-substituted amide, as possible non-steroidal anti-inflammatory agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1198–1204.

<sup>66</sup> Mohareb, R.; Zaki, M.; Abbas, N., Synthesis, anti-inflammatory and anti-ulcer evaluations of thiazole, thiophene, pyridine and pyran derivatives derived from androstenedione, *Steroids* **2015**, *98*, 98.

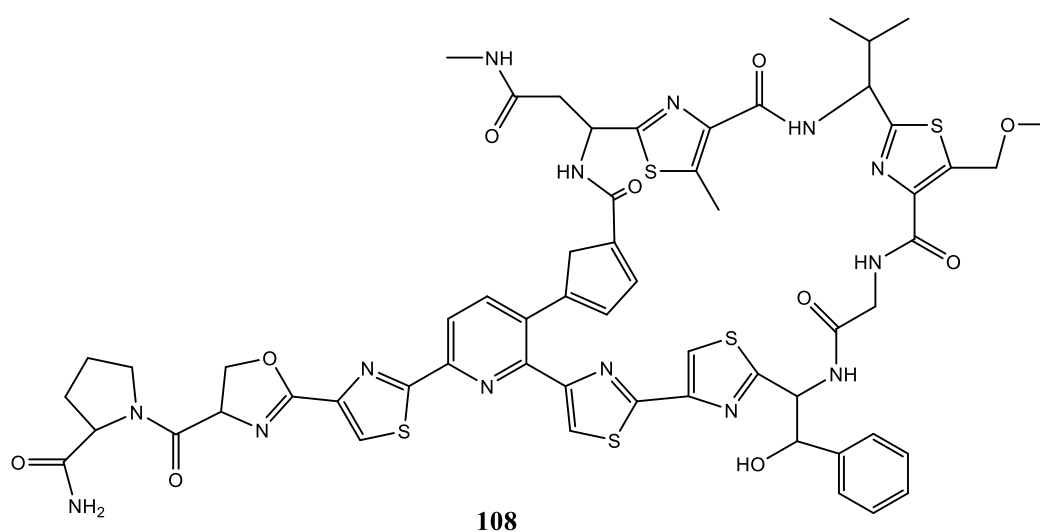
<sup>67</sup> Ahangar, N.; Ayati, A.; Alipour, E.; Pashapour, A.; Foroumadi, A.; Emami, S. Chem., 1-[(2-arylthiazol-4-yl)methyl]azoles as a new class of anticonvulsants: design, synthesis, *in vivo* screening, and *in silico* drug-like properties, *Biol. Drug Des.* **2011**, *78*, 844.





**Figure I-20.** Structure du composé anticonvulsivante à base de thiazole

Le composé **108** a été étudié pour ses propriétés biologiques et s'est avéré inhiber la croissance de deux bactéries, les *staphylocoques* résistants à la méthicilline (SARM) et les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) ce qui montre l'effet antibactérienne de ce composé <sup>68</sup>.

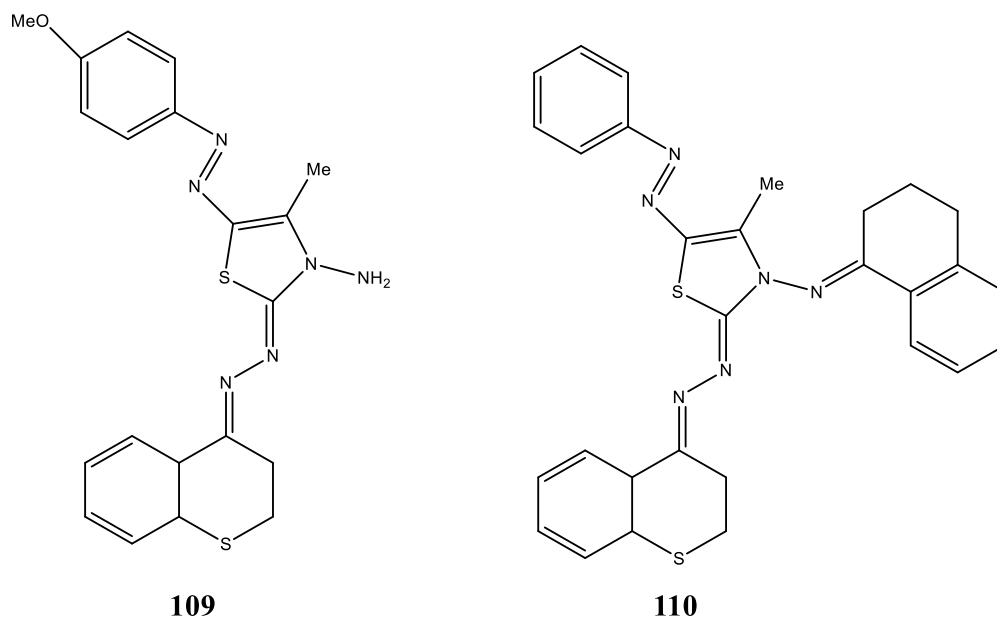


**Figure I-21.** Structure du composé antibactérienne à base de thiazole

Fargaly et al. <sup>69</sup> ont étudié les propriétés biologiques des composés **109** et **110**. Ceux-ci ont montré une activité antifongique contre le *Syncephalastrum racemosum* (SR) supérieure à celle du médicament qui bien connu, l'amphotéricine B, et similaire à la gentamicine.

<sup>68</sup> Rouf, A.; Tanyeli, C. Bioactive thiazole and benzothiazole derivatives, *Eur. J., Med. Chem.* **2015**, 97, 911.

<sup>69</sup> Farghaly, T. A.; Abdallah, M. A.; Khedr, M. A.; Mahmoud, H. K. J., *Heterocycl. Chem.* **2017**, 54, 2417.



**Figure I-22.** Structure des composés antifongique à base de thiazole

## Conclusion

Nous avons également vu que ces types de composés hétérocycliques soit pyrazole ou thiazole présentaient différentes activités biologiques et pharmacologiques importantes telles que des propriétés antibactérienne, antifongique, anticancéreux, anti Alzheimer et antiinflammatoire...ect.

Il est intéressant de remarquer la richesse bibliographique qui été disponible autour de l'étude de ces familles pyrazolique et thiazolique. Ce chapitre permet de donner un aperçu sur l'étude bibliographique des hétérocycles des motifs de choix en ce qui concerne les challenges et les méthodes synthétiques et l'évaluation biologique. Ceci justifie amplement notre présente contribution dans cette partie.

# CHAPITRE II

## Méthodes et Techniques

## II. Introduction

Les différentes méthodes de caractérisation physico-chimique telles que les méthodes chromatographiques et spectroscopiques, nous permettent de faire des analyses quantitatives et qualitatives pour connaître les propriétés des échantillons comme : la composition chimique, la structure moléculaire, la radioactivité, les interactions entre molécules les échantillons ect...

Ce chapitre est consacré aux différentes techniques d'analyse utilisées pour déterminer, caractériser et évaluer les activités biologiques *in vitro* et déterminer le type d'interaction des liaisons par le docking moléculaire et aussi l'étude computationnel par l'utilisation de DFT.

### II.1. Contexte théorique des techniques spectroscopiques expérimentales utilisées

#### II.1.1. Spectrophotométrie UV-vis

La spectroscopie d'absorption l'UV - Visible est une méthode analytique quantitative basée sur les transitions électroniques résultant de l'absorption des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée, elle est utilisée pour mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique en utilisant une lumière sensiblement monochromatique <sup>70</sup>.

Le domaine de la spectroscopie UV s'étend de  $\{\lambda = 10 \text{ nm} - 400 \text{ nm}\}$  mais le domaine de la lumière visible de  $\{\lambda = 400 \text{ nm} - 800 \text{ nm}\}$

La spectroscopie UV-Visible se réalise à l'aide d'un spectrophotomètre. Lorsque la cuve contenant l'échantillon diluée de concentration définie à analyser est placée dans un spectroscope, elle reçoit un rayonnement d'intensité  $I_0$ , une partie de cette lumière incidente est absorbée ( $I_0$ ) et le reste transmis ( $I$ ). La fraction de la lumière incidente absorbée par la substance analysée contenue dans une cuve de longueur  $l$  est donnée par la loi de Beer-Lambert <sup>71</sup>.

$$A = \log (I_0/I) = \epsilon l C$$

- Où A : Absorbance autrefois appelée densité optique (D.O.) (Sans unité).
- I : Intensité du faisceau lumineux transmis.
- $I_0$  : Intensité du faisceau lumineux incident.

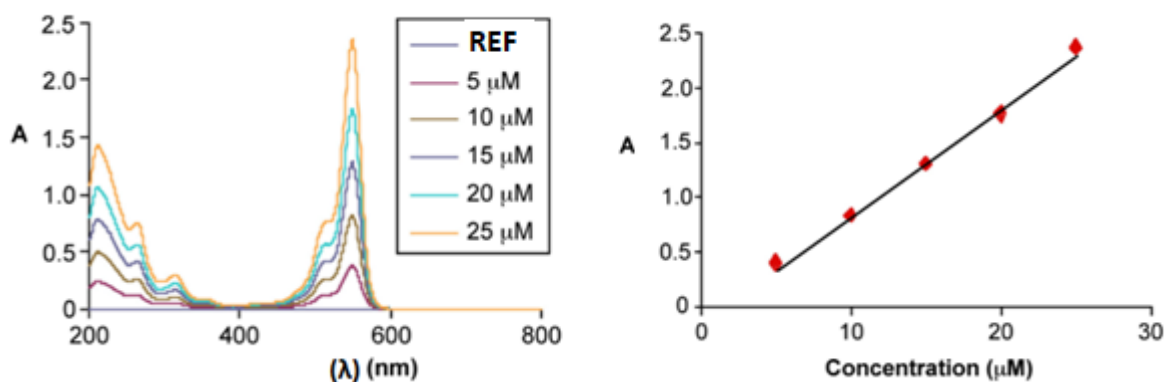
<sup>70</sup> Rao, C.N.R., Ultra-Violet and Visible Spectroscopy Butterworths, London, 1967.

<sup>71</sup> Silverstein, R.M., Identification spectrométrique de composés organiques, 1968.

- $\epsilon$  : Le coefficient d'extinction molaire (coefficient d'absorption molaire) ( $\epsilon$  est en  $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ), si  $C$  en  $g/L$  ( $\epsilon$  est en  $L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$ ).
- $l$  : La largeur (épaisseur) de cuve en  $cm$ .
- $C$  : La concentration de la solution ( $mol \cdot L^{-1}$ ).

L'analyse spectrale dans le domaine UV-visible effectué à l'aide du spectrophotomètre qui est un appareil d'absorption l'UV-visible à mono faisceau. Le principe est de préparer la solution de produit qui est dissout dans un solvant polaire ou apolaire mais le solvant utilisé ne doit pas absorber les rayonnements UV dans le domaine choisi, puis versé dans une cuve qui sera placée dans le spectromètre.

Les données spectroscopiques UV-vis peuvent donner des informations qualitatives et quantitatives sur un composé ou une molécule étudiée. Indépendamment du fait que des informations quantitatives ou qualitatives sont requises, il est important d'utiliser une cellule de référence pour mettre à zéro l'instrument pour le solvant dans lequel se trouve le composé. Pour des informations quantitatives sur le composé, étalonner l'instrument en utilisant des concentrations connues du composé en question dans une solution avec le même solvant que l'échantillon inconnu serait nécessaire. Si les informations nécessaires sont simplement la preuve qu'un composé se trouve dans l'échantillon en cours d'analyse, une courbe d'étalonnage ne sera pas nécessaire ; cependant, si une étude ou une réaction de dégradation est en cours et qu'une concentration du composé en solution est requise, une courbe d'étalonnage est donc nécessaire.



**Figure II-1.** Spectres UV-vis de différentes concentrations d'un colorant.

Cette technique peut également être utilisée dans de nombreux domaines d'industries. Par exemple, la mesure de l'indice de couleur est utile pour contrôler l'huile de transformateur comme mesure préventive pour s'assurer que l'énergie électrique est fournie en toute sécurité.

Dans le domaine médical comme la mesure de l'absorbance de l'hémoglobine pour déterminer les concentrations d'hémoglobine qui peut être utilisée dans la recherche sur le cancer <sup>72</sup>.

La spectroscopie UV-Vis peut être utilisée dans des études cinétiques de traitement des eaux et de contrôle pour s'assurer que certains colorants ou sous-produits de colorants ont été correctement éliminés en comparant leurs spectres en fonction du temps <sup>73</sup>. Elle trouve également une grande utilité dans l'analyse de l'authenticité des aliments et le contrôle de la qualité de l'air.

La spectroscopie UV-Vis est aussi qualitativement utile dans certaines recherches plus spécialisées. Le suivi des changements de la longueur d'onde correspondant au pic d'absorbance est utile pour examiner les modifications structurales spécifiques des protéines <sup>74</sup> et pour déterminer la composition des piles <sup>75</sup>. Les changements de longueur d'onde du pic d'absorbance peuvent également être utiles dans des applications plus modernes telles que la caractérisation de très petites nanoparticules <sup>76</sup>. Les applications de cette technique sont variées et apparemment sans fin.

### II.1.2. Spectrophotométrie Infra-rouge

La spectroscopie infrarouge est une méthode importante qui donne des informations sur la structure d'un composé ou un matériau. Contrairement à la spectroscopie UV-vis. Qui comprend relativement peu de pics, cette technique fournit un spectre contenant un grand

---

<sup>72</sup> Brown, J.Q.; Vishwanath, K.; Palmer, G.M.; Ramanujam, N., Advances in quantitative UV-visible spectroscopy for clinical and pre-clinical application in cancer. *Curr Opin Biotechnol.* **2009**, 20,119.

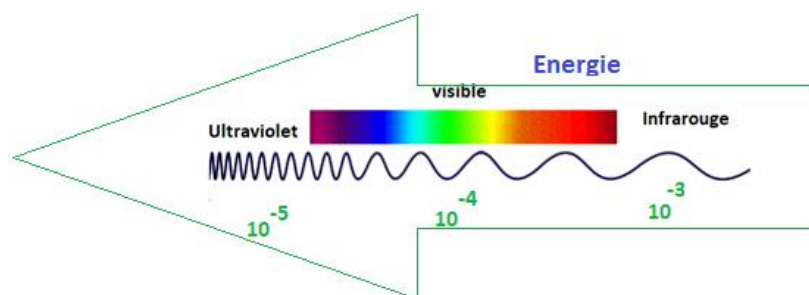
<sup>73</sup> Pinheiro, H.M.; Touraud, E.; Thomas, O., Aromatic amines from azo dye reduction: status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters. *DyesPigm.* **2004**, 61,121.

<sup>74</sup> Kristo, E.; Hazizaj, A.; Corredig, M., Structural Changes Imposed on Whey Proteins by UV Irradiation in a Continuous UV Light Reactor. *J Agric Food Chem.* **2012**, 60, 6204.

<sup>75</sup> Patel, M.U.M.; Demir-Cakan, R.; Morcrette, M.; Tarascon, J-M.; Gaberscek, M. ; Dominko, R., Li-S Battery Analyzed by UV/Vis in Operando Mode. *Chem.Sus. Chem.* **2013**, 6, 1177.

<sup>76</sup> Begum, R.; Farooqi, Z.H.; Naseem, K.; Ali, F.; Batool, M.; Xiao, J.; Irfan, A., Applications of UV/Vis Spectroscopy in Characterization and Catalytic Activity of Noble Metal Nanoparticles Fabricated in Responsive Polymer Microgels: A Review. *Crit Rev Anal Chem.* **2018**, 48, 503.

nombre de bandes d'absorption qui montre une multitude d'informations sont fournies sur la structure du composé soit organique ou inorganique. Le spectre infrarouge ordinaire s'étend de  $2,5 \mu$  à  $15 \mu$ . La région de  $0,8 \mu$  à  $2,5 \mu$  est appelée région infrarouge proche. Et celle de  $15 \mu$  à  $200 \mu$  est appelée infrarouge lointaine <sup>77</sup>.



**Figure II-2.** Effet du rayonnement électromagnétique sur les molécules

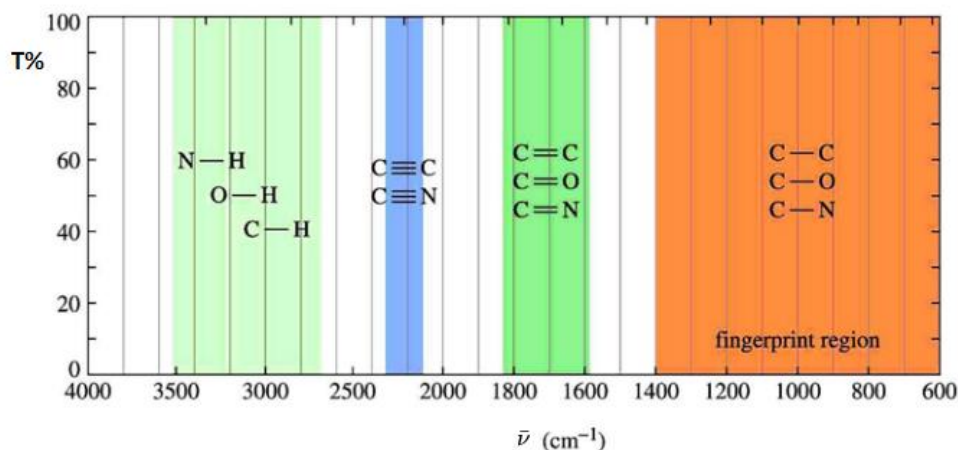
L'absorption du rayonnement infrarouge provoque l'excitation de la molécule du niveau vibratoire inférieur au niveau supérieur. Nous savons que chaque niveau vibrationnel est associé à un certain nombre de niveaux de rotation espacés. Il est clair que le spectre infrarouge est considéré comme un spectre vibrationnel - rotationnel. Toutes les liaisons d'une molécule ne sont pas capables d'absorber le rayonnement infrarouge, mais seules celles qui sont accompagnées d'un changement du moment dipolaire absorbent dans la région infrarouge. Ces transitions vibrationnelles qui sont accompagnées d'un changement du moment dipolaire de la molécule sont appelées transitions actives infrarouges. Elles sont donc responsables de l'absorption de l'énergie dans la région infrarouge, tandis que ces transitions qui ne sont pas accompagnées d'un changement du moment dipolaire ne sont pas directement observées.

D'autre part, les transitions vibrationnelles qui ne sont pas accompagnées d'un changement de moment dipolaire ne sont pas directement observées et sont inactives dans le domaine infrarouge. Mais les transitions dans les liaisons carbone-carbone et les transitions vibrationnelles des bandes C=O, N-H, O-Hétérocycle sont accompagnées d'un changement du moment dipolaire et absorbent donc dans la région infrarouge.

<sup>77</sup> Near, M.; Far, I., NASA IPAC. Archived from the original on 2012.

Mais les transitions dans les liaisons carbone-carbone des alcènes et alcynes symétriques ne sont pas accompagnées d'un changement du moment dipolaire et n'absorbent donc pas dans la région infrarouge.

La gamme d'absorption IR typique des liaisons covalentes est de 600 à 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Le graphique ci-dessus montre les régions du spectre où les types de liaisons suivantes sont normalement absorbés. Par exemple, une bande nette autour de 2200-2400  $\text{cm}^{-1}$  indique la présence possible d'une liaison triple C-N ou C-C.



**Figure II-3.** Gamme d'absorption IR.

En 1900, la spectroscopie IR est devenue un outil important pour l'identification et la caractérisation des composés chimiques et des matériaux. Par exemple, les acides carboxyliques, R-COOH, présentent deux bandes caractéristiques à 1700  $\text{cm}^{-1}$  et près de 3500  $\text{cm}^{-1}$ , qui correspondent aux vibrations d'étirement C=O et O-H du groupe carboxyle, -COOH.

Les cétones, R-CO-R absorbent à 1730-1740  $\text{cm}^{-1}$ . Les acides carboxyliques saturés absorbent à 1710  $\text{cm}^{-1}$ , tandis que les acides carboxyliques saturés/aromatiques absorbent à 1680-1690  $\text{cm}^{-1}$  et les sels carboxyliques ou les sels métalliques carboxyliques à 1680-1690  $\text{cm}^{-1}$ . Les sels carboxyliques ou les carboxylates métalliques absorbent à 1550-1610  $\text{cm}^{-1}$ . En 1950, la spectroscopie IR a été appliquée à des molécules plus complexes telles que les protéines par Elliot et Ambrose <sup>78</sup>. Ces études ultérieures ont montré que la spectroscopie protéines, l'ADN

<sup>78</sup> Elliot ; Ambrose, E., Nature, Structure of Synthetic Polypeptides, **1950**,165, 921. Woernley, D.L., Infrared Absorption Curves for Normal and Neoplastic Tissues and Related Biological Substances, *Current Research*, **1950**, 12, 516.



et les membranes, et qu'elle pouvait être utilisée dans le domaine des biosciences en général, tels que des biopolymères, ainsi que des matériaux biologiques, des tissus conjonctifs, des cellules uniques et, en général, des fluides biologiques, pour ne citer que quelques exemples. Des informations aussi variées peuvent être obtenues en une seule expérience à partir de très petits échantillons. En clair, la spectroscopie infrarouge fournit des informations sur les niveaux d'énergie des molécules en nombre d'ondes ( $\text{cm}^{-1}$ ) dans la région du spectre électromagnétique en étudiant les vibrations des molécules, qui sont également exprimées en longueurs d'onde ( $\mu\text{m}$ ). Ainsi, la spectroscopie infrarouge est l'étude de l'interaction de la matière avec le rayonnement lumineux lorsque les ondes traversent le milieu (la matière). Ces ondes sont de nature électromagnétique et interagissent avec la polarité des liaisons chimiques des molécules <sup>79</sup>. S'il n'y a pas de polarité (moment dipolaire) dans la molécule, l'interaction infrarouge est inactive et la molécule ne produit aucun spectre IR.

### II.1.3. Spectroscopie RMN

La spectroscopie de la résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique de caractérisation très avancée. Elle est utilisée pour déterminer la structure moléculaire au niveau atomique d'un échantillon. Cette technique peut déterminer les changements de phase, les altérations conformationnelles et les configurations aussi la géométrie, la solubilité et le potentiel de diffusion <sup>80</sup>.

La spectroscopie RMN a été principalement employée pour réaliser des expériences sur les noyaux des atomes, et non sur les électrons. L'environnement chimique de noyaux typiques peut être cartographié à partir des informations obtenues par la spectroscopie RMN.

La RMN est l'outil le plus sensible et le plus puissant pour déterminer les structures des composés et la présence de groupes fonctionnels dans les chaînes carbonylés. Cette technique indique les types de protons qui se trouvent dans le composé. Elle est également utilisée pour confirmer la fonctionnalisation et la position des groupes fonctionnels, et il est possible d'utiliser la RMN à l'état solide pour les produits thermo durcis. Par exemple, lorsque l'huile de

---

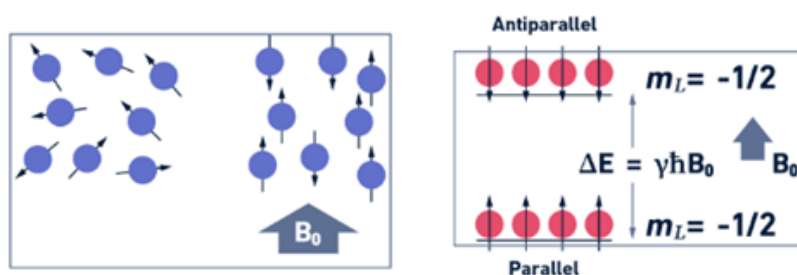
<sup>79</sup> Theophanides, T.; In Greek, National Technical University of Athens, Chapter in Properties of Materials, *NTUA, Athens*. **1990**, 67.

<sup>80</sup> Viswanathan, V. K., *Molecular Thermodynamics Using Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy, inventions*, **2019**, 4,13.

chanvre est époxydée avec de l'acide peroxyacétique, la RMN s'est avérée être la meilleure technique pour identifier l'époxydation de l'huile de chanvre. Le spectre de RMN du proton (RMN  $^1\text{H}$ ) de l'huile de chanvre époxydée montre l'apparition de protons époxy, pics situés à 2.86 et 3.03 ppm, ce qui n'a pas été observé dans l'huile de chanvre non époxydée <sup>81</sup>.

La spectroscopie RMN est une technique d'analyse physico-chimique qui repose sur l'interaction d'un rayonnement radiofréquence appliqué de l'extérieur avec des noyaux atomiques. Au cours de cette interaction, il y a un échange net d'énergie qui entraîne une modification d'une propriété intrinsèque des noyaux atomiques appelée spin nucléaire. Les spins nucléaires de certains noyaux actifs en RMN sont capables d'adopter deux orientations différentes lorsqu'ils s'alignent sur un champ magnétique externe ( $B_0$ ). Une orientation correspond au niveau d'énergie le plus bas du noyau (parallèle au champ magnétique externe), et l'autre est associée au niveau d'énergie le plus élevé du noyau (antiparallèle au champ magnétique externe) (Figure II-4). La différence entre les niveaux d'énergie ( $\Delta E$ ) dépend du champ magnétique et du rapport rapport gyromagnétique  $\gamma$ .

$$\Delta E = \frac{\gamma h B_0}{2\pi}$$



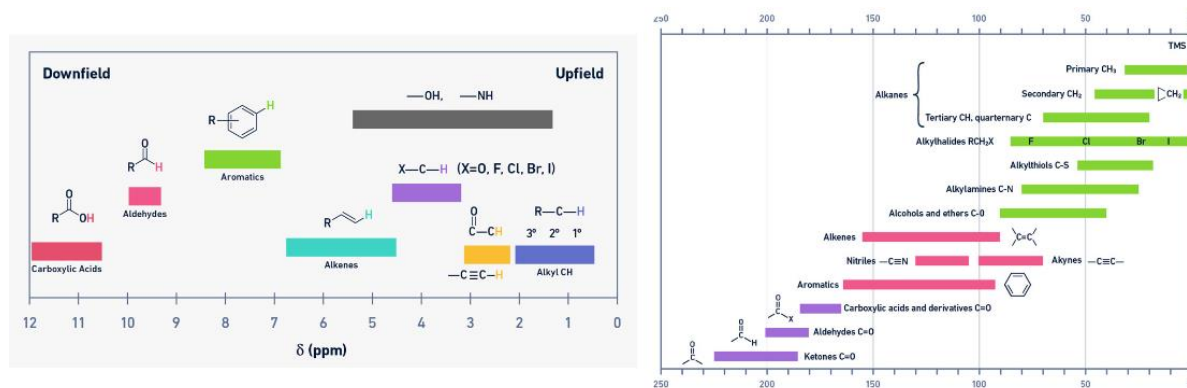
**Figure II-4.** Orientations du spin nucléaire d'un échantillon aligné (parallèle et antiparallèle) avec la direction d'un champ magnétique externe  $B_0$ .

Les principaux éléments constitutifs des molécules organiques et biologiques sont l'hydrogène et le carbone. Comme décrit précédemment, la spectroscopie RMN ne peut être

<sup>81</sup> Fanica M.; Nita T.; Ioan B.; Curing k., thermal and morphological characterization of the biobased thermosets from epoxy resin/epoxidized hemp oil, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* xxx. 2016.

appliquée que sur des noyaux actifs en RMN (c'est-à-dire des noyaux dont  $I \neq 0$ ). Dans le cas de l'hydrogène, l'isotope le plus abondant est actif en RMN ( $^1\text{H}$ , 99,98 %,  $I = 1/2$ ). Dans le cas du carbone, son isotope le plus abondant n'est pas actif par RMN ( $^{12}\text{C}$ , 98,89%,  $I = 0$ ). Les spectromètres RMN ne peuvent détecter que l'isotope  $^{13}\text{C}$ , dont l'abondance est de 1,11 %. De plus, le rapport gyromagnétique du  $^{13}\text{C}$  est également inférieur d'un facteur quatre fois à celui du  $^1\text{H}$ . Ces deux facteurs rendent la RMN du  $^{13}\text{C}$  nettement moins sensible que la RMN du  $^1\text{H}$  (voir tableau 1). Cette différence de sensibilité entraîne des temps expérimentaux plus longs dans le cas du  $^{13}\text{C}$  (des heures) par rapport au  $^1\text{H}$  (secondes ou minutes) <sup>82</sup>.

Le déplacement chimique du  $^1\text{H}$  se situe typiquement dans la gamme de 0 à 14 ppm, alors que celui du  $^{13}\text{C}$  se situe dans une gamme beaucoup plus large, typiquement de 10 à 220 ppm. Cette dépendance des valeurs de déplacement chimique par rapport au type de noyaux provient du fait que les différents noyaux possèdent des fréquences de Larmor différentes ; car elles dépendent du rapport gyromagnétique, comme mentionné précédemment. Ces décalages accrus en  $^{13}\text{C}$ -RMN se traduisent par une meilleure résolution par rapport à la  $^1\text{H}$ -RMN, car les signaux sont normalement plus dispersés. Afin de faciliter l'attribution des spectres RMN, il existe des bibliothèques ou des bases de données RMN publiques (telles que la Biological Magnetic Resonance Data Bank ou la Spectral Database for Organic Compounds) contenant des spectres RMN et des valeurs de déplacement chimique pour des milliers de molécules biochimiques et de composés chimiques.



**Figure II-5.** Graphique de  $^1\text{H}$ -RMN et  $^{13}\text{C}$ -RMN montrant les valeurs typiques de déplacement chimique pour différents types d'atomes d'hydrogène et carbone.

<sup>82</sup> Silverstein R.M., Spectrometric identification of organic compounds. New York: Wiley. 1991.

Les macromolécules, telles que les substances naturelles et les protéines, possèdent un grand nombre de noyaux actifs en RMN et, par conséquent, leurs spectres RMN sont complexes avec de nombreux pics qui se chevauchent. En outre, la relaxation est plus rapide dans les grosses molécules, ce qui entraîne un élargissement des pics et une perte de résolution. Pour remédier à ces limitations, les expériences de RMN 2D génèrent des spectres définis par deux axes de déplacement chimique (au lieu d'un seul, comme dans les spectres 1D), avec des signaux qui mettent en corrélation des paires de noyaux différents. Trois exemples d'expériences de RMN 2D sont COSY, HSQC et HMBC <sup>83,84</sup>.

La spectroscopie de corrélation  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (COSY) montre la corrélation entre les hydrogènes qui sont couplés les uns aux autres dans le spectre RMN  $^1\text{H}$ . Le spectre  $^1\text{H}$  est représenté sur les deux axes 2D. Alors que le couplage  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  à 2 et 3 liaisons est facilement visible par COSY, le couplage à longue portée peut également être observé avec des temps d'acquisition longs. Les pics croisés qui sont symétriques à la diagonale montrent les corrélations COSY. Par exemple, les protons 3 et 4 sont couplés l'un à l'autre, puisqu'ils forment un motif de boîte symétrique à la diagonale. Cela confirme les assignations 3 et 4 faites à partir du spectre du proton seul selon (Figure II-6).

La spectroscopie HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy) de cohérence quantique unique hétéro-nucléaire  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) montre quels hydrogènes sont directement attachés à quels atomes de carbone. Le spectre  $^1\text{H}$  est représenté sur l'axe horizontal et le spectre  $^{13}\text{C}$  sur l'axe vertical. Le spectre HSQC est le plus utile lorsque les protons ont déjà été attribués <sup>85</sup>.

Par exemple, le HSQC Figure II-6 montre une corrélation entre le proton 4 et le carbone à 136,11 ppm ; ce carbone est maintenant attribué au carbone 4. Les carbones 3, 4, 7, 8, 9, 11 et 12 sont attribués par HSQC. Seules des corrélations à une liaison sont observées, les attributions par HSQC sont donc relativement simples. Les expériences de DEPT confirment également ces attributions. Le HSQC est également utile pour confirmer les attributions des

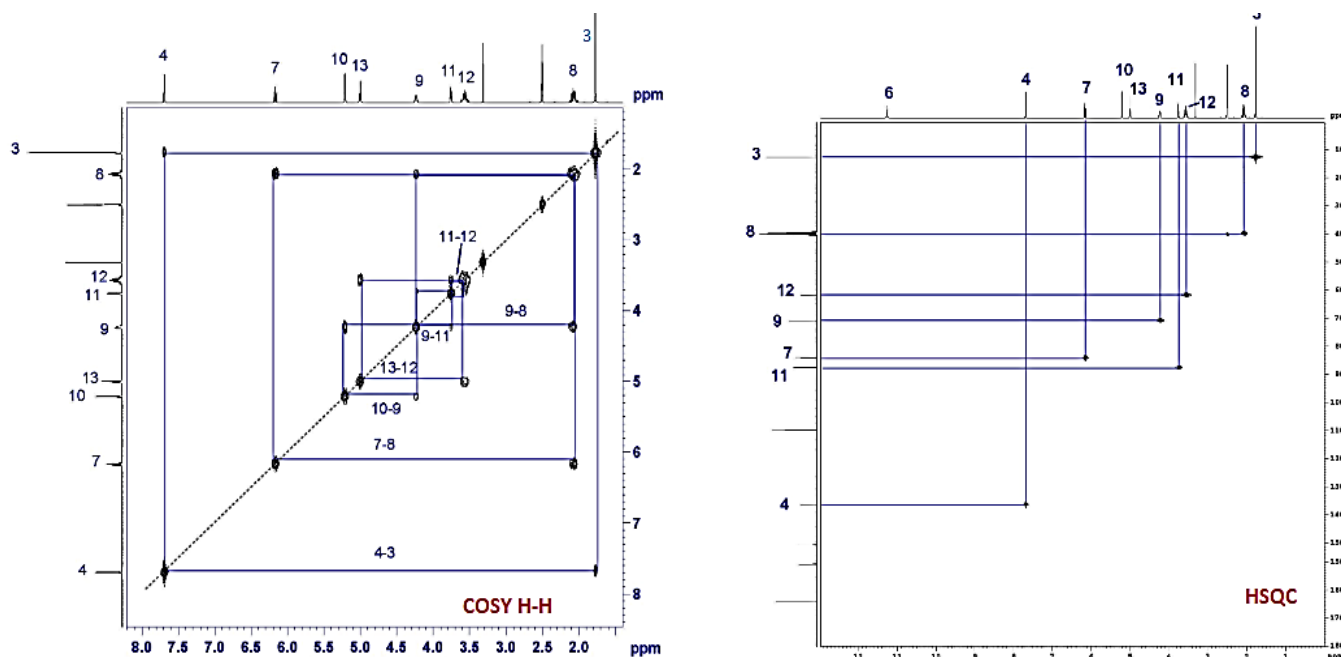
---

<sup>83</sup> Friebolin, H.; Becconsall, J.K., Basic one-and two-dimensional NMR spectroscopy . *Weinheim: Wiley-vch*. 2005. Vol. 7.

<sup>84</sup> Jacobsen, N.E., NMR data interpretation explained: understanding 1D and 2D NMR spectra of organic compounds and natural products. *John Wiley & Sons*. 2016.

<sup>85</sup> Derome, A.E., Modern NMR techniques for chemistry research. *Elsevier*. 2013.

protons liés à l'azote ou à l'oxygène ; ils ne montrent aucun signal par HSQC. Ceci confirme les attributions des protons 6, 10 et 13.



II-6. Les spectre COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  et HSQC.

La spectroscopie HMBC hétéro-nucléaire de corrélation de liaisons multiples  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  montre les corrélations entre les protons et les carbones qui sont séparés par des liaisons multiples. Le spectre  $^1\text{H}$  est représenté sur l'axe horizontal et le spectre  $^{13}\text{C}$  sur l'axe vertical. Les atomes corrélés sont représentés en bleu et les atomes de liaison sont représentés en rouge. Notez que les liaisons directes hydrogène-carbone (corrélations 1-bond) ne sont généralement pas visibles. Par exemple, l'hydrogène 4 présente des corrélations avec les carbones 1, 2, 3, 5 et 7, mais pas avec le carbone 4 <sup>86</sup>.

<sup>86</sup> Hore, P.J.; Nuclear magnetic resonance. USA: Oxford University Press. 2015.

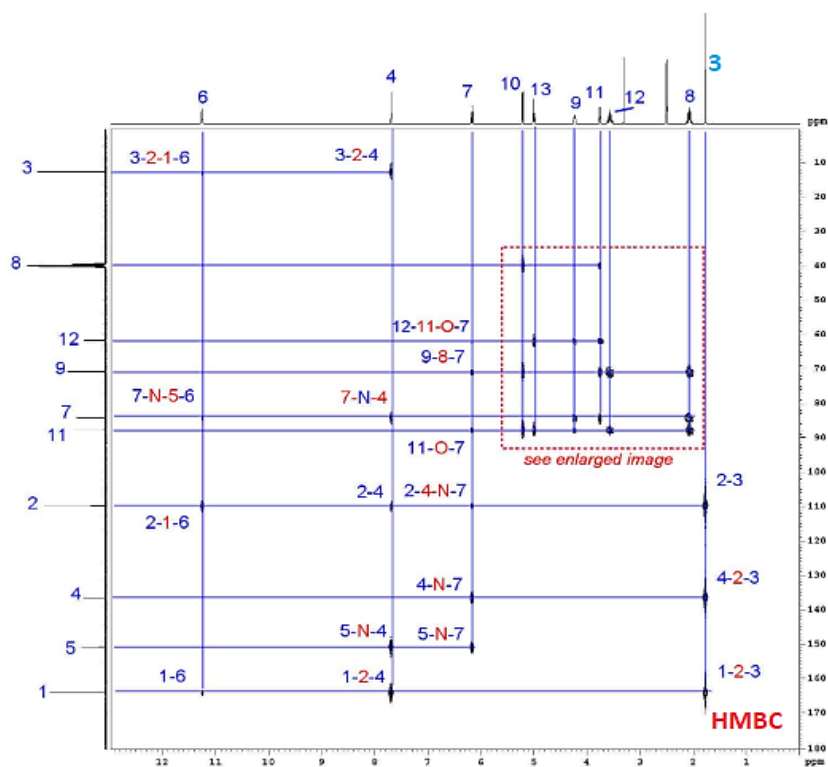


Figure II-7. Spectre HMBC

## II.2. Les méthodes théoriques

Avec l'arrivée de méthodes théoriques de calcul de plus en plus sophistiquées et les ressources de computation plus accessibles, la chimie informatique est maintenant devenue un outil de plus en plus utile à la fois pour l'industrie et le milieu académique. La modélisation par ordinateur d'une molécule implique généralement une présentation graphique de la géométrie ou de la configuration des atomes de la molécule, suivie de l'application d'une méthode théorique. La modélisation moléculaire est un terme général qui englobe différentes techniques de graphisme moléculaire et de chimie computationnelle permettant d'afficher, simuler, analyser, calculer et stocker les propriétés des molécules <sup>87</sup>.

On distingue trois classes de méthodes : la première est basée sur la mécanique quantique, et la seconde sur la mécanique moléculaire et la dernière basée sur le dynamique moléculaire.

<sup>87</sup> Kollman, P., Advances and Continuing Challenges in Achieving Realistic and Predictive Simulations of the Properties of Organic and Biological Molecules. *Acc. Chem. Res.* 1996, 29, 462

### II.2.1. Les méthodes quantiques

La théorie quantique réside dans l'utilisation de méthodes fondées sur la résolution de l'équation de Schrödinger. En général, l'équation du système quantique est représentée par la formule suivante <sup>88</sup>:

$$H\Psi(\vec{r}, t) = ih \frac{\delta\Psi}{\delta t}$$

Les méthodes quantiques s'intéressent en premier lieu à la confirmation de la fonction d'onde du système polyélectronique que l'on veut étudier. Ceci nécessite la résolution de l'équation de Schrödinger correspondante, dans le cadre d'états stationnaires ou indépendants du temps décrits par l'équation :

$$H\Psi(\vec{r}) = E\Psi(\vec{r})$$

Où

- $\Psi$  est la fonction d'onde du système,
- $E$  est l'énergie totale du système.

L'opérateur  $H$  est un opérateur nommé Hamiltonien, c'est l'opérateur quantique pour l'énergie totale du système :

$$H = E_c + V(r) = -\frac{h^2}{2m} \Delta + V(r)$$

Où  $V$  est l'énergie potentielle,  $E_c$  est l'énergie cinétique et  $\Delta$  est le laplacien.

Cependant, il n'est pas possible de trancher rigoureusement une telle équation, sauf pour les systèmes à un seul électron, et des approximations ont dû être utilisées dans la chimie quantique proposée depuis les 20 années, afin de pouvoir résoudre cette équation de façon approchée <sup>89,90</sup>.

La première approximation, de Born et Oppenheimer <sup>91</sup>, permet d'isoler le mouvement des électrons des noyaux en s'appuyant sur le fait que les électrons sont plus légers et qu'ils bougent plus rapidement que les noyaux. Les électrons sont ainsi considérés comme se déplaçant dans un champ ordinaire créé par des noyaux immobiles, et sont donc exposés à un potentiel nucléaire statique. L'équation de Schrödinger à  $N$  noyaux et à  $n$  électrons peut être

<sup>88</sup> Schrödinger, E., Quantisierung als Eigenwertproblem, *Annalen der Physik*, **1926**,79,361, 489-734,

<sup>89</sup> Theoretical Study of the adsorption of methanol on a (110) surface of -alumina, *International IUPAC Congress 1997*.

<sup>90</sup> Theoretical investigation of the mechanism of water exchange in the rhodium (III) hexaaqua ions: preliminary results, *General Assembly of the Swiss Chemical Society*, **1998**.

<sup>91</sup> Born, M.; Oppenheimer, R., Zur quantentheorie der molekeln. *Ann. Phys.* **1927**, 84, 457-484,.

ainsi séparée en une partie nucléaire et une partie électronique. Tandis que la fonction d'onde nucléaire est basée uniquement sur les coordonnées des noyaux, la fonction d'onde électronique sera calculée pour une position donnée des noyaux et tiendra compte des paramètres liés aux coordonnées nucléaires.

A ce niveau, la fonction d'onde électronique ne peut pas être facilement déterminée. (sauf dans le cas mono-électronique) et d'autres approximations sont alors nécessaires. On peut citer les méthodes ab-initio (Hartree-Fock et post-Hartree-Fock) et les modèles semi-empiriques très utilisées pour des systèmes moléculaires. Dans le domaine de la chimie des matériaux, les méthodes les plus populaires font appel à la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT pour Density Functional Theory) <sup>92</sup>.

### ✓ Théorie de la fonctionnelle de la densité

Ce modèle a été introduit par Thomas et Fermi <sup>93,94</sup> en exprimant l'énergie totale d'un système polyélectronique comme une fonctionnelle de la densité électronique totale, puis formalisé en 1964 par Hohenberg et Kohn <sup>95</sup>, et Kohn et Sham <sup>96</sup> en 1965. Ils montrent que toutes les propriétés d'un système électronique peuvent être définies par sa densité électronique. La valeur exacte de la densité  $\rho(r)$  conduit à l'énergie totale du système dans l'état fondamental  $E[\rho]$  :

$$E[\rho] = T_s[\rho] + V_{en}[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho]$$

Les expressions de  $T_s[\rho]$  l'énergie cinétique du système,  $V_{en}[\rho]$  l'énergie d'attraction électron noyau,  $J[\rho]$  l'énergie de répulsion coulombienne inter électrons et  $E_{xc}[\rho]$  l'énergie d'échange et de corrélation.

## II.2.2. La mécanique moléculaire

<sup>92</sup> López, N.; Almora-Barrios, N.; Carchini, G.; Błoński, P.; Bellarosa, L. ; García-Muelas, R.; Novell-Leruth, G. ; García M. M., State of the art and challenges in theoretical simulations of heterogeneous catalysis at the microscopic level *Catal. Sci. Technol.* **2012**, 2, 2405.

<sup>93</sup> Fermi E., Un metodo statistico per la determinazione di alcuna proprietà dell'atomo. *Atti. Accad. Naz. Lincei*, **1927**, 6, 602-607,.

<sup>94</sup> Thomas, L.H., The calculation of atomic fields. *Proc. Cambridge Philos. Soc.*, **1927**, 23, 542,.

<sup>95</sup> Hohenberg, P.; Kohn, W., Inhomogeneous electron gas, *Phys. Rev.* **1964**, 136, 864-871,.

<sup>96</sup> Kohn, W.; Sham, L.J., Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Phys. Rev.* **1965**, 140, 1133-1138.



Cette méthode est employée pour calculer l'énergie des atomes (et non plus des électrons) en utilisant des approximations semi-classiques. La simplification considérable des calculs qui permet ensuite de travailler sur de grandes molécules, comme les macromolécules biologiques actifs comme les protéines, acides nucléiques enzymes, ou sur des systèmes comportant un grand nombre de molécules.

Cette méthode décrit une molécule comme un ensemble de sphères dures et non inter-pénétrables, reliées entre elles par des forces mécaniques généralement harmoniques : elle est basée sur les lois de la mécanique classique. (Newtonien) et l'utilisation d'un champ de force empirique dont les paramètres décrivent les interactions avec les atomes liés et non liés, obtenus par étalonnage des résultats expérimentaux obtenus. L'énergie potentielle  $E$  d'une molécule peut être approchée par la fonction suivante, impliquant des atomes liés de manière covalente ou pas :

$$E = E_l + E_\theta + E_\tau + E_{vdW} + E_{el} + E_H$$

- $E_l$  : représente l'énergie d'élongation des liaisons
- $E_\theta$  : l'énergie de variation des angles
- $E_\tau$  : l'énergie de torsion des angles dièdres
- $E_{vdW}$  donne l'énergie d'interaction entre atomes non liés.
- $E_{elec}$  représente l'énergie d'interaction électrostatique.
- $E_H$  rend compte des liaisons hydrogène.

Les trois premiers termes permettent de calculer la contribution énergétique de la déformation de la structure chimique. Les trois derniers termes donnent la contribution non covalente de l'énergie du système.

### II.2.3. La dynamique moléculaire

Les premières simulations de dynamique moléculaire remontent à la fin des années 1950<sup>97</sup> et au début des années 1960 pour des systèmes plus importants<sup>98</sup>. Cette technique consiste à calculer les mouvements des molécules, généralement à travers des énergies de la mécanique

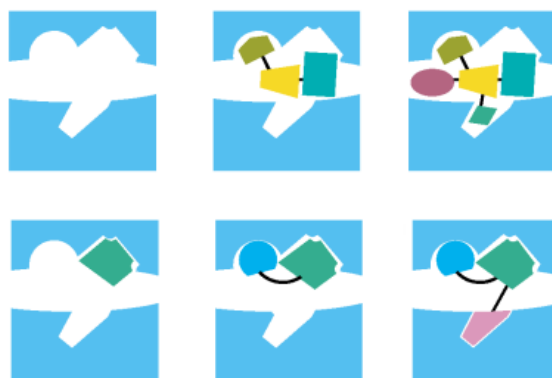
<sup>97</sup> Alder, B.J. ; Wainwright, T.E., Phase transition for a hard sphere system. *J. Chem. Phys.* **1957**, 27, 1208,.

<sup>98</sup> Rahman A., Correlations in the motion of atoms in liquid argon. *Phys. Rev.* **1964**, 136, 405- 411.

moléculaire, en utilisant les lois de la mécanique classique (Newton ou Hamilton) <sup>99,100</sup>. Elle permet de réaliser l'évolution des systèmes dans le temps.

### II-3. Moléculaire docking

Le docking est une procédure computationnelle de recherche pour le criblage *in silico* d'un ligand approprié qui s'adapte à la fois énergétiquement et géométriquement au site de liaison de la protéine <sup>101</sup>. En d'autres termes, il s'agit d'étudier comment deux ou plusieurs molécules, par exemple un ligand et une protéine, s'assemblent. Le problème s'apparente à la résolution d'un puzzle en 3D <sup>102</sup>. Au cours des dernières années, l'application des méthodes computationnelles à la compréhension de la formation des complexes intermoléculaires a fait l'objet de recherches intensives. Il est communément admis que la liaison moléculaire d'une molécule (le ligand) à la poche d'une autre molécule (le récepteur), qui est généralement une protéine, est responsable d'une activité médicamenteuse précise. Le docking moléculaire s'est avéré être un outil très efficace pour la découverte de nouveaux médicaments ciblant les protéines. Parmi les différents types de docking, protéine-ligand présente un intérêt particulier, en raison de son application dans l'industrie médicale <sup>103</sup> et qui consiste à rechercher les conformations précises du ligand dans une protéine ciblée lorsque la structure des protéines est connue.



**Figure II-8.** Docking moléculaire

<sup>99</sup> Malliavin, T., Simulations de dynamique moléculaire en biochimie. *Techn. Ing.*, **2003**, 6043,.

<sup>100</sup> Rapaport, D.C., The art of molecular dynamics simulation. *Cambridge University Press*, **2004**, 2<sup>nd</sup> ed.,

<sup>101</sup> Drews, J., Drug discovery a historical perspective. *Science*. **2000**, 287, 1960.

<sup>102</sup> Kaapro A, Ojanen J: Protein docking. *Citeseerx*. **2002**.

<sup>103</sup> Muegge, I. ; Rarey, M., Small molecule docking and scoring. *Rev Comp Chem*. **2001**, 17, 1.

Dans le domaine de la modélisation moléculaire, le docking est une méthode qui prédit l'orientation préférée d'une molécule par rapport à une autre lorsqu'elles sont liées l'une à l'autre pour former un complexe stable. La connaissance de l'orientation préférée est utilisée pour prédire la force de l'association ou l'affinité de liaison entre deux molécules en utilisant des scores. L'affinité de liaison entre deux molécules en utilisant des fonctions de notation. Les associations entre les molécules biologiquement pertinentes telles que les protéines, les acides nucléiques, les glucides et les lipides jouent un rôle central dans la transduction du signal. En outre, le docking est donc utile pour prédire la force et le type de signal produit.

Le plus gros problème avec l'étape docking est de naviguer au mieux l'espace de conformation. Selon les degrés de liberté de translation et de rotation en plus de la conformation de départ possible du ligand. Le logiciel docking est un outil utile en pharmacie et en médecine car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligands) conçues pour interagir avec les plants moléculaires et leurs protéines cibles (récepteurs), dans lesquelles celles-ci sont impliquées

Le docking moléculaire permet de prédire les structures des complexes qui se forment entre une molécule active et une protéine.

- 1) Les algorithmes de calcul produisent d'une manière sélective un grand nombre d'orientations possibles afin de trouver la "meilleure manière d'insérer" la molécule dans une protéine (au niveau du récepteur ou ligand).
- 2) Le programme est capable de prendre en compte tous les degrés de liberté de la molécule soit translation ou rotation.
- 3) Pour chaque éventualité, l'énergie est calculée en mécanique moléculaire, en respectant toutes les interactions ligand-récepteur (liaisons de Van der Waals, liaisons H, hydrophobie...).
- 4) On obtient ainsi un "score" pour évaluer la meilleure interaction ligand-récepteur. Et qui consiste à mesurer l'affinité entre le Ligand et la protéine et à évaluer les poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score pourra permettre de sélectionner la meilleure pose parmi toutes celles proposées.
- 5) Le score est l'enthalpie libre  $\Delta G$  de liaison (doit être minimisée), suivant l'équation suivante :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complex}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}}$$

### II.3.1. Matériels et Méthodes

#### a. Banque de données sur les protéines (PDB)

La Protein Data Bank (PDB) est une base de données comportant les données structurales tridimensionnelles de grandes molécules biologiquement actifs, telles que les protéines et les acides nucléiques. Généralement ces données enregistrées par cristallographie aux rayons X, par spectroscopie RMN ou, de plus en plus, par microscopie Cryo électronique et qui soumises par des biologistes et des biochimistes du monde entier, sont en abordès libre <sup>104</sup>.

#### b. Mcule

Mcule est une plateforme de recherche de drogues et médicaments en ligne qui fournit des moyens de modélisation moléculaire pour déterminer, étendre et optimiser les cibles, Elle propose une solution unique aux sociétés pharmaceutiques et biotechnologiques en leur offrant une base de données de composés achatables et des outils de modélisation moléculaire de la plus haute importance <sup>105</sup>, Mcule a été utilisé pour récupérer les structures 3D de nos composés. De plus on a utilisé aussi le chem3D dans cette étude.

#### c. AutoDockTools

Pour réaliser les études de docking moléculaire, AutoDock 1.5.6 a été utilisé pour cette modélisation et étude. L'AutoDock est une suite d'outils de docking automatisés. Elle est conçue pour prédire comment les petites molécules, comme les substrats, se lient à un récepteur dont la structure et la forme 3D qui est connue. AutoDock effectue le docking du ligand à un ensemble de grilles décrivant la protéine cible. Ou le ligand est un ensemble de grilles décrivant la protéine cible. De plus, on les utiliser pour docking, les grilles d'affinité atomique qui peuvent être visualisées a interface utilisateur graphique appelée AutoDock Tools, ou ADT, est utilisée pour générer des grilles, calculer le score d'ancrage et évaluer les conformères.

<sup>104</sup> Hilgenfeld, R., From SARS to MERS: Crystallographic studies on coronaviral proteases enable antiviral drug design. *FEBS*. **2014**, 281, 4085.

<sup>105</sup> <https://mcule.com/dashboard/>.

#### d. Discovery Studio

Discovery Studio est une suite logicielle complète permettant d'analyser et de modéliser des structures et des séquences moléculaires, ainsi que d'autres données utiles aux chercheurs en sciences de la vie. Le produit comprend des fonctionnalités de visualisation et d'édition des données, ainsi que des outils permettant d'effectuer une analyse de base des données.

Discovery Studio Visualizer est un visualiseur gratuit qui peut être utilisé pour ouvrir les données générées par d'autres logiciels de la gamme Discovery Studio. Il est conçu pour offrir un environnement interactif pour visualiser et modifier des structures moléculaires, des séquences, des données de réflexion aux rayons X, des scripts et d'autres données. Il fournit également un riche ensemble de visualisateurs pour afficher des diagrammes et d'autres représentations graphiques des données. L'application fonctionne sous Windows et Linux et constitue un environnement de bureau entièrement intégré qui permet d'accéder aux fonctions standard du système d'exploitation, telles que le système de fichiers, le presse-papiers et les services d'impression.

Le docking moléculaire est effectué pour déterminer l'affinité de liaison et pour prédire les interactions intermoléculaires des molécules dans les sites actifs (protéine ou enzyme). Nous avons effectué le docking sur l'enzyme essentielle impliquée dans le contrôle homéostatique de l'ADN gyrase d' *Escherichia coli* qui cible de composés antibactériens. Cette structure a été obtenue à partir d'une banque de données sur les protéines (RCSB Protein Data Bank (PDB))<sup>106</sup>. Notre recherche est basée sur les structures cristallines de l'enzyme étudiée qui ne contient pas un ligand pour ce teste avec nos ligands (composés synthétisés **1-3**) et on peut les considérer comme des ligands de références. L'étude de docking a été réalisée avec le programme : Autodocktools 1.5.6. En résumé les étapes de notre calcul sont réalisées comme suit :

- ✓ Sélection et préparation du récepteur
- ✓ Sélection et préparation du ligand
- ✓ Docking moléculaire
- ✓ Analyse post-docking

---

<sup>106</sup> Banque de données sur les protéines PDB. <http://www.rcsb.org>

### II.3.2. Le docking rigide vers l'introduction de la flexibilité

L'étude du docking est une étape essentielle dans la compréhension des réactions biologiques et dans la conception de médicaments. Les tentatives de docking ont longtemps été basées sur le principe du « clé-serrure », assimilant le récepteur et le ligand à des éléments rigides. Il s'agit sans doute de la catégorie de docking moléculaire la plus simple et la plus rapide. La méthode la plus largement utilisée considère la cible protéique comme un corps rigide tandis que le ligand est flexible. Ce type de docking (semi-flexible) permet de parvenir à des résultats plus justes. Aujourd'hui, la capacité de calcul des ordinateurs permet à certains logiciels de docking de faire traiter la flexibilité du ligand et en partie du récepteur <sup>107</sup>. Le score est une information numérique utile pour quantifier le degré de complexité d'un ligand avec un récepteur. En général, il s'agit d'une approximation de l'énergie libre résultant de la transition entre la forme libre de la protéine et du ligand et la combinaison sous forme de complexe.

### II.3.2. Le Redocking

Le processus par lequel un ligand est tiré de la structure d'un complexe de celui-ci avec un récepteur, et ancré à la forme "induced-fit" du récepteur. Cela est fréquemment fait pour vérifier que les paramètres de docking mentionnés dans le fichier d'entrée de la méthode de docking sont raisonnables et sont aptes à retrouver la structure et les interactions d'un complexe enregistré <sup>108</sup>. La technique de simulation de docking moléculaire est confirmée à l'aide des paramètres suivants :

L'énergie de liaison : La méthode de simulation de docking moléculaire est initialement définie sur la base de l'énergie de liaison fournie. Le stade prédéterminé de l'énergie de liaison doit être contenue entre -5 et -15 kcal / mol.

La Méthodes de superposition ou de similarité des acides aminés : Une confirmation supplémentaire de la méthode de docking moléculaire est effectuée par la méthode de superposition. La conformation ancrée du ligand lié doit être parfaitement superposée par

---

<sup>107</sup> Shah, K.; Mujwar, S.; Gupta, J. K.; Shrivastava, K. S.; Mishra, P., Molecular Docking and In Silico Cogitation Validate Mefenamic Acid Prodrugs as Human Cyclooxygenase-2 Inhibitor. *Assay Drug Dev Technol.* **2019**, 17, 285.

<sup>108</sup> Arrault A., Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de doctorat d'université : Modélisation Moléculaire et Bioinformatique. *Orléans : Université d'Orléans. France. 2007.*

rapport à la conformation bioactive du ligand présente dans la structure cristalline de la protéine téléchargée.

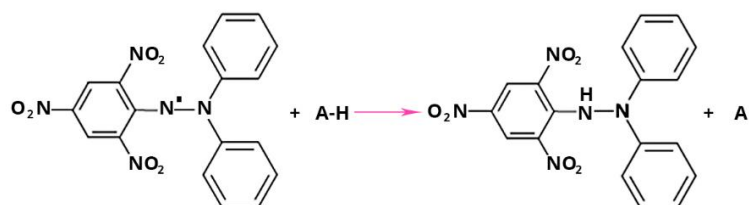
## II.4. Activité biologique

### II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

La biologie des radicaux libres suscite aujourd'hui un intérêt grandissant. Ceci n'est pas seulement dû à leur rôle dans les phénomènes aigus tels que les traumatismes ou l'ischémie mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques liées au vieillissement telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire <sup>109</sup>.

Les radicaux libres sont des molécules ou des atomes qui possédant un électron non apparié. Cette caractéristique rend ces éléments très réactifs en raison de leur capacité à se réappairer, et déséquilibrant ainsi ceux qui sont transformés, ils deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est généralement ce qui se produit lors de la peroxydation des lipides.

L'activité antioxydante a été évaluée à différentes concentrations des composés *in vitro* par le test de piégeage du 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Le DPPH est un radical libre stable de couleur violette qui se réduit en jaune en réagissant avec les antioxydants <sup>110</sup>. L'activité antioxydante des échantillons a été quantifiée par comparaison avec l'acide ascorbique comme standard. Afin d'évaluer le potentiel antioxydant par le piégeage des radicaux libres par les échantillons testés, le changement de la densité optique des radicaux DPPH a été suivi. On peut résumer la réaction sous la forme suivante :



<sup>109</sup> Guinebert E.; Durand P.; Prost M.; Grinand R.; Bernigault R., Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole*. **2005**, 554.

<sup>110</sup> Sadhu, S.K.; Alam, S.M.; Saha, S.; Lee, D.U., Antibacterial and *in vivo* cytotoxic activities of the leaves of *Leucas aspera*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **2014**, 57, 551.

A-H représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine avec une coloration (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.

Les composés synthétisés (**1-3**) ont été préparés par dissolution dans MeOH à raison de 50 µg/ml. Sont dites solutions mères, ont subi ensuite des dilutions pour avoir les concentrations suivantes : 5, 10, 15, 25, 30, 40 et 50 µg/ml. Le test s'effectue en ajoutant 900µl de la solution précédente de DPPH avec 100µl d'échantillon à différentes concentrations. L'antioxydant de référence ou le contrôle positif, en l'occurrence l'acide ascorbique (la vitamine C) qui a été aussi préparé selon la méthode de Leitao <sup>111</sup> .

La mesure de la modification de l'absorbance a été effectuée 30 min après insertion des cellules dans le spectrophotomètre UV. Les résultats obtenus sont ensuite exprimés en pourcentages d'inhibition à l'aide de la formule suivante :

$$A\% = 100 \times (A_{\text{témoin}} - A_{\text{test}})/A_{\text{témoin}}$$

$A_{\text{témoin}}$  : est l'absorbance du témoin

$A_{\text{test}}$  : étant l'absorbance du test.

Le graphique de la progression du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des produits synthétisés. Qui sont soumis à l'évaluation antibactérienne, qui permet de déterminer le CI<sub>50</sub> (ou CE<sub>50</sub>, concentration correspondant à 50% d'inhibition et qui constitue l'activité antioxydante de nos produits). Cette valeur est comparée à celle trouvée pour le composé de référence l'acide ascorbique. Cette expérience a été réalisée dans un spectrophotomètre monochromatique UV/visible (Littrow 1200 lignes/mm par pas) à la longueur d'onde de 517 nm.

#### II.4.2. L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des produits synthétisés (**1-3**) a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Trois souches bactériennes ont été testées : à Gram positif, *Staphylococcus aureus*. et à Gram négatif, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

---

<sup>111</sup> Leitao, G.; Leitao, SG.; Vilagag, W., Quick preparative separation of natural Naphthopyranones with antioxidant activity by high-speed counter-current chromatography, *Z. Naturforsch Journal*, **2002**, 57, 1051.



Un certain nombre de bacilles à Gram négatif sont connus pour se comporter comme des bactéries opportunistes et sont souvent à l'origine d'infections nosocomiales. Ces bactéries sont généralement résistantes à de déverses antibiotiques. L'une des plus redoutables est *Pseudomonas aeruginosa* <sup>112</sup>.

*Escherichia coli* (bacille à Gram négatif), commensal du tractus gastro-intestinal, est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut également provoquer des diarrhées par divers mécanismes, ainsi que diverses infections communautaires et nosocomiales <sup>113</sup>.

Les *staphylocoques* sont des cocci à Gram positif qui ont tendance à se rassembler. L'espèce *Staphylococcus aureus* est très importante dans les infections communautaires et nosocomiales <sup>114</sup>.

Le but de cette technique est d'utiliser des disques de papier Whatmann de 6 mm de diamètre. Les disques ont été trempés dans différentes solutions (1g/ml) des extraits dissous dans du DMSO. Un disque imbibé de DMSO a été utilisé comme contrôle négatif. Les disques ont ensuite été déposés à la surface d'un milieu imprégné d'une suspension microbienne ayant une densité optique de 0,5 McFarland. Nous avons utilisé le milieu de Muller Hinton pour les souches bactériennes. A la fin du temps d'incubation (18-24h pour les souches bactériennes à 37 C°) en atmosphère normale, l'activité antimicrobienne a été déterminée à l'aide d'une règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition.

## Conclusion

Dans ce chapitre, d'une part nous avons mené une étude théorique sur les méthodes expérimentales utilisables comme : la spectroscopie UV-vis, FT-IR et la résonance magnétique nucléaire RMN 1D.

---

<sup>112</sup> Nataro, J. P.; Kaper, J. B., Diarrheagenic *E. coli*. *American Society for Microbiology*. **1998**, 11. 142-201.

<sup>113</sup> Chambers, H. F., Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *American Society for Microbiology* . **1997**, 10.781.

<sup>114</sup> Celikel, N.; Kavas, G.,. Antimicrobial Properties of Some Essential Oils against Some Pathogenic Microorganisms, *Czech J Food Sci*. **2008**, 26. 174.

Les techniques de calcul jouent un rôle considérable dans l'obtention de diverses propriétés et géométries moléculaires, que les scientifiques ne sont pas en mesure d'obtenir autrement. La méthode de la théorie de la fonction de la densité (DFT) DFT/B3LYP, qui propose une alternative de méthodes de calcul moins chères permettant de traiter des molécules de grande taille.

D'une autre part, on a étudié l'activité biologique, antioxydante et antibactérienne. On a utilisé la technique d'amarrage moléculaire (Docking) *in silico*. Qui peuvent être utilisées pour la conception de dérivés hétérocycliques par le logiciel Autodocktools 1.5.6..

# CHAPITRE III

## Résultats et discussion

### III.1. Introduction

Les pyrazoles et ses dérivés ont été largement étudiés, suscitant un intérêt croissant en chimie organique et en chimie médicinale. En effet, ils présentent des activités anti-oxydantes, inhibitrices, catalytiques, luminescentes, cytotoxiques, antimicrobiennes et anticancéreuses potentielles <sup>115,116</sup>. Les hétérocycles de la famille pyrazole 3,5-disubstitués ont été synthétisés par la méthode de cyclocondensation d'une dérive hydrazide substituée avec l'acétyle acétone. La méthode utilisée constitue une stratégie facile à mise en œuvre et donne de bons résultats. Elle consiste à faire réagir l'acétyle acétone avec la dérivé hydrazide dans l'éthanol comme solvant avec quelques gouttes d'acide acétique permettant la réalisation du cyclocondensation. La réaction nécessite un chauffage à reflux pendant une durée comprise entre 2 à 4 heures.

Nous présentons dans ce chapitre l'étude structurale des dérivés pyrazoliques, qui combine à la fois avec des études théoriques (DFT, docking Moléculaire). Nous décrivons dans cette étude le protocole de la synthèse organique de ces dérivés avec une caractérisation spectrale par les méthodes spectroscopiques (RMN 1D et 2D, FT-IR et spectroscopie UV-vis). Ensuite nous utilisons la Théorie Fonctionnelle de Densité (DFT) pour étudier les propriétés structurales par la méthode B3LYP/6-311+G (d, p). Les résultats obtenus seront comparés aux données expérimentales. Ce travail aussi consiste à étudier les interactions entre les ligands (cycle pyrazole avec ses dérivés) qui interagissent avec une cible biologique, généralement protéique (récepteur), par les méthodes de la modélisation moléculaire (logiciel de docking). Nous avons rassemblé tous les résultats de calcul effectués dans ces études et la discussion que nous allons englober est basée sur les énergies d'interactions, les distances entre certains groupements de l'enzyme et ceux d'inhibiteurs.

L'objectif de ce dernier chapitre a porté sur le développement d'une méthodologie efficace de la synthèse des cycles pyrazoles par une cyclocondensation avec l'hydrazine dans la présence d'éthanol, cette méthode développée par Knorr au début du siècle dernier. Et aussi, la régiosélectivité observée lors de l'utilisation de d'autres conditions opératoires pour l'obtention des dérivés de 5-hydroxy-dihydropyrazole. Dans ce cas présent, nous avons étudié

---

<sup>115</sup> Nimbalkar, S.; Hote, S.V., Pyrazole Derivatives and their Synthesis-A review, *International Journal on Recent and Innovation Trends in Computing and Communication*, **2015**, 3, 61.

<sup>116</sup> Karrouchi, K.; Radi, S.; Ramli, Y.; Taoufik, J.; Mabkhot, Y.N.; Alaizari, F.A.; Ansar, M., Synthesis and pharmacological activities of pyrazole derivatives. *a review, Molecules*, **2018**, 23, 134.

l'effet de la substitution de groupement hydroxyle dans des systèmes dérivés hétérocycliques et de cycle pyrazole par l'utilisation de la méthode DFT/B3LYP. Nous allons présenter les deux méthodes (expérimentale et théorique) utilisées pour la réalisation de ce travail. Le schéma réactionnel général pour l'obtention des produits synthétisés est le suivant

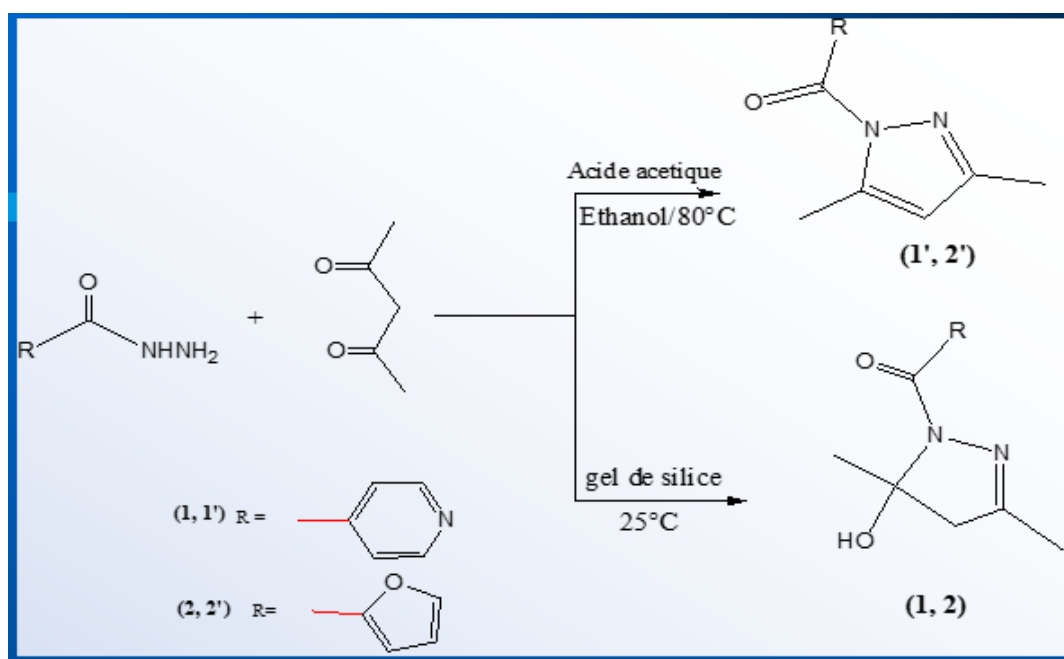


Schéma III-1. Protocole réactionnel générale

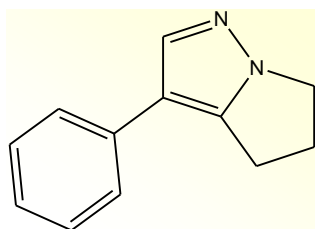
### III.2. Synthèse des cycles pyrazoles substitués

Le noyau pyrazole est une structure hétérocyclique très importante dans des nombreux composés biologiquement actifs <sup>117</sup>. Cet hétérocycle est également très présent dans la chimie et la biochimie, on le retrouve dans des composés insecticides, herbicides et fongicides <sup>118</sup>. En effet, à notre connaissance la Withasomnine la seule molécule qui a été isolée à partir d'une plante *withania somnifera* Dum utilisée dans la médecine traditionnelle indienne pour le traitement de troubles légers, elle a des effets analgésiques et antidépresseurs <sup>119</sup>.

<sup>117</sup> Ha-Duong, N.-T.; Dijols, S.; Marques-Soares, C.; Minoletti, C.; Dansette, P. M.; Mansuy, D., Synthesis of sulfaphenazole derivatives and their use as inhibitors and tools for comparing the active sites of human liver cytochromes P450 of the 2C subfamily. *Med. Chem.* **2001**, 44, 3622.

<sup>118</sup> Lamberth, C.; Pyrazole Chemistry in Crop Protection. *Heterocycles.* **2007**, 71, 1467.

<sup>119</sup> Schröter, H.-B.; Neumann, D.; Katritzky, A.R.; Swinbourne F.J.; Withasomnine, A., pyrazole alkaloid from *Withania somnifera* Dun., *Tetrahedron.* **1966**, 22, 2895-2897.



Withasomnine

La première voie de synthèse permettant la formation de ce cycle pyrazole à partir d'une réaction de cyclocondensation de dérivés d'hydrazide sur l'acétyl acétone pour former des pyrazoles attendus. Nous avons étudié la réaction de condensation de ces réactifs dans l'éthanol avec quelques gouttes d'acide acétique, en portant le mélange réactionnel à reflux pendant 4h (Schéma 2). Nous avons isolé un seul produit avec un bon rendement de 80%. Ces deux produits sont connus dans les travaux de la littérature.

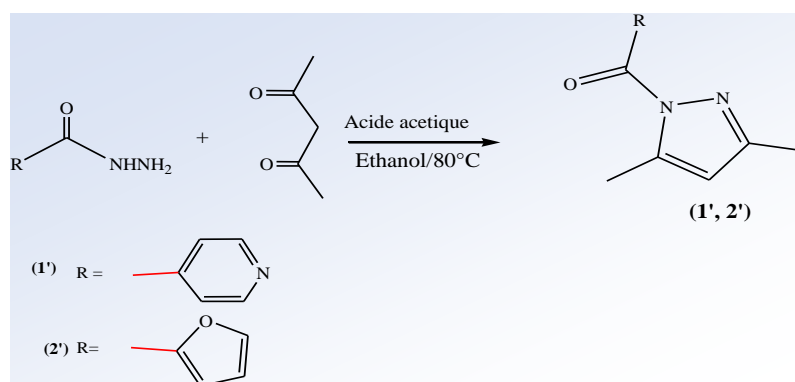
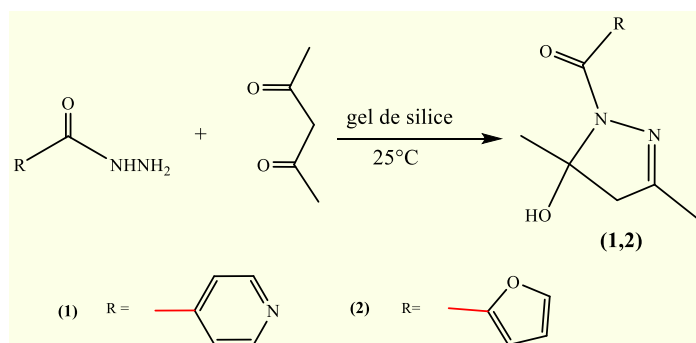


Schéma III-2. Obtention de cycle pyrazole

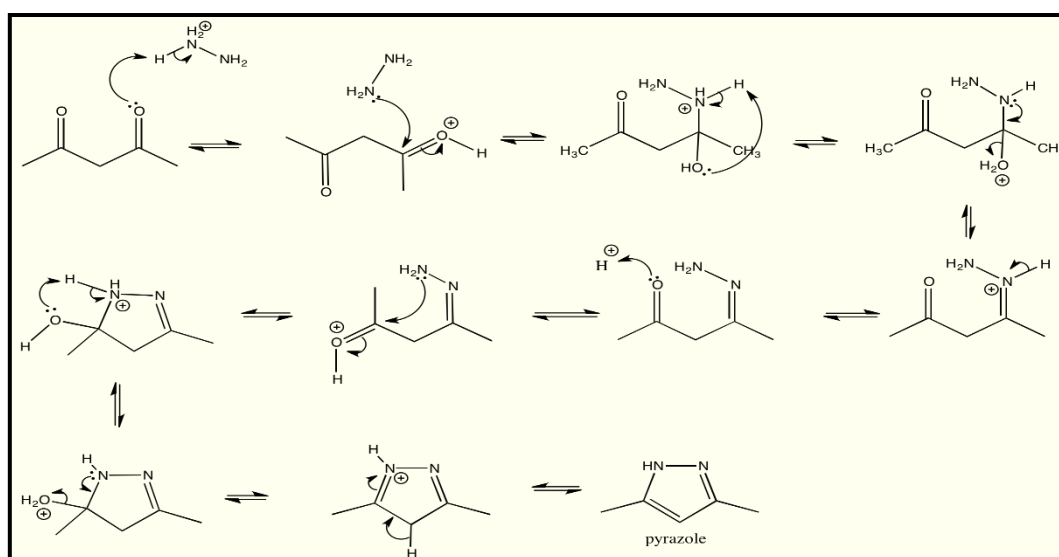
La deuxième voie de cette synthèse permettant la formation des pyrazoles substituées, d'après un protocole inspiré de la littérature <sup>120</sup>. Il est connu dans les travaux de la littérature que la réaction de condensation de l'acétylacétone et des dérivés d'hydrazine dans l'éthanol et catalysée par l'acide acétique donne directement le cycle pyrazole correspondant, mais lorsque le milieu réactionnel est modifié par l'ajout de gel de silice, les produits majoritaires attendus (1) et (2) sont obtenus par un très bon rendement. On peut expliquer que cette méthode s'arrête à la fonction alcool et ne passe pas au stade d'élimination d'eau pour former les cycles pyrazoles (1') et (2') (Schéma 3).

<sup>120</sup> Arfan, M.; Tahir, M.N.; Khan, R.; Sabaa, S.; Iqbal, M.S., (2-Aminophenyl) [(5S)-5-hydroxy-3,5-dimethyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]-methanone, *Acta Crystall ographica Section E*. **2009**, 65, 1834-1835.



**Schéma III-3.** Les dérivés pyrazoliques substitués

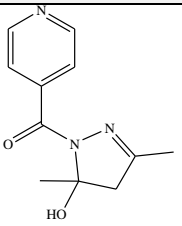
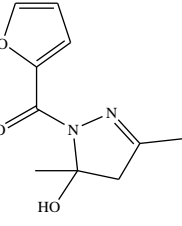
Le mécanisme commence par une formation d'imine catalysée par un acide, où, dans le cas de dérivés de l'hydrazine, l'attaque peut se produire sur le carbone carbonyle et aboutir à deux produits possibles. L'autre azote du dérivé d'hydrazine attaque ensuite l'autre groupe carbonyle qui a également été protoné par l'acide et forme un deuxième groupe imine. Ce composé de diimine est déprotoné pour régénérer le catalyseur acide et fournir le produit final de pyrazole et le mécanisme réactionnel détaillé dans le schéma suivant.



**Schéma III-4.** Mécanisme général de la synthèse de pyrazole

Nous avons pu remarquer que la réactivité était très dépendante des conditions opératoires utilisées. Les résultats sont donc décrits et répartis selon ce critère. La réaction a été contrôlée par la chromatographie sur couche mince plaque CCM, on utilise un mélange d'éluant éther de pétrole / acétate d'éthyle avec un rapport (7/3). Les propriétés physiques de ces composés sont illustrées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau III.1.** Propriétés physiques des composés (1, 2)

Composés	Structure	Tfus. C <sup>0</sup>	Rdt. (%)	Rf
(1)		128 -130	78	0.42
(2)		112-115	72	0.49

On remarque dans ce tableau que le rendement est très élevé, et les produits obtenus sont tous des cristaux fins. Les structures de tous les composés synthétisés ont été identifiées grâce aux données spectrales (IR, <sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C-RMN et spectrométrie UV-vis).

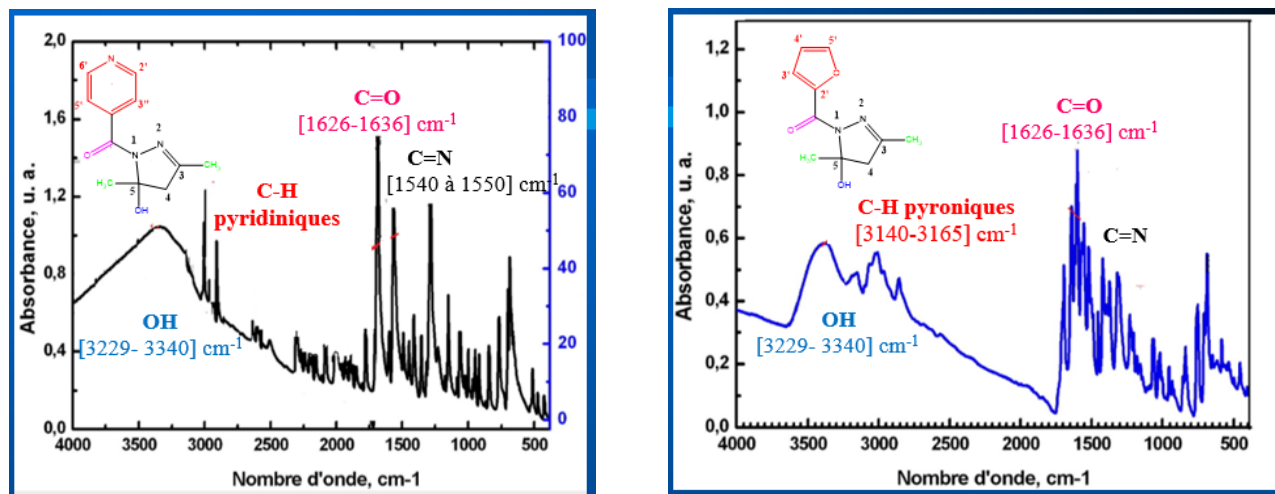
### III.2.1. Etude spectrale

#### a. Analyse FT-IR

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique utilisée pour la caractérisation et l'identification de la plupart des fonctions des molécules étudiées, donc est une méthode d'analyse qualitative et quantitative de nombreuses espèces moléculaires. Les spectres infrarouges de tous les composés (1) et (2), nous montrent bien que la formation de la liaison hydroxyle (OH) sous forme une bande entre [3229- 3340] cm<sup>-1</sup> pour les deux composés, indiquant vraiment que la réaction est stoppée à ce stade. De plus, nous pouvons également attribuer les bandes caractéristiques νC=O de la fonction carbonyle vers [1626-1636] cm<sup>-1</sup> pour les deux produits, et l'apparition d'une bande caractéristique du groupement C=N d'un système cyclique de cycle pyrazole entre [1540 à 1550] cm<sup>-1</sup> pour les composés (1), (2) respectivement. Une bande moyenne caractéristique à [3140-3165] cm<sup>-1</sup> de vibration d'élongation de νC-H vinylique de cycle furane pour le composé (2). Le reste des bandes dans la région entre [1400-



1000]  $\text{cm}^{-1}$  sont des vibrations d'élongations et déformations de reste de différentes fonctions.



**Figure III-1.** Spectres FT-IR des composés (1) et (2)

- **b. Spectroscopie RMN <sup>1</sup>H et RMN <sup>13</sup>C**

La résonance magnétique nucléaire RMN est un outil important pour déterminer la structure d'une molécule naturelle ou synthétique. Elle permet d'expliquer l'ensemble des problèmes posés par l'examen d'une molécule inconnue. L'originalité de la RMN par rapport aux autres techniques spectroscopiques réside dans le fait d'apporter une information précise et individuelle sur la très grande majorité des atomes constitutifs de la molécule et leurs déplacements chimiques.

En effet, l'analyse spectrale en RMN <sup>1</sup>H du composé (1) par exemple (Figure III.2), montre la présence d'un pic singulet à 1.96 ppm correspond aux protons méthyles  $\text{CH}_3\text{-C-3}$  de cycle pyrazole et le deuxième signal caractéristique correspond aux protons méthyle liés au C-5 qui donnent un signal singulet à 2.02 ppm. On observe aussi un signal doublet dédoublet entre 2.83-3.10 ppm d'intégration 2H caractéristique des protons de groupe méthylène  $\text{CH}_2\text{-C-4}$ . Dans le même spectre on remarque aussi des signaux au champ faible à 7.68 ppm caractéristique de H-3' et H-5' et à 8.71 ppm un singulet correspondant à H-2' et H-6' de cycle pyridine. Concernant le spectre RMN <sup>1</sup>H du composé (2) (Figure III.3) mettent en évidence, en particulier, un pic singulet à 2.09 ppm correspond aux protons méthyliques d'un groupement  $\text{CH}_3\text{-C-3}$  de cycle pyrazole et un doublet à 2.24 ppm d'un autre méthyle dans le même cycle

$\text{CH}_3\text{-C-5}$ , à 3.87 ppm un doublet dédoublé d'intégration 2H caractéristique des protons méthylène  $\text{CH}_2\text{-C4}$  de cycle pyrazole. Dans le même spectre on remarque des signaux au champ faible caractéristique les protons de cycle furane H-3', H-4' et H-5 entre 6.78-8.13 ppm. En revanche, et sur les deux spectres on remarque des paliers entre 5.05-5.12 ppm caractéristiques la fonction hydroxyle -OH qui montre bien qu'on a réussi à bloqué l'hydrolyse dans ce stade. Toutes les données spectroscopiques RMN  $^1\text{H}$ , sont en accord avec les pyrazoles substitués obtenus comme le montre les spectres ci-dessous.

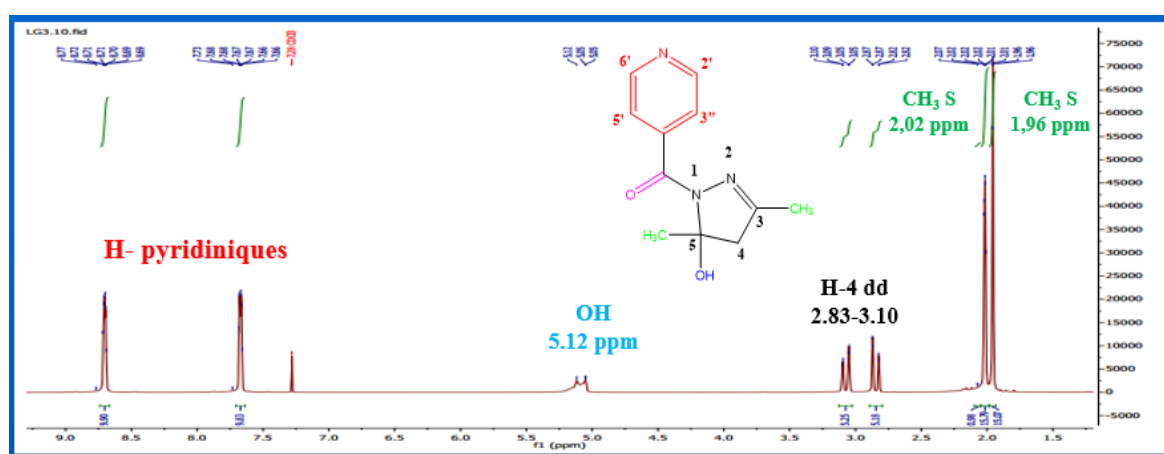


Figure III-2. Spectres RMN  $^1\text{H}$  du composé (1)

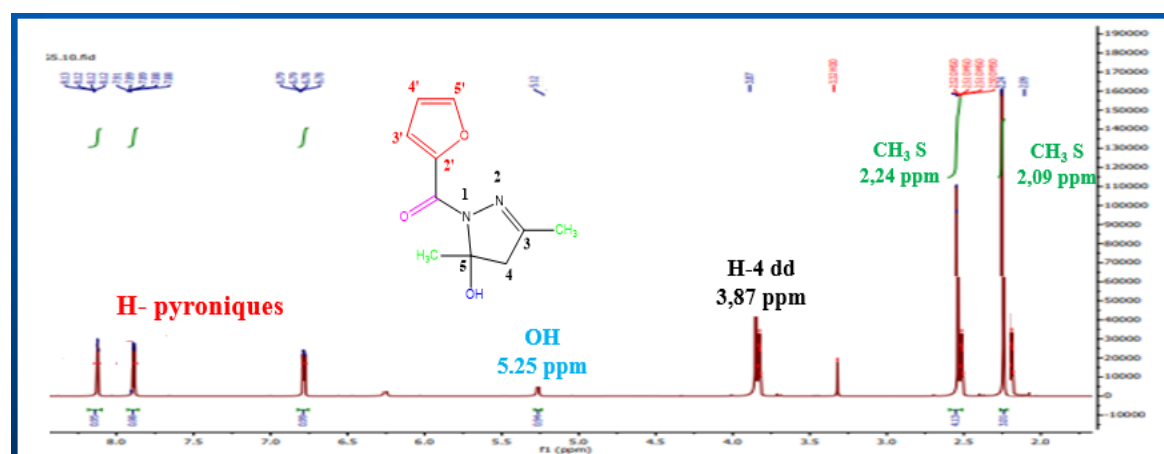
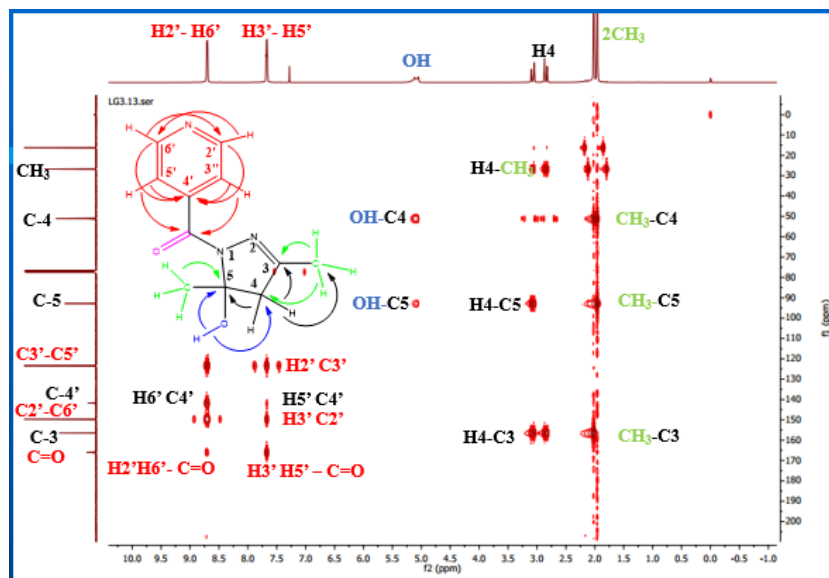


Figure III-3. Spectres RMN  $^1\text{H}$  du composé (2)

L'analyse combinée des expériences HSQC  $J$ -modulé et HMBC permet d'identifier tous les protons et carbones de ces composés.



Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  et  $^{13}\text{C}$   $J$ -modulé (Figures III-4 et III-5) sont globalement similaires à ceux des structures (1, 2). Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$   $J$ -modulé et HSQC permettent d'observer dans la région blindée un signal singulet entre 156.31-166.01 ppm attribuable à un carbonyle C=O dans les structures respectivement, des signaux entre 111.59- 156.51 ppm caractéristiques des carbones C-H et C-quaternaire des cycles pyridine et furane. Par contre, dans la région de champ fort on peut remarquer les carbones méthyliques et méthylènes entre 14.48-26.72 et 55.10-55.12 ppm respectivement dans les deux composés. Il ne reste qu'à attribuer un carbone quaternaire de cycle pyrazole résonant à 90.82 ppm correspondant au C-5.

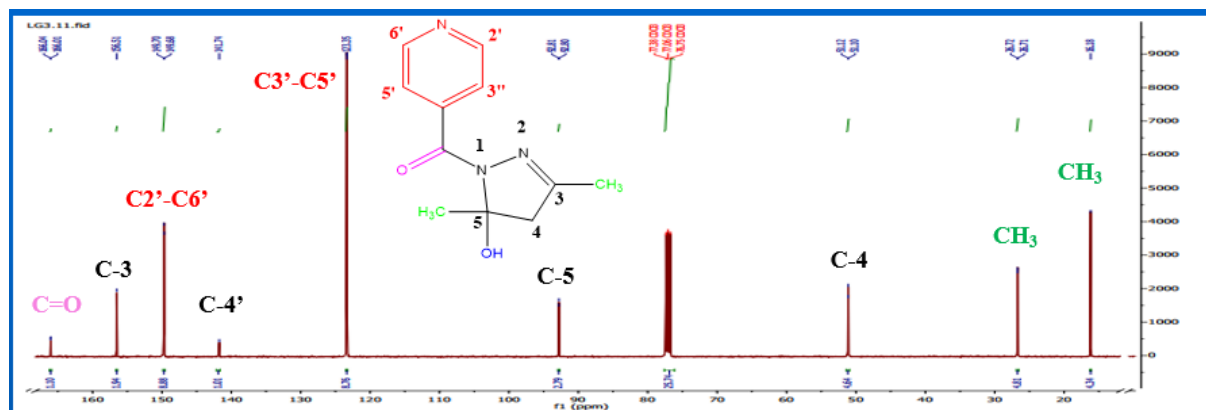


Figure III-4. Spectres RMN  $^{13}\text{C}$  du composé (1)

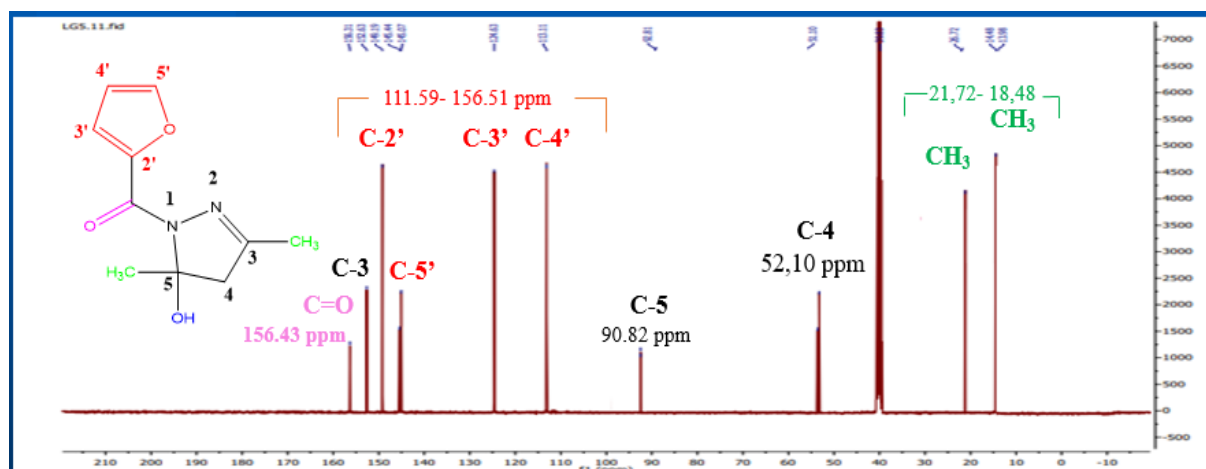


Figure III-5. Spectres RMN  $^{13}\text{C}$  du composé (2)

### III.3. Synthèse de cycle thiazole

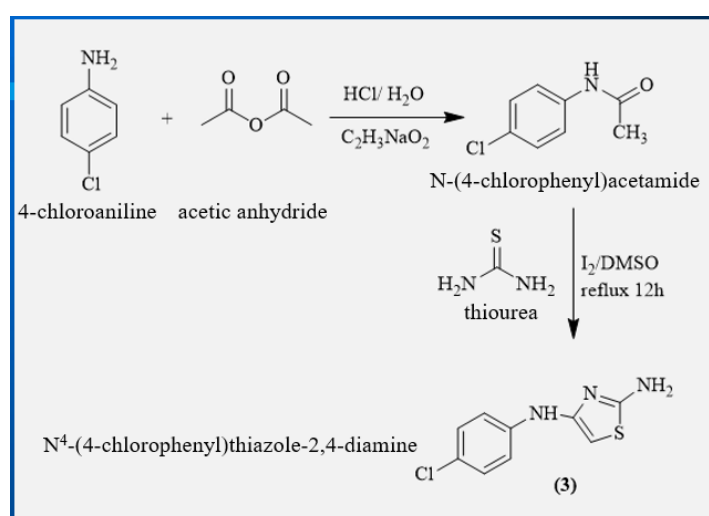
Les dérivés du thiazole sont des composés hétérocycliques très intéressants. Il y a de diverses méthodes expérimentales qui ont été développées pour la synthèse des dérivés thiazole. Dans cette partie. Nous nous sommes intéressés à la préparation d'acétanilide substitué en position 4 par le chlorure dans le but de les utiliser dans la synthèse d'un nouveau composé thiazolique, nous présenterons l'ensemble des résultats obtenus ainsi qu'aux discussions qui en découlent.

La méthodologie adoptée pour cette étude repose sur : La synthèse de notre produit de départ qui est l'acétanilide substitué qui est un précurseur direct de la synthèse des hétérocycles comme la quinoléine surtout. Suivant le protocole expérimental décrit dans la littérature, et dans lequel on utilise l'éthanol comme un solvant de réaction, le produit est un solide et a été purifié par recristallisation dans un mélange l'éthanol /eau dans les proportions 80/20. Le temps réactionnel s'étale entre 30 min à 1 heure pour le moins toutes les données spectroscopiques trouvent dans les travaux de la littérature <sup>121,122</sup>.

<sup>121</sup> Wei, J.; XueKai, L.; Hong, Z.; LiFang, F.; GaoAn,X., Iodine-promoted selective synthesis of substituted aminothiazole via a self-sorting reaction network. *Tetrahedron Letters*.2014, 55, 4212-4215.

<sup>122</sup> Ayers, P. W.; Anderson, J. S. M.; Bartolotti, L. J., Perturbative perspectives on the chemical reaction prediction problem, *Int. J. Quantum. Chem.* **2005**, 101, 520-534.

La synthèse organique est une branche très importante de la chimie. Récemment, la synthèse de molécules hétérocycliques riches en azote est un point très intéressant dans le domaine pharmaceutique et biologique. Un large éventail d'activités biologiques est représenté par de nombreux composés qui contiennent cinq atomes hétérocycliques dans leur structure, comme les pyrazoles et les thiazoles. Le but de cette partie consiste en synthétiser et caractériser de cycle thiazole à base de l'acétanilide dans la présence d'iode **I<sub>2</sub>** dans le **DMSO**, comme le montre le schéma réactionnel suivant :

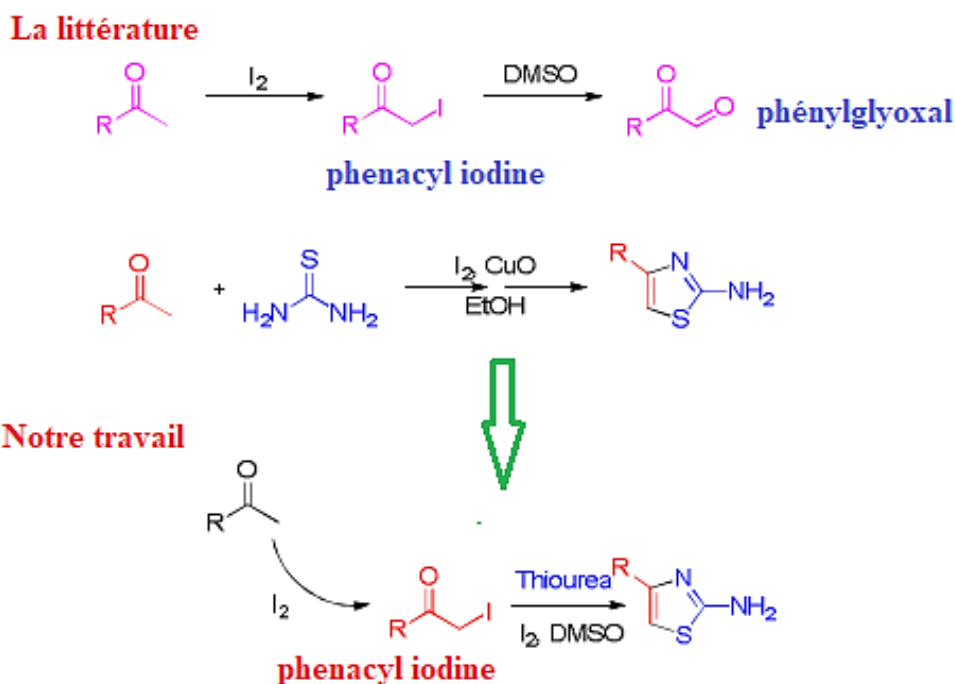


**Schéma III-5.** Synthèse de dérivé thiazolique composé (3)

Le DMSO est un solvant polyvalent qui peut être utilisé comme oxydant ou comme réactif dans la synthèse de certains produits organiques. Dans la littérature précédente, l'acétophénone pouvait être convertie séquentiellement en phénylglyoxal par iodation et oxydation de **Kornblum** en présence de DMSO <sup>123</sup>. De plus, l'iodation de l'acétophénone conduit à la formation de phenacyl iodine, qui peut réagir avec la thio-urée pour former des dérivés 4-aryl-2-aminothiazoles. Dans la présente étude, les réactions précédemment rapportées ont été intégrées pour la synthèse de composés aminothiazole substitués à partir de cétones aromatiques simples et facilement disponibles et de thio-urée (**Schéma-6**). De plus, une

<sup>123</sup> Qian, Z. ; Jiefei, W. ; Zexi, P. ; Wen, Z. ; Wei, Z., A one-pot synthesis of 2-aminothiazoles via the coupling of ketones and thiourea using I<sub>2</sub>/dimethyl sulfoxide as a catalytic oxidative system. Journal of Chemical Research. 2021, 89-94.

nouvelle procédure pour la méthylothiation des liaisons aryle C-H a été appliquée avec du DMSO comme réactif de méthylothiation.



**Schéma III-6 :** Mécanisme réactionnel de la formation de thiazole

Le produit obtenu (**3**) est purifié par une précipitation dans l'éthanol et par analyse spectroscopique RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  et IR, le composé obtenu est confirmé. Dans le (**Tableau III-3**) On trouve quelques propriétés physiques de ce nouveau composé.

**Tableau III-2.** Propriétés physiques du produit (**3**)

Produit	Couleur	Formule brute	Analyse Élémentaire (calc.)				
			C	H	Cl	S	N
<b>3</b>	Marron	$\text{C}_9\text{H}_8\text{ClN}_3\text{S}$	47.89	3.57	15.71	14.21	18.62

### III.3.1. Etude spectrale

#### a. Analyse FT-IR

Le spectre IR de composé (**3**) montre la présence des bandes moyennes entre  $[3200-3400] \text{ cm}^{-1}$  de vibration d'élongation de NH d'amines primaire et secondaire. En revanche les vibrations d'élongations de C-H aromatique apparaissent entre  $[2800-3000] \text{ cm}^{-1}$ , un pic fin

moyen à  $1650\text{ cm}^{-1}$  caractéristique d'une vibration d'élongation de la fonction imine C=N. Le reste des bandes dans la région entre  $[400-1000]\text{ cm}^{-1}$  sont des vibrations d'élongations et déformations de reste de différentes fonctions de ce composé (**3**) mais dans cette région il y a un pic très caractéristique à  $700\text{ cm}^{-1}$  correspond la vibration d'élongation de groupement Thio C-S.

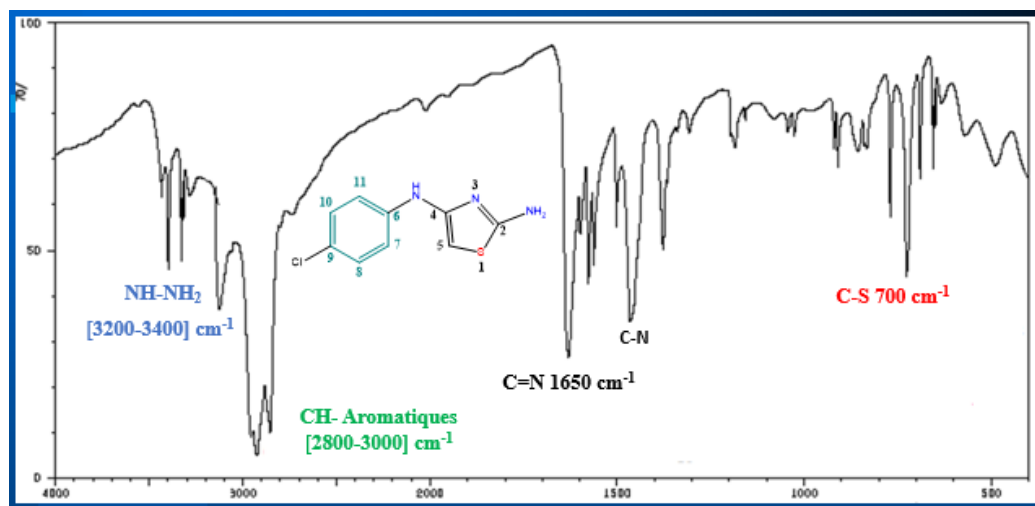


Figure III-6. Spectre FT-IR de composé (**3**)

## b. Analyse par RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$

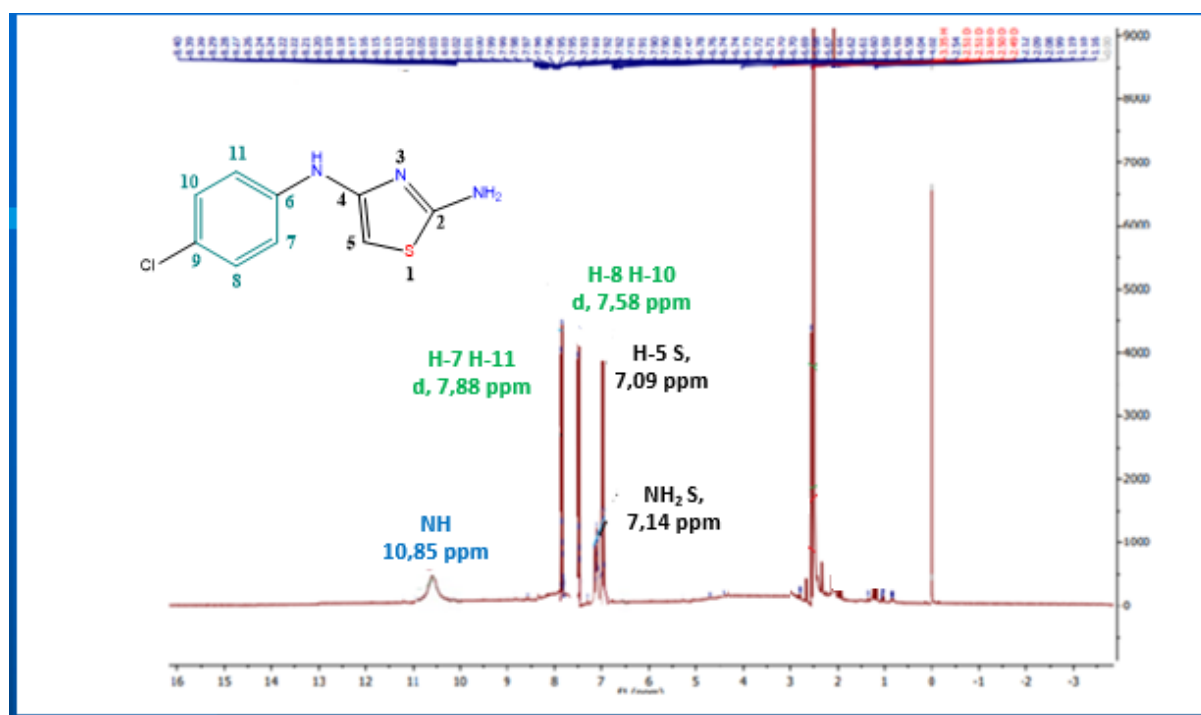
### • RMN $^1\text{H}$ du proton

Le spectre RMN du proton est une méthode puissante utilisée dans la détermination structurale des composés organiques. Il fournit de nombreuses informations, telles que les différents types d'hydrogènes présents dans la molécule analysée, les différents types d'hydrogènes présents dans l'environnement électronique, le nombre d'hydrogènes voisins d'un hydrogène donné et le déplacement chimique caractéristique de chaque proton.

### • RMN $^{13}\text{C}$ du composé

Cette technique permet de mettre en évidence tous les carbones de la molécule. L'analyse se base sur les déplacements chimiques observés en fonction de l'environnement de chacun des atomes de carbone. Cette expérience permet la mise en évidence des carbones primaires ( $\text{CH}_3$ ), secondaires ( $\text{CH}_2$ ), tertiaires ( $\text{CH}$ ) et dans une moindre mesure les carbones quaternaires.

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  de la molécule **N<sup>4</sup>-(4-Chloro-phenyl)-thiazole-2,4-diamine** montre la présence d'un pic singulet à 10.67 ppm correspond au groupement NH de la fonction amine secondaire. D'autre part on remarque aussi qu'il y'a un signal singulet à 7.14 ppm attribué au protons  $\text{NH}_2$  de la fonction amine primaire. Le signal singulet à 7.09 ppm caractéristique au proton H-5. Un signal sous forme d'un doublet à 7.58 ppm attribuable aux protons H-8 et H-10, un autre signal sous forme de doublet à 7.84 ppm correspond aux H-6 et H-11. Les spectres RMN enregistrés dans le  $\text{DMSO-d}_6$  confirment bien la structure proposée.



Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  montre la présence d'un signal caractéristique à 109.51 ppm de carbone HC-5. Aussi bien, on trouve les déplacements chimiques des carbones C-7, C-11 et C-8, C-10 sont respectivement résonnants à 124.68 ppm et 125.90 ppm. Le reste de carbones sont des carbones quaternaires.



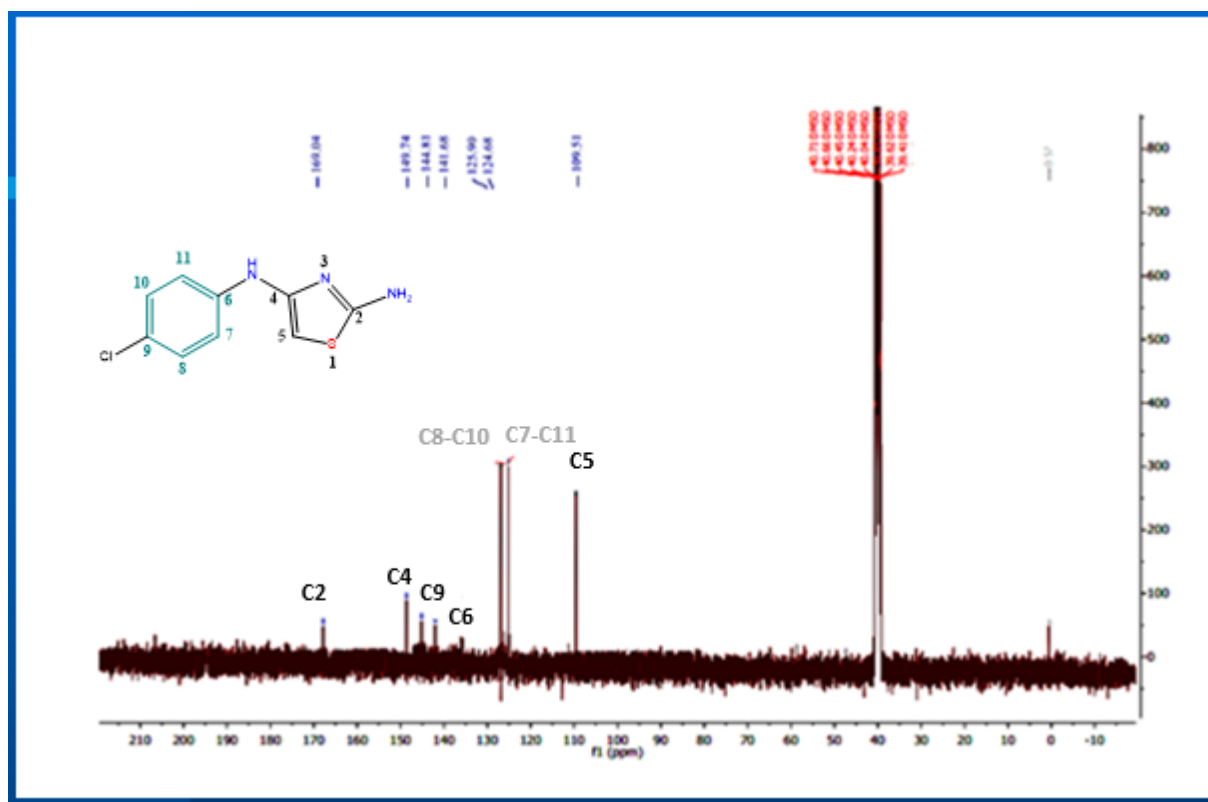


Figure III-8. Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  de composé (3)

### III.4. Etude théorique

#### III.4.1. Eude théorique de cycle pyrazole

La théorie de la fonctionnelle de la densité est méthode imposée comme un moyen relativement rapide et efficace pour simuler les propriétés électroniques et structurales pour l'ensemble des molécules synthétisés ou des substances naturelles. Dans ce chapitre, nous avons présenté la théorie DFT et nous avons discuté surtout les points essentiels et relatifs à notre projet.

Les paramètres de réactivité globale, associés à chaque molécule, ont été calculés, en l'occurrence  $E_{\text{Homo}}$  et  $E_{\text{LUMO}}$ ,  $E_{\text{GAP}}$ , le potentiel chimique ( $\mu$ ), l'électronégativité ( $\chi$ ), l'indice

d'électrophilicité ( $\omega$ ) et la dureté chimique ( $\eta$ ) et la douceur ( $S$ )<sup>124 125</sup>. Le but étant d'étudier la relation et la corrélation entre la structure des molécules synthétisées et les propriétés physicochimiques et biologiques de ces structures.

En outre, les études spectroscopiques ultraviolettes visibles (UV-Vis) ainsi que les orbitales moléculaires (HOMO-LUMO) peuvent expliquer les effets de transfert de charge dans ces molécules synthétisées. En particulier, le potentiel électrostatique moléculaire (MEP) et les charges Mulliken. Tous les calculs ont été effectués avec le package Gaussian 09<sup>126</sup>. La méthode de la théorie fonctionnelle de la densité (DFT) a été utilisée avec la fonctionnelle B3LYP (la fonction d'échange non local à trois paramètres de Becke avec la fonction de corrélation Lee-Yang-Parr)<sup>127</sup>. Les optimisations géométriques ont été réalisées en phase gazeuse ; ceux-ci concordaient de manière satisfaisante avec les résultats structurelles expérimentales.

Les paramètres structuraux optimisés des molécules (1) et (2) (Figure III-9) sont présentés dans le tableau III-3. Les valeurs calculées optimisées n'ont pas été comparées à celles des structures cristallines. Et de ce fait, ils sont considérés comme des molécules nouvelles.

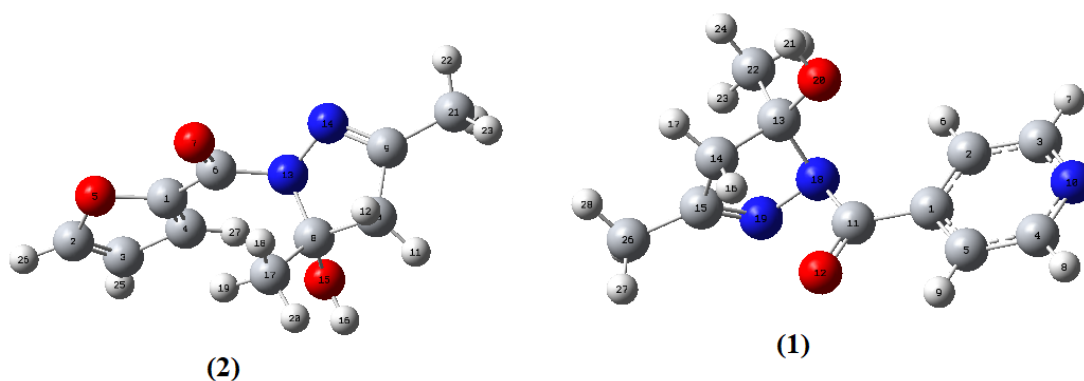


Figure III-9. Structures moléculaires optimisées (1) et (2)

<sup>124</sup> Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G., Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev.B.* **1988**, 37, 785-789.

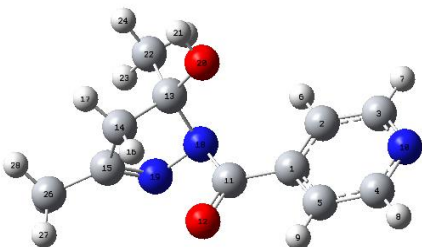
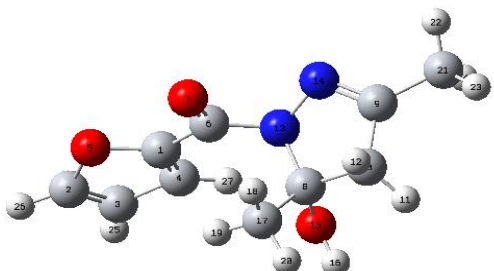
<sup>125</sup> Zhi H.; Zheng J.; Chang Y.; Li Q.; Liao G.; Wang Q.; Sun P., *J. Mol. Struct.* **2015**, 199-205.

<sup>126</sup> Costa, J. C. S.; Taveira, R. J. S.; Lima, C. F. R. A.C.; Mendes, A. ;L. Santos, M. N. B. F., *Optical Materials.* **2016**, 58, 51-60.

<sup>127</sup> Gaumont, A.; Gulea, M.; Levillain, J., Overview of the Chemistry of 2-Thiazolines. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 1371-1401.

Les paramètres structuraux les plus pertinents, longueurs de liaison, liaison des angles et les angles dièdres sont déterminés par la méthode de la théorie fonctionnelle de la densité (DFT) a été utilisée avec la fonctionnelle B3LYP avec la base 6-311+G (d, p). D'après les données de la littérature et à la connaissance de données expérimentales sur les géométries de ces molécules n'ont pas été étudiées auparavant. Les résultats de l'ampleur des longueurs de liaisons sont représentés dans le (Tableau III-3) suivant :

**Tableau III-3.** Les longueurs des liaisons (en Å), les angles (en degré) des composés synthétisés.

Réactifs	Les géométries	
 <p>(1)</p>	<p><b><u>Les longueurs des liaisons</u></b></p> <p>N18-C3 = 1.343            N18-N19 = 1.348            N18-C13 = 1.462            C13-O22 = 1.300            O22-H21 = 0.960            C11-O12 = 1.258</p>	<p><b><u>Les angles</u></b></p> <p>C3-N10-C4= 121.46            C11-N18-O12=120.00            C13-N18-N19=101.72</p>
 <p>(2)</p>	<p><b><u>Les longueurs des liaisons</u></b></p> <p>O5-C1=1.521            C6-C7=1.258            N13-N14= 1.521            C8-O15=1.430            O15-H16=0.960</p>	<p><b><u>Les angles</u></b></p> <p>C1-O5-C2 =107.94            N13-C6-O7= 119.88            C8-N13-NC14= 107.94</p>

Les valeurs des liaisons et des angles obtenues sont différents entre ces deux molécules sauf au niveau de cycle pyrazole dans les composés (1) et (2); nous pouvons remarquer des différences comme par exemple la longueur de la liaison N-N dans le pyrazole entre 1.34-1.52 Å alors que les mêmes longueurs de liaisons OH et C=O entre 0.96 et 1.25 Å dans les deux composés (1) et (2). En revanche, aucun changement majeur n'est constaté dans le lien longueurs N-C, C-H et C-C à partir de leurs longueurs de liaison habituelles. Les angles de liaison

optimisés N-N-C observés entre 101.72 et 107.94 dans les deux composés. De même, C-C-H est calculé de 112.13 à 115.39 A°. Cela montre que la substitution au niveau de N13 et N18 peut aussi contribuer au changement de l'extension de cycle.

### a. Théorie des OMF

Le potentiel d'ionisation (IP), l'affinité électronique (EA), le potentiel électronique chimique ( $\mu$ ), la dureté chimique ( $\eta$ ) et l'indice de l'électrophilicité ( $\omega$ ) calculés pour les produits pyrazoles (1) et (2) sont rassemblés dans le [tableau III-4](#).

**Tableau III-4.** Les descripteurs chimiques intramoléculaires (en eV) pour les réactifs (1) et (2).

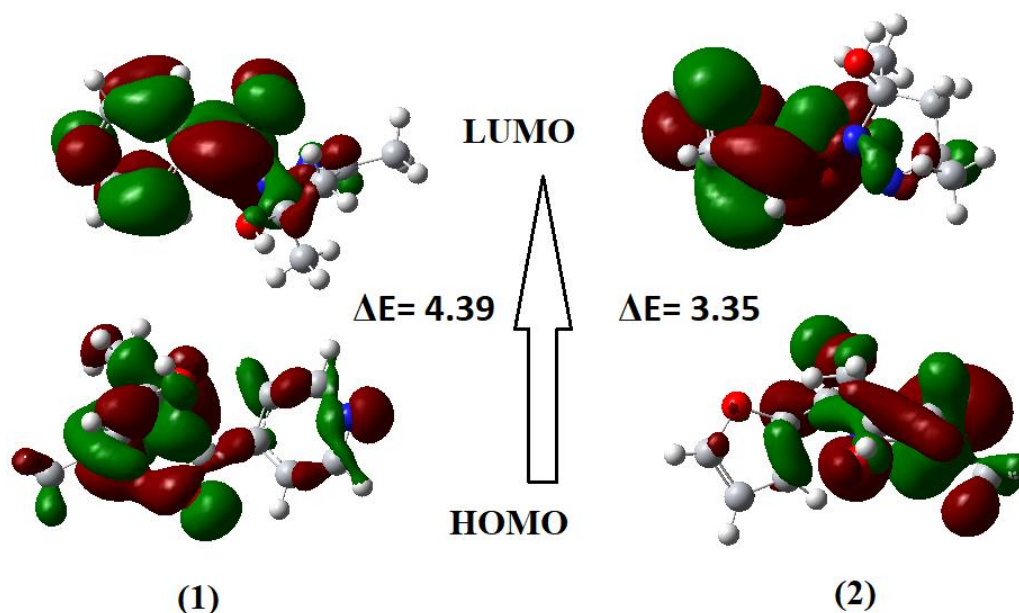
Composés	HOMO	LUMO	E <sub>GAP</sub>	$\mu$ (D)	$\chi$ (eV)	$\eta$ (eV)	S (eV)
(1)	-6.35	-1.96	4.39	-6.51	4.15	2.19	0.23
(2)	-6.40	-2.95	3.45	-4.24	4.76	1.73	0.29

A partir des résultats du ([Tableau III-4](#)) nous remarquons les potentiels chimiques ( $\mu$ ) du composé (2) sont les plus importants avec une valeur -4.24. Donc est le plus réactif que le composé (1), plus le potentiel chimique est important, la molécule est moins stable et plus réactive. On peut également noter que l'électronégativité au cycle (1) est le plus électronégatif avec une valeur de 4.15. Pour la dureté chimique qui est définie comme la résistance d'un système moléculaire transfert d'électron. Plus la dureté est grande plus la molécule est dure et plus stable et moins réactive. Nous observons que la plus grande valeur 2.19 correspond au composé (1). Concernant la mollesse qui a été exprimée comme l'inverse de la dureté. Plus la mollesse est basse plus le composé est réactif, nous remarquons que la molécule (1) est la plus réactive que le composé (2).

### b. Etude électronique

Nous avons regroupé les valeurs des énergies des niveaux HOMO, LUMO et  $\Delta E_g$  (différence entre HOMO et LUMO) pour les deux dérivés pyrazoles (1) et (2). Il est à noter que les résultats de calcul supposent que les molécules en question sont à l'état isolé et il a été

montré que les gaps calculés entre 3.35 et 4.39 eV. Nous avons effectué une étude qualitative des orbitales frontières de la géométrie des cycles pyrazoles (1) et (2) par la méthode DFT au niveau B3LYP/ 6-311+G (p,d). La représentation des orbitales frontières HOMO et LUMO pour le différent cycle sont représentées dans la figure suivante :



**Figure III-10.** Orbitales frontières (HOMO-LUMO) des composés (1) et (2)

Les propriétés nodales obtenues en méthodes DFT pour les différentes géométries optimisées pour les composés (1) et (2) sont :

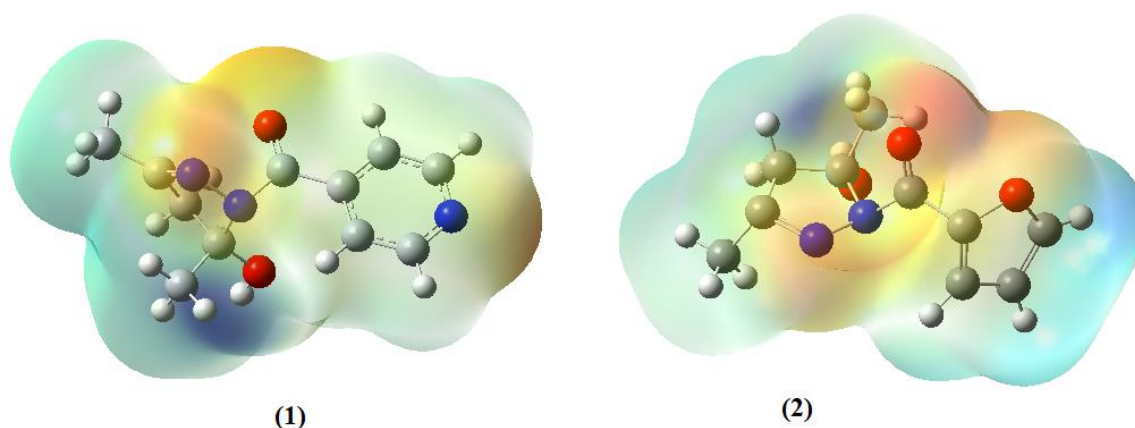
- En ce qui concerne l'orbitale HOMO pour les deux composés sont majoritairement localisées sur le cycle pyrazole.
- Par contre les orbitales LUMO pour les deux molécules leurs représentation nodales ont la même allure générale avec un caractère majoritaire sur les cycles pyrane et pyridinique.

Ce qui montre que l'écart d'énergie est de 3.35 eV correspondant au gap d'énergie de composé (2) est inférieur à celui qui correspond au gap d'énergie de composé (1), qui explique que le dérivé pyrazole (2) c'est un donneur d'électron et comme un accepteur d'électron le dérivé (1).

### c. Surfaces à potentiel électrostatique moléculaire (MPE)

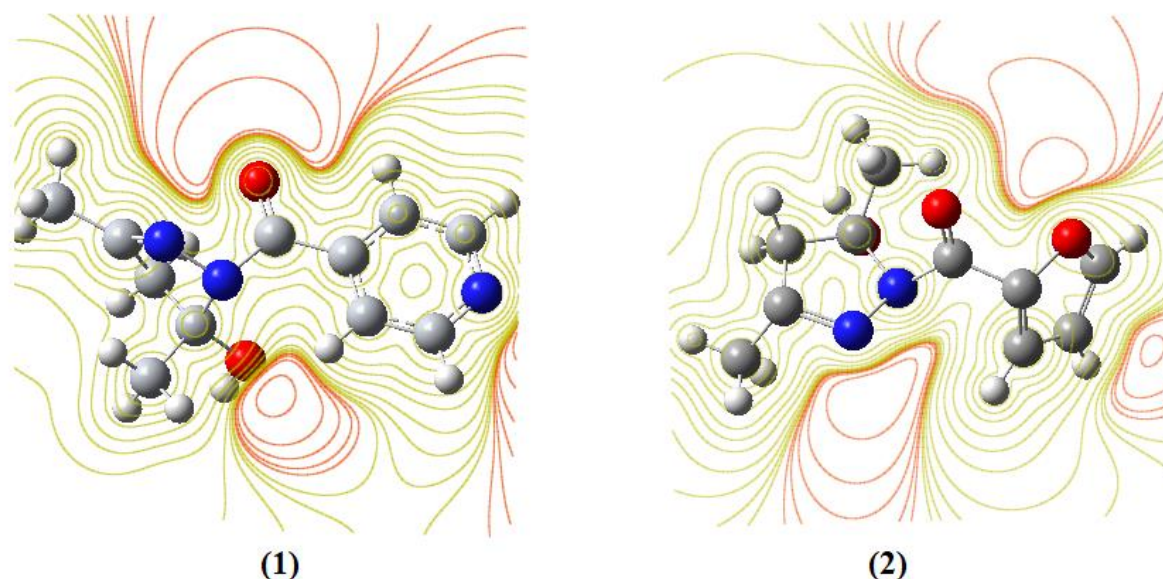
L'utilisation du potentiel électrostatique moléculaire (MEP) permet de caractériser des sites complémentaires d'interactions sur les partenaires, en particulier les sites d'attaque nucléophile ou électrophile. Les différentes amplitudes du MEP sont données par différentes couleurs, comme suit : rouge <orange <jaune <vert <bleu <sup>126</sup>.

Il est évident que la zone nucléophile est située à proximité de l'oxygène et azote du noyau pyridine et pyrazole est caractérisée par la couleur rouge et jaune et présente une densité électronique élevée. Tandis que, les zones électrophiles est préférable sur ces sites. De même ces dérivés étudiés sont très stables, car ils sont caractérisés par des densités électroniques élevées et ces derniers sont des sites accepteurs de liaisons d'hydrogène comme le montre la figure suivante :



**Figure III-11.** Potentiel électrostatique moléculaire (MEP) des composés (1) et (2)

Le potentiel électrostatique expérimental qui est représenté dans la Figure III-12 des molécules étudiées. Les contours rouges indiquent les régions négatives de ces molécules et les contours bleus indiquent les régions positives. Les cartes du potentiel électrostatique obtenues expérimentalement et théoriquement montrent qu'il y a un bon accord entre les deux cartes.



**Figure III-12.** Potentiel électrostatique expérimental des composés (1) et (2)

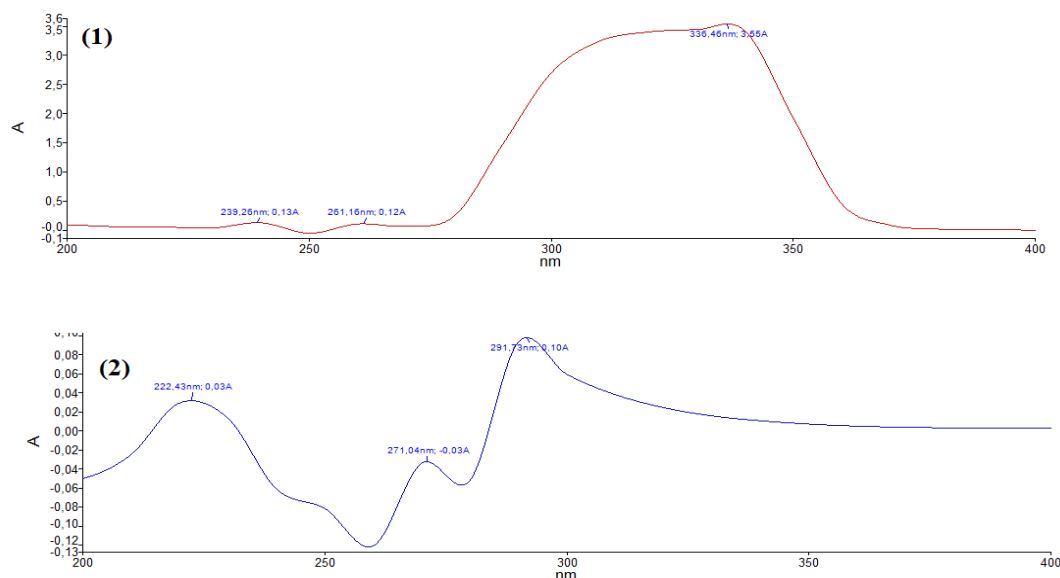
#### d. Propriétés optiques

Pour étudier les propriétés optiques pour les deux dérivés pyrazole, nous avons entrepris un calcul TD-DFT. Trois transitions de basses énergies ont été obtenues pour les deux composés (1), à  $\lambda = 367.59$  nm (absorbance = 0.0282), à  $\lambda = 333.41$  nm (absorbance = 0.0048) et à  $\lambda = 292.23$  nm (absorbance = 0.0218), mais pour le composé (2) à  $\lambda = 292.77$  nm (absorbance = 0.0103), à  $\lambda = 244.96$  nm (absorbance = 0.3742) et à  $\lambda = 292.23$  nm (absorbance = 0.0273).

Le spectre UV-vis est utilisé comme une technique directe et efficace pour estimer avec précision l'énergie du gap pour les matériaux  $\pi$ -conjugués. A partir du spectre UV-vis, le gap optique peut être estimé selon l'équation suivante <sup>127</sup> :

$$E_g(\text{eV}) = h \cdot f = h \cdot \frac{C}{\lambda_{Eg}} \approx \frac{1240}{\lambda_{Eg}(\text{nm})}$$

Le gap optique  $\Delta E_{\text{gap}}$  est exprimé en (eV) et la longueur d'onde  $\lambda$  désigne la bande d'absorption exprimée en (nm) obtenue à partir de l'intersection des deux lignes, les spectres expérimentaux sont représentés dans la figure suivante :



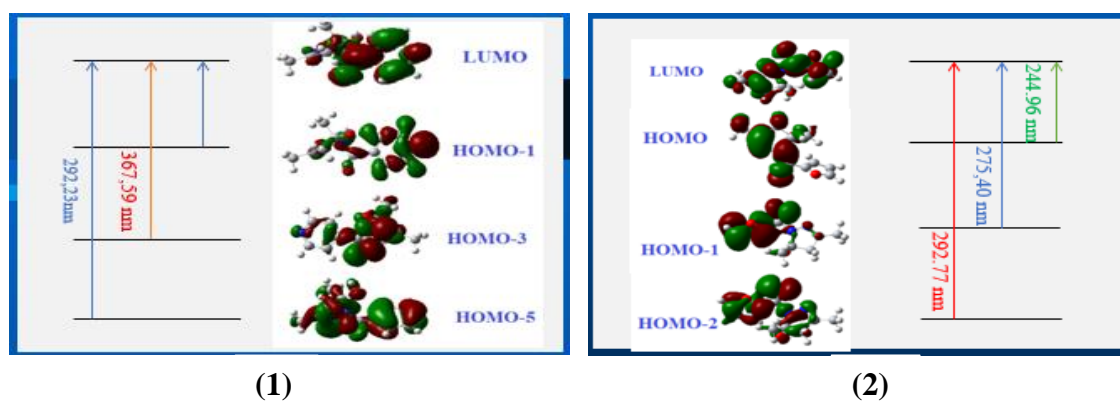
**Figure III-13. Les spectres UV-Vis expérimentaux des composés (1) et (2)**

A partir de ce spectre UV-Vis expérimental la longueur d'onde du composé (1) est  $\lambda_1 = 335.46$  nm, donc la valeur du gap optique est égale à 3.66 eV, cette valeur est moins proche de la valeur du gap calculée par la méthode DFT qui est de l'ordre de 3.37 eV. Concernant le deuxième composé (2) la longueur d'onde expérimentale est  $\lambda_1 = 291.73$  nm, avec une valeur du gap optique est égale à 4.25 eV, cette valeur est proche de la valeur du gap optique calculé est égale à 4.50 eV. Ces résultats ont montré que l'analyse UV-Visible peut être utilisée comme une technique pratique et directe pour déterminer l'énergie de bande interdite des composés organiques  $\pi$ -conjugués, qui est une propriété optique et conductrice d'un matériau. Les valeurs du gap obtenue expérimentalement et celle calculée théoriquement par la fonctionnelle B3LYP et la base 6-31+G (d, p) confirme le bon choix de ce modèle.

Pour mieux comprendre les processus d'absorption des composés étudiés, nous avons calculé l'énergie des différentes transitions des caractères  $\pi$ - $\pi^*$  et  $n$ - $\pi^*$ . Les états excités TD-DFT dans le composé (1) montre que les transitions électroniques théoriques (Figure III-14) à 367.59 nm attribuées à une combinaison de transition [HOMO-3  $\rightarrow$  LUMO] qu'il est proche de la valeur expérimentale à 336.47 nm qui attribuée au transition permise  $\pi$ - $\pi^*$  et une autre transition apparaît entre [HOMO-5  $\rightarrow$  LUMO] correspondent à une transition  $n$ - $\pi^*$ . Par contre le composé (2) montre des transitions [HOMO-2  $\rightarrow$  LUMO] et [HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO] révèlent que ces bandes sont principalement dues au transfert de charge dans la molécule, c'est-à-dire



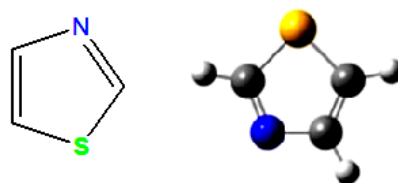
aux transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  et  $n \rightarrow \pi^*$ . Les longueurs d'ondes plus élevées sont dues à la présence des groupements donneurs d'électrons (comme le cycle pyridine et furanne) qui réduit l'écart d'énergie entre les niveaux d'énergie électroniques. D'autre part des bandes spectrales apparaissent à une longueur d'onde plus courte (comme le groupe méthyle) est peuvent entraîner pour la présence du groupe qui inhibe la conjugaison en raison de l'encombrement stérique et donne des résultats plus faibles.



**Figure III-14.** Principales transitions électroniques dans l'ultraviolet-visible des composés (1) et (2).

#### III.4.2. Etude théorique de cycle thiazole

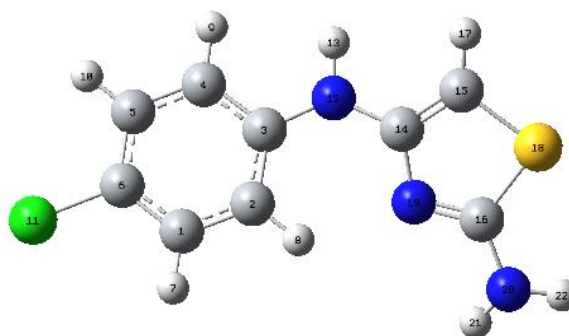
Les thiazoles ou les dérivés thiazoliques sont des composés hétérocycliques dérivés du thiazole qui sont constitués d'un cycle à cinq chaînons, un atome de soufre et un atome d'azote et deux doubles liaisons dans le noyau. Les hétéroatomes d'azote et de soufre occupent les deux positions 3 et 1, respectivement (Figure III-15). Dans cette recherche, les méthodes fonctionnelles de densité (DFT) ont été utilisées pour effectuer des calculs théoriques sur le composé et ont été caractérisées par les spectres FT-IR, UV-Vis et RMN. Le dérivé thiazolique a été étudié en comparaison avec des calculs théoriques et des données expérimentales. Ces études sont précieuses pour comprendre les propriétés moléculaires hétérocycle et pour synthétiser de nouveaux dérivés à l'avenir.



**Figure III-15.** Structure et conformation 3D du noyau thiazole

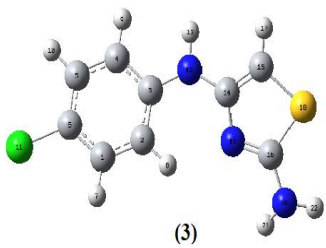
Le [tableau III -5](#) présente les valeurs calculées de différents paramètres énergétiques tels que le moment dipolaire  $\mu$ , HOMO (orbitale moléculaire le plus haut occupé), LUMO (orbitale moléculaire le plus bas inoccupé) et la différence  $\Delta E$  entre les énergies des orbitales HOMO et LUMO. Les paramètres HOMO, LUMO,  $\Delta E$  et  $\mu$  ont été calculés par la méthode DFT au niveau B3LYP/ 6-311+G (p, d).

L'optimisation géométrique a été réalisée en phase gazeuse et cela concordait de manière satisfaisante. Les paramètres structuraux optimisés de la molécule **(3)** ([Figure III-16](#)) sont présentés dans le [tableau 4](#). Les valeurs calculées optimisées n'ont pas été comparées à celles de la structure cristalline de ce fait il sont considérés comme une molécule nouvelle.



**Figure III-16.** Structure optimale de la molécule **(3)**.

**Tableau III-5** : Les longueurs des liaisons (en Å), les angles (en degré) de composé **(3)**.

Réactifs	Les géométries
 <p style="text-align: center;">(3)</p>	<p style="text-align: center;"><b><u>Les longueurs des liaisons</u></b></p> <p>S18-C16= 1.760  S18-C15=1.751  N19-C16= 1.30  N19-C14=1.381  N20-H22= 1.00  N12-H13=1.09  Cl11-C6=1.72</p> <p style="text-align: center;"><b><u>Les angles</u></b></p> <p>C15-S18-C16= 88.305  C15-C14-N19= 116.001  C3-N12-C14=129.55  Cl11-C6-C1= 119.96</p>

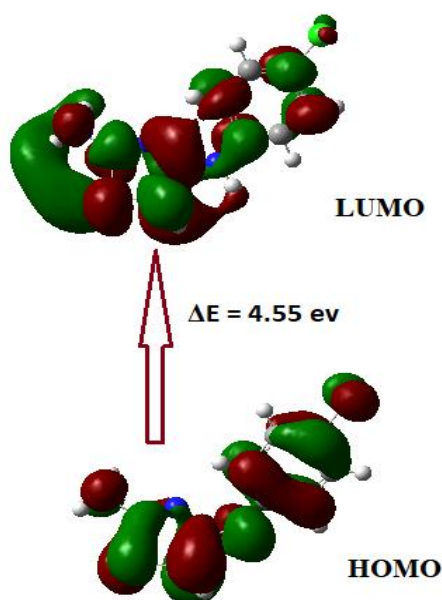
Pour le composé **(3)** il est complètement différent des deux pyrazoles étudiés. L'énergie obtenue par optimisation de cette structure par DFT est égale à -1370.44 uma. Concernant les paramètres optimisés (longueur de liaison, angle de liaison et angle dièdre) ont été calculés et tabulé dans le [tableau III-5](#). Alors la longueur de la liaison C-S (1.76 Å) est supérieure à C-N (1.30 Å) car la taille de l'atome augmente la longueur de la liaison. Pour la chimie computationnelle, nous devons être plus précis et en utilisant des coordonnées cartésiennes pour trouver la géométrie moléculaire optimale.

**Tableau III-6** : Les descripteurs chimiques intramoléculaires (en eV) de composé **(3)**.

Composés	HOMO	LUMO	E <sub>GAP</sub>	μ (D)	χ (eV)	η (eV)	S (eV)
<b>(3)</b>	-5.28	-0.728	4.55	-4.39	3.00	2.27	0.44

Les orbitales moléculaires HOMO de type π sont localisés sur les quatre carbones C2, C3, C4 et C5 ([Figure III-17](#)) ; donc le composé **(3)** est préféré pour subir une attaque nucléophile ; Ceci est encore supporté par le gap d'énergie d'HOMO-LUMO (4.55 eV) ([Tableau III-6](#)), ce qui montre une bonne réactivité chimique du composé **(3)**. C-à-d, Quand l'écart énergétique HOMO-LUMO est élevé, l'écoulement des électrons n'est pas facile, qui rend la molécule dure

et moins réactive, par contre quand le gap énergétique HOMO-LUMO est faible, cela pour conséquence un écoulement facile des électrons, ce qui rend la molécule molle.

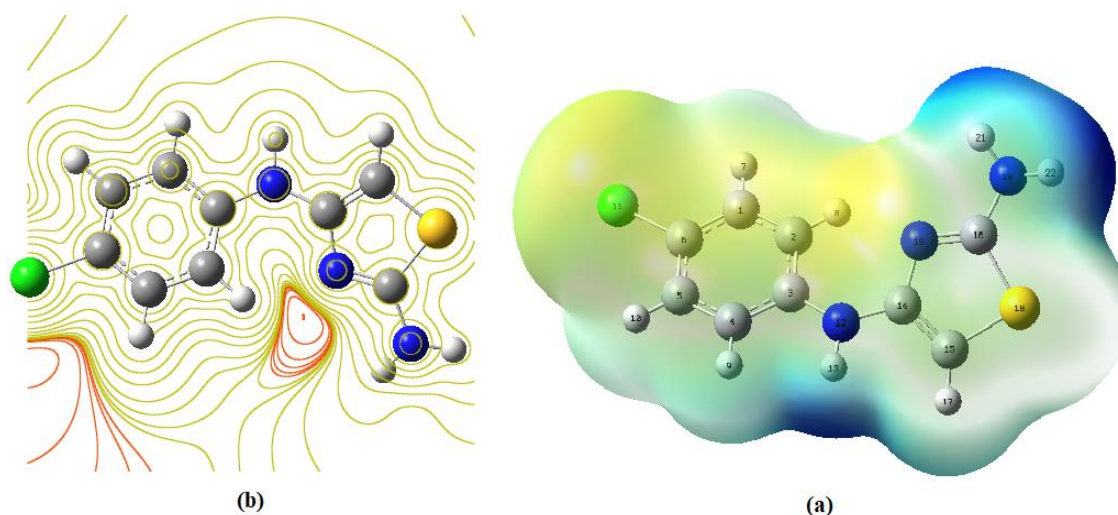


**Figure III-17.** Orbitales frontières (HOMO-LUMO) des composés (3).

D'après les résultats obtenus dans la partie une concernant l'étude théorique des composés pyrazoliques et la deuxième partie thiazolique on remarque que le cycle thiazole présente le gap énergétique le plus élevé entre l'HOMO-LUMO (0.140 eV), donc il est le plus stable et le moins actif chimiquement bien qu'il contienne 2 hétéroatomes (Tableau III.6). En revanche, le composé (2) il est le moins stable et le plus actif chimiquement (Tableau III.4). On conclut que :  $\Delta E (3) > \Delta E (1) > \Delta E (2)$ . On peut expliquer que l'hétéroatome dans un cycle joue un rôle important dans les propriétés physico-chimiques et la réactivité et aussi l'effet de l'environnement.

Le MEP est très important et plus largement utilisé pour visualiser la distribution de charge dans une molécule. Son importance située dans la présence de la taille moléculaire, la région ainsi que les formes de potentiel électrostatique positif, négatif et neutre en termes de graduation de couleur. En général, les différentes valeurs du potentiel électrostatique sont expliquées par des couleurs différentes dans des intervalles donnés. Pour notre molécule ces valeurs sont comprises entre -0.0604 u.a, et +0.0604 u.a, en allant du rouge le plus intense et représente les régions les plus négatives mais le jaune indique les régions les moins

électrostatiques et le bleu montre les régions les plus positives du potentiel électrostatique <sup>128,129</sup>. Le graphique (2D) du contour et le MEP du composé (3) obtenu avec la géométrie optimisée par le niveau de calcul B3LYP/6-311+G (d, p) sont illustrés sur la (Figure III-18).



**Figure III-18.** Potentiel électrostatique de la molécule (3) ; (a) : MEP, (b) : contour 2D.

La (Figure III-18) indique que la région autour des atomes d'azote N représente le plus région de potentiel négatif (rouge). La couleur bleu foncé représente le potentiel le plus positif autour de la région du groupe amino (NH<sub>2</sub>). La prédominance de la région vert clair dans le MEP correspond à un potentiel à mi-chemin entre les deux couleurs extrêmes rouge et bleu foncé.

Il est clair que les charges de Mulliken fournissent l'image la plus simple de la distribution des charges qui peut conduire à certaines propriétés importantes de la molécule telles que les charges sur les différents atomes, le moment dipolaire moléculaire et le potentiel électrostatique autour de la molécule.

Les charges atomiques montrent que les atomes N12, N19, N20 et C1, C4, C5 et C14 ont des charges atomiques négatives plus importantes en phase gazeuse que les reste atomes de carbone et les hétéroatomes comme le soufre et le chlore. Ce comportement peut s'explique par

<sup>128</sup> Murray, J.S.; Sen, K., *Molecular Electrostatic Potentials, Concepts and 399 Applications*, Elsevier, Amsterdam, **1996**.

<sup>129</sup> Scrocco, E, Tomasi, J, Lowdin, P (Ed.), *Advances in Quantum Chemistry*, Academic Press, New York, **1978**, 402.

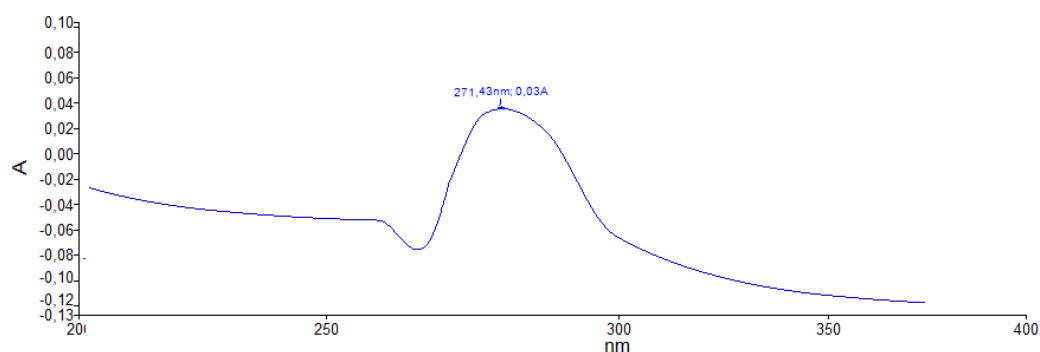
les atomes chargés négativement présentent le site actif d'adsorption sur la surface de l'atome ce processus s'effectue par une réaction de type donneur-accepteur.

**Tableau III-7.** Charges atomiques de Mulliken calculées pour le composé (3).

Atomes	Charge Mulliken	Atomes	Charge Mulliken
C1	-0.507220	N12	-0.320270
C2	1.297820	H13	0.298847
C3	-0.805158	C14	-0.125854
C4	-0.536514	C15	-0.090800
C5	-0.491195	C16	0.002621
C6	0.176200	H17	0.164947
H7	0.142333	S18	0.238119
H8	0.148750	N19	-0.201044
H9	0.116748	N20	-0.483038
H10	0.139871	H21	0.319596
C11	0.224047	H22	0.291194

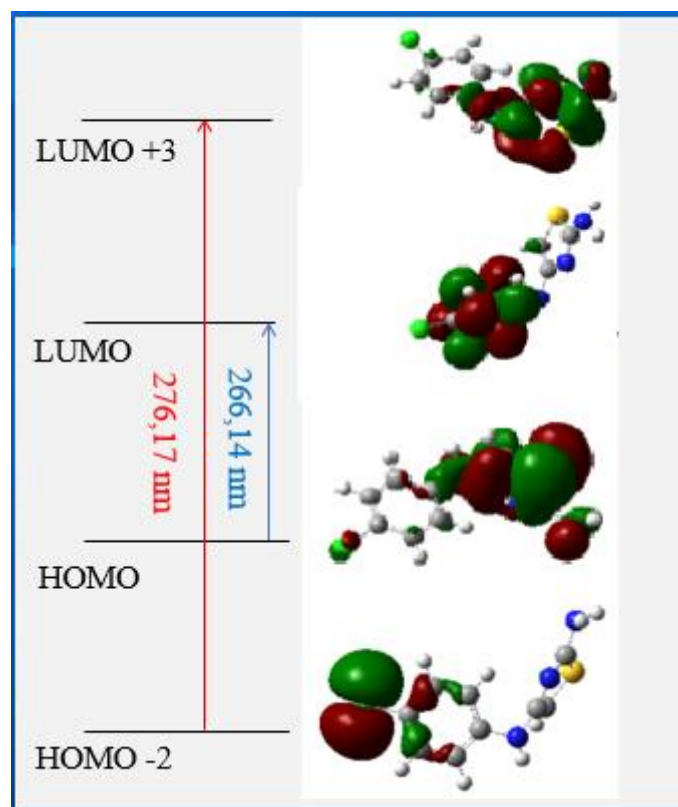
Les résultats du [Tableau III-7](#) révèlent l'effet de la fonctionnelle sur les valeurs des charges de Mulliken. En effet, de cette analyse de la charge atomique de Mulliken montre que les trois atomes d'azote N12, N19 et N20 ont des valeurs remarquables de charge négative ce qui impose des charges positives à tous les atomes de carbone liés à ces atomes très électronégatifs, tandis que les atomes C1, C3, C4, C5, C14 et C15 sont négatif, alors que les atomes de carbone restants sont chargés positivement en raison de ces atomes de carbone C2, C6 et C16 liés par un atome électronégatif (azote, Chlore). Ces atomes électronégatifs retirent le partiel charge de l'atome de carbone et donc ils deviennent positifs. De plus, tous les atomes d'hydrogène ont des charges positives nettes et tous les atomes de carbone liés à ces atomes électropositifs présentent des charges négatives.

Les énergies d'excitation ont été calculées par l'utilisation de la méthode DFT en fonction du temps (TD-DFT) afin de caractériser la nature des transitions électroniques et l'affectation des bandes observées dans les spectres d'absorption UV-Vis dans la [Figure III-19](#).



**Figure III-19.** Spectre UV-vis du composé (3)

D'après les résultats TD-DFT, il ressort que la première transition et la plus pertinente qui détermine l'état excité se produit à 276.17 nm. Il s'agit essentiellement du transfert d'électrons HOMO-LUMO. De plus, compte tenu de la composition des niveaux, la transition intense suivante, avec une constante de force d'oscillation de 266.14 nm. Dans ce cas, sa composante principale de 85% implique la transition électronique de l'HOMO-2 au LUMO+3. Tandis que, ces bandes sont principalement dues au transfert de charge intramoléculaire de type  $\pi \rightarrow \pi^*$  et  $n \rightarrow \pi^*$  qui sont dues à la présence des groupements donneurs d'électrons (comme le cycle aromatique et thiazolique) qui réduit l'écart d'énergie entre les niveaux d'énergie électroniques.



**Figure III-20.** Principales transitions électroniques dans l'ultraviolet-visible du composé (3).

### III.5. Activité biologique

#### III.5.1. Activité antibactérienne

Les hétérocycles comportant un système pyrazole ou thiazole ont donné lieu, au cours de ces dernières années, à des recherches biologiques et pharmacologiques intenses. Ils sont connus notamment pour leurs activités antimicrobiennes et aussi on les retrouve dans la structure de certains médicaments. A cet égard, nous nous sommes intéressés à tester ces nouvelles molécules pyrazoliques et thiazoliques sur des souches microbiennes pour étudier leurs pouvoirs antibactériens.

Pour savoir l'activité antibactérienne des composés nouvellement synthétisés, nous avons testé tous ces composés contre les bactéries à gram positif : *Staphylococcus aureus* et contre les bactéries à Gram négatif : *Escherichia Coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Pour chaque espèce bactérienne, on utilise les boites pétries et les disques antibiotiques comme référence.



Les produits synthétisés sont placés dans ces boîtes de pétri sous forme des disques de papier. Après l'incubation à 37°C pendant 24 heures, il est possible de voir les zones d'inhibition de la croissance bactérienne de chaque disque et mesurer le diamètre de la zone inhibitrice. L'activité est bonne pour un diamètre > 15 mm. L'activité est modérée pour un diamètre compris entre 8 et 15 mm. Le produit est inactif pour un diamètre < 8 mm. Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau III-8.** Activités antibactériennes des composés (1-3) dans un test de diffusion sur gélose

	Composé (1)		Composé (2)		Composé (3)		AMP 10µg/ disc
	100 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml	
<i>E. coli</i>	11.4±0.63	9.0±1.12	13.1±0.98	12.2±1.22	12.9±1.25	12.1±0.58	28
<i>S. aureus</i>	10.7±1.58	8.5±1.08	12.2±1.52	11.3±2.08	12.71±0.89	13.7±1.03	14
<i>P. aureng</i>	10.8±1.02	8.3±1.52	12.6±1.52	11.8±1.52	13.06±1.32	12.3±0.79	19

Les composés synthétisés rapportés ici ont été évalués pour leurs activités antibactériennes contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les valeurs d'inhibition de zone ont été mesurées en millimètres. Les valeurs de ces zones inhibitrices révèlent que les composés (1-3) présentent des activités antibactériennes modérées contre toutes les souches microbiennes à des concentrations de 50 et 100 µg/ml, respectivement.

L'activité biologique de ces composés résulte de la présence des cycles à cinq chaînons jouent un rôle très important dans l'élucidation du mécanisme de la réaction de transformation dans les systèmes biologiques. Le contrôle DMSO n'a montré aucune activité antimicrobienne contre les souches bactériennes testées, tandis que le composé testé s'est avéré actif.

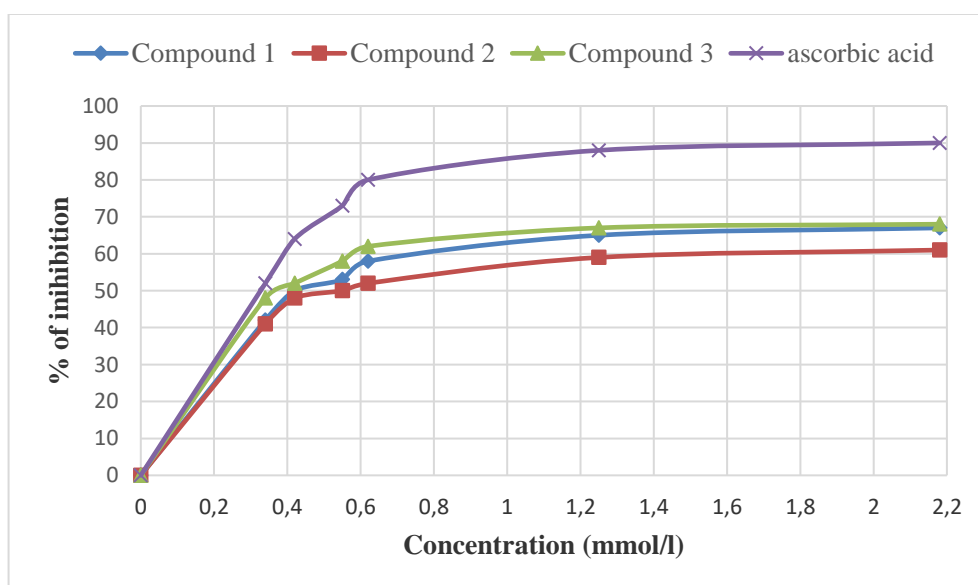
### III.5.2. Activité antioxydante

L'activité anti-radicalaire est mesurée selon le protocole décrit par <sup>111</sup> (Leitao *et al.*, 2002). Des solutions mères ont été préparées en dissolvant 10 mg d'échantillons synthétisés dans 10 ml de méthanol pour donner une concentration de 1 mg/ml. Puis préparer des concentrations d'échantillons de 5, 15, 25, 30, 40 et 50 µg/ml. La solution méthanolique de DPPH (20 mg/l) a été préparée quotidiennement. Les mélanges ont été réalisés en ajoutant 100 µl d'échantillon à tester à 900 µl de solution DPPH. L'acide ascorbique a été utilisé comme

standard (0-30 µg/ml). Ces mélanges de solutions ont été maintenus dans l'obscurité pendant 30 minutes et la densité optique a été mesurée à 517 nm à l'aide du spectrophotomètre. La densité optique a été enregistrée et le % d'inhibition a été calculé à l'aide de la formule ci-dessous :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

La valeur IC<sub>50</sub> a été calculée par régression linéaire de tracés où l'abscisse représentait la concentration des composés (**1-3**) et comparée au composé de référence standard acide ascorbique. L'analyse statistique a été effectuée par un Microsoft Excel 2010 et tous les résultats numériques ont été exprimés graphiquement.



**Figure III-21.** Activité antioxydante des composés (**1-3**) à l'aide de DPPH

Dans cette étude, les composés synthétisés ont été étudiés pour leurs activités antioxydantes potentielles en utilisant la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH. Tous ces composés (**1-3**) possèdent une activité antioxydante qui varie d'une manière dosée dépendante. Le composé (**3**) ( $44.25 \pm 0,30$  µg/ml) présente une activité antioxydante supérieure à celle de l'acide ascorbique ( $37.10 \pm 0,02$  µg/ml) utilisés comme standards.

Cette activité antioxydante pourrait être attribuée au cycle pyrazole et triazole qui sont connus pour leurs activités biologiques très intéressantes.

L'analyse des coefficients de corrélation entre les composés synthétisés et les valeurs d'IC<sub>50</sub> du test de l'activité de piégeage des radicaux DPPH dans notre étude étaient hautement significatives ( $R^2 = 0,925$ ,  $0,916$  et  $R^2 = 0,952$  respectivement). Ces résultats sont en accord avec les résultats de l'activité antioxydante obtenus à partir des travaux de la littérature.

### III.6. Moléculaire Docking

La modélisation moléculaire comporte les différentes méthodes de calculs théoriques utilisée dans des différents domaines ; Chimie, Biologie, Pharmacologie ext... Elle permet de déterminer, la géométrie, la configuration des atomes d'une molécule et les représentations graphiques pour évaluer les propriétés physico-chimiques de la molécule étudiée. Les chercheurs dans ces dernières années essayent d'assembler entre les méthodes de la modélisation moléculaire comme : la dynamique et le docking moléculaire. Sachant que la dynamique moléculaire utilisée comme une méthode de validation et confirmation des résultats de docking moléculaire. Ces méthodes a conduit à de nombreux succès dans le domaine de la découverte de nouvelles molécules bioactives <sup>130</sup>.

Dans le but de choisir la structure cristallographique que nous allons utiliser dans notre travail, nous avons entrepris une étude sur les structures 3D disponibles dans la Protein Data Bank (PDB) <sup>131</sup>. Un total d'une structure cristallographique a été extraite de la PDB (codes : 6RKV) est une enzyme essentielle impliquée dans le contrôle homéostatique du l'ADN gyrase d' *Escherichia coli* qui cible de composés antibactériens <sup>132</sup>. L'enzyme a été préparée comme corps rigide par le logiciel « Discovery Studio Visualizer » 2017 a été utilisé pour analyser les interactions des composés étudiés avec l'enzyme. Les composés synthétisés sont dessinés en utilisant le logiciel Chem Draw ultra-version 17.1 (2017), et sont enregistrées sous forme PDB.

---

<sup>130</sup> Alvarez, J. C., High-throughput docking as a source of novel drug leads. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2004**, 8, 365-370.

<sup>131</sup> <https://www.rcsb.org/>

<sup>132</sup> Vanden B. A.; Lotz, C.; Ortiz, J.; Lamour, V., Cryo-EM structure of the complete E. coli DNA gyrase nucleoprotein complex. *Nat. Commun.* **2019**, 10, 4935-4935.

Les fichiers récepteur et ligand ont été établis à l'aide d'AutoDock 4.2 qui a été utilisé pour effectuer une simulation de calcul d'amarrage.

Le docking moléculaire a pour objet de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé avec des acides aminés, en cherchant des orientations et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur. Ainsi que, le docking de chaque ligand formé un ensemble de modes de liaison appelés « poses » qui donne un score d'énergie de liaison du complexe (Kcal/mol) et donc plus il est négatif, plus l'affinité prédite. Le ligand représente alors une référence idéale pour cette activité biologique <sup>133</sup>.

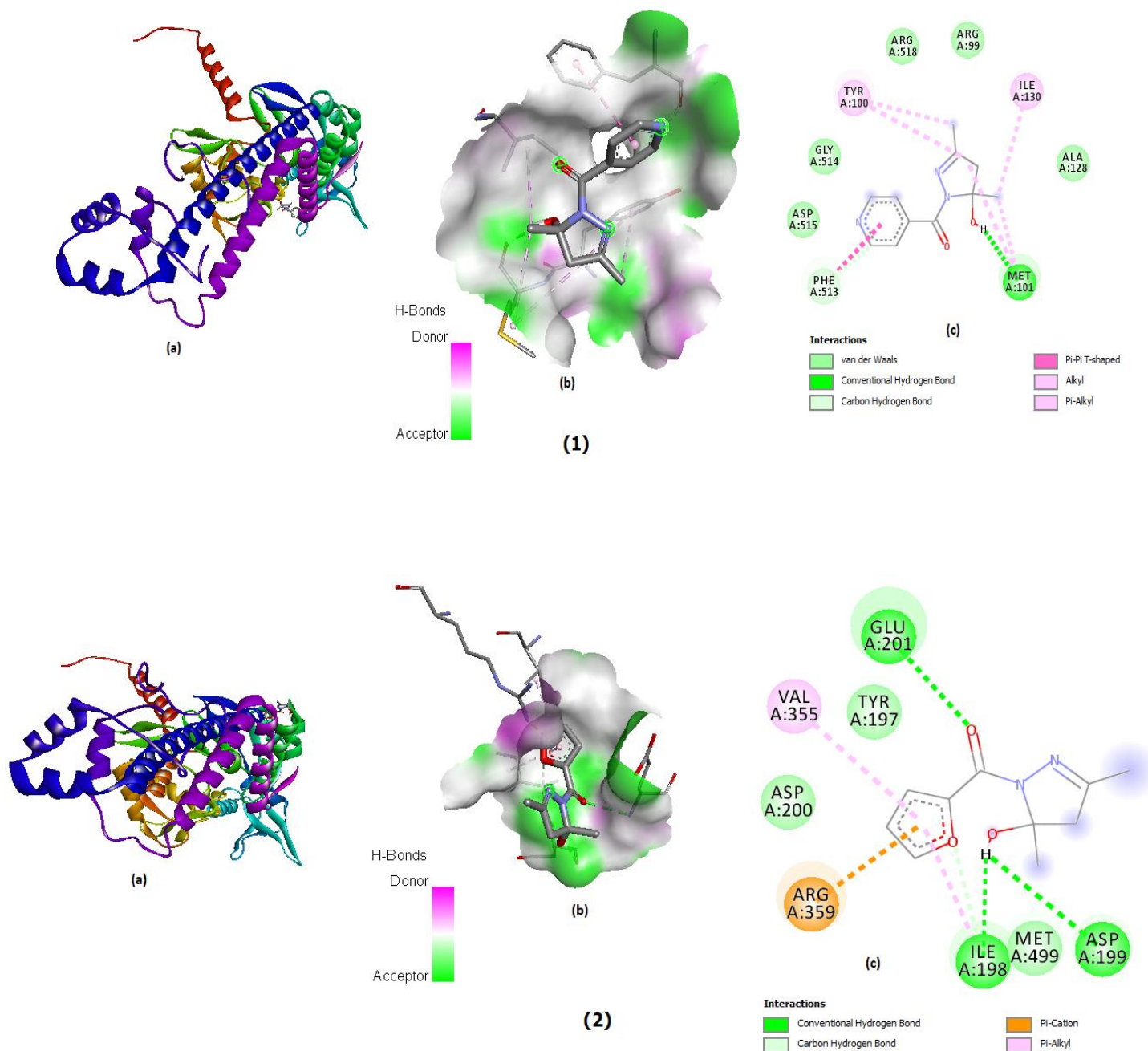
**Tableau III-9.** Valeurs docking moléculaire des composés (1-3) contre l'ADN gyrase d'*E. coli* (PDB ID : 6RKV)

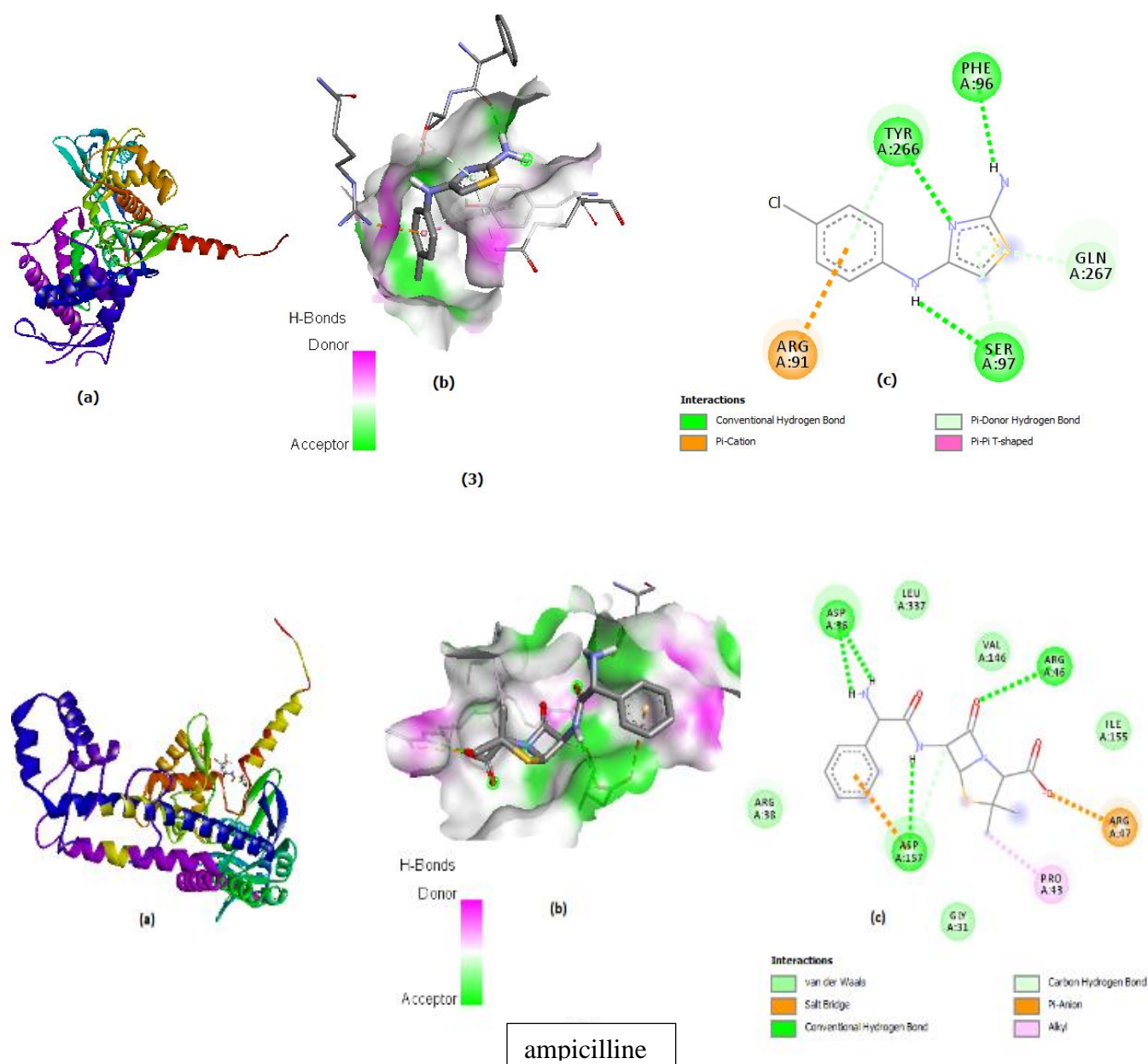
Ligands	SCORE (Kcal/mol)	Nombre de liaisons H	Résidus du site actif
Composé (1)	-5.29	1	MET A : 101, TYR A : 100, ILE A : 130, PHE A : 513.
Composé (2)	-6.07	3	GLU A : 201, VAL A : 355, ILE A : 198, ASP A : 199, ARG A : 359.
Composé (3)	-5.24	3	PHE A : 96, TRY A : 266, SER A : 97, GLN A : 267, ARG A : 91.
Ampicilline	-4.82	4	ASP A : 36, ARG A : 46, ASP A : 157, ARG A : 47, ASP A : 157.

Les résultats obtenus à partir de l'étude docking moléculaire ont démontré une forte affinité de liaison avec l'ADN d'*E. coli* gyrase, avec une valeur d'énergie de liaison allant de -6,07 à -5.24 kcal/mol, par rapport à l'ampicilline (-4.82 kcal/mol) (Tableau III-9, Figure III-22). Les composés (2, 3) ont montré trois interactions de liaison hydrogène avec (GLU A : 197, ILE A : 198, ASP A : 199 et TRY A : 266, PHE A : 96, SER A : 97 résidu protéique, respectivement. Le composé (1) a montré une liaison hydrogène interaction avec le résidu d'acide aminé du site actif MET A : 101 à une distance de 1,5 Å. Les interactions hydrophobes ont été observées pour le composé (1, 2) mais on n'a pas observé des liaisons hydrophobes dans

<sup>133</sup> Corbeil, C.R.; Englebienne, P.; Moitessier, N., Docking Ligands Into Flexible and Solvated Macromolecules-1. Development and Validation of Fitted 1.0. *Journal Of Chemical Informatic Modelling*, **2007**, 47, 435-449.

le composé (3). Suggérant que ces composés peuvent agir comme inhibiteurs de l'enzyme ADN gyrase, à partir des ligands ancrés, le composé (2) a montré une meilleure énergie de liaison et des interactions d'acides aminés (-6,07 kcal/mol) par rapport à l'ampicilline (- 4.82 kcal/mole).





**Figure III-22.** Les interactions de liaison 2D et 3D du composé (1-3) et de l'ampicilline standard contre l'ADN gyrase de *Escherichia coli* (PDB ID : 6RKV), respectivement. Liaisons hydrogène entre les composés et les acides aminés sont représentés par des lignes pointillées vertes, et l'interaction hydrophobe est représentée par des lignes roses.

## Conclusion

Dans l'étude actuelle, de nouveaux assemblages de trois entités bioactives : deux pyrazoles et thiazole. Ces structures solides ont été synthétisées et caractérisées par les méthodes spectrales. La modélisation moléculaire a été utilisée dans notre travail pour l'étude de la réactivité chimique des hétérocycles pyrazoliques et thiazoliques par l'utilisation de DFT

(B3LYP/6-311)) pour déterminer les paramètres structuraux, électroniques et énergétiques associés aux molécules étudiées. L'importance de cette méthode utilisée a été confirmée par la comparaison des paramètres structuraux entre les données expérimentales et les résultats obtenus par la méthode théorique DFT.

Les composés synthétisés ont montré une activité puissante contre les souches bactériennes. Parmi eux, les certains composés ont montré une activité remarquable contre les souches bactériennes par rapport au médicament standard. D'autre part, L'étude de docking moléculaire des composés synthétisés a été menée pour étudier leur schéma de liaison avec l'ADN gyrase de *Escherichia coli* (PDB ID : 6RKV) et tous ont prouvé une énergie de liaison minimale allant de -5,0 à -6,0 kcal/mol et le meilleur résultat a été obtenu avec le composé **(2)**.

# **Conclusion générale**



## Conclusion générale

L'objectif poursuivi à travers ce travail a été l'élaboration de composés hétérocycliques nouveaux à visée biologique et thérapeutique potentielle contenant comme sous structure, le motif hétérocyclique à cinq chaînons. Les dérivés pyrazoliques et thiazoliques, qui constituent notre matériau de base, sont aisément obtenus par réaction de condensation et de cyclisation intramoléculaire, avec un bon rendement (jusqu'à 88 %) et caractérisée par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , la spectroscopie UV-vis et FT-IR.

Deux parties ont été développées dans le cadre de notre travail, la première a trait à la préparation d'hétérocycles à cinq chaînons polysubstitués de géométrie bien définie, contenant l'azote et le soufre comme hétéroatome, alors que la deuxième partie est réservée exclusivement pour l'étude théorique pour calculer les paramètres de réactivité globale, associés à chaque molécule, en l'occurrence  $E_{\text{Homo}}$  et  $E_{\text{LUMO}}$ ,  $E_{\text{GAP}}$ , le potentiel chimique ( $\mu$ ), l'électronégativité ( $\chi$ ), l'indice d'électrophilicité ( $\omega$ ) et la dureté chimique ( $\eta$ ) et la douceur ( $S$ ). Le but étant d'étudier la relation et la corrélation entre la structure des molécules synthétisées et les propriétés physicochimiques et biologiques de ces structures. La méthode de la théorie fonctionnelle de la densité (DFT) a été utilisée avec la fonctionnelle B3LYP avec la base 6-311+G (d, p), les calculs ont été effectués pour étudier les structures moléculaires, les spectres vibratoires, HOMO-LUMO et les propriétés photophysiques, et nous avons essayé de trouver une relation entre les résultats des activités biologiques et les données théoriques.

Le test biologique antibactérien et antioxydant a montré que les composés **(1-3)** présentaient une inhibition modérée contre toutes les souches bactériennes, et une activité antioxydante remarquable avec la comparaison de l'acide ascorbique comme une référence. Cela nous a encouragés à étudier leur réactivité, en utilisant la DFT, et leur affinité de liaison, en utilisant l'ADN gyrase de *Escherichia coli* (PDB ID : 6RKV) pour montrer les interactions ligand-protéine, comme déjà décrit dans le chapitre III. D'après les résultats obtenus en utilisant une méthode de calcul telle que l'étude DFT des surfaces MEP, nous avons constaté que les composés pyrazoliques avaient des régions électrostatiques à potentiel négatif principalement concentrées sur l'atome d'azote et les atomes d'oxygène du cycle pyrazole, tandis que le

composé **3** avait des charges négatives sur les atomes d'azotes du composé. Ces résultats nous ont donné des informations précieuses sur les sites potentiels impliqués dans les interactions entre les liaisons hydrogène et les résidus d'acides aminés des récepteurs protéiques, en bonne corrélation avec les résultats de la moléculaire docking. Dans le mode de liaison des pour les ligands (**1-3**) ont atteint la plus forte affinité de -6,0 kcal/mol pour le composé (**2**) avec 3 liaisons hydrogène-carbone les plus fortes, et avec une distance comprise entre 2-2.5Å pour toutes les liaisons.

De même, l'extension de ce travail à la synthèse de nouvelles classes de composés à visée thérapeutique potentielle contenant le motif pyrazole et thiazole et l'étude de leur toxicité sur des souches bactériennes et d'autres propriétés biologiques, ainsi que la recherche de la relation structure-activité, peuvent représenter un nouveau challenge et une motivation certaine pour le développement de la chimie des hétérocycles dans notre laboratoire.



# Références

## Références

1. Md, J. A.; Ozair, A.; Perwaiz, A.; Mohammad, J. N., A Review on Pyrazole chemical entity and Biological Activity. *International J. Pharm. Sci. Res.* **2015**, *6*, 1433.
2. Dewangan, D.; Kumar, T.; Alexander, A.; Nagori, K.; Tripathi, D. K., Pyrazole : Their Chemistry and Pharmacological Potentials. A Review *Curr. Pharmac. Res. Sat.* **2003**, *4*, 36.
3. Arunachalam, S.; Gowrishankar, N. L.; Krishnan, A.; Prakash, M.; Muhsin, T.; Naseena, U.; Poornima, G., A brief review on pyrazole derivatives possessing various pharmacological and biological evaluation. *World J. Pharm. Pharma. Sci.* **2018**, *5*, 1496.
4. Raj, K. B., Heterocyclic Chemistry. *New International Publishers.* **2007**, 4th edn.
5. Krygowski, T. M.; Anulewicz, R.; Cyrafiski, M. K.; Puchala, A.; Rasata, D., Separation of the energetic and geometric contribution to the aromaticity. Part IX. Aromaticity of pyrazoles in dependence on the kind of substitution. *Tetrahedron.* **1998**, *54*, 12295.
6. Behr, L. C.; Fusco, R.; Jarboe, C. H., The Chemistry of Heterocyclic Chemistry : Pyrazoles, Pyrazolines, Pyrazolidines, Indazoles and Condensed Rings. *Wiley & Sons: London.* **1967**, 113.
7. Ciccolini, C.; Mari, M.; Lucarini, S.; Mantellini, F.; Piersanti, G.; Favi, G., Polycyclic Indolines by an Acid-Mediated Intramolecular Dearomative Strategy: Reversing Indole Reactivity in the Pictet-Spengler Type Reaction *Adv. Synth. Cat.* **2018**, *360*, 4060.
8. Knorr, L., Einwirkung von Acetessigester auf Phenylhydrazin, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1883** *16* 2597.
9. (a) Huisgen, R.; Grashley, R.; Gotthardt, H.; Schmidt, R., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1962**, *1*, 48. (b) Clovis, J. S.; Fliege, W.; Huisgen, R., *Chem. Ber.* **1983**, *116*, 3062.
10. Girish, Y.R.; Kumar, K.S.S.; Manasa, H.S.; Shashikanth, S., ZnO : An Ecofriendly, Green Nano-catalyst for the Synthesis of Pyrazole Derivatives under Aqueous Media. *J. Chin. Chem. Soc.* **2014**, *61*, 1175–1179.
11. Moureu, C.; Delange, R., Over some Acetylenketone and over a new method to the synthesis of  $\beta$ -Diketones. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1901**, *25*, 302.

12. Ji, G.; Wang, X.; Zhang, S.; Xu, Y.; Ye, Y.; Li, M., Synthesis of 3-trifluoromethylpyrazoles via trifluoromethylation/cyclization of  $\alpha,\beta$ -alkynic hydrazones using a hypervalent iodine reagent. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 4361.
13. Rao, V.K.; Tiwari, R.; Chhikara, B.S.; Shirazi, A.N.; Parang, K.; Kumar, A., Copper triflate-mediated synthesis of 1,3,5-triarylpyrazoles in [bmim][PF<sub>6</sub>] ionic liquid and evaluation of their anticancer activities. *RSC Adv.* **2013**, 3, 15396.
14. Ponnala, S.; Prasad, S.D., Iodine-Mediated Synthesis of 2-Arylbenzoxazoles, 2-Arylbenzimidazoles, and 1,3,5-Trisubstituted Pyrazoles. *Synth. Commun.* **2006**, 36, 2189.
15. Rosa, F.A.; Machado, P.; Vargas, P.S.; Bonacorso, H.G.; Zanatta, N.; Martins, M.A., Straightforward and regiospecific synthesis of pyrazole-5-carboxylates from unsymmetrical enaminodiketones. *Synlett.* **2008**, 1673.
16. He, S.; Chen, L.; Niu, Y.-N.; Wu, L.-Y.; Liang, Y.-M., 1,3-Dipolar cycloaddition of diazoacetate compounds to terminal alkynes promoted by Zn (OTf)<sub>2</sub>: An efficient way to the preparation of pyrazoles. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 2443.
17. Delaunay, T.; Genix, P.; Es-Sayed, M.; Vors, J.-P.; Monteiro, N.; Balme, G. A., Modular Sydnone Cycloaddition/Suzuki-Miyaura Cross-Coupling Strategy to Unsymmetrical 3,5-Bis (hetero) aromatic Pyrazoles. *Org. Lett.* **2010**, 12, 3328.
18. Dadiboyena, S.; Valente, E.J.; Hamme, A.T. A., novel synthesis of 1,3,5-trisubstituted pyrazoles through a spiro-pyrazoline intermediate via a tandem 1,3-dipolar cycloaddition / elimination. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 291.
19. Du, K.; Mei, Y. J.; Cao, X. T.; Zhang, P. F.; Zheng, H., The Synthesis of Pyrazole Derivatives Based on Glucose. *Int. J. Chem. Eng. Appl.* **2013**, 4, 238.
20. Zhang, X.; Kang, J.; Niu, P.; Wu, J.; Yu, W.; Chang, J., I<sub>2</sub>-Mediated Oxidative C–N Bond Formation for Metal-Free One-Pot Synthesis of Di-, Tri-, and Tetrasubstituted Pyrazoles from  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Aldehydes/Ketones and Hydrazines. *Org. Chem.* **2014**, 79, 10170.
21. Dadiboyena, S.; Nefzi, A., Synthesis of functionalized tetrasubstituted pyrazolyl heterocycles. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 5258.
22. Harigae, R.; Moriyama, K.; Togo, H., Preparation of 3,5-Disubstituted Pyrazoles and Isoxazoles from Terminal Alkynes, Aldehydes, Hydrazines, and Hydroxylamine. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 2049.

23. Ashok, D.; Devulapally, M.G.; Gundu, S.; Aamate, V. K.; Chintalapally, S., Synthesis and antimicrobial evaluation of novel pyrazole-annulated oxygen-containing macrocycles. *J. Heterocyclic. Chem.* 2016, 52(8), 609
24. Bekhit, A.; Aziem, T. A., Design, synthesis and biological evaluation of some pyrazole derivatives as anti-inflammatory-antimicrobial agents *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 1935.
25. Mert, S.; Kasmogullan, R.; Ica, T.; Colak, F.; Altun, A.; Ok, S., Synthesis, structure-activity relationships, and in vitro antibacterial and antifungal activity evaluations of novel pyrazole carboxylic and dicarboxylic acid derivatives. *Eur. J. Med.Chem.* **2014**, 78, 86.
26. Siu, A.; Hao, M. H.; Dixit, V.; Lai, W. G., Celecoxib is a substrate of CYP2D6: Impact on celecoxib metabolism in individuals with CYP2C9\*3 variants. *Drug. Metab. Pharmacok.* **2018**.
27. Abdellatif, K. R. A.; Fadaly, W. A. A.; Elshaier, Y. A. M. M.; Ali, W. A. M.; Kamel, G. M., Non-acidic 1,3,4-trisubstituted-pyrazole derivatives as lonazolac analogs with promising COX-2 selectivity, anti-inflammatory activity and gastric safety profile. *Bioorg. Chem.* **2018**, 77, 568.
28. Onoa, G. B.; Moreno, V., Study of the modifications caused by cisplatin, transplatin, and Pd(II) and Pt(II) mepirizole derivatives on pBR322 DNA by atomic force microscopy. *Int. J. Pharm.* **2002**, 245, 55.
29. Porcu, A.; Melis, M.; Turecek, R.; Ullrich, C.; Mocci, I.; Bettler, B.; Gessa, G.L.; Castelli, M.P., Rimonabant, a potent CB1 cannabinoid receptor antagonist, is a Gai/o protein inhibitor. *Neuropharmacology*, **2018** , 133, 107-120.
30. Shi, C.; Ma, C.; Ma, H.; Zhou, X.; Cao, J.; Fan, Y.; Huang, G., *Tetrahedron*, **2016**, 72, 4055.
31. Aggarwal, V.K.; de Vicente, J.; Bonnert, R.V., A novel one-pot method for the preparation of pyrazoles by 1,3-dipolar cycloadditions of diazo compounds generated in situ. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 5381.
32. Yadav, J.; Reddy, B.S.; Srinivas, M.; Prabhakar, A.; Jagadeesh, B., Montmorillonite KSF clay-promoted synthesis of enantiomerically pure 5-substituted pyrazoles from 2,3-dihydro-4H-pyran-4-ones. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 6033.

33. Sharma, A.; Ghabbour, H.; Khan, S.T.; de la Torre, B.G.; Albericio, F.; El-Faham, A., Novel pyrazolyl-s-triazine derivatives, molecular structure and antimicrobial activity. *J. Mol. Struct.* **2017**, 1145, 244.
34. Huang, Y.R.; Katzenellenbogen, J.A., Regioselective synthesis of 1,3,5-triaryl-4-alkylpyrazoles: Novel ligands for the estrogen receptor. *Org. Lett.* **2000**, 2, 2833.
35. Ponnala, S.; Prasad, S.D., Iodine-Mediated Synthesis of 2-Arylbenzoxazoles, 2-Arylbenzimidazoles, and 1,3,5-Trisubstituted Pyrazoles. *Synth. Commun.* **2006**, 36, 2189.
36. Rosa, F.A.; Machado, P.; Vargas, P.S.; Bonacorso, H.G.; Zanatta, N.; Martins, M.A. Straightforward and regiospecific synthesis of pyrazole-5-carboxylates from unsymmetrical enaminediketones. *Synlett.* **2008**, 1673.
37. He, S.; Chen, L.; Niu, Y.-N.; Wu, L.-Y.; Liang, Y.-M., 1,3-Dipolar cycloaddition of diazoacetate compounds to terminal alkynes promoted by Zn (OTf)<sub>2</sub>: An efficient way to the preparation of pyrazoles. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 2443.
38. Wang, F.-Q.; Yang, H.; He, B.; Jia, Y.-K.; Meng, S.-Y.; Zhang, C.; Liu, H.-M.; Liu, F.-W., A novel domino approach for synthesis of indolyl tetrahydropyrano[4,3-*c*] pyrazole derivatives as anticancer agents. *Tetrahedron.* **2016**, 72, 5769.
39. Rykowski, A.; Branowska, D., Ring transformation of 3-halo-1,2,4-triazines with  $\alpha$ -chlorocarbanions: A novel route to pyrazoles with sulfonyl, sulfonamido and sulfonyloxy groups. *Heterocycles.* **1996**, 10, 2095.
40. Girisha, K.S.; Kalluraya, B.; Narayana, V.; Padmashree, V., Synthesis and pharmacological study of 1-acetyl/propyl-3-aryl-5-(5-chloro-3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-2-pyrazoline. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45, 4640.
41. Nayak, N.; Ramprasad, J.; Dalimba, U., Design, Synthesis, and Biological Evaluation of New 8-Trifluoromethylquinoline Containing Pyrazole-3-carboxamide Derivatives. *J. Heterocycl. Chem.* **2017**, 54, 171.
42. Manfredini, S.; Bazzanini, R.; Baraldi, P.G.; Guarneri, M.; Simoni, D.; Marongiu, M.E.; Pani, A.; La Colla, P.; Tramontano, E., Pyrazole-related nucleosides. Synthesis and antiviral/antitumor activity of some substituted pyrazole and pyrazolo[4,3-*d*]-1,2,3-triazin-4-one nucleosides. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 917.



43. Rahimizadeh, M.; Pordel, M.; Bakavoli, M.; Rezaeian, S.; Sadeghian, A., Synthesis and antibacterial activity of some new derivatives of pyrazole. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, 26, 317.
44. Han, Y.T.; Kim, K.; Choi, G.-I.; An, H.; Son, D.; Kim, H.; Ha, H.-J.; Son, J.-H.; Chung, S.-J.; Park, H.-J., Pyrazole-5-carboxamides, novel inhibitors of receptor for advanced glycation end products (RAGE). *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 79, 128.
45. Hernández-Vázquez, E.; Salgado-Barrera, S.; Ramírez-Espinosa, J.J.; Estrada-Soto, S.; Hernández-Luis, F., Synthesis and molecular docking of *N*O-arylidene-5-(4-chlorophenyl)-1-(3,4-dichlorophenyl)-4-methyl-1*H*pyrazole-3-carbohydrazides as novel hypoglycemic and antioxidant dual agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, 24, 2298.
46. Bekhit, A.A.; Hassan, A.M.M.; Abd El Razik, H.A.; El-Miligy, M.M.M.; El-Agroudy, E.J.; Bekhit, A.E.-D.A. New heterocyclic hybrids of pyrazole and its bioisosteres: Design, synthesis and biological evaluation as dual acting antimalarial-antileishmanial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 94, 30.
47. Takahashi, M.; Shinamoto, T., Chemical compositions and antioxidant/ anti-inflammatory activities of steam distillate from freeze-dried onion (*Allium cepa* L.) Sprout. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 10462.
48. Nielsen, D. S.; Hoang, H. N.; Lohman, R.; Diness, F.; Fairlie, D. P., Total synthesis, structure, and oral absorption of a thiazole cyclic peptide, sanguinamide A. *Org. Lett.* **2012**, 14, 5720.
49. Andreani, A.; Rambaldi, M.; Leoni, A.; Locatelli, A.; Bossa, R.; Fraccari, A.; Galatulas, I.; Salvatore, G., Potential antitumor agents. 24.1 synthesis and pharmacological behavior of imidazo[2,1-b]thiazole guanylhydrazones bearing at least one chlorine. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 2852.
50. Kelly, W. L.; Hillson, N. J.; Walsh, T. C., Excision of the epothilone synthetase B cyclization domain and demonstration of in trans condensation/cyclodehydration activity. *Biochemistry.* **2005**, 44, 13385.
51. Siddiqui, N.; Arshad, M. F.; Ahsan, W.; Alam, M. S., Thiazoles : a valuable insight into the recent advances and biological activities. *Int J Pharm Sci Drug Res.* **2009**, 1(3), 136.
52. Hirai, K.; Hugimoto, H., Syntheses of 2-disubstituted-amino-4-arylthiazol-5-ylalkanoic acids. *Chem. Pharm. Bull.* **1977**, 25, 2292.

53. Bramley, S. E.; Dupplin, V.; Goberdhan, D. G.; & Meakins, G. D., The Hantzsch thiazole synthesis under acidic conditions : change of regioselectivity. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. **1987**, 639-643.
54. Mishra, C. B.; Kumari, S.; Tiwari, M., Thiazole: A promising heterocycle for the development of potent CNS active agents. *European journal of medicinal chemistry*. **2015**, 92, 1-34.
55. Li, J. J., Name reactions in heterocyclic chemistry, *John Wiley & Sons*. **2004**, Vol. 3.
56. Tcherniac, J., *Berichte*. **1892**, 25, 2067.
57. Sheldrake, P. W.; Matteucci, E.; McDonald, E., Facile Generation of a Library of 5-Aryl-2-arylsulfonyl-1,3-thiazoles, *Synlett* **2006**, 460.
58. Tang, X.; Yang, J.; Zhu, Z.; Zheng, M.; Wu, W.; Jiang, H., Access to Thiazole via Copper-Catalyzed [3+1+1]-Type Condensation Reaction under Redox-Neutral Conditions *J. Org. Chem.* **2016**, 81, 11461.
59. Castagnolo, D.; Pagano, M.; Bernardini, M.; Botta, M., Domino Alkylation-Cyclization Reaction of Propargyl Bromides with Thioureas/Thiopyrimidinones: A New Facile Synthesis of 2-Aminothiazoles and 5H-thiazolo[3,2-a]pyrimidin-5-ones. *Synlett*. **2009**, 2093.
60. Chen, B.; Guo, S.; Guo, X.; Zhang, G.; Yu, Y., Selective Access to 4-Substituted 2-Aminothiazoles and 4-Substituted 5-Thiocyano-2-aminothiazoles from Vinyl Azides and Potassium Thiocyanate Switched by Palladium and Iron Catalysts *Org. Lett.* **2015**, 17, 4698.
61. Lingaraju, G. S.; Swaroop, T. R.; Vinayaka, A. C.; Kumar, K. S. S.; Sadashiva, M. P.; Ragappa, K. S., *Synthesis*, 2012, 44, 1373-1379.
62. Rouf, A.; Tanyeli, C., Bioactive thiazole and benzothiazole derivatives, *Eur. J., Med. Chem.* **2015**, 97, 911.
63. Jin, Z., Muscarine, imidazole, oxazole, and thiazole alkaloids, *Nat. Prod. Rep.* **2011**, 28, 1143.
64. Arora, P.; Narang, R.; Nayak, S.; Singh, S.; Judge, V., 2, 4-Disubstituted thiazoles as multitargeted bioactive molecules *Med. Chem. Res.* **2016**, 25, 1717.
65. Kouatly, O.; Geronikaki, A.; Kamoutsis, C.; Hadjipavlou-Litina, D.; Eleftheriou, P., Adamantane derivatives of thiazolyl-N-substituted amide, as possible non-steroidal anti-inflammatory agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 1198–1204.

66. Mohareb, R.; Zaki, M.; Abbas, N., Synthesis, anti-inflammatory and anti-ulcer evaluations of thiazole, thiophene, pyridine and pyran derivatives derived from androstenedione, *Steroids* **2015**, 98, 98.
67. Ahangar, N.; Ayati, A.; Alipour, E.; Pashapour, A.; Foroumadi, A.; Emami, S. Chem., 1-[(2-arylthiazol-4-yl)methyl]azoles as a new class of anticonvulsants: design, synthesis, in vivo screening, and in silico drug-like properties, *Biol. Drug Des.* **2011**, 78, 844.
68. Rouf, A.; Tanyeli, C. Bioactive thiazole and benzothiazole derivatives, *Eur. J., Med. Chem.* **2015**, 97, 911.
69. Farghaly, T. A.; Abdallah, M. A.; Khedr, M. A.; Mahmoud, H. K. J., *Heterocycl. Chem.* **2017**, 54, 2417.
70. Rao, C.N.R., *Ultra-Violet and Visible Spectroscopy* Butterworths, London, **1967**.
71. Silverstein, R.M., *Identification spectrométrique de composés organiques*, **1968**.
72. Brown, J.Q.; Vishwanath, K.; Palmer, G.M.; Ramanujam, N., Advances in quantitative UV-visible spectroscopy for clinical and pre-clinical application in cancer. *Curr Opin Biotechnol.* **2009**; 20,119.
73. Pinheiro, H.M.; Touraud, E.; Thomas, O., Aromatic amines from azo dye reduction: status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters. *DyesPigm.* **2004**, 61,121.
74. Kristo, E.; Hazizaj, A.; Corredig, M., Structural Changes Imposed on Whey Proteins by UV Irradiation in a Continuous UV Light Reactor. *J Agric Food Chem.* **2012**, 60, 6204.
75. Patel, M.U.M.; Demir-Cakan, R.; Morcrette, M.; Tarascon, J-M.; Gaberscek, M. ; Dominko, R., Li-S Battery Analyzed by UV/Vis in Operando Mode. *Chem.Sus. Chem.* **2013**, 6, 1177.
76. Begum, R.; Farooqi, Z.H.; Naseem, K.; Ali, F.; Batool, M.; Xiao, J.; Irfan, A., Applications of UV/Vis Spectroscopy in Characterization and Catalytic Activity of Noble Metal Nanoparticles Fabricated in Responsive Polymer Microgels: A Review. *Crit Rev Anal Chem.* **2018**, 48, 503.
77. Near, M.; Far, I., NASA IPAC. Archived from the original on **2012**.
78. Elliot ; Ambrose, E., Nature, Structure of Synthetic Polypeptides, **1950**,165, 921. Woernley, D.L., Infrared Absorption Curves for Normal and Neoplastic Tissues and Related Biological Substances, *Current Research*, **1950**, 12, 516.

- 
79. Theophanides, T.; In Greek, National Technical University of Athens, Chapter in Properties of Materials, *NTUA, Athens*. **1990**, 67.
  80. Viswanathan, V. K., Molecular Thermodynamics Using Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy, *inventions*, **2019**, 4,13.
  81. Fanica M.; Nita T.; Ioan B.; Curing k., thermal and morphological characterization of the biobased thermosets from epoxy resin/epoxidized hemp oil, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis xxx*. **2016**.
  82. Silverstein R.M., Spectrometric identification of organic compounds. *New York: Wiley*. **1991**.
  83. Friebolin, H.; Becconsall, J.K., Basic one-and two-dimensional NMR spectroscopy . *Weinheim: Wiley-vch*. **2005**. Vol. 7.
  84. Jacobsen, N.E., NMR data interpretation explained: understanding 1D and 2D NMR spectra of organic compounds and natural products. *John Wiley & Sons*. **2016**.
  85. Derome, A.E., Modern NMR techniques for chemistry research. *Elsevier*. **2013**.
  86. Hore, P.J.; Nuclear magnetic resonance. *USA: Oxford University Press*. **2015**.
  87. Kollman, P., Advances and Continuing Challenges in Achieving Realistic and Predictive Simulations of the Properties of Organic and Biological Molecules. *Acc. Chem. Res.* 1996, 29, 462
  88. Schrödinger, E., Quantisierung als Eigenwertproblem, *Annalen der Physik*, **1926**,79,361, 489-734,
  89. Theoretical Study of the adsorption of methanol on a (110) surface of -alumina, *International IUPAC Congress* **1997**.
  90. Theoretical investigation of the mechanism of water exchange in the rhodium (III) hexaaqua ions: preliminary results, *General Assembly of the Swiss Chemical Society*, **1998**.
  91. Born, M.; Oppenheimer, R., Zur quantentheorie der molekeln. *Ann. Phys.* **1927**, 84, 457-484.
  92. López, N.; Almora-Barrios, N.; Carchini, G.; Błoński, P.; Bellarosa, L. ; García-Muelas, R.; Novell-Leruth, G. ; García M. M., State of the art and challenges in theoretical simulations of heterogeneous catalysis at the microscopic level *Catal. Sci. Technol.* **2012**, 2, 2405.

93. Fermi E., Un metodo statistico per la determinazione di alcune proprietà dell'atomo. *Atti. Accad. Naz. Lincei*, **1927**, 6, 602-607.
94. Thomas, L.H., The calculation of atomic fields. *Proc. Cambridge Philos. Soc.*, **1927**, 23, 542,.
95. Hohenberg, P.; Kohn, W., Inhomogeneous electron gas, *Phys. Rev.* **1964**,136, 864-871,.
96. Kohn, W.; Sham, L.J., Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Phys. Rev.* **1965**, 140, 1133-1138.
97. Alder, B.J. ; Wainwright, T.E., Phase transition for a hard sphere system. *J. Chem. Phys.* **1957**, 27, 1208.
98. Rahman A., Correlations in the motion of atoms in liquid argon. *Phys. Rev.* **1964**,136, 405- 411.
99. Malliavin, T., Simulations de dynamique moléculaire en biochimie. *Techn. Ing.*, **2003**, 6043.
100. Rapaport, D.C., The art of molecular dynamics simulation. *Cambridge University Press*, **2004**, 2<sup>nd</sup> ed.,
101. Drews, J., Drug discovery a historical perspective. *Science*. **2000**, 287, 1960.
102. Kaapro A, Ojanen J: Protein docking. *Citeseerx*. **2002**.
103. Muegge, I. ; Rarey, M., Small molecule docking and scoring. *Rev Comp Chem*. **2001**, 17, 1.
104. Hilgenfeld, R., From SARS to MERS: Crystallographic studies on coronaviral proteases enable antiviral drug design. *FEBS*. **2014**, 281, 4085.
105. <https://mcule.com/dashboard/>.
106. Banque de données sur les protéines PDB. <http://www.rcsb.org>
107. Shah, K.; Mujwar, S.; Gupta, J. K.; Shrivastava, K. S.; Mishra, P., Molecular Docking and In Silico Cogitation Validate Mefenamic Acid Prodrugs as Human Cyclooxygenase-2 Inhibitor. *Assay Drug Dev Technol*. **2019**, 17, 285.
108. Arrault A., Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de doctorat d'université : Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. *Orléans : Université d'Orléans. France*. **2007**.
109. Guinebert E.; Durand P.; Prost M.; Grinand R.; Bernigault R., Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole*. **2005**, 554.

110. Sadhu, S.K.; Alam, S.M.; Saha, S.; Lee, D.U., Antibacterial and in vivo cytotoxic activities of the leaves of *Leucas aspera*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **2014**, *57*, 551
111. Leitao, G.; Leitao, S.G.; Vilagag, W., Quick preparative separation of natural Naphthopyranones with antioxidant activity by high-speed counter-current chromatography, *Z. Naturforsch Journal*, **2002**, *57*, 1051.
112. Nataro, J. P.; Kaper, J. B., Diarrheogenic *E. coli*. *American Society for Microbiology*. **1998**, *11*. 142-201.
113. Chambers, H. F., Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *American Society for Microbiology*. **1997**, *10*.781.
114. Celikel, N.; Kavas, G., Antimicrobial Properties of Some Essential Oils against Some Pathogenic Microorganisms, *Czech J Food Sci.* **2008**, *26*. 174.
115. Nimbalkar, S.; Hote, S.V., Pyrazole Derivatives and their Synthesis-A review, *International Journal on Recent and Innovation Trends in Computing and Communication*, **2015**, *3*, 61.
116. Karrouchi, K.; Radi, S.; Ramli, Y.; Taoufik, J.; Mabkhot, Y.N.; Alaizari, F.A.; Ansar, M., Synthesis and pharmacological activities of pyrazole derivatives. *a review*, *Molecules*, **2018**, *23*, 134.
117. Ha-Duong, N.-T.; Dijols, S.; Marques-Soares, C.; Minoletti, C.; Dansette, P. M.; Mansuy, D., Synthesis of sulfaphenazole derivatives and their use as inhibitors and tools for comparing the active sites of human liver cytochromes P450 of the 2C subfamily. *Med. Chem.* **2001**, *44*, 3622.
118. Lamberth, C.; Pyrazole Chemistry in Crop Protection. *Heterocycles*. **2007**, *71*, 1467.
119. Schröter, H.-B.; Neumann, D.; Katritzky, A.R.; Swinbourne F.J.; Withasomnine. A., pyrazole alkaloid from *Withania somnifera* Dun., *Tetrahedron*. **1966**, *22*, 2895-2897.
120. Arfan, M.; Tahir, M.N.; Khan, R.; Sabaa, S.; Iqbal, M.S., (2-Aminophenyl) [(5S)-5-hydroxy-3,5-dimethyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]-methanone, *Acta Crystallographica Section E*. **2009**, *65*, 1834-1835.
121. Wei, J.; XueKai, L.; Hong, Z.; LiFang, F.; GaoAn,X., Iodine-promoted selective synthesis of substituted aminothiazole via a self-sorting reaction network. *Tetrahedron Letters*.2014, *55*, 4212-4215.

- 
122. Ayers, P. W.; Anderson, J. S. M.; Bartolotti, L. J., Perturbative perspectives on the chemical reaction prediction problem, *Int. J. Quantum. Chem.* **2005**, 101, 520-534.
123. Qian, Z. ; Jiefei, W. ; Zexi, P. ; Wen, Z. ; Wei, Z., A one-pot synthesis of 2-aminothiazoles via the coupling of ketones and thiourea using I2/dimethyl sulfoxide as a catalytic oxidative system. *Journal of Chemical Research.* 2021, 89-94.
124. Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G., Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev.B.* **1988**, 37, 785-789.
125. Zhi H.; Zheng J.; Chang Y.; Li Q.; Liao G.; Wang Q.; Sun P., *J. Mol. Struct.* **2015**, 199-205.
126. Costa, J. C. S.; Taveira, R. J. S.; Lima, C. F. R. A.C.; Mendes, A. ;L. Santos, M. N. B. F., *Optical Materials.* **2016**, 58, 51-60.
127. Gaumont, A.; Gulea, M.; Levillain, J., Overview of the Chemistry of 2-Thiazolines. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 1371-1401.
128. Murray, J.S.; Sen, K., *Molecular Electrostatic Potentials, Concepts and Applications*, Elsevier, Amsterdam. **1996**.
129. Scrocco. E, Tomasi. J, Lowdin. P (Ed.), *Advances in Quantum Chemistry*, Academic Press, New York, **1978**. 402.
130. Alvarez, J. C., High-throughput docking as a source of novel drug leads. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2004**, 8, 365-370.
131. <https://www.rcsb.org/>
132. Vanden B. A.; Lotz, C.; Ortiz, J.; Lamour, V., Cryo-EM structure of the complete E. coli DNA gyrase nucleoprotein complex. *Nat. Commun.* **2019**, 10, 4935-4935.
133. Corbeil, C.R.; Englebienne, P.; Moitessier, N., Docking Ligands Into Flexible and Solvated Macromolecules-1. Development and Validation of Fitted 1.0. *Journal Of Chemical Informatic Modelling*, **2007**, 47, 435-449.





## Résumé

Le pyrazole, thiazole et ses dérivés sont des composés cruciaux envisagés dans la chimie hétérocyclique qui sont aussi largement utilisés en synthèse organique. Ces cycles sont connus pour leurs activités biologiques et pharmacologiques. La présente étude s'intéresse à certains dérivés synthétisés contenant le noyau pyrazole. La (5-Hydroxy-3,5-diméthyl-4,5-dihydro-pyrazol-1-yl)-pyridin-4-yl-méthanone (**1**) et la Furan-2-yl-(5-hydroxy-3,5-diméthyl-4,5-dihydro-pyrazol-1-yl)-méthanone (**2**), et N<sup>4</sup>-(4-chlorophenyl)thiazole-2,4-diamine (**3**). Les cycle pyrazoles ont été synthétisées par cyclocondensation du 1,3-dicarbonyle avec le dérivé d'hydrazine avec une approche simple et rapide pour obtenir un pyrazole substitué. Par contre le thiazole a été synthétisé à partir d'une réaction de cyclisation de l'acétanilide en présence de l'iodure dans le DMSO. Toutes les structures de ces composés ont été élucidées par analyse spectrale (<sup>1</sup>H NMR et <sup>13</sup>C NMR). L'activité antibactérienne des composés synthétisés a été étudiée contre deux bactéries Gram-positives et Gram-négatives, et tous ont montré une activité modérée. L'activité de piégeage des radicaux de ces composés a été évaluée en utilisant le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), les composés synthétiques ont montré des activités antioxydantes remarquable. En outre, les résultats obtenus à partir de l'activité antibactérienne ont été expliqués plus en détail à l'aide de la DFT et des calculs d'orbitales moléculaires avec un ensemble de base 6-311+G (d, p). Les composés synthétisés ont été arrimés aux enzymes 6RKV à l'aide d'outils docking moléculaire et les résultats montrent des interactions entre les résidus d'acides aminés de l'enzyme et les composés (**1-3**).

**Mots clé :** Pyrazole ; activités biologiques ; DFT ; RMN ; Amarrage moléculaire.

---

**Abstract**

Pyrazole, thiazole and its derivatives are crucial compounds considered in heterocyclic chemistry which are also widely used in organic synthesis. These rings are known for their biological and pharmacological activities. The present study focuses on some synthesized derivatives containing the pyrazole ring. The (5-Hydroxy-3,5-dimethyl-4,5-dihydro-pyrazol-1-yl)-pyridin-4-yl-methanone (**1**) and Furan-2-yl-(5-hydroxy-3,5-dimethyl-4,5-dihydro-pyrazol-1-yl)-methanone (**2**), and N4-(4-chlorophenyl)thiazole-2,4-diamine (**3**). The pyrazole rings were synthesized by cyclocondensation of 1,3-dicarbonyl with the hydrazine derivative with a simple and fast approach to obtain a substituted pyrazole. On the other hand thiazole was synthesized from a cyclization reaction of acetanilide in the presence of iodide in DMSO. All structures of these compounds were elucidated by spectral analysis ( $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR). The antibacterial activity of the synthesized compounds was studied against two Gram-positive and Gram-negative bacteria, and all showed moderate activity. The radical scavenging activity of these compounds was evaluated using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), the synthetic compounds showed remarkable antioxidant activities. Furthermore, the results obtained from the antibacterial activity were further explained using DFT and molecular orbital calculations with a 6-311+G (d, p) basis set. The synthesized compounds were docked to the 6RKV enzymes using molecular docking tools and the results show interactions between the amino acid residues of the enzyme and the compounds (**1-3**).

**Keywords:** Pyrazole; biological activities; DFT; NMR; Molecular docking.

# Annexe

# Synthesis, DFT, Molecular docking Analysis and Antibacterial, Antioxidant Activities of tri-substituted pyrazoles

Rachid Chebaki<sup>1</sup>, Lynda Golea<sup>2\*</sup>, Youcef Boumedjane<sup>1</sup> and Soumia Bouzidi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Molecular Chemistry and Environment (LCME), Computer and Pharmaceutical Chemistry Team (ECIP), Faculty of Sciences and Exact Sciences - Department of Material Sciences, University of Biskra, BP 145 RP, 07000 Biskra, Algeria

<sup>2</sup>Department of Material Science, Faculty of Science and Technology, Abbes Laghrour University, 40000 Khenchela, Algeria

<sup>3</sup>Laboratory for Biotechnology of Bioactive Molecules and Cell Pathophysiology, Department of Organism Biology, Faculty of Nature and Life Sciences, University of Batna 2, Algeria

Pyrazole and its derivatives are contemplated crucial compounds in heterocyclic chemistry which are also used extensively in organic synthesis. These cycles are known for their biological and pharmacological activities. The present investigation is in the interest of some synthesized derivatives containing the pyrazole moieties. (5-Hydroxy-3,5-dimethyl-4,5-dihydro-pyrazol-1-yl)-pyridin-4-yl-methanone (**1**) and Furan-2-yl-(5-hydroxy-3,5-dimethyl-4,5-dihydro-pyrazol-1-yl)-methanone (**2**) were synthesized by cyclocondensation of the 1,3-dicarbonyl with the hydrazine derivative with a simple and rapid approach to obtain substituted pyrazole. All structures of these compounds were elucidated by spectral (<sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR) analysis. The antibacterial activity of the synthesized compounds was screened against two Gram-positive and Gram-negative bacteria, and all of them displayed moderate activity. The radical scavenging activity of these compounds were evaluated using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), the synthetic compounds showed moderate antioxidant activities. In addition, the results obtained from antibacterial activity were further explained with the help of DFT and molecular orbital calculations with a basis set 6-311+G (d, p). The synthesized compounds were docked with 6RKV enzymes with the use molecular docking tools and the docking results are explained all interactions amino acid residue of enzyme and compounds.

**Keywords:** Pyrazole; biological activities; DFT; NMR; molecular docking

## I. INTRODUCTION

Pharmaceutical research on the natural products represents a major strategy for the discovery and the development of new substances with therapeutic interest. The pyrazole or pyrazoline nucleus has many biological activities and medical properties such as antibacterial (Nimbalkar & Hote, 2015), sedative-hypnotic, antifungal (Karrouchi *et al.*, 2018), anticonvulsant, antiviral, antiparasitic (Shah *et al.*, 2011) anti-tubercular and insecticidal (Flores *et al.*, 2014). 1,3,5-

Trisubstituted pyrazoles constitute a number of drugs including sildenafil, celecoxib, rimonabant and difenamizole (Khan *et al.*, 2016). In view of the interest in the activity of pyrazole and its derivatives, and in continuation of our research on the synthesis of new compounds of biological and pharmacological interest, we interested herein the preparation, biological activity, DFT and molecular docking studies of tri-substituted pyrazoline. It is also known in the literature that the synthesis of 1,3,5-trisubstituted pyrazoles are synthesized by cyclocondensation of hydrazines with

\*Corresponding author's e-mail: golea.lynda@gmail.com

diketones in acidic medium (Venkateswarlu *et al.*, 2018). here we use the method described in reference (Arfan *et al.*, 2009) we use silica gel and to synthesize our products (**1**) and (**2**). all synthesized compounds have studied for antimicrobial activities against selected bacterial as strains by the agar well diffusion method. Free radical scavenging activity has been investigated by using DPPH method. all the synthesized compounds, (**1**) and (**2**) exhibited moderate antibacterial and antioxidant activities.

## II. MATERIALS AND METHODS

### A. Solvents and Materials

All solvents and chemicals were used as received and without any purification, then FT-IR spectra were performed on JASCO FT/IR-4100. <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR spectra were recorded in deuterium MD<sub>3</sub>OD or CDCl<sub>3</sub> on a Fourier ARX 400 spectrometer at 400 MHz for proton and 100 MHz for Carbon 13. Chemical shifts (δ) are given in ppm and *J* values in Hertz (Hz). Thin-layer chromatography (TLC) was carried out on precoated Merck silica gel 60 F<sub>254</sub>. Melting points were determined on an Electro thermal capillary fine control apparatus which are uncorrected.

## III. RESULT AND DISCUSSION

### B. Chemistry

The synthesis of method is depicted in (Figure 1). Title compounds are synthesized using the previously reported method (Arfan *et al.*, 2009). It is known in the work of the literature that the condensation reaction of acetylacetone and hydrazine derivatives in ethanol and catalyzed by acetic acid directly give the corresponding pyrazole ring, but when the reaction medium is changed by the addition of silica gel, the majority products (**1**) and (**2**) are obtained; we can explain that this method is stopped at the alcohol function and does not pass to the stage of elimination of water. Here examining the pharmacological profile of the hydroxyl group, we synthesize the pyrazole substituted by the hydroxyl function and also study their biological properties, named antibacterial and antioxidant activities.

### A.1. Synthesis of (5-Hydroxy-3,5-dimethyl-4,5-dihydro-pyrazol-1-yl)-pyridin-4-yl-methanone (**1**)

White powder, 70% yield, m.p. 128 –130°C, IR (KBr): ν 3229 (OH), 2928 (CH), 1626 (C=O), 1546 (C=N) cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.96 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.04 (dd, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.87 (s, 2H, pyridine), 8.81 (s, 2H, pyridine). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 166.04, 156.51, 149.70, 141.74, 123.35, 92.81, 51.12, 26.71, 16.18. Anal. Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: C, 70.26; H, 5.98; N, 19.17; O, 14.60.

### A.2. Synthesis of Furan-2-yl-(5-hydroxy-3,5-dimethyl-4,5-dihydro-pyrazol-1-yl)-methanone (**2**)

Yellow powder, 68% yield, m. p. 112 –115°C, IR (KBr): ν 3340 (OH), 2989 (CH), 1636 (C=O), 1545 (C=N) cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MD<sub>3</sub>OD): δ = 2.09 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.00-3.04 (dd, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.78 (s, 1H, furan), 7.89 (s, 1H, furan), 8.12 (s, 1H, furan). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, MD<sub>3</sub>OD): δ = 156.31, 152.63, 149.19, 145.44, 124.63, 113.11, 90.80, 51.10, 24.01, 14.60. Anal. Calcd for C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: C, 57.68; H, 5.81; N, 13.45; O, 23.05.

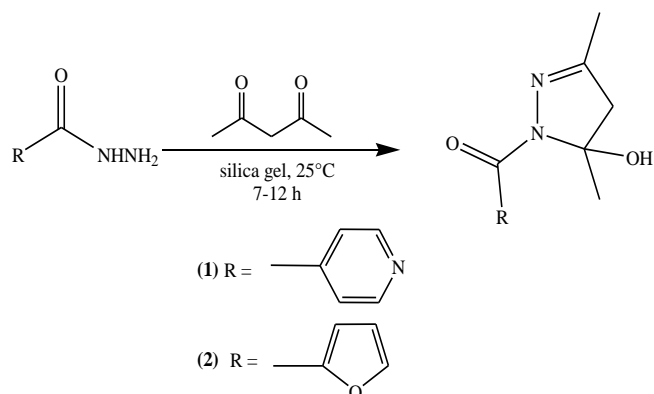


Figure 1. Synthesis of compounds (**1**) and (**2**)

### C. Antibacterial activity

The title compounds were tested against three standard bacterial strains for the determination of their antibacterial activity, against a variety of bacterial strain such as *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 using dimethyl sulfoxide (DMSO) as a solvent. The agar well diffusion method was used to determine antimicrobial activity (Celikel & Kavas, 2009). Similarly, the impregnated disks were placed on the medium suitably spaced apart and the plates were then incubated at 5°C for 1 hour to permit good diffusion. After that, they were transferred to an

incubator at 37°C for 24 hours for bacteria. The antibacterial activity was evaluated by measuring the inhibition zone diameter observed. Standard drugs like Ampicillin, Gentamycin were also used for comparison purpose.

Compounds (1) and (2) reported here were evaluated for their antibacterial activities against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Zone inhibition values were measured in millimeters. data on the antibacterial activities of the title compounds are given in (Table 1). The values of these inhibitory zones reveal that the compounds exhibit moderate antibacterial activities against all microbial strains at concentrations of 50 and 100 µg/mL, respectively. The biological activity of these compounds results from the presence of the pyrazole, pyridine and furan rings which play a very important role in elucidating the mechanism of transformation reaction in biological systems. The DMSO control showed no antimicrobial activity against the bacterial strains tested, while the test compound was found to be active.

Table 1. Antibacterial activity of compound (1) in an agar diffusion test

	Compound (1)		Compound (2)		AMP 10 µg/disc
	100 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml	
<i>E.coli</i>	11,42 ± 0,64	9,00 ± 1,12	13,01 ± 0,98	12,25 ± 1,22	28
<i>S.aureus</i>	10,78 ± 1,58	8,57 ± 1,08	12,28 ± 1,52	11,33 ± 2,08	14
<i>P.aurengenosa</i>	10,69 ± 1,02	8,33 ± 1,52	12,66 ± 1,52	11,48 ± 1,52	19

Zone of inhibition in mm: < 10: weak; > 10: moderate; >16: Significant  
AMP: Ampicillin  
GEN: Gentamycin  
Values are the average of three replicates.

#### D. Antioxidant activity

The antioxidant potential of any compound can be determined on the basis of its scavenging activity of the stable 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical as described by (Leitao *et al.*, 2002). Stock solutions of samples were prepared by dissolving 10 mg of synthesized samples in 10 ml of methanol to give a concentration of 1mg/ml. Then prepared sample concentrations of 5, 15, 25, 30, 40 and 50 µg/ml. The methanol solution of DPPH (20 mg/l) was prepared daily. The mixtures were made by adding 100 µl of test sample to 900 µl of DPPH solution. Ascorbic acid was used as standard (0-30 µg/ml). These solution mixtures were

kept in dark for 30 min and optical density was measured at 517 nm using the spectrophotometer. The optical density was recorded and % of inhibition was calculated using the formula given below:

$$\text{Percent (\%)} \text{ inhibition of DPPH activity} = 100 \times (A - B)/A$$

Where A = optical density of the blank and B = optical density of the sample

The IC<sub>50</sub> value was calculated by linear regression of plots where the abscissa represented the concentration of the title compounds and compared with the standard reference compound ascorbic acid. The statistical analyze were performed by a Microsoft Excel 2007 and all the numerical results were expressed graphically.

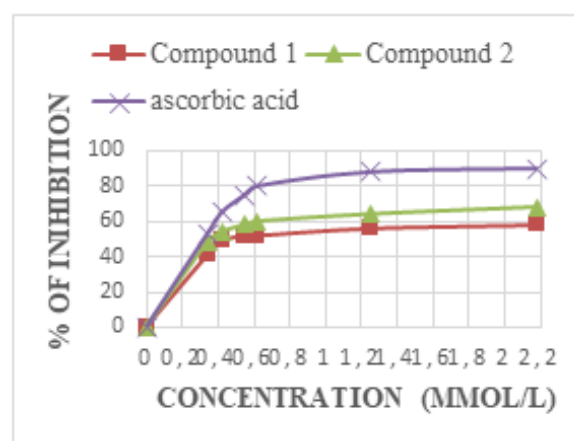


Figure 2. Antioxidant activity results using DPPH

The obtained results indicated that synthesized compounds (1) and (2) showed a good antioxidant activity with value of IC<sub>50</sub> 56.10 and 59.16 µg/ml. These values were nearly close to standard ascorbic acid with IC<sub>50</sub> value 37.10 µg/ml from regression equation in (Figures 2). all compounds indicating the excellent scavenging activity because the presence of the hydroxyl group in the structures may be responsible for trapping the free radical DPPH.

#### E. Computational study

All quantum chemical studies were performed with the Gaussian package 09 (Frisch *et al.*, 2003). Gauss View 5.08 (Dennington *et al.*, 2008) has been used for the visualization of the structure and The optimized geometry and electronic structure of the title compounds in the gas phase were carried out using the Density Functional Theory (DFT) with hybrid functional B3LYP, based on Becke's three-parameter

functional, including Hartree-Fock exchange contribution with a nonlocal correction for the exchange potential proposed by Becke together with the nonlocal correction for the correlation energy provided by (Lee *et al.*, 1988). with the basic set 6-311+G (p, d) (Gonzalez *et al.*, 1990). The values of HOMO, LUMO energies and global reactivity such as chemical potential ( $\mu$ ), hardness ( $\eta$ ), were calculated using Koopman's theorem was determinate (Zhan *et al.*, 2003) to relate the HOMO and LUMO energies to the IP and EA, respectively:

$$IP = -E_{\text{HOMO}}, \text{ and } EA = -E_{\text{LUMO}}$$

The electronegativity ( $\chi$ ), defined by (Mulliken *et al.*, 1934) as the average of (IP) and (EA):

$$\chi = (IP + EA) / 2$$

Chemical hardness is a useful concept to understand the reaction of chemical systems and is associated with the stability and reactivity of a chemical system (Pearson *et al.*, 1985). Chemical hardness can be calculated as follows:  $\eta = (IP - EA) / 2$ . The softness of a molecule is calculated by:  $S = 1/2\eta$ . Electronic energy calculation values of title compounds are summarized in (Table 2).

Table 2. Theoretical results of compounds (1) and (2)

Compound	HOMO (eV)	LUMO (eV)	Energy gap (eV)	$\mu$ (D)	$\chi$ (eV)	$\eta$ (eV)	$S$ (eV)
(1)	-6.35	-1.96	4.39	6.51	4.15	2.19	0.23
(2)	-6.40	-2.95	3.45	4.24	4.76	1.73	0.29

According to the electrostatic results illustrated in (Table 2) have been explained with respect to the experimental biological activity of the compounds synthesized. The compound (2) shown a LUMO energy of -2.95 eV is biologically active compared to the compound (1) of -1.96 eV. The values of biological activity between the two compounds can be explained by the difference in LUMO energy levels. LUMO energy represents the ability to accept an electron that is related to electron affinity (Gece, 2008). The difference energy between HOMO and LUMO characterizes their chemical stability. Farther, energy is used to estimate the limiting electron density by predicting the most reactive position in  $\pi$ -electron systems. It is also used to explain several types of reactions in conjugate systems (Choi & Kertesz, 1997). It has been observed that compounds with

higher LUMO orbitals have remarkable biological activity. This difference in energy compared to the LUMO orbitals can be explained by the furan and pyridine heterocycles. the oxygen atom is more electronegativity than the nitrogen atom therefore the furan ring reactivates than pyridine which clearly indicates that the electronegativity plays an important role in the stability of LUMO orbitals which has an influence on the biological activity. In addition, quantum studies have shown that the energy values of HOMO can be an indicator of antioxidant activity, of which we note in (Table 2) the values of the HOMO orbitals between the two compounds (1) and (2) very close to one of the other which shows that they have good antioxidant activity with  $IC_{50}$  between 56.10 and 59.16  $\mu\text{g/ml}$ . which also proves the influence of the substituents on the pyrazole ring mainly the hydroxyl group.

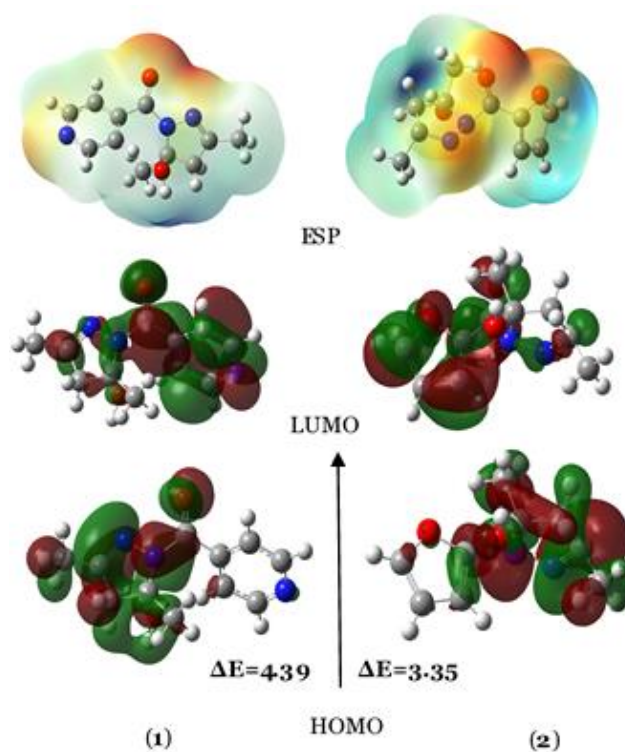


Figure 3. Band gap energy and Molecular electrostatic potential for compounds (1) and (2)

### F. Molecular docking

The three-dimensional (3D) structure of DNA gyrase from *E. Coli* is a special enzyme used in homeostatic control of DNA and the target for antibacterial compounds was obtained from the Protein Data Bank (PDB ID: 6RKV) (Vande Broeck *et al.*, 2019). All molecular structures were sketched in Chem-Draw ultra-version 17.1 (2017) and were submitted to

Chem3D Ultra Visualizing program to obtain standard 3D structure in (pdb) format. The receptor and ligand files were docked using AutoDock 4.2 along with Auto Dock Tools was used to perform docking simulation. Discovery Studio Visualizer 2017 was employed to analyze the interactions of the studied compounds and to the enzyme.

Docking studies are computational techniques to explore possible modes of ligand and receptor (enzyme) binding, the results of the analysis suggest that the compounds we used for docking exhibited interactions between the hydrogen bonds with target protein. Among these compounds, compound (1) exhibited good inhibition activity against the protein 6RKV is indicated by its lower binding energy value -5.29 kcal/mol and hi forms one hydrogen bond, the residue involved in the interaction with compound is with Met 111. we also notice that the oxygen of furan ring in the compound (2) is produced hydrogen bonds interaction with Val 268 and Hhe 96, respectively, but the N atom of the pyridine fraction did not make any hydrogen bond which shows that our explanation by the theoretical DFT method is really correct, the oxygen atom more electronegative than nitrogen therefore the antibacterial activity increases in molecules that contain several electronegative atoms. The docking conformation of more active compound (2) with furan ring and pyrazole substituted by hydroxyl showed a good interaction as well as a good docking score (-6.07 kcal/mol). However, in the present study, the molecular docking of the synthesized compounds was carried out to study their binding pattern with DNA gyrase and compare them with a standard inhibitor (Ampicillin) which exhibited moderate inhibitory activity against the 6RKV protein is indicated by its lower binding energy value of 4.82 kcal/mol. The docking results are shown in (Table 3).

Table 3. Calculated binding affinity values between proteins 6RKV and ligands

Compound	Free Energy of Binding Kcal/mol	Inhibition constant at 298.15 K ( $\mu$ M)	H-bonds	Interaction residues of 6RKV	Hydrophobic interactions
(1)	-5.29	132.02	1	Met 101	Phe 513, Tyr 100, Ile130, Ala 128,
(2)	-6.07	35.32	3	Val 268, Phe 96, Gln 276	Gln 276, Try 266, Phe 96, Ile 112, Ile 264
Ampicillin	-4.82	290.62	4	Asp 36, Arg 46, Asp157	Pro 43, Arg 47, Asp 157

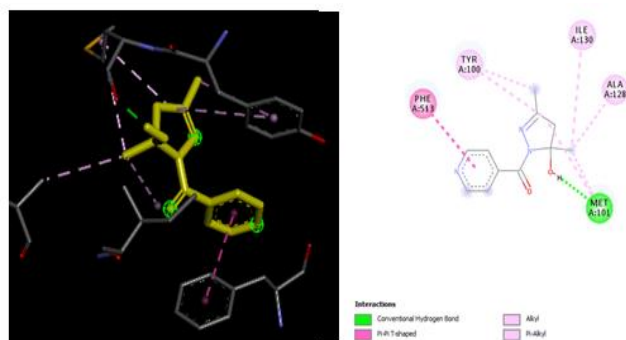


Figure 4. 3D and 2D docking pose showing interaction for compound (1) in the binding site of DNA gyrase (PDB ID: 6RKV)

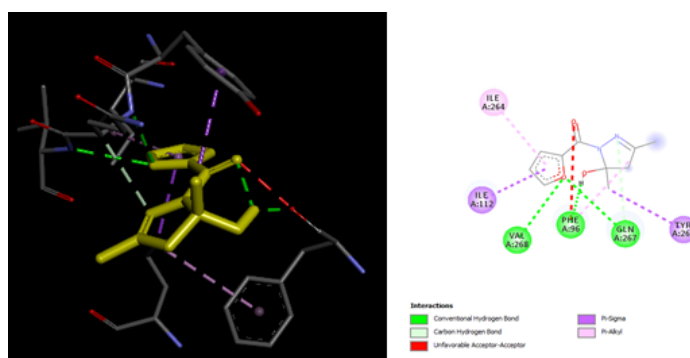


Figure 5. 3D and 2D docking pose showing interaction for compound (2) in the binding site of DNA gyrase (PDB ID: 6RKV)

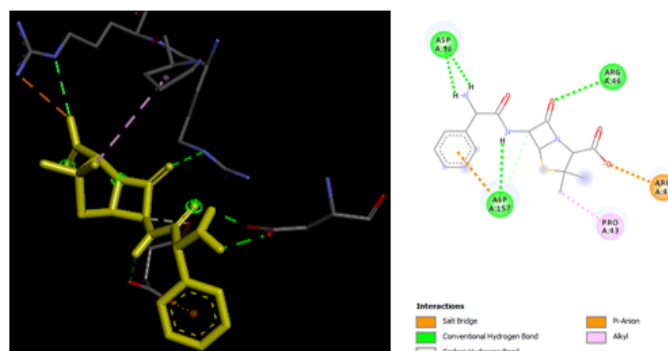


Figure 6. 3D and 2D docking pose showing interaction for Ampicillin in the binding site of DNA gyrase (PDB ID: 6RKV)



#### IV. CONCLUSION

In this study, the synthesis of two derivatives pyrazole trisubstituted was performed and all these compounds synthesized showed promising moderate antibacterial and antioxidant activity. Density functional theory DFT/ B<sub>3</sub>LYP with the basic set 6-311+ G (p, d). Calculations were carried out to study molecular structures, vibrational spectra, HOMO-LUMO and photophysical properties, and we tried to find a relation between the biological activities results and the theoretical data. Docking results revealed that compound (**2**) had least binding energy against the 6RKY receptor with a

binding energy value of – 6.07 kcal/mol. in silico, the results indicate that molecular docking studies were related with experimental results of antibacterial activity.

#### V. ACKNOWLEDGEMENT

The author would like to thank all the people who helped to carry out this work such as <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR and IR.

#### IV. REFERENCES

- Arfan M, Tahir MN, Khan R, Sabaa S, & Iqbal MS 2009, '(2-Aminophenyl) [(5S)-5-hydroxy-3,5-dimethyl-4,5 dihydro-1H-pyrazol-1-yl]-methanone', *Acta Crystallographica Section E*, vol. 65, pp. 1834-1835.
- Celikel N & Kavas G 2008, 'Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms', *Czech Journal of Food Sciences*, vol. 26, pp. 174-181.
- Choi CH & Kertesz M 1997, 'Conformational information from vibrational spectra of styrene, trans-stilbene, and cis-stilbene', *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 101, pp. 3823-3831.
- Dennington RD, Keith TA, Millam JM 2008, *GaussView 5.0.8*, Gaussian Inc.
- Flores AFC, Rosales PE, Malavolta JL, Flores DC, Malavolta JL & Flores DC 2014, 'Efficient synthesis of new biheterocyclic 5-[(5-Trifluoromethyl-5-hydroxy-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-1-propan-1-one-3-yl]-2-methyl-7-trifluoromethylpyrazolo[1,5-a]pyrimidines', *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 25, pp. 1439-1445.
- Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Montgomery JA, Vreven J, Kudin T, Burant KN, Millam CJ, Iyengar JM, Tomasi SS, Barone J, Mennucci V, Cossi B, Scalmani M, Rega G, Petersson N, Nakatsuji GA, Hada H, Ehara M, Toyota M, Fukuda K, Hasegawa R, Ishida J, Nakajima M, Honda T, Kitao Y, Nakai O, Klene H, Li M, Knox X, Hratchian JE, Cross HP, Adamo JB, Jaramillo C, Gomperts J, Stratmann R, Yazyev RE, Austin O, Cammi AJ, Pomelli R, Ochterski C, Ayala JW, Morokuma PY, Voth K, Salvador GA, Dannenberg P, Zakrzewski JJ, Dapprich VG, Daniels S, Strain AD, Farkas MC, Malick O, Rabuck DK, Raghavachari AD, Foresman K, Ortiz JB, Cui JV, Baboul Q, Clifford AG, Cioslowski S, Stefanov J, Liu BB, Liashenko G, Piskorz A, Komaromi P, Martin I, Fox RL, Keith DJ, Al-Laham T, Peng MA, Nanayakkara YC, Challacombe A, Gill M, Johnson PMW, Chen B, Wong W, Gonzalez MW, & Pople C 2003, *Gaussian 03*, Gaussian Inc., Pittsburg, PA.
- Gece G 2008, 'The use of quantum chemical methods in corrosion inhibitor studies', *Corrosion Science*, vol. 50, pp. 2981-2992.
- Gonzalez C & Schlegel HB 1990, 'Reaction path following in mass-weighted internal coordinates', *Journal of Physical Chemistry*, vol. 94, pp. 5523-5527.
- Karrouchi K, Radi S, Ramli Y, Taoufik J, Mabkhot YN, Al-aizari FA & Ansar M 2018, 'Synthesis and pharmacological activities of pyrazole derivatives: a review', *Molecules*, vol. 23, pp. 134-150.
- Khan MF, Alam MM, Verma G, Akhtar W, Akhter M & Shaquiquzzaman M 2016, 'The therapeutic voyage of pyrazole and its analogs: A review', *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 120, pp. 170-201.
- Lee C, Yang W & Parr RG 1988, 'Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density', *Physical Review B*, vol. 37, pp. 785-789.
- Leitao G, Leitao SG, & Vilagag W 2002, 'Quick preparative separation of natural Naphtopyranones with antioxidant activity by high-speed counter-current chromatography', *Z. Naturforsch Journal*, vol. 57, pp. 1051-1055.
- Mulliken RS 1934, 'New electroaffinity scale; together with data on valence states and on valence ionization potentials and electron affinities', *Journal of Chemical Physics*, vol. 2, pp. 782-793.

- Nimbalkar S, & Hote SV 2015, 'Pyrazole Derivatives and their Synthesis-A review', *International Journal on Recent and Innovation Trends in Computing and Communication*, vol. 3, pp. 61- 65.
- Pearson RG 1985, 'Absolute electronegativity and absolute hardness of Lewis acids and bases', *Journal of the American Chemical Society*, vol. 107, pp. 6801-6806.
- Shah NS, Biradar A, Habib SI, Dhole J, Baseer M & Kulkarni P 2011, 'Synthesis and antimicrobial studies of some novel pyrazolines', *Der Pharma Chemica*, vol. 3, pp. 167-171.
- Vande Broeck A, Lotz C, Ortiz J, & Lamour V 2019, 'Cryo-EM structure of the complete E. coli DNA gyrase nucleoprotein complex', *Nature Communications*, vol. 10, pp. 4935-4935.
- Venkateswarlu V, Kour J, Aravinda Kumar KA, Verma PK, Reddy GL, Hussain Y, Tabassum A, Balgotra S, Gupta S, Hudwekar AD, Vishwakarma RA & Sawant SD 2018, 'Direct N-heterocyclization of hydrazines to access styrylated pyrazoles: synthesis of 1,3,5-trisubstituted pyrazoles and dihydropyrazoles', *RSC Advances*, vol. 8, no. 47, pp. 26523-26527.
- Zhan CC, Nichols JA & Dixon DA 2003, 'Ionization potential, electron affinity, electronegativity, hardness, and electron excitation energy: molecular properties from density functional theory orbital energies', *Journal of Physical Chemistry A*, vol. 107, pp. 4184-4195.