

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Université Frères Mentouri-Constantine 1
Faculté des Sciences Exactes
Département de Chimie

N° d'ordre : 87/D3C/2021
Série : 14/CH/2021

THESE
Pour obtenir le diplôme de doctorat 3^{ème} cycle (LMD)
En chimie organique

Synthèse et réactivité en série hétérocyclique : préparation, caractérisation et évaluation biologique de nouveaux dérivés de chalcones à base de (benz)imidazole et de composés hybrides tricycliques (benz)imidazole-hétérocycle-aryle. Etude de la relation structure-activité

Par

Mohamed Imed CHOUITER

Soutenue le 29/09/2021

Membres de jury :

Président	Salah AKKAL	Professeur, U.F.M. Constantine 1 (Algérie)
Directeur de thèse	Ali BELFAITAH	Professeur. U.F.M. Constantine 1 (Algérie)
Co-directeur de thèse	Artur M.S. SILVA	Professeur U. d'Aveiro (Portugal)
Examinateur	Smail KHELILI	Professeur, U. M.S. Benyahia Jijel (Algérie)
Examinatrice	Zahia KABOUCHE	Professeur. U.F.M. Constantine 1 (Algérie)
Examinatrice	Widad SOBHI	M.C (A), U. Ferhat Abbès Sétif 1 (Algérie)

Remerciements

Ce travail a été réalisé au laboratoire des Produits Naturels d'Origine Végétale et de synthèse Organique (PHYSYNOR) au sein de l'équipe de recherche SMOTH (Synthèse de Molécules à Objectif THérapeutique) de l'Université Frères Mentouri-Constantine 1.

Mes plus vifs remerciements s'adressent au professeur Ali BELFAITAH qui a initié, suivi et dirigé ce travail durant ces années. Je le remercie tout particulièrement pour l'intérêt qu'il a porté à ce sujet, pour la confiance qu'il m'a accordée, pour les conseils avisés qu'il a su me prodiguer tout au long de ce travail, ainsi que pour sa patience et sa compréhension. Son œil critique m'a été d'une grande aide pour avancer que ce soit aussi bien à la paillasse que pendant la rédaction de cette thèse.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance au professeur Artur M.S. SILVA du Laboratoire QOPNA, département de chimie de l'université d'Aveiro, Portugal, co-encadreur de cette thèse, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, dans le cadre d'une bourse de formation (PNE) au cours de l'année 2020. Je tiens à lui exprimer mes plus sincères remerciements pour l'intérêt manifesté, la chaleur de son accueil, la confiance témoignée et le soutien constant accordé durant mon séjour à Aveiro, malgré ses nombreuses obligations, ce qui m'a permis de finaliser une partie de ce travail dans d'excellentes conditions. Nous tenons également à lui exprimer notre profonde reconnaissance pour son dynamisme et le rôle important dans la coordination de tous les tests anticancéreux.

Ma profonde gratitude va également au professeur Diana PINTO pour m'avoir accueilli au sein de son équipe, pour son aide, son soutien et sa disponibilité durant mon stage au laboratoire QOPNA. Je dois également un grand merci à mes collègues doctorants à l'université d'Aveiro Vasco BATISTA et Carlos SILVA avec qui j'ai travaillé pendant le stage pour leur aide, leur disponibilité, le soutien et le partage des connaissances. Je tiens à remercier aussi le personnel technique de QOPNA, Mme Mónica VALEGA pour sa disponibilité et son aide matérielle, ainsi que Mr Hilário TAVARES pour les analyses RMN et Mme Cristina BARROS pour l'analyse de la spectrométrie de masse.

Je tiens à remercier aussi le professeur Filipe A. Almeida Paz de Institut des matériaux d'Aveiro « CICECO » pour les analyses par diffraction de rayons X.

Ma profonde gratitude va également au Professeur David M PEREIRA, Professeur Patrícia VALENTÃO et professeur Paula B ANDRADE du Laboratoire de Pharmacognosie, Département de la chimie, Faculté de pharmacie, Université de Porto, pour les études de l'activité anticancéreuse.

Je tiens à remercier monsieur Housseem BOULEBD, Maitre de conférences A de l'université Frères Mentouri-Constantine 1 pour son aide, sa participation à ce travail et le partage de son expérience.

Je remercie le Docteur Chawki BENSOUICI, chef de laboratoire de Biochimie du centre national de recherche en biotechnologie (CRBt) de Constantine, ainsi que tout le personnel pour l'accueil, les facilités accordées et l'intérêt manifesté durant mon stage d'évaluation de l'activité antioxydante.

Je remercie Mr. le professeur Fodil KHELIFA du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Constantine, pour les facilités accordées dans la réalisation des tests antibactériens, ainsi que Mme Maya HAIFI ingénieur au laboratoire pour m'avoir guidé dans la réalisation des tests.

Mes remerciements s'adressent au professeur Salah AKKAL président du jury, professeur Zahia KABOUCHE de l'université Frères Mentouri-Constantine 1, au professeur Smail KHELILI de l'université Mohamed Seddik Benyahia de Jijel et Mme Widad SOBHI maître de conférences de classe A l'université Ferhat Abbas Sétif 1, membres de ce jury, pour avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie également l'ensemble des membres de l'équipe « synthèse des molécules à objectif thérapeutique « SMOTH », Dr. Hayette Boudine, Dr. Hasna Haiour, Dr. Bisma Saoudi, Dr. Meriem K Abderrezak, Dr. Souheila Ladraa, qui ont su créer et entretenir, par leur présence, une ambiance favorable à la recherche et par la même induire une émulation certaine et fructueuse.

Je remercie aussi mes chers collègues chercheurs et doctorants que j'ai côtoyé durant mon parcours de doctorat : Mr. Ismail AKKOUCHE, Mr. Chouiab AOUANE, Dr. Anfel BENHASSINE, Dr. Doria LAHNECHE, Melle Houria BOURIA pour leur soutien, la bonne humeur qu'ils m'ont apportée et leurs encouragements.

Mes plus profonds remerciements vont à mes chers parents. Ils m'ont toujours soutenu, encouragé, aidé et accordé toutes les chances de réussite tout au long de mon cursus. Qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs attentes ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude.

Abréviations

A549	Cellule épithéliale alvéolaire (la lignée cellulaire du cancer des cellules de poumon humain)
A_{0,50}	Concentration indiquant 0,50 absorbance
ABTS	Acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
AChE	Acétylcholine estérase
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénosine diphosphate
AE	Acétate d'éthyle
AGS	Adénocarcinomes gastriques (la lignée cellulaire du cancer gastrique humain)
ANOVA	Analyse de la variance
AO	Antioxydant
API	Appareils et Procédés d'Identification
aq.	Aqueux
Ar:	Aryle
ATP	Adénosine triphosphate
BCL-2	B-cell lymphoma 2
benz	Benzimidazole
BHA	Butyl Hydroxy Anisole
BHT	Butyl Hydroxy Toluène
Bn	Benzyle
Bu	Butyle
BuChE	Butyrylcholine esterase
CCM	CCM Chromatographie sur couches minces
COX-2	Cyclooxygenase-2
CUPRAC	Capacité antioxydante par réduction du cuivre
$\Delta\Psi_m$	Potentiel de membrane mitochondriale
δ	Déplacement chimique
DAPI	4',6-diamidino-2-phénylindole
DMA	Diméthylacetamide
DME	1,2-diméthoxyéthane
DMEM/F-12	Milieu Eagle modifié de Dulbecco/Mélange nutritif F-12
DMF	N,N-diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DO	Densité optique
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
E⁺	Electrophile
EDTA	Acide éthylènediaminetétraacétique
epox	Époxyde
éq.	Équivalent
ERO	Espèces réactives oxygénées

ESI	Ionisation par électronébuliseur
Et	Ethyle
EWG	Groupement électroattracteur (electron-withdrawing group)
FEK-4	Fibroblastes de peau humaine
FBS	Sérum bovin foetal
Fig	Figure
FRAP	Pouvoir réducteur du fer
g	Grams
GN	Gélose nutritive
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion
GSR	Glutathion réductase
GSSG	Glutathion disulfure
h	Heure
H2	Récepteurs de l'Histamine
HBSS	Solution saline équilibrée de Hank
HCT-15	Adénocarcinome du côlon humain
HepG2	Lignée cellulaire de cancer du foie humain.
Het	Hétérocycle
Hex	n-Hexane
HRMS	Spectroscopie de masse haute résolution
HT29	Lignée des cellules cancéreuses du colon chez l'humain
Hz	Hertz
IC₅₀	Concentration inhibitrice médiane
Imid	Imidazole
IR	Infra-rouge
IUPAC	Union internationale de chimie pure et appliquée
J	Constante de couplage
JC-1	Colorant fluorescent vert
K562	Lignée cellulaire de leucémie myéloïde immortalisée humaine
LDH	Lactate déshydrogénase
LiHMDS	Lithium bis(triméthylsilyl)amide
LNCaP	Cellules d'adénocarcinome de la prostate humaine
LOOH	Radical peroxyde lipidique
M	Moles par litre
MCF-7	Lignée cellulaire du cancer du sein
MCR	Mort cellulaire régulée
MDA-MB-231	Carcinome mammaire métastatique humain
Me	Méthyle
MHA	Mueller-Hinton-Agar
min	Minutes
M.M	Masse molaire
MRC-5	Lignée de cellules de type fibroblastes embryonnaires du poumon humains

MS	Spectrometry de masse
Mt	Métal
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (colorant)
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide + hydrogène
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate + hydrogène
Nc	Néocuproïne
NBT	Nitrobleu tetrazolium
p	Probabilité d'obtenir des résultats de test au moins aussi extrêmes que les résultats
PE	La phosphatidyléthanolamine
Ph	Phenyl
pH	Potentiel hydrogène
PMA	Phorbol 12-myristate 13-acetate
ppm	Partie par million
py	Pyrazoline
Pyraz	Pyrazole
Rdt	Rendement
R_f	Rapport frontal
RIPK1	Protéine kinase 1 interagissant avec les récepteurs sérine / thréonine
RMN	Résonance magnétique nucléaire
Rx	Rayons X
SAR	Relation structure-activité
SOD	Superoxyde dismutase
Sub	Substituant
STS	Staurosporine
TA	Température ambiante
TAA	Acide Tannique
TBAB	Le bromure de tétrabutylammonium
T_f	Température de fusion
TFAA	Anhydride trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
TOC	α-Tocopherol
Ts	Tosyle
UV-vis	Ultraviolet-visible
Z-VAD.fmk	Carbobenzoxy-valyl-alanyl-aspartyl-[O-methyl]- fluoromethylketone

Généralités expérimentales

Spectroscopie de Résonance Magnétique nucléaire :

Les spectres RMN ont été enregistrés sur un appareil à transformée de Fourier : Brüker avance DPX 250 (**250 MHz** pour le ^1H , **62,9 MHz** pour le ^{13}C) du département de chimie de la faculté des sciences exactes de l'université Frères Mentouri-Constantine 1, et Brüker avance 300 (**300 MHz** pour le ^1H , **75 MHz** pour le ^{13}C) du département de chimie de l'université d'Aveiro. Seules les fréquences de ces appareils seront précisées dans la partie expérimentale. Le déplacement chimique δ est exprimé en partie par millions (ppm). Les spectres sont enregistrés dans le chloroforme deutéré CDCl_3 (sauf indication contraire) et extrapolés à dilution infinie. Les constantes de couplage (J) sont exprimées en Hertz (Hz). L'attribution des signaux a été réalisée à l'aide de spectres 2D (^1H - ^{13}C HMQC et ^1H - ^{13}C HMBC). Les notations suivantes sont utilisées : **s** : singulet, **sl**: singulet large, **d** : doublet, **t** : triplet, **q** : quadruplet, **m** : multiplet, **dd** : doublet dédoublé, **td** : triplet dédoublé, **pst** : pseudo-triplet.

Spectrométrie de masse :

Les spectres de masse à haute résolution (HRMS) ont été réalisés sur un spectromètre de masse hybride LTQ Orbitrap XL piège-orbitrap (Thermo Fisher Scientific, Brême, Allemagne) avec l'utilisation d'une tension de 3000V et une température de capillaire de 250°C.

Spectroscopie Infrarouge :

Les spectres IR ont été enregistrées sur un spectrophotomètre à transformée de Fourier Shimadzu FT-IR-8201 du laboratoire IR du département de chimie de la faculté des sciences exactes de l'université Frères Mentouri Constantine 1, et les fréquences des bandes d'absorption sont exprimées en cm^{-1} . Les composés solides sont greffés sur des pastilles en KBr et les liquides dissous dans le Nujol.

Spectroscopie UV-Visible :

Les spectres UV-visible ont été enregistrés sur un spectrophotomètre UV-Visible Jeway 6300, du laboratoire TIPE (Techniques Innovantes de Préservation de l'Environnement), Université Frères Mentouri-Constantine 1.

Micro-ondes :

Les réactions sous irradiation micro-ondes ont été effectuées à l'aide d'un micro-onde monomode CEM Discover SP.

Chromatographie :

Le gel de silice (60 GF₂₅₄, Merck) a été utilisé pour la CCM, et les taches ont été détectées avec une lumière UV (254 nm). Le gel de silice, taille des pores : 60 (230-400 mesh) (Millipore®) a été utilisé pour la chromatographie sur colonne.

Point de fusion :

Les points de fusion ont été déterminés à l'aide de l'appareil Banc Köfler du département de chimie de la faculté des sciences exactes de l'université Frères Mentouri-Constantine 1.

Solvants et réactifs :

Les solvants ont été séchés selon des méthodes standards avant d'être utilisés. Les autres produits commerciaux ont été acquis auprès de Sigma-Aldrich, Acros, Alfa Aesar ou Fluka, et utilisés dans la majorité des cas sans purification préalable.

Activité antioxydante :

Les mesures de l'absorbance ont été évaluées en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits, Perkin Elmer Multi-mode Plate Reader EnSpire du centre national de recherche en biotechnologie de Constantine.

Table des matières

Remerciements	I
Abréviations.....	III
Généralités expérimentales.....	VI
Table des matières	VIII
Liste des Figures	XIII
Liste des Schémas	XVI
Liste des Tableaux.....	XVIII
Avant-propos	1
Références bibliographiques	5
Synthèse, caractérisation et évaluations biologiques de chalcones à base de (benz)imidazole	
1. Imidazole : structure et activité biologique.....	7
1.1. Généralités	7
1.2. Activité biologique des dérivés de l'imidazole	8
1.2.1 Occurrence naturelle de 1,3 diazoles	8
1.2.2. Intérêts biologiques de l'imidazole et benzimidazole.....	10
2. Les Chalcones.....	13
2.1. Généralités	13
2.2. Propriétés fluorescentes des chalcones.....	14
2.3. Quelques méthodes de synthèse des chalcones.....	14
2.4. Intérêts biologiques des chalcones	15
2.5. Les chalcones hybrides	16
2.5.1. Chalcones hybrides : fragments connectés au motif chalcone	16
2.5.2. Chalcones hybrides : utilisation d'isostères de groupement aryle.....	17
3. Généralités sur le cancer	19
3.1. Traitement du cancer	20

3.2. Ciblage de l'apoptose dans le traitement du cancer	20
4. Objectifs ciblés	21
5. Travaux réalisés et discussion des résultats	22
5.1. Préparation des intermédiaires clé	22
5.1.1. Préparation du 1-méthyl-1H-imidazole-2-carbaldéhyde (-2-acétyl) I (II)	22
5.1.2. Préparation du 1-méthyl-1H-benzo[d]imidazole-2-carbaldéhyde (V)	23
5.1.3. Préparation du 1-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)éthan-1-one (VII)	23
5.2. Synthèse des chalcones	24
5.3. Evaluation de l'activité anticancéreuse.....	26
5.3.1. Impact des chalcones 1, 4 et 10 sur la morphologie cellulaire	27
5.3.2. Etude de l'implication du RIPK1 sur la toxicité des composés 1, 4 et 10	29
5.3.3. Etude de l'implication des mitochondries dans la toxicité des composés 1, 4 et 10.....	29
5.3.4. Etude de l'implication de caspase dans la toxicité des composés 1,4 et 10	30
5.5. Evaluation de l'activité antioxydante.....	34
6. Conclusion	35
7. Perspectives	36
8. Références bibliographiques.....	37
Synthèse, caractérisation et évaluations biologiques de dérivés hybrides tricycliques	
imidazole - hétérocycle - aryle	
1. Pyrazole et pyrazoline : structures et activités biologiques	47
1.1. Généralités	47
1.2. Intérêts biologiques des dérivés du pyrazole	48
1.3. Quelques méthodes de synthèse de pyrazoles et autres pyrazolines	52
1.3.1 La cycloaddition 1,3-dipolaire.....	52
1.3.2 La cyclo-condensation des composés 1,3-diélectrophiles avec des dérivés de l'hydrazine	53
1.3.3 Autres méthodes	53

2. Le pouvoir antioxydant et le stress oxydatif	56
2.1. Introduction.....	56
2.2. Les dommages oxydatifs.....	57
2.3. Les Antioxydants.....	58
2.3.1. Les antioxydants endogènes (mécanismes de défense cellulaire).....	58
2.3.2. Les antioxydants exogènes.....	59
2.4. La pyrazoline comme agent antioxydant potentiel	61
3. Objectifs ciblés	62
4. Travaux réalisés et discussion des résultats obtenus	63
4.1. Préparation de dérivés de 2-pyrazoline	63
4.1.1. Préparation de 3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carboxamide (22) et 3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carbothioamide (23)	63
4.1.2. Préparation de 1-(3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl) éthan-2-one (24).....	63
4.1.3. Préparation des dérivés de 2-pyrazoline non substitués en position 1	64
4.1.4. Préparation de 1-(3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)phényléthan-2-one (32)	64
4.1.5 Préparation de dérivés de N-aryl-2-pyrazoline	65
4.2. Préparation de dérivés imidazole-pyrazole	65
4.2.1. Utilisation des chalcones comme produit de départ.....	65
4.2.2. Utilisation des 2-pyrazolines comme matière première.....	67
4.2.3. Synthèse « one-pot »	68
5. Evaluation in vitro de l'activité antioxydante	70
5.1. Méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant.....	70
5.2. Activité antioxydante des pyrazolines N-Substitués (22, 33, 37-39)	74
5.2.1. L'Activité antioxydante et les dérivés de 2-pyrazolines.....	74
5.2.2. Activité antioxydante des 2-pyrazolines N-H (25-31)	77

6. Evaluation de l'activité anticancéreuse des pyrazoline N-Substitués	80
7. Conclusion	81
8. Perspectives	82
9. Références bibliographiques.....	83
Partie expérimentale	89
1. Préparation du 1-méthyl-1H-imidazole-2-carbaldéhyde (I) et -2-acétyle (II)	90
2. Préparation du 1-méthyl-1H-benzo[d]imidazole-2-carbaldehyde (V).....	91
2.1. Préparation de 1-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)méthanol (III).....	91
2.2. Préparation du (1-méthyl-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)méthanol (IV)	91
2.3. Préparation du 1-méthyl-1H-benzo[d]imidazol-2-carbaldehyde (V).....	92
3. Préparation du 1-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)éthan-1-one (VII)	92
3.1. Préparation du 1-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)éthanol (VI).....	92
3.2. Préparation du 1-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)éthan-1-one (VII).....	93
4. Préparation des chalcones (1 – 21)	93
5. Préparation des dérivés de la pyrazoline 22 – 40.....	103
5.1. Préparation du 3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carboxamide (22) et du 3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carbothioamide (23).....	103
5.2. Préparation du 1-(3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl) éthanone (24)	105
5.3. Préparation des pyrazolines N-H (25 - 31)	106
5.4. Préparation du 1-(3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-2-phényléthan-1-one (32)	109
5.5. Préparation des pyrazolines N-aryle (33 - 40).....	110
6. Préparation des dérivés imidazole-pyrazole (43 – 52).....	114
6.1. Utilisation des chalcones comme produit de départ	114
6.2. Utilisation des 2-pyrazolines comme matière première.....	116
6.3. Synthèse « one-pot »	117

7. Etude in vitro de l'activité anticancéreuse	121
7.1. Culture cellulaire	121
7.2. Test MTT	121
7.3. Études morphologiques	122
7.4. Évaluation de l'intégrité membranaire : test de libération de LDH	122
7.5. Tests d'inhibition de la caspase.....	122
7.6. Évaluation du potentiel membranaire mitochondrial ($\Delta\Psi_m$)	123
7.7. Analyse statistique	123
8. Tests antimicrobiens.....	123
8.1. Préparation des suspensions de micro-organismes et ensemencement.....	123
8.2. Méthode des disques	124
9. Etude in vitro de l'activité antioxydante	124
9.1. Préparation des échantillons	124
9.2. La méthode du piégeage du radical DPPH'	124
9.3. La méthode du piégeage du radical cation ABTS⁺	125
9.4. La méthode du piégeage du radical anion superoxyde O₂⁻	125
9.5. La méthode CUPRAC	126
Annexes	131
Formulaire :	132
Résumé :.....	149

Liste des Figures

Avant-propos

Figure I Chalcones hybrides (benz)imidazoliques..... 3

Figure II Hybrides imidazole-hétérocycle-aryle 3

Synthèse, caractérisation et évaluations biologiques de chalcones à base de (benz)imidazole

Figure 1.1 Formes limites de l'imidazole..... 7

Figure 1.2 Propriétés physiques des noyaux imidazole et benzimidazole 7

Figure 1.3 Quelques biomolécules à base d'imidazole ou benzimidazole..... 8

Figure 1.4 Formation de l'histamine par décarboxylation enzymatique de l'histidine..... 8

Figure 1.5 Quelques produits naturels contenant un noyau imidazole ou benzimidazole 9

Figure 1.6 Quelques produits naturels contenant un noyau benzimidazole 9

Figure 1.7 Quelques produits naturels contenant un noyau imidazole..... 10

Figure 1.8 Structures de quelques médicaments à base d'imidazole 11

Figure 1.9 Structures de quelques médicaments à base de benzimidazole 11

Figure 1.10 Conception d'analogues de la Tacrine non-hépatotoxiques 12

Figure 1.11 Quelques dérivés de (benz)imidazole biologiquement actifs 12

Figure 1.12 Structure de chalcone et stabilité relative 13

Figure 1.13 Structures de deux médicaments à base de chalcone..... 13

Figure 1.14 Structures "attracteur-donneur d'électrons" pour les chalcones fluorescentes 14

Figure 1.15 4-diméthylaminochalcone..... 14

Figure 1.16 Structure de l'isoliquiritigénine 15

Figure 1.17 Quelques chalcones hybrides avec divers lieurs 16

Figure 1.18 Quelques chalcones hybrides 17

Figure 1.19 Quelques chalcones hybrides comme agents anticancéreux..... 17

Figure 1.20 Quelques dérivés de chalcones hybrides à activité anti-cancéreuse 18

Figure 1.21 Structures de quelques chalcones hybrides analogues de Comberetastatine à activité anticancéreuse..... 19

Figure 1.22 Capacités distinctives des cancers	19
Figure 1.23 Evaluation morphologique de l'effet des composés 1 , 4 et 10 sur les cellules AGS après 24 h d'incubation. Les composés ont été testés à la valeur du CI ₅₀ , comme indiqué dans le tableau 1. La morphologie globale des cellules a été évaluée à l'aide de la phalloïdine (traits cytoplasmiques) et du DAPI (statut de la chromatine). Flèches jaunes : caryorrhexie (fragmentation nucléaire), flèches blanches : pycnose (condensation de la chromatine)	28
Figure 1.24 Viabilité de la lignée des cellules AGS incubée avec 1 , 4 et 10 avec et sans la nécrostatine-1 (15 mM) comme co-incubateur. Les résultats sont exprimés comme la moyenne ± déviation standard de cinq expériences indépendantes réalisées en triple (triplicate).....	29
Figure 1.25 Effet des composés 1 (100 µM), 4 (73 µM) et 10 (18 µM) sur l'activité du potentiel de la membrane mitochondriale membrane ($\Delta\Psi_m$) contre la lignée du cancer gastrique humain (A549) après 8 h d'incubation. Les résultats sont exprimés comme la moyenne ± déviation standard de cinq expériences indépendantes réalisées en triple (triplicate). **p < 0.01; ***p < 0.001. PMA (250 nM) a été utilisé comme contrôle positif ..	30
Figure 1.26 Influence de la Z-VAD.fmk (50 µM), un inhibiteur de la pan-caspase, sur la toxicité occasionnée par 1 , 4 et 10 envers les cellules cancéreuses AGS après 8 h d'incubation. La Staurosporine (STS, 0.5 µM) a été utilisée comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés comme la moyenne ± déviation standard de trois expériences indépendantes réalisées en triple (triplicate). *p < 0.05.....	31
Figure 1.27 Effets de 1 , 4 et 10 sur l'activité de la caspase-3 sur la lignée des cellules AGS après 8h d'incubation. Afin d'étudier les phénomènes en amont de la mort cellulaire, les molécules ont été testées à la concentration de leur IC ₅₀ déterminée après 8h d'incubation (1 : 100 µM; 4 : 73 µM; 10 : 18 µM). Les résultats sont exprimés comme la moyenne ± déviation standard de cinq expériences indépendantes réalisées en triple (triplicate). *p < 0.05, **p < 0.01, comparés au contrôle. La Staurosporine (STS, 500 nM) a été utilisée comme contrôle positif.....	32
Figure 1.28 Structure des chalcones testées	33
Figure 1.29 Chalcones hybrides ciblées	36

**Synthèse, caractérisation et évaluations biologiques de dérivés hybrides tricycliques
imidazole - hétérocycle - aryle**

Figure 2.1 Les différentes structures du noyau pyrazoline	48
Figure 2.2 Quelques exemples d'alcaloïdes contenant le noyau pyrazole.....	48
Figure 2.3 Quelques alcaloïdes naturels dérivés de pyrazole.....	49
Figure 2.4 Quelques composés naturels à noyau pyrazole et composés apparentés	49
Figure 2.5 Quelques médicaments comportant le motif pyrazole et dérivés apparentés	50
Figure 2.6 Quelques dérivés de pyrazole utilisés dans le domaine agricole	51
Figure 2.7 Un « agent azurant » à base de pyrazoline.....	51
Figure 2.8 Un agent luminophore "scintillateur liquide" à base de pyrazoline.....	51
Figure 2.9 Quelques dérivés de pyrazole à activité antitumorale.....	54
Figure 2.10 Processus de formation des ERO au niveau de la chaîne de transport des électrons	56
Figure 2.11 Représentation schématique du rôle du fer en présence du radical superoxyde dans la dégradation des enzymes	57
Figure 2.12 Structure du glutathion.....	58
Figure 2.13 Représentation schématique de la réaction de peroxydation par le Glutathion ...	58
Figure 2.14 Représentation schématique de la réaction d'oxydation par la <i>superoxyde dismutase</i>	59
Figure 2.15 Représentation schématique de la <i>catalase</i>	59
Figure 2.16 Structures moléculaires de quelques antioxydants naturels.....	60
Figure 2.17 Structures moléculaires de quelques antioxydants synthétiques	60
Figure 2.18 Quelques dérivés hybrides pyrazoline-pyrazole-imidazole antioxydants.....	61
Figure 2.19 Quelques dérivés hybrides indole-pyrazoline-pyridine (thiophène) antioxydants	61
Figure 2.20 Hybrides imidazole-2-pyrazoline et -pyrazole /aryle ciblés	62
Figure 2.21 Hybrides imidazole-2-pyrazoline N-substitués ciblés	62
Figure 2.22 Hybrides imidazole-2-pyrazoline NH-Aryle substitués en para ciblés.....	62

Figure 2.23 Représentation ORTEP-Plot du composé 43	69
Figure 2.24 Fragment caractéristique imidazole-pyrazole	69
Figure 2.25 Représentation schématique du rôle de Cu(II) dans la production de radicaux ..	73
Figure 2.26 Dérivés de 2-pyrazoline <i>N</i> -H et <i>N</i> -substitués préparés	75
Figure 2.27 Profil des activités antioxydantes des 2-pyrazolines 22-25 et 33	75
Figure 2.28 Dérivés de 2-pyrazoline <i>N</i> -H substitués en position 4 du phényle 25-31	77
Figure 2.29 Profils des activités antioxydantes des 2-pyrazolines <i>N</i> -H	77
Figure 2.30 Dérivés de 2-pyrazoline étudiés pour leur activité anticancéreuse	80

Liste des Schémas

Synthèse, caractérisation et évaluations biologiques de chalcones à base de (benz)imidazole

Schéma 1.1 Les chalcones et la réaction de <i>Claisen-Schmidt</i>	15
Schéma 1.2 Mécanisme de la formation des chalcones par catalyse basique	15
Schéma 1.3 Conception de chalcones hybrides « (benz)imidazoliques »	21
Schéma 1.4 Etude de l'activité biologique de quelques chalcones hybrides (benz)imidazoliques	21
Schéma 1.5 Synthèse des intermédiaires-clé	22
Schéma 1.6 Mécanisme de la formation des intermédiaires-clé	22
Schéma 1.7 Schéma synthétique général du composé V	23
Schéma 1.8 Synthèse du composé VII	24
Schéma 1.9 Synthèse des 1-aryl-3-(benz)imidazol-cétones α,β -insaturées (Série 1)	24
Schéma 1.10 Synthèse des 3-aryl-1-(benz)imidazol cétones α,β -insaturées (Série 2)	24
Schéma 1.11 Synthèse du 1,3-bis(1-méthyl-1<i>H</i>-imidazol-2-yl) prop-2-en-1-one	25

Synthèse, caractérisation et évaluations biologiques de dérivés hybrides tricycliques imidazole - hétérocycle - aryle

Schéma 2.1 Le pyrazole est ses structures stabilisées (milieu acide ou basique)	47
Schéma 2.2 Schéma rétro-synthétique de la synthèse de pyrazole	52
Schéma 2.3 Les dérivés de pyrazole et la cycloaddition 1,3-dipolaire	52

Schéma 2.4 Synthèse de pyrazoles par addition-cyclo-condensation de dérivés de l'hydrazine	53
Schéma 2.5 Une méthode de synthèse de pyrazole par la chimie « verte »	53
Schéma 2.6 Synthèse de pyrazole <i>via</i> des époxydes	54
Schéma 2.7 Mécanisme de formation de 2-pyrazolines	55
Schéma 2.8 Synthèse de 2-pyrazoline en milieu acide sous irradiation ultrasonique	55
Schéma 2.9 Synthèse de 2-pyrazolines par une réaction aza-Michaël-cyclo-condensation....	55
Schéma 2.10 Quelques équations chimiques portant formation de radicaux libres	57
Schéma 2.11 Préparation des dérivés hybrides imidazole-2-pyrazoline 22 et 23	63
Schéma 2.12 Préparation du dérivé hybride imidazole-2-pyrazoline 24	63
Schéma 2.13 Dérivés hybrides imidazole-2-pyrazoline <i>N</i> -hydrogénés préparés	64
Schéma 2.14 Préparation du dérivé hybride imidazole-2-pyrazoline 32	64
Schéma 2.15 Dérivés hybrides imidazole-2-pyrazoline <i>N</i> -substitués préparés	65
Schéma 2.16 Synthèse de pyrazole à partir de chalcone et époxyde correspondants	66
Schéma 2.17 Synthèse de pyrazole <i>NH</i> sous irradiations microondes	67
Schéma 2.18 Oxydation de 2-pyrazoline par MnO ₂ activé	67
Schéma 2.19 Oxydation de 2-pyrazoline par I ₂	68
Schéma 2.20 Synthèse de dérivés de pyrazole <i>N</i> -H par une réaction one-pot	68
Schéma 2.21 Echange tautomérique.....	69
Schéma 2.22 La réaction de réduction du DPPH [•] en présence d'antioxydants	70
Schéma 2.23 Oxydation de l'ABTS en ABTS ^{•+} en présence de persulfate de potassium	71
Schéma 2.24 Réduction de l'ABTS ^{•+} en présence d'antioxydants	71
Schéma 2.25 Equation chimique portant formation du radical anion superoxyde O ₂ ^{•-}	72
Schéma 2.26 Réduction du radical anion superoxyde O ₂ ^{•-} en Formazan	72
Schéma 2.27 Réduction du complexe [Cu(II)-Nc ₂] par un antioxydant.....	74

Liste des Tableaux

Tableau 1.1 IC ₅₀ (μM) obtenus avec les composés testés contre deux lignées cellulaires humaines cancéreuses (AGS, A549) et non cancéreuses MRC-5 (incubation pendant 24 h) .	28
Tableau 1.2 Profil antibactérien des chalcones testées	33

Avant-propos

Les composés hétérocycliques principalement azotés, de par leur abondance et leur diversité, ont prouvé leur importance aussi bien dans le domaine de la recherche fondamentale et appliquée, que dans le domaine industriel. Les structures hétérocycliques sont parfois associées entre elles mais dans la plupart des cas, elles sont liées à des motifs structuraux très diversifiés (composés hybrides). Ce type de composés a montré son utilité dans la conception de nouvelles classes de composés à activités démontrées aussi bien dans le domaine médical et/ou thérapeutique (vitamines, hormones, antibiotiques, anti-tumoraux...), que technique et technologique (inhibiteurs de corrosion, colorants, agents stabilisants...)¹

Parmi les classes de composés hétérocycliques, l'imidazole et dérivés apparentés représentent une classe importante puisqu'on retrouve ce motif dans la structure d'importantes biomolécules tels que l'adénine, l'histidine, la thiamine (vitamine B1), les bases purine de l'ADN, la vitamine B12 et plusieurs autres composés,^{2,3} ainsi que dans une large variété de produits synthétiques à efficacité démontrée aussi bien dans le domaine thérapeutique,⁴ ...et autre agrochimique,⁵ que dans le domaine industriel.^{6,7}

Les phénomènes de résistance développés par certains agents pathogènes aux médicaments actuels induisant de l'apparition de maladies nouvelles, constituent une préoccupation majeure et permanente pour de nombreux chercheurs, générant ainsi le développement de nouvelles méthodologies de synthèse et la recherche de molécules bioactives nouvelles.

Notre équipe de recherche (SMOTH) a récemment développé un axe de recherche consacré exclusivement à la synthèse et l'évaluation biologique de dérivés poly-hétérocycliques et autres complexes de métaux de transition nouveaux comportant comme sous-structure un motif (benz)imidazole.^{8,9}

Le sujet développé est centré sur la préparation de poly-hétérocycles articulés autour d'un noyau (benz)imidazole, comme bioisostère de groupements aryles, oxazoles, pyrazoles, ..., par exemple, pour accéder aux dérivés ciblés. Cette approche, qui consiste en l'introduction de modifications structurales (mineure ou majeure) dans la structure d'une substance bioactive ou potentiellement active d'origine naturelle ou produite par voie de synthèse, représente une stratégie efficace pour accéder à des molécules bioactives de structures inédites. Ces structures nouvelles sont susceptibles de présenter une activité biologique comparable à celle de produits bioactifs et/ou améliorée et peuvent introduire des changements significatifs en termes de

stabilité, de toxicité et/ou de sélectivité, et de réduire au minimum les propriétés indésirables de ces substances.

Nous exposerons, dans le cadre de cette thèse, l'intérêt et l'importance de cette approche dans la synthèse de composés poly-hétérocycliques hybrides contenant comme sous-structure un noyau (benz)imidazole, et son apport dans le domaine biologique.

Cette thèse comporte deux parties :

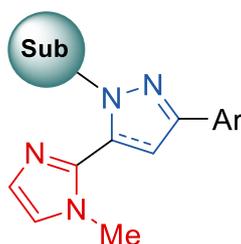
➤ La première a trait à la synthèse et l'évaluation biologique (tests anticancéreux, antibactériens et antioxydants) de chalcones de structures originales comportant un motif (benz)imidazole (**Fig. I**).



Chalcones (benz)imidazolique

Figure I Chalcones hybrides (benz)imidazoliques

➤ La seconde partie est réservée à la synthèse de nouveaux composés poly-hétérocycliques hybrides comportant le motif 1-méthylimidazole comme sous-structure. Ces composés tricycliques de structures diversifiées et hautement fonctionnalisées de type (benz)imidazole-hétérocycle-aryle où l'hétérocycle est un noyau 2-pyrazoline ou pyrazole, seront soumis à une évaluation biologique (tests anticancéreux et antioxydants) (**Fig. II**).



Hybrides Imidazole-Hétérocycle-Aryle

Figure II Hybrides imidazole-hétérocycle-aryle

La stratégie globale est basée fondamentalement sur l'utilisation de réactions et autres procédures adéquates et/ou adaptées, simples, efficaces et de mise en œuvre facile dans la préparation de nouveaux composés polycycliques porteurs d'un motif (benz)imidazole.

Nous détaillerons au cours de cette thèse :

- L'intérêt et l'utilisation des dérivés de chalcone incorporant dans leur structure un noyau imidazole ou benzimidazole en relation avec notre propos particulièrement dans le domaine biologique et médicinal (Partie 1).
- Les résultats auxquels nous sommes parvenus dans la préparation des chalcones (benz)imidazoliques par une réaction de Claisen-Schmidt en utilisant la condensation du 1-méthyl-1*H*-imidazol-2-carbaldéhyde ou le 1-méthyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-carbaldéhyde avec les dérivés de l'acétophénone et des dérivés du benzaldéhyde avec des 2-acétyl (benz)imidazoles (Partie 1).
- Les résultats obtenus dans l'évaluation des activités biologiques de quelques composés sélectionnés comme agents anticancéreux, antioxydants et antibactériens avec une étude de la relation structure activité (SAR) pour les composés actifs (Partie 1).
- Quelques exemples ciblés de composés bioactifs articulés autour d'un noyau pyrazole ou 2-pyrazoline, ainsi que les méthodes de synthèse les plus utilisées pour accéder à ce type de composés (Partie 2).
- Les résultats obtenus dans la synthèse de nouveaux dérivés tricycliques de type imidazole-hétérocycle-aryle diversement fonctionnalisés, ainsi que l'évaluation des activités biologiques de quelques composés sélectionnés comme agents anticancéreux, antioxydant avec une étude de la relation structure activité (SAR) pour les composés actifs (Partie 2).

Notes préliminaires

Les références bibliographiques sont mentionnées en fin de chaque partie. La partie expérimentale est rapportée en fin de document regroupant outre les différentes procédures et autres protocoles expérimentaux utilisés dans la préparation des composés ciblés, et leur caractérisation structurale, la description des différentes techniques utilisées dans la détermination des propriétés biologiques. Dans l'annexe sont mentionnés : un formulaire où sont regroupés tous les composés synthétisés, ainsi que quelques spectres RMN et de Masse. Une partie des travaux réalisés au cours de cette thèse ont fait l'objet d'une publication dans la revue Future Med. Chem. (2020) et autres communications.

Références bibliographiques

1. Majumdar, K. C., Chattopadhyay, S. K. (Eds.). Heterocycles in natural product synthesis. John Wiley & Sons. 2011.
2. Boiani, M., González, M. Imidazole and benzimidazole derivatives as chemotherapeutic agents. *Mini rev. Med. Chem.* **2005**, 5(4), 409-424.
3. Du, H., He, Y., Sivappa, R., Lovely, C. J. New methods of imidazole functionalization-from imidazole to marine alkaloids. *Synlett*, **2006**, 07, 0965-0992.
4. Romero, D. H., Heredia, V. E. T., García-Barradas, O., López, M. E. M., Pavón, E. S. Synthesis of imidazole derivatives and their biological activities. *J. Chem. Biochem.* **2014**, 2(2), 45-83.
5. Katritzky, A. R., Rees, C. W., Scriven, E. F. *Comprehensive heterocyclic chemistry II*. Pergamon. 1996.
6. Seddon, K. R. Ionic liquids for clean technology. *J. Chem. Techn. & Biotechn: Int. Res. in Process, Environmental and Clean Technology*, **1997**, 68(4), 351-356.
7. Lee, S. H., Dang, D. T., Ha, S. H., Chang, W. J., Koo, Y. M. Lipase-catalyzed synthesis of fatty acid sugar ester using extremely supersaturated sugar solution in ionic liquids. *Biotech. Bioengin*, **2008**, 99(1), 1-8.
8. Boulebd, H., Zama, S., Insaf, B., Bouraiou, A., Bouacida, S., Merazig, H., Romero, A., Chioua, M., Marco-Contelles, J., Belfaitah, A. Synthesis and biological evaluation of heterocyclic privileged medicinal structures containing (benz) imidazole unit. *Monatshefte für Chemie*, **2016**, 147(12), 2209-2220.
9. Benhassine, A., Boulebd, H., Anak, B., Kara Ali, M., Bouraiou, A., Merazig, H., Kacem-Chaouche, N., Belfaitah, A. Co(II) complexes derived from (1-methyl-1H-imidazol-2-yl)methanol: Synthesis, characterization, Spectroscopic study, DFT/TD-DFT calculations and biological evaluation». *J. Inorg. Chem. Acta*, **2019**, 497, 119073-119082

PARTIE 1 :

Synthèse, caractérisation et évaluations biologiques de chalcones à base de (benz)imidazole

1. Imidazole : structure et activité biologique

1.1. Généralités

L'imidazole ou 1,3-diazacyclopenta-2,4-diene est un composé organique cyclique à cinq chaînons qui contient deux atomes d'azote en position 1 et 3. L'imidazole est un hétérocycle aromatique de structure plane présentant 6 électrons délocalisés (Fig. 1.1), une paire fournit par les atomes d'azote en position 1 et 4 électrons π .

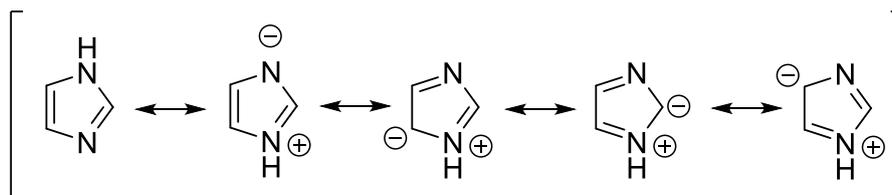


Figure 1.1 Formes limites de l'imidazole

La fusion du noyau imidazole avec le benzène résulte en une structure bicyclique aromatique appelée benzimidazole (Fig. 1.2).

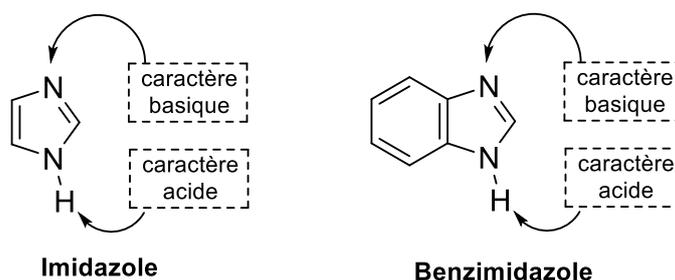


Figure 1.2 Propriétés physiques des noyaux imidazole et benzimidazole

L'imidazole et dérivés apparentés tels les benzimidazoles constituent une classe de composés hétérocycliques possédant des propriétés chimiques et physiques uniques. Ces hétérocycles qui présentent un groupe NH libre sont généralement solubles dans les solvants polaires et moins solubles dans les solvants organiques, cependant l'incorporation de substituants sur l'atome d'azote améliore sa solubilité dans les solvants non polaires.

L'imidazole a un caractère basique assez fort (pK_{a1} de l'acide conjugué = 6,95) et un caractère acide faible (pK_{a2} = 14,52), le benzimidazole étant légèrement moins basique que l'imidazole, les valeurs pK_a du benzimidazole sont pK_{a1} = 5,30 et pK_{a2} = 12,3. Ces 1,3-diazoles sont donc généralement solubles dans les acides dilués, donc suffisamment NH-acide pour être solubles dans les alcalis aqueux et former des composés *N*-métalés.^{1,2}

1.2. Activité biologique des dérivés de l'imidazole

1.2.1 Occurrence naturelle de 1,3 diazoles

Les noyaux imidazole et benzimidazole sont présent dans bon nombre de biomolécules telles que les bases purine de l'ADN, l'histidine, la vitamine B12, et autres protéines et hormones associées (Fig. 1.3).³⁻⁶

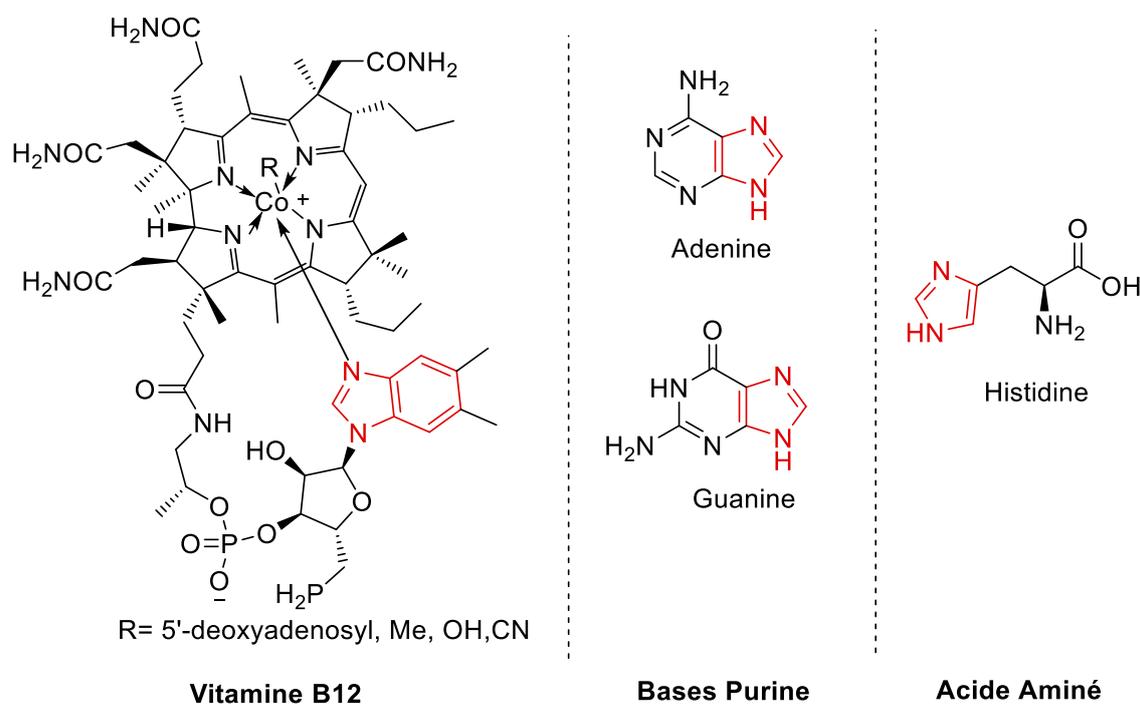


Figure 1.3 Quelques biomolécules à base d'imidazole ou benzimidazole

Dans l'histidine, le noyau imidazole joue un rôle vital dans les réactions qui se produisent au niveau des sites actifs de certaines enzymes. Le composé résultant de la décarboxylation enzymatique de l'histidine (*histidine décarboxylase*) est l'histamine (Fig. 1.4), et une libération exagérée d'histamine, est responsable de la réaction allergique.¹⁵

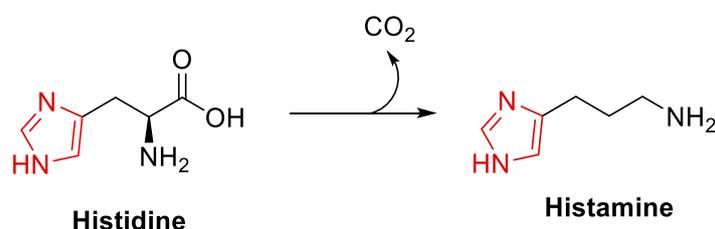


Figure 1.4 Formation de l'histamine par décarboxylation enzymatique de l'histidine.

On retrouve également ces motifs hétérocycliques dans certains produits naturels de structures et d'origines différentes, dont principalement des alcaloïdes isolés à partir

d'organismes marins comme la granulitimide et la didemnimide A, extraites de l'ascidie brésilienne *Didemnum granulatum*.⁷ Des investigations chimiques de l'éponge *Drarmacidon* sp. de la mer d'Andaman (Thaïlande) ont révélé deux nouveaux alcaloïdes contenant un noyau imidazole, qui ont été appelés drarmacidonamines A (1) et B (2) (Fig. 1.5).⁸

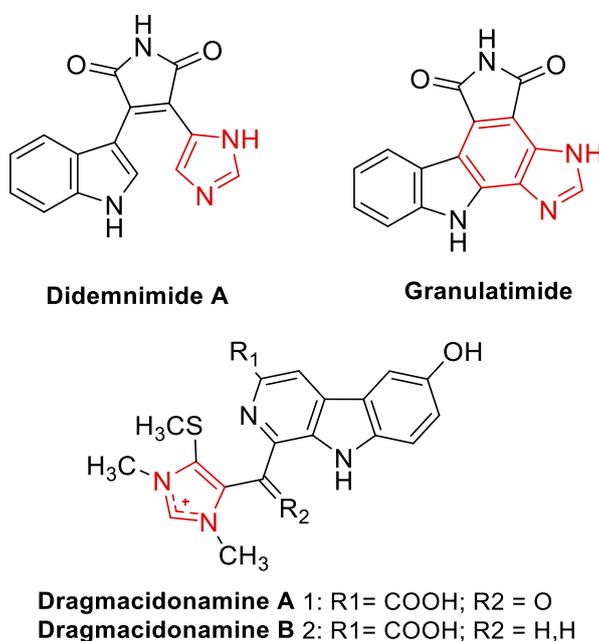


Figure 1.5 Quelques produits naturels contenant un noyau imidazole ou benzimidazole

Deux nouveaux méroterpénoïdes azotés (métabolite secondaire contenant un fragment non-terpénoïde), les cinérols A et B présentant un fragment 5*H*-pyrrolo [1,2*a*] benzimidazole (Fig. 1.6), ont été isolés de l'éponge marine *Dysidea cinerea* (mer de Chine méridionale), et leurs structures ont été déterminées par analyses spectroscopiques.⁹

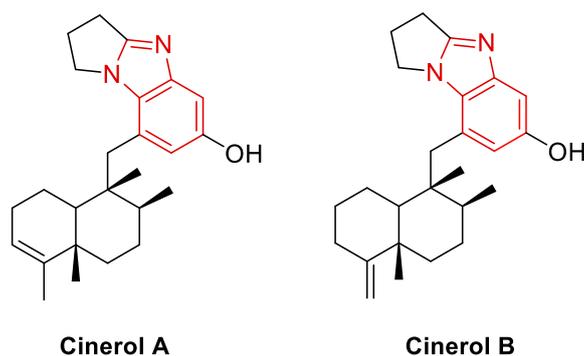


Figure 1.6 Quelques produits naturels contenant un noyau benzimidazole

Récemment, trois nouveaux alcaloïdes d'imidazole dimère reliés entre eux par un pont méthylène, les camellimidazole A-C (Fig. 1.7), ont été isolés du thé noir de Keemum (Chine). Leurs structures ont été complètement élucidées par diffraction des rayons X.¹⁰

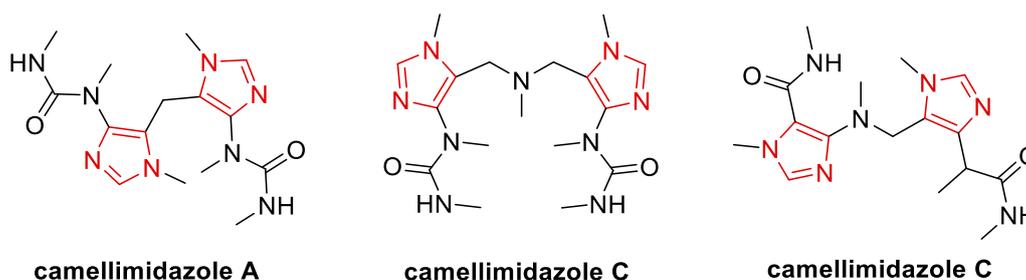


Figure 1.7 Quelques produits naturels contenant un noyau imidazole

1.2.2. Intérêts biologiques de l'imidazole et benzimidazole

Les produits naturels contenant un motif imidazole et/ou benzimidazole ont été étudiés pour leur variété d'effets pharmacologiques, et ont montré leur utilité en tant qu'agents anticancéreux,¹¹ anti-plasmodiaux,¹² antiviraux,¹³ antimicrobiens,¹⁴... Cependant la présence en petite quantité de ces composés dans la nature rend difficile leur isolement (non rentable du point de vue économique) pour une utilisation pharmaceutique à grande échelle.

Dans ce contexte, plusieurs équipes de recherche se sont intéressées à la synthèse totale de ces produits naturels pour fournir suffisamment de matière nécessaire à l'évaluation pharmacologique complète ainsi qu'à la préparation d'analogues structuraux qui peuvent jouer un rôle crucial dans le développement de nouveaux agents thérapeutiques.

Une autre stratégie de recherche a été adoptée pour préparer des composés à système (benz)imidazolique d'intérêt biologique. Elle consiste à introduire un fragment imidazole ou benzimidazole dans des systèmes non hétérocycliques comme groupement isostère pour obtenir des nouvelles molécules hybrides à activité améliorée et/ou à effets secondaires amoindris.

L'imidazole se retrouve souvent dans la structure de divers composés utilisés dans le domaine thérapeutique (Fig. 1.8), tels que le **métronidazole** (Nizoral®) un antibiotique couramment utilisé depuis plusieurs décennies pour traiter les infections gastro-intestinales ainsi que la trichomonase, la giardiase, et l'amœbose qui sont des infections parasitaires,¹⁵ et le **dacarbazine** un agent antinéoplasique qui possède une activité importante contre les mélanomes (cancer de peau).¹⁶ L'**acide zolédronique** décrit pour la première fois dans la littérature en 1994,¹⁷ a été utilisé pour traiter et prévenir de multiples formes d'ostéoporose, l'hypercalcémie maligne, le myélome multiple, les métastases osseuses de tumeurs solides et la maladie osseuse de Paget. Le **losartan** a prouvé son efficacité dans le traitement l'hypertension artérielle et il est également utilisé pour réduire le risque d'AVC chez certains patients. Enfin, la **cimétidine E** est un antihistaminique de type 2 congénère de l'histamine, elle inhibe de manière compétitive la liaison de l'histamine aux récepteurs H₂, et elle est

principalement utilisée dans le traitement des brûlures d'estomac et des ulcères gastro-duodénaux.^{18,19}

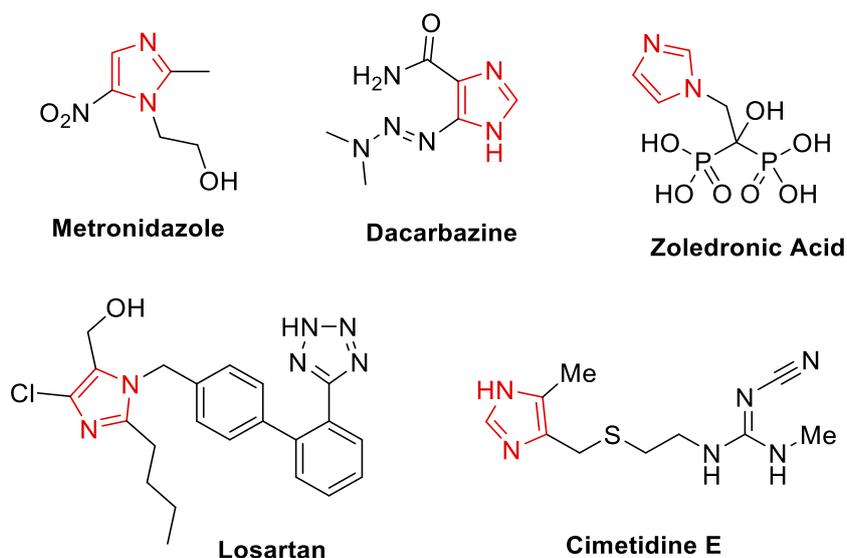


Figure 1.8 Structures de quelques médicaments à base d'imidazole

Le noyau benzimidazole apparaît également dans la structure de divers médicaments (Fig. 1.9), tels que l'**oméprazole**, un inhibiteur de la pompe à protons, utilisé pour traiter les troubles liés à l'acide gastrique,²⁰ le **bendamustine** est utilisé en chimiothérapie dans le traitement de la leucémie lymphoïde chronique.²¹ Le **telmisartan** est utilisé pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque et la néphropathie diabétique tandis que l'**albendazole** a prouvé son efficacité dans le traitement d'une variété d'infections parasitaires.

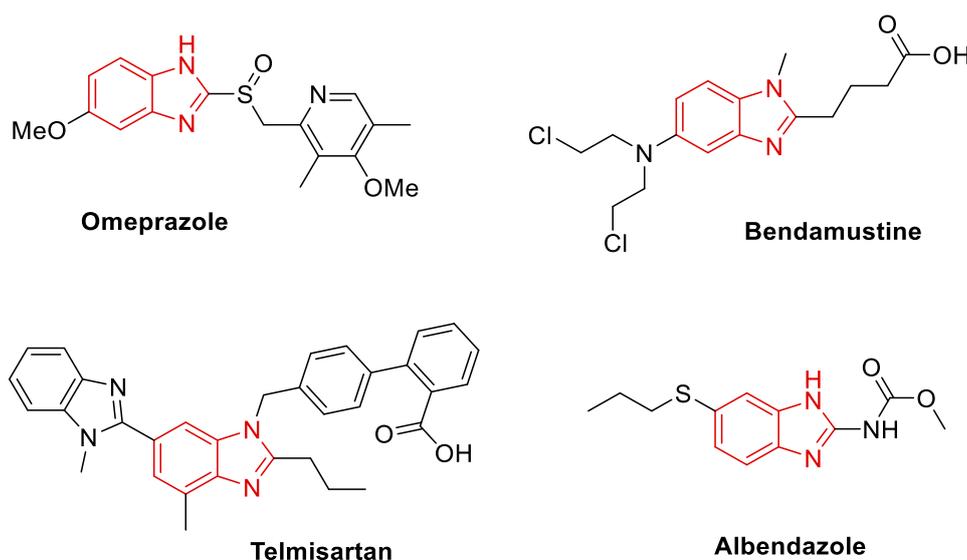


Figure 1.9 Structures de quelques médicaments à base de benzimidazole

Récemment, notre équipe de recherche "SMOTH", qui active au sein du laboratoire PHYSYNOR, a conçu et identifié quelques analogues nouveaux de la Tacrine (utilisée dans le

traitement de la maladie d'Alzheimer) contenant dans leur structure un motif (benz)imidazole. Certains de ces composés se sont révélés des inhibiteurs efficaces de la *cholinestérase* à des concentrations de l'ordre du micro-molaire avec une hépatotoxicité moindre que celle de la Tacrine (Fig. 1.10).²²

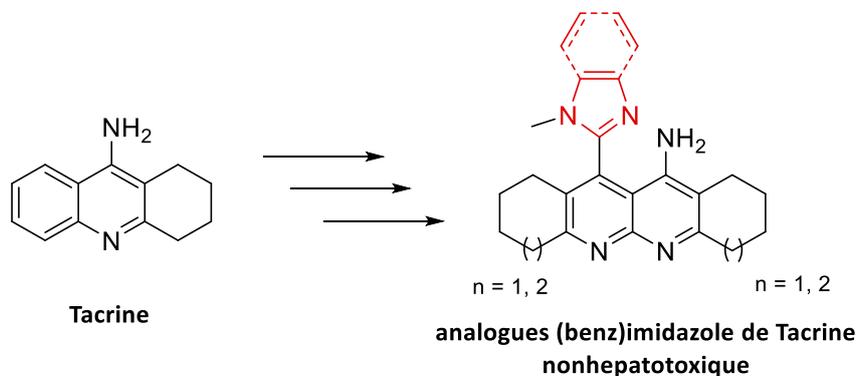


Figure 1.10 Conception d'analogues de la Tacrine non-hépatotoxiques

De même quelques dérivés de 4*H*-pyran, 1,4-dihydropyridine, quinazoline et de 2-aminochromène porteurs d'un noyau (benz)imidazole (Fig. 1.11), ont été préparés dans notre laboratoire, et évalués pour leur hépatotoxicité *in vitro* sur les cellules hépatiques HepG2 et leur potentiel antioxydant en utilisant le test d'inhibition du radical DPPH.²³

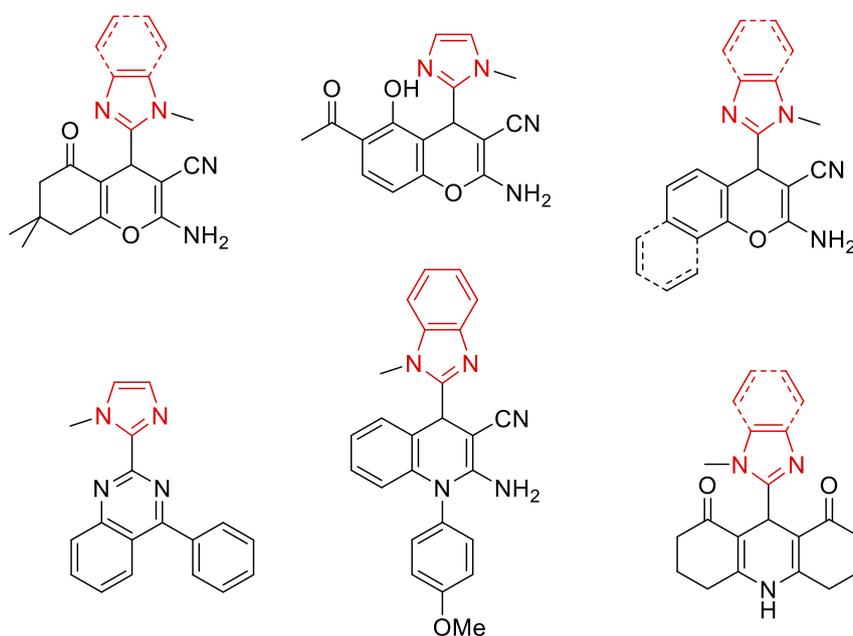


Figure 1.11 Quelques dérivés de (benz)imidazoles biologiquement actifs

2. Les Chalcones

2.1. Généralités

La chalcone est un produit d'origine naturelle de structure chimique simple, largement répandu dans les légumes, les fruits, les thés et d'autres plantes.^{24,25} Le mot « chalcone » vient du grec « *chalcos* » qui signifie « bronze » et qui résulte des couleurs de la plupart des chalcones naturelles.²⁶ Les dérivés de chalcone ont une structure chimique commune au 1,3-diaryl-2-propèn-1-one, qui existe sous forme d'isomères *trans-s-cis*, *trans-s-trans* et *cis-s-cis*, l'isomère *trans-s-cis* étant thermodynamiquement plus stable (Fig. 1.12).²⁷

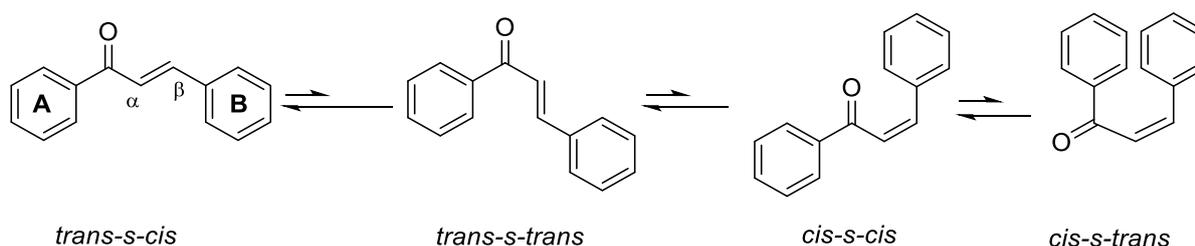


Figure 1.12 Structure de chalcone et stabilité relative

La famille des chalcones a suscité beaucoup d'intérêt, non seulement du point de vue synthèse et biosynthèse, mais surtout en raison de ses activités biologiques intéressantes. Les applications thérapeutiques des chalcones remontent à plusieurs décennies et ont été utilisées notamment sous forme de concoction de plantes et d'herbes, pour le traitement de différentes maladies tels que le cancer, l'inflammation et le diabète.^{24-26,28} Plusieurs composés à base de chalcone ont trouvés une utilisation clinique. Par exemple, la **métochalcone** était autrefois commercialisée en tant que médicament cholérétique, tandis que la **sofalcone** était utilisée en tant que antiulcéreux et muco-protecteur (Fig. 1.13).^{26,28}

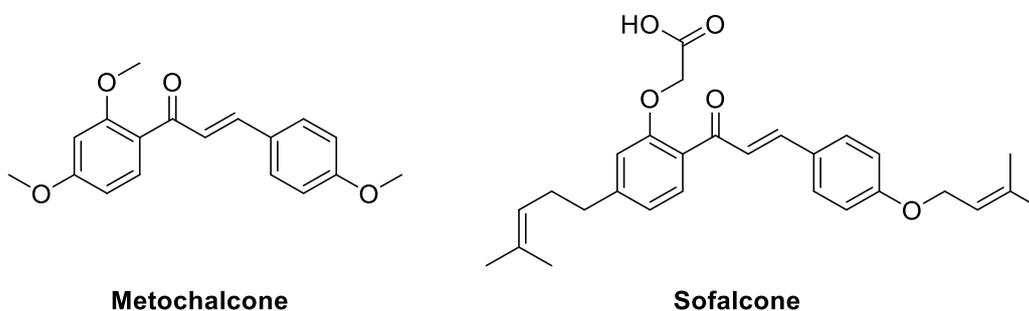


Figure 1.13 Structures de deux médicaments à base de chalcone.

2.2. Propriétés fluorescentes des chalcones

En raison de leur système conjugué, les chalcones substituées par des groupes fonctionnels électroattracteurs et/ou électrodonneurs sur les noyaux benzéniques possèdent des propriétés fluorescentes (Fig. 1.14),²⁹⁻³¹ ce qui en fait des sondes chimiques potentielles pour les investigations mécanistiques et l'imagerie médicale/diagnostic.

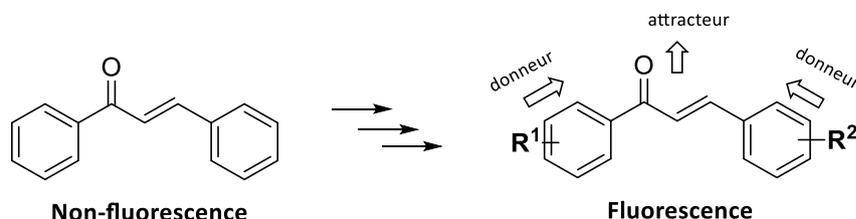


Figure 1.14 Structures attracteur-donneur d'électrons pour les chalcones fluorescentes.

Les molécules possédant dans leur structure un groupement diméthylamine, sont largement utilisées comme sondes fluorescentes, dont des chalcone à propriétés fluorescentes.

La 4-diméthylaminochalcone (Fig. 1.15) a été rapportée pour la première fois par *Jiang et al.* comme sonde fluorescente pour détecter la formation de micelles.^{32,33} Récemment, ces auteurs ont établi une petite bibliothèque de chalcones fluorescentes afin de caractériser systématiquement les effets structurels sur leur fluorescence intrinsèque et d'évaluer l'influence de plusieurs facteurs environnementaux biologiquement pertinents.³⁴

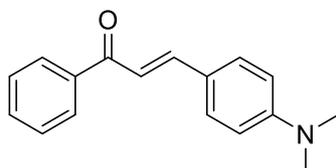


Figure 1.15 4-diméthylaminochalcone

2.3. Quelques méthodes de synthèse des chalcones

Les chalcones sont généralement préparées par une réaction de condensation catalysée par une base ou un acide. En raison de leurs activités biologiques intéressantes, un nombre croissant de nouvelles techniques et autres procédures dont l'utilisation et développement de catalyseurs divers et/ou de conditions réactionnelles adaptées, ont été récemment rapportées, bien que les chalcones sont des 1,3-diarylcétone α,β -insaturées facilement accessibles.

La réaction de *Claisen-Schmidt*,³⁵⁻³⁷ est la plus communément utilisée dans la synthèse des chalcones et peut être décrite comme un processus au cours duquel des dérivés de benzaldéhyde et d'arylméthylcétone se condensent en présence de catalyseurs basiques ou acides (schéma 1.1).

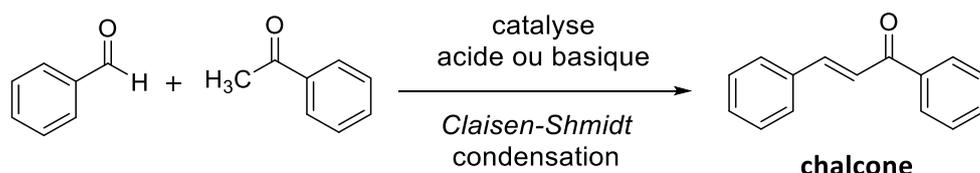


Schéma 1.1 Les chalcones et la réaction de *Claisen-Schmidt*

Dans le cas de la catalyse basique, la chalcone est générée par une réaction d'aldolisation *via* un ion énolate, suivie par une déshydratation (schéma 1.2).³⁸

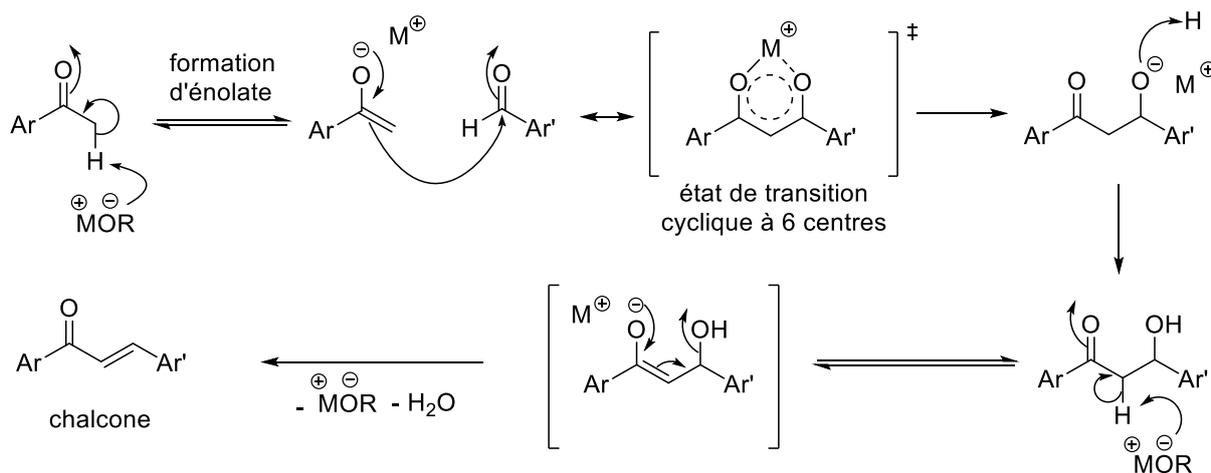


Schéma 1.2 Mécanisme de la formation des chalcones par catalyse basique

2.4. Intérêts biologiques des chalcones

Les chalcones présentent un large spectre d'activités biologiques, probablement en raison de leurs petites structures et de leur caractère d'accepteur de *Michaël*, ce qui leur confère une certaine adéquation (acceptation) avec différentes molécules biologiques et ainsi se lier facilement avec elles. Les diverses activités biologiques des chalcones regroupent l'activité anticancéreuse, anti-inflammatoire, antibactérienne, antituberculeuse, antidiabétique, antioxydante, antimicrobienne, antivirale, antipaludique, les effets neuroprotecteurs, ...^{24-26,28,39-45}. Un seul composé de chalcone peut présenter plusieurs types de bioactivité. L'**isoliquiritigénine** par exemple (Fig. 1.16), possède une activité anticancéreuse, antioxydante et anti-inflammatoire.⁴⁶⁻⁴⁸

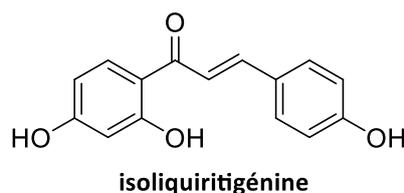


Figure 1.16 Structure de l'isoliquiritigénine

2.5. Les chalcones hybrides

L'hybridation est une stratégie utilisée pour la conception de nouvelles entités chimiques par la fusion de deux chimio-types différents. Cette stratégie peut constituer une alternative en chimiothérapie combinée, dans laquelle deux médicaments ou plus ayant différents mécanismes d'action sont combinés pour le traitement thérapeutique.^{49,50} Cependant, la chimiothérapie d'association simple présente un risque élevé d'interactions médicamenteuses.^{51,52} Les chalcones sont reconnues comme un outil privilégié pour l'incorporation de molécules ou de pharmacophores à activités diverses. La synthèse de ces hybrides utilise typiquement les méthodes de synthèse classiques discutées précédemment pour construire le motif chalcone. Outre les activités biologiques associées aux mécanismes de ciblage multiple, les molécules hybrides sont également sélectionnées pour d'autres raisons, telles que l'amélioration de la solubilité, la stabilité et la biodisponibilité. Deux approches ont été développées, la construction d'hétéroaryles et autres polycycles hybrides analogues structuraux des chalcones ou l'introduction de fragment directement sur les chalcones.

2.5.1. Chalcones hybrides : fragments connectés au motif chalcone

L'utilisation de lieurs est une méthode courante pour connecter des chalcones à d'autres composés bioactifs (Fig. 1.17). L'utilisation d'une connexion directe telle qu'une liaison amide, éther, ester ou l'utilisation d'un triazole sont les stratégies les plus pratiquées.⁵³⁻⁵⁶ On notera que le système α,β -insaturé est conservé. Ces hybrides conservent et/ou améliorent généralement les propriétés biologiques des chalcones parentes.

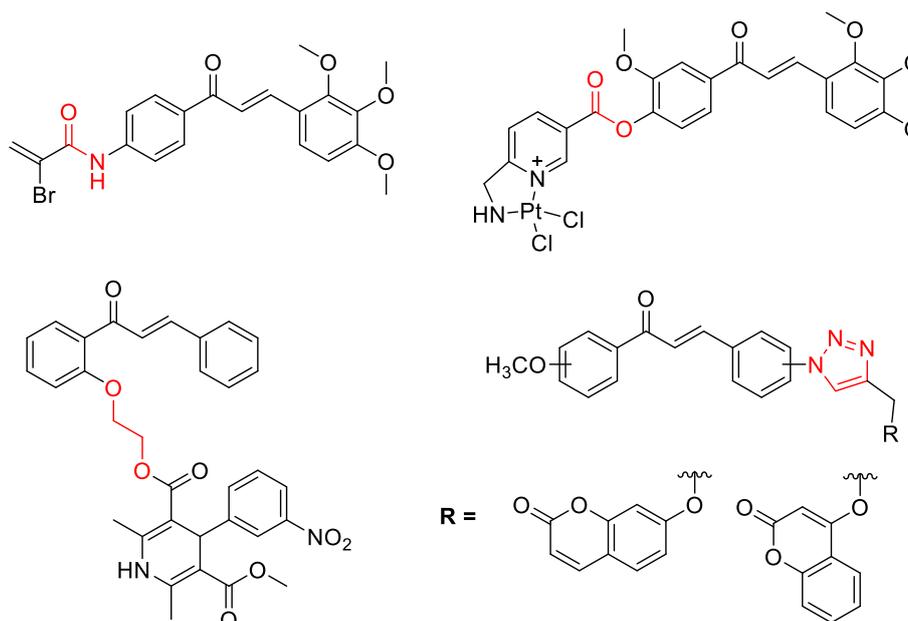


Figure 1.17 Quelques chalcones hybrides avec divers lieurs

2.5.2. Chalcones hybrides : utilisation d'isostères de groupement aryle

Des chalcones hybrides de structures diverses par l'utilisation d'isostères de groupement phényle ou aryles. Ces composés sont facilement obtenus par la réaction de *Claisen-Schmidt* utilisant des aldéhydes aromatiques et/ou des arylméthylcétone modifiés, au lieu des dérivés classiques (benzaldéhyde et acétophénone). Sur la base de cette stratégie, plusieurs chalcones hybrides (Fig. 1.18) ont été développées et ont montré diverses activités biologiques, tel que des chalcones boroniques, des chalcones-coumarines, des chalcones-indoliques, des chalcones-quinoxalines et autres...⁵⁷⁻⁶³

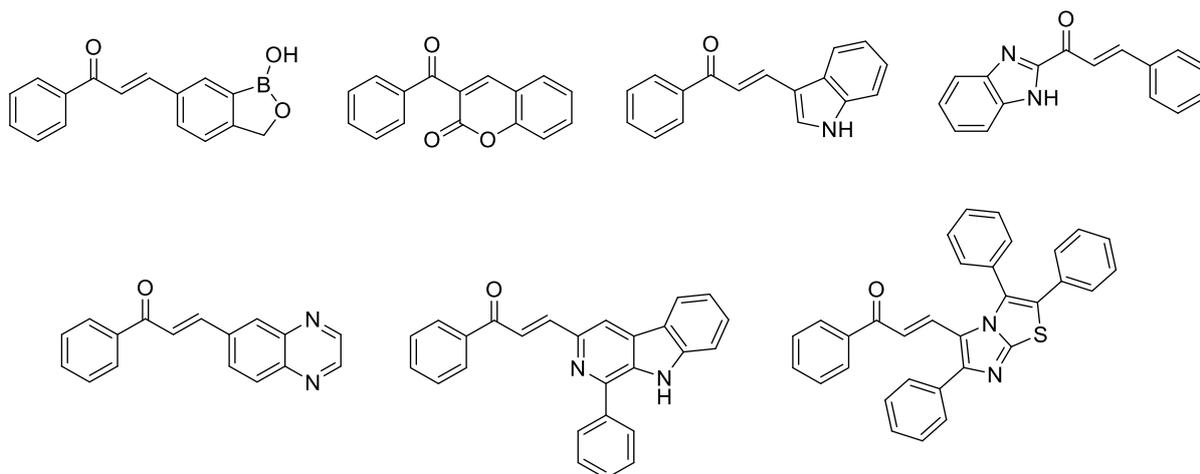


Figure 1.18 Quelques chalcones hybrides

Parmi les produits naturels contenant un motif imidazole, l'**eleuthérobine**⁶⁴ et les **sarcodictyines**⁶⁵ ont montré leur efficacité en tant qu'agents stabilisants puissants des microtubules (Fig. 1.19). Ces produits naturels initialement isolés du corail, ont suscité un intérêt particulier car ils présentent une activité antitumorale avec un mécanisme d'action similaire au **paclitaxel** (Taxol®).⁶⁶ Dès lors, quelques dérivés apparentés ont été synthétisés et évalués.⁶⁶⁻⁶⁹

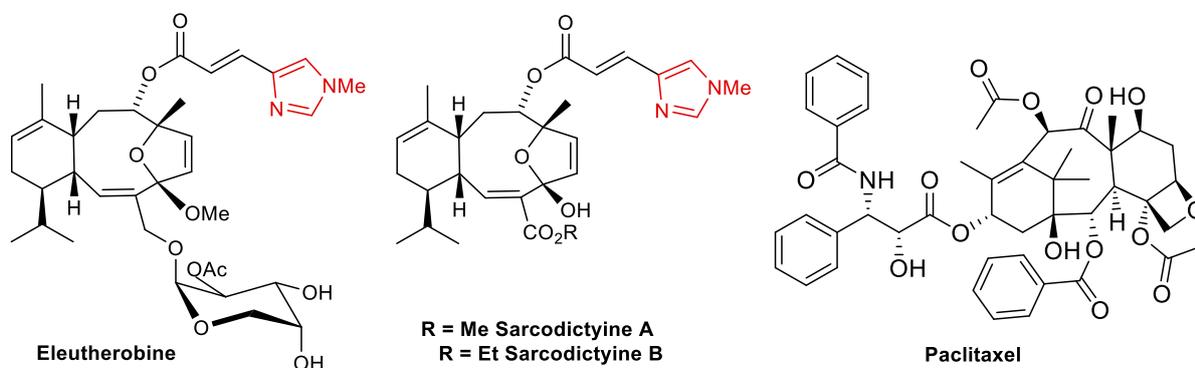


Figure 1.19 Quelques chalcones hybrides comme agents anticancéreux

Ciupa, A. et al. ont montré que des chalcones hybrides analogue simples de l'**leuthérobine** et les **sarcodictyines**, représentés dans la figure ci-dessous, possèdent une activité inhibitrice puissante et sélective envers la prolifération de la lignée des cellules cancéreuses du colon chez l'humain HT29 (IC₅₀ 2.9 mM) et du carcinome mammaire métastasique humain MDA-MB-231 (IC₅₀ 4.8 mM).⁷⁰

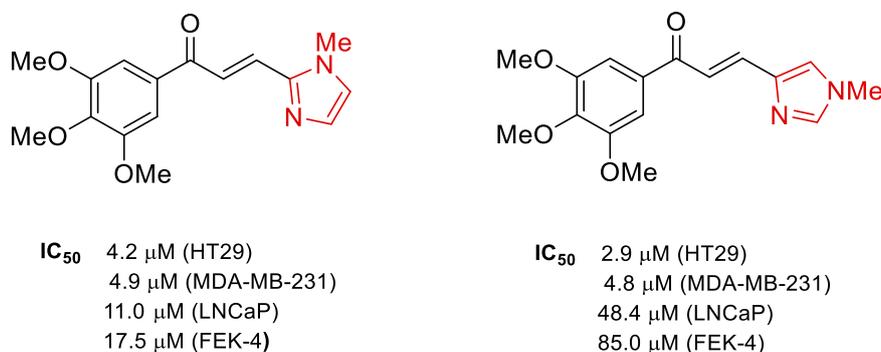


Figure 1.20 Quelques dérivés de chalcones hybrides à activité anti-cancéreuse.

Les combretastatines sont un groupe de stilbènes phénoliques dérivés du saule sud-africain (*Combretum Caffrum*) présentant d'excellentes propriétés de déstabilisation des microtubules avec une cytotoxicité inférieure à celle de la colchicine et de la maytansine. La combretastatine A-4 (CA-4) est la plus intéressante, qui en se liant de manière réversible au site de la colchicine sur la tubuline β empêche son association avec la tubuline α. L'effet déstabilisant sur la dynamique des microtubules se traduit par une puissante activité antiproliférative sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses, y compris des lignées cellulaires multirésistantes⁷¹. Ces résultats ont induits des recherches approfondies sur la relation structure-activité (SAR) de la CA-4 pour développer des structures analogues avec des propriétés biologiques améliorées. Kong Yali, et al., ont conçu des chalcones boroniques analogues de la CA-4 et testé leur potentiel antiprolifératif, la chalcone boronique représentée ci-dessous a été identifiée comme un puissant inhibiteur de la polymérisation de tubulines, avec une activité antiproliférative du carcinome mammaire humain MCF-7 élevée. Un autre dérivé hybride chalcone-quinoléine analogue, le 3-(2-chloro-7-méthoxyquinoléin-3-yl)-1-(4-méthoxyphényl)-propèn-2-one, synthétisé dans notre laboratoire, a montré une activité anticancéreuse (cytotoxicité) envers les cellules humaines K562 (ID < 7.5 μg/mL).⁷²

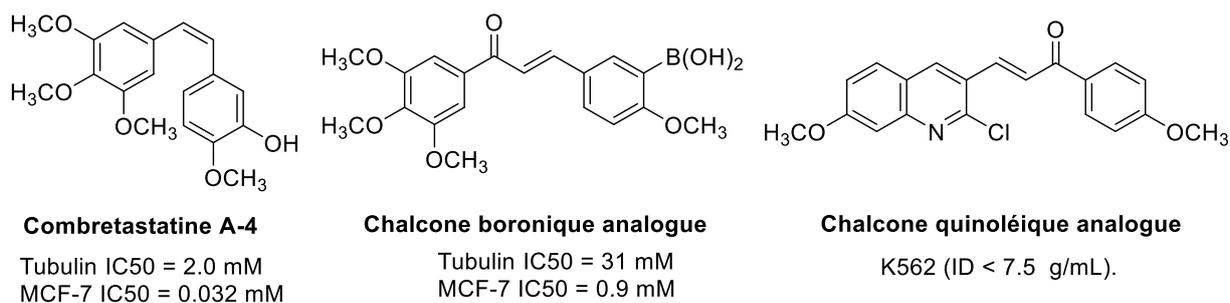


Figure 1.21 Structures de quelques chalcones hybrides analogue de combretastatine à activité anticancéreuse

3. Généralités sur le cancer

Le cancer est l'une des maladies grave des plus redoutées dans le monde moderne, c'est l'une des principales causes de décès de par le monde.⁷³ Selon les estimations de l'organisation mondiale de la santé (OMS) en 2019,⁷⁴ le cancer reste une des causes principales de mortalité dans le monde (la première ou la deuxième avant l'âge de 70 ans dans 112 pays sur 183, et troisième ou quatrième dans 23 autres pays). Dans le monde, environ 19,3 millions de nouveaux cas de cancer et près de 10,0 millions de décès par cancer sont survenus en 2020.⁷⁵

Le cancer est caractérisé par une prolifération cellulaire incontrôlée (plus de 100 types de cancer différents ont été recensés), impliquant la plupart, sinon la totalité, des capacités distinctives du cancer comme proposé par *Hannah* et *Weinberg* (Fig. 1.22)^{76,77}.

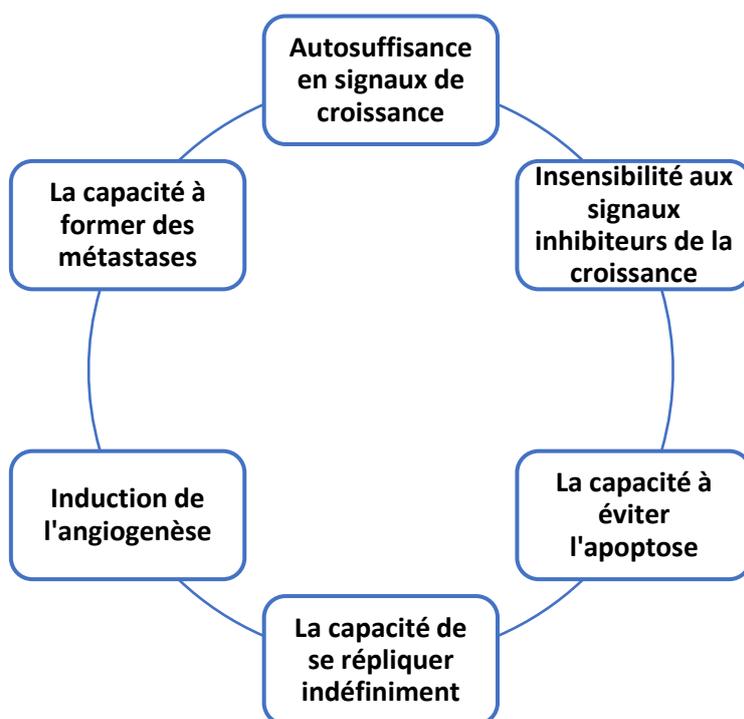


Figure 1.22 Capacités distinctives des cancers

3.1. Traitement du cancer

La seule façon de traiter le cancer est de contrôler ou éventuellement de mettre fin à la croissance incontrôlée des cellules cancéreuses. Il existe trois approches traditionnelles pour traiter le cancer : la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie, dont la chimiothérapie est la plus couramment utilisée à la fois dans le traitement initial du cancer et dans la prévention de sa réapparition.⁷⁸ La majorité des médicaments anticancéreux cytotoxiques actuellement utilisés en thérapeutique (agents alkylants, antimétabolites et agents de liaison aux microtubules) semblent induire la mort des cellules en activant des éléments clés de l'apoptose⁷⁹⁻⁸⁵. Une nouvelle classe de thérapies ciblées pourrait bientôt voir le jour sur la base de stratégies issues d'une compréhension plus approfondie des mécanismes moléculaires qui sous-tendent le phénomène de l'apoptose.

3.2. Ciblage de l'apoptose dans le traitement du cancer

L'apoptose est le mécanisme naturel de la mort de la cellule programmée⁸⁶. Il sert à éliminer toutes les cellules indésirables et c'est un processus hautement réglementé. Il existe une grande variété de conditions qui entraînent l'activation de la voie apoptotique, y compris des dommages à l'ADN ou une prolifération incontrôlée.⁸⁷ Il existe deux voies différentes qui mènent à l'apoptose : les voies intrinsèques et extrinsèques. On les appelle également les voies mitochondriales et les voies des récepteurs de la mort, respectivement.

L'apoptose est réalisée par les caspases (cystéine aspartyl protéases spécifiques) qui sont une classe de protéines essentielle à une apoptose réussie, car elles clivent des centaines de protéines diverses⁸⁷. Il existe quatre caspases initiatrices (caspase-2, -8, -9, -10) et trois caspases exécutrices (caspase-3, -6, -7).⁸⁸ Les caspases exécutrices clivent les protéines cibles qui conduisent finalement à la mort de la cellule.⁸⁹

Les cellules cancéreuses échappent à l'apoptose de nombreuses manières : la fonction des caspases peut être inhibée ou le déclencheur de l'apoptose peut être désactivé, aussi la surexpression et la mutation des protéines anti-apoptotiques BCL-2 augmentant l'apparition de la tumeur⁸⁷. Il en résulte des cellules tumorales résistantes à tout stimuli apoptotique intrinsèque ce qui concerne également certains médicaments anticancéreux.⁹⁰

L'évasion de l'apoptose est une caractéristique distinctive du cancer et n'est pas spécifique à la cause ou au type de cancer, donc le ciblage de l'apoptose, et l'utilisation du mécanisme de mort propre à la cellule constitue un traitement efficace pour tous les types de cancer, induisant ainsi le développement de nouveaux médicaments susceptibles d'activer le processus de mort cellulaire, ce qui constitue un des objectifs recherchés dans ce travail.

4. Objectifs ciblés

Sur la base des travaux antérieurs réalisés dans notre laboratoire ainsi que les travaux cités ci-dessus, nous nous sommes fixés comme objectif principal dans la première partie de cette thèse : la conception, la préparation et l'identification structurale de nouveaux dérivés hybrides de chalcones diversement substituées qui possèdent dans leur structure un motif (benz)imidazole (schéma 1.3).

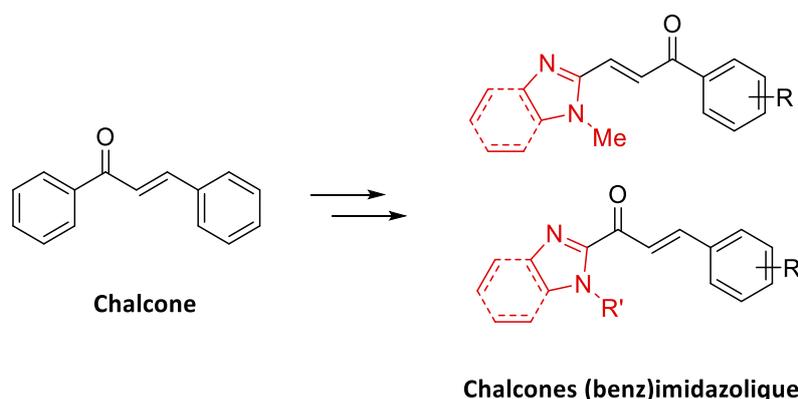


Schéma 1.3 Conception de chalcones hybrides « (benz)imidazoliques »

Quelques composés sélectionnés seront soumis par la suite à l'évaluation de leur activité antiproliférative contre quelques lignées cellulaires cancéreuses et autres non cancéreuses. Une étude de sélectivité, et de détermination du mécanisme d'activation de l'apoptose sera étudiée pour les composés les plus actifs. De même une évaluation préliminaire de l'activité antibactérienne et antioxydante sera également réalisée.

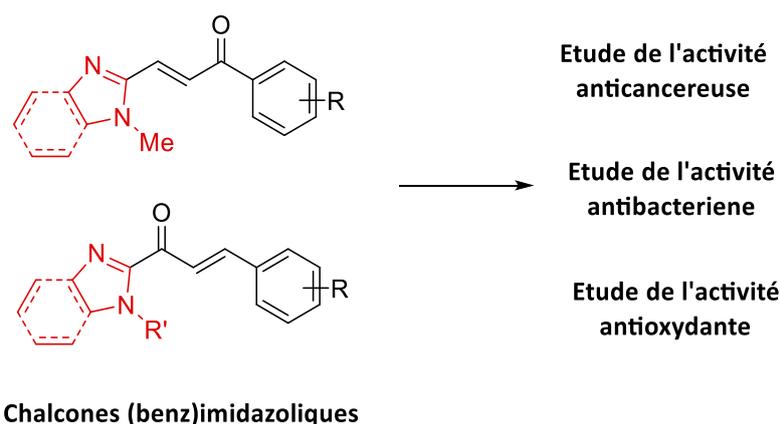


Schéma 1.4 Etude de l'activité biologique de quelques chalcones hybrides (benz)imidazoliques

5. Travaux réalisés et discussion des résultats

5.1. Préparation des intermédiaires clé

5.1.1. Préparation du 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-carbaldéhyde (-2-acétyl) I (II)

Dans le but de préparer le motif 1-méthyl-1*H*-imidazole fonctionnalisé porteur en position 2 d'un aldéhyde ou une méthylcétone, nous avons opté pour la méthode décrite par *LaRonde*, et *coll.*⁹¹ avec introduction de quelques modifications des conditions opératoires (voir partie expérimentale). La méthode originelle consiste à faire réagir, à -78°C et en un seul pot, le 1-méthylimidazole, le DMF (ou le DMA) et le *n*-BuLi. Nous avons appliqué cette réaction « one-pot » à -55°C, utilisant un refroidisseur à immersion. Les rendements en produit pur obtenus sont de 75% pour le 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-carbaldéhyde (**I**) et 73% pour le 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-acétyl (**II**). L'analyse des spectres RMN ¹H confirme la structure des composé **I** et **II**, et sont en bon accord avec la littérature^{91,92}.

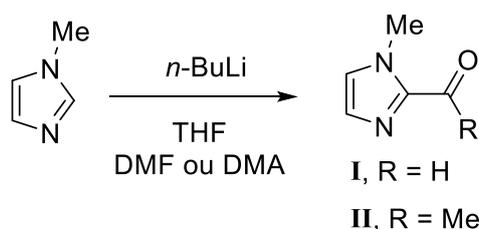


Schéma 1.5 Synthèse des intermédiaires-clé

La première étape est une réaction de lithiation (formation d'un organolithien par action du *n*-BuLi sur le 1-méthylimidazole). L'organolithien subit ensuite l'addition de l'amide (DMF ou DMA), formant un hémiaminal qui est ensuite facilement hydrolysé en aldéhyde (ou cétone). Le mécanisme de la réaction est illustré dans le schéma ci-dessous :

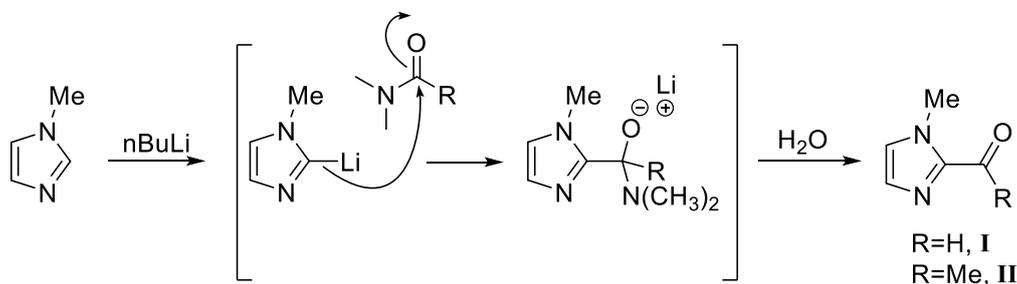


Schéma 1.6 Mécanisme de la formation des intermédiaires-clé

5.1.2. Préparation du 1-méthyl-1*H*-benzo[*d*]imidazole-2-carbaldéhyde (V)

Le 1-méthyl-1*H*-benzo[*d*]imidazole-2-carbaldéhyde (V) a été obtenu en trois étapes distinctes (voir partie expérimentale). En premier lieu, nous avons procédé à la synthèse du 1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl) méthanol (III), en utilisant la méthode rapportée par *Benhassine* et *al.*⁹³ en introduisant quelques modifications. L'action de l'acide glycolique sur l'*o*-phénylènediamine dans une solution d'acide chlorhydrique (4N), suivie de l'alcalinisation avec l'ammoniaque (10%) jusqu'à pH 9, donne le produit recherché avec un rendement de 88%.

La deuxième étape concerne la *N*-méthylation du composé (III) par action du diméthyle sulfate dans un mélange eau/éthanol en présence de KOH, selon une procédure élaboré précédemment dans notre laboratoire.⁹⁴ Après traitement, le 1-(1-méthyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)méthanol (IV) est récupéré, sous forme d'un solide blanc avec un rendement 72%.

Le 1-méthyl-1*H*-benzo[*d*]imidazole-2-carbaldéhyde (V) est obtenu suite à une réaction d'oxydation du (1-méthyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)méthanol (IV) à l'aide de dioxyde de sélénium (SeO₂, 1.1 éq) dans le toluène (T = 80-90 °C). Après traitement, on récupère le composé (V) avec un rendement de 79%. Tous les produits ont été identifiés par les méthodes spectroscopiques usuelles et sont conformes aux structures proposées. L'ensemble des trois étapes est représenté dans le schéma synthétique suivant :

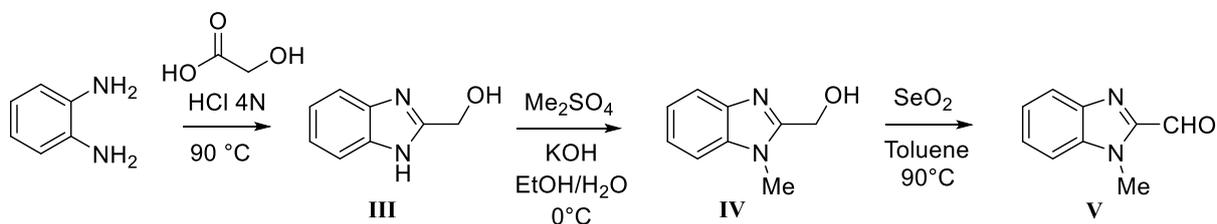


Schéma 1.7 Schéma synthétique général du composé V

5.1.3. Préparation du 1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)éthan-1-one (VII)

Le 1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)éthan-1-one (VII) a été préparé selon la procédure décrite par *Mathew*, et *al.*⁹⁵ La réaction se déroule en deux étapes : synthèse du 1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl) éthanol (VI), suivie d'une réaction d'oxydation.

Le composé (VI) est obtenu par action de l'acide lactique sur l'*o*-phénylènediamine, dans un processus sans solvant. Après traitement du mélange réactionnel, on obtient le composé (VI) avec un rendement de 40%. L'utilisation du K₂Cr₂O₇ comme agent oxydant en milieu acide (H₂SO₄) conduit au 1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)éthan-1-one (VII) avec un rendement de 80%. Tous les produits ont été identifiés par les méthodes spectroscopiques usuelles et sont conformes aux structures proposées.

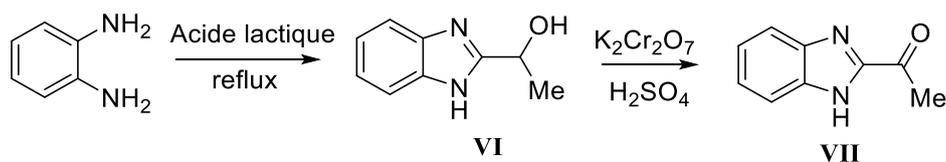


Schéma 1.8 Synthèse du composé VII

5.2. Synthèse des chalcones

Les chalcones « (benz)imidazoliques » sont obtenues par la réaction de condensation classique de *Claisen-Schmidt*.

Les chalcones **1-10** (série 1) sont préparées en faisant réagir le 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-carbaldéhyde (**I**) [ou le 1-méthyl-1*H*-benzo[*d*]imidazole-2-carbaldéhyde (**V**)], avec des dérivés de l'acétophénone, en présence de NaOH dans l'éthanol, à température ambiante avec de bons rendements (43-91 %) (schéma 1.9).

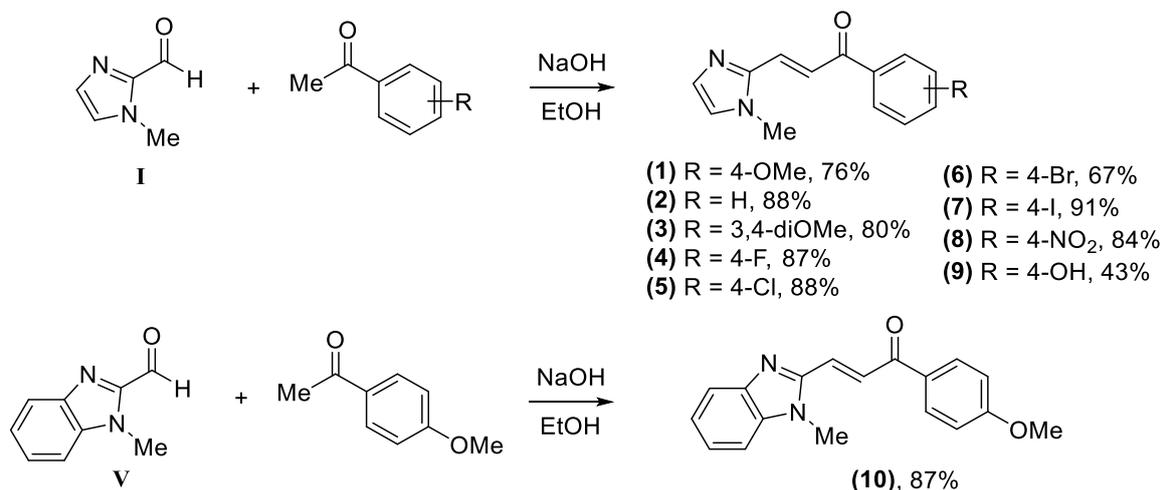


Schéma 1.9 Synthèse des 1-aryl-3-(benz)imidazol-cétones α,β-insaturées (série 1).

Dans les mêmes conditions la réaction du 2-acétyl-1-méthyl-1*H*-imidazole (**II**) [ou le 1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)éthan-1-one (**VII**)] avec des dérivés du benzaldéhyde conduit aux chalcones **11 – 20** (série 2). Les rendements varient de 50 à 90 % (schéma 1.10).

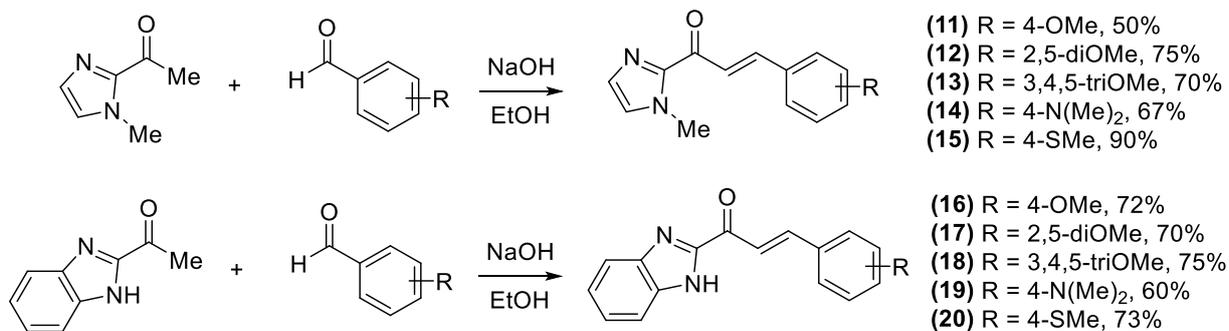


Schéma 1.10 Synthèse des 3-aryl-1-(benz)imidazol cétones α,β-insaturées (série 2).

Dans les mêmes conditions, l'analogue structural de chalcone bis-imidazolique (**21**) est obtenu avec un rendement de 55%, à partir du 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-carbaldéhyde (**I**) et du 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-acétyl (**II**).

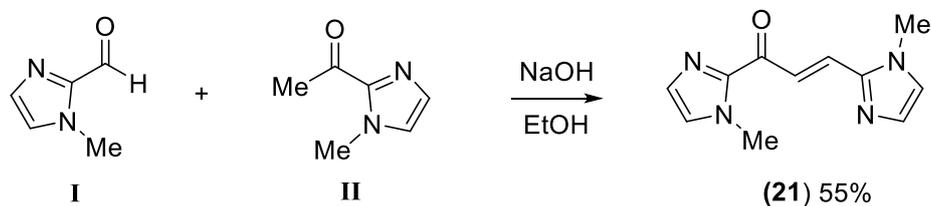


Schéma 1.11 Synthèse du 1,3-bis(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one

Tous les produits synthétisés ont été identifiés par les méthodes spectroscopiques usuelles et sont conformes aux structures proposées.

L'analyse des spectres RMN ¹H des composés de la **série 1** (voir spectres dans l'annexe) montre en particulier l'apparition de deux signaux sous forme de doublet dans l'intervalle [8,41 – 7,67] ppm attribuées aux protons éthyléniques H_β et H_α, reliés entre eux avec une constante de couplage de l'ordre de 15 Hz, ce qui confirme aussi la configuration *trans* du système α,β insaturé. D'autre part dans les spectres RMN ¹H de la **série 2** les deux protons éthyléniques apparaissent dans un intervalle similaire entre 8,33 et 7,72 ppm avec une constante de couplage de l'ordre de 16 Hz (15,6 - 16,2 Hz). Comparé à la **série 1**, l'augmentation observée de la valeur de constante de couplage est probablement due à l'influence du noyau (benz)imidazole lié directement au carbonyle.

La même observation concernant l'influence de la position relative du noyau (benz)imidazole par rapport à la fonction carbonyle sur le déplacement chimique en RMN ¹³C du carbone du carbonyle a été relevée. Le signal du carbone du CO lié directement au noyau hétérocyclique (**série 2**) apparaît dans l'intervalle 180,3 - 181,5 ppm, alors que dans la **série 1** il apparaît dans la zone 186,5 – 189,5 ppm (plus déblindé).

On notera que la même réaction de condensation reproduite sous irradiation microondes (70 °C et 100 W), n'a entraîné aucune amélioration du rendement, cependant les chalcones sont obtenues dans un temps de réaction très court (2-3 minute au lieu de 24h).

5.3. Evaluation de l'activité anticancéreuse

Parmi les dérivés hybrides chalcone-(benz)imidazole préparés, les composés **1**, **4**, **10**, **13**, **16**, **18** et **20** ont été sélectionnés et soumis à l'évaluation de leur activité antiproliférative contre la lignée cellulaire du cancer gastrique humain AGS et la lignée cellulaire du cancer des cellules de poumon humain A549, dans des plages de concentration allant jusqu'à 100 μM . Ces lignées cellulaires ont été choisies en raison de la forte prévalence du cancer dont elles sont originaires.⁹⁶

Les cellules A549 sont connues pour être une lignée cellulaire résistante à certains médicaments, pour cette raison elles sont fréquemment incluses dans les criblages biologiques. Dans ces cellules, seuls les composés **1** et **10** présentent une toxicité remarquable, avec des IC_{50} de 61,7 et 68,1 μM , respectivement (Tableau 1.1).

Dans le cas des cellules AGS, les composés **1**, **4**, **10**, **13**, **15** et **20** présentent une toxicité suffisante pour permettre le calcul des IC_{50} . Les composés les plus toxiques sont **1**, **4** et **10**, avec des IC_{50} de 20,9 et 29,3 et 15,1 μM , respectivement (Tableau 1.1). Ces résultats sont de même magnitude que pour d'autres dérivés de chalcone (1,3-diarylcétones α,β -insaturées diversement substituées) évalués auparavant pour leur activité cytotoxique envers les cellules cancéreuses.^{97,98}

Globalement, les résultats obtenus avec les cellules AGS montrent un tri clair des groupes chimiques en fonction de leur toxicité : six des neuf composés du type chalcone ont présenté une toxicité. Parmi ceux-ci, les composés les plus toxiques sont ceux portant le cycle (benz)imidazole en position β du groupe carbonyle (**série 1**). Pour les composés dans lesquels le cycle (benz)imidazole est directement lié au groupe carbonyle (**série 2**), la toxicité est plus faible, ce qui permet de mieux comprendre la relation structure-activité de cette classe de composés.

La sélectivité vis-à-vis des cellules cancéreuses est une caractéristique essentielle des médicaments anticancéreux en tant que stratégie visant à réduire l'incidence des effets secondaires et de la toxicité indésirables. Pour cette raison, l'effet des composés vis à vis de la lignée cellulaire humaine non cancéreuse, MRC-5 (poumon), a été évalué. Encore une fois, les composés les plus toxiques sont **1** et **10**. Cependant, comparé à la lignée cellulaire cancéreuse AGS, un indice de sélectivité supérieur à 3 a été calculé pour les composés **1** et **10**, résultats intéressants car ils montrent que les composés étudiés sont significativement plus toxiques pour les cellules cancéreuses que pour les non-cancéreuses. De plus, compte tenu du fait qu'aucune toxicité n'a été trouvée pour les composés **4**, **15**, **13** et **20**, qui étaient toxiques contre les cellules

AGS, une utilisation possible de ces composés comme médicament anticancéreux sélectif pourrait être envisagée, malgré leur plus faible activité.

Tableau 1.1 IC₅₀ (μM) obtenus avec les composés testés contre deux lignées cellulaires humaines cancéreuses (AGS, A549) et non cancéreuses MRC-5 (incubation pendant 24 h).

Molécule	IC ₅₀ (μM)		
	AGS	A549	MRC-5
1	20,9	61,7	67,4
4	29,3	> 100	> 100
10	15,1	68,1	45,9
13	49,6	> 100	> 100
14	> 100	> 100	> 100
15	33,7	> 100	> 100
16	> 100	> 100	> 100
18	> 100	> 100	> 100
20	64,8	> 100	> 100

L'évaluation de l'intégrité membranaire *via* le test de fuite de LDH (*lactate déshydrogénase*) a montré que les cellules conservaient leur intégrité membranaire à la concentration correspondant à l'IC₅₀, excluant ainsi l'occurrence de nécrose. Considérant que les cellules AGS étaient les plus sensibles aux composés étudiés, elles ont été utilisées dans les études mécanistiques concernant les composés les plus puissants, à savoir **1**, **4** et **10**.

5.3.1. Impact des chalcones **1**, **4** et **10** sur la morphologie cellulaire

Compte tenu de la toxicité identifiée pour les chalcones **1**, **4** et **10**, nous avons procédé à une évaluation de l'impact de ces composés sur la morphologie des cellules, afin d'établir le mécanisme d'action possible de la mort cellulaire.

La morphologie cytoplasmique des cellules incubées avec les composés **1**, **4** et **10** a été évaluée à l'aide de l'isothiocyanate phalloïdin-*tétra*.méthylrhodamine B, dérivé fluorescent de la phalloïdine, utilisé pour localiser *in vitro* les filaments d'actine dans les cellules vivantes ou fixées (tissus biologiques préservés) ainsi que pour visualiser les filaments d'actine individuels. Le statut de la chromatine a été étudié à l'aide du DAPI (4',6-diamidino-2-phénylindole) qui possède la capacité de se lier fortement aux bases adénine (A) et thymine (T) de l'ADN permettant ainsi la visualisation des noyaux par microscopie à fluorescence. Comme le montre

la figure 1.23, le traitement des cellules avec les trois composés les plus toxiques a entraîné des modifications morphologiques marquées, à savoir un retrait cytoplasmique, une pycnose et une caryorrhexie, ce qui suggère qu'un processus de mort cellulaire régulée (MCR) pourrait avoir lieu, conformément aux dernières directives du Comité de la nomenclature sur la mort cellulaire.⁹⁹

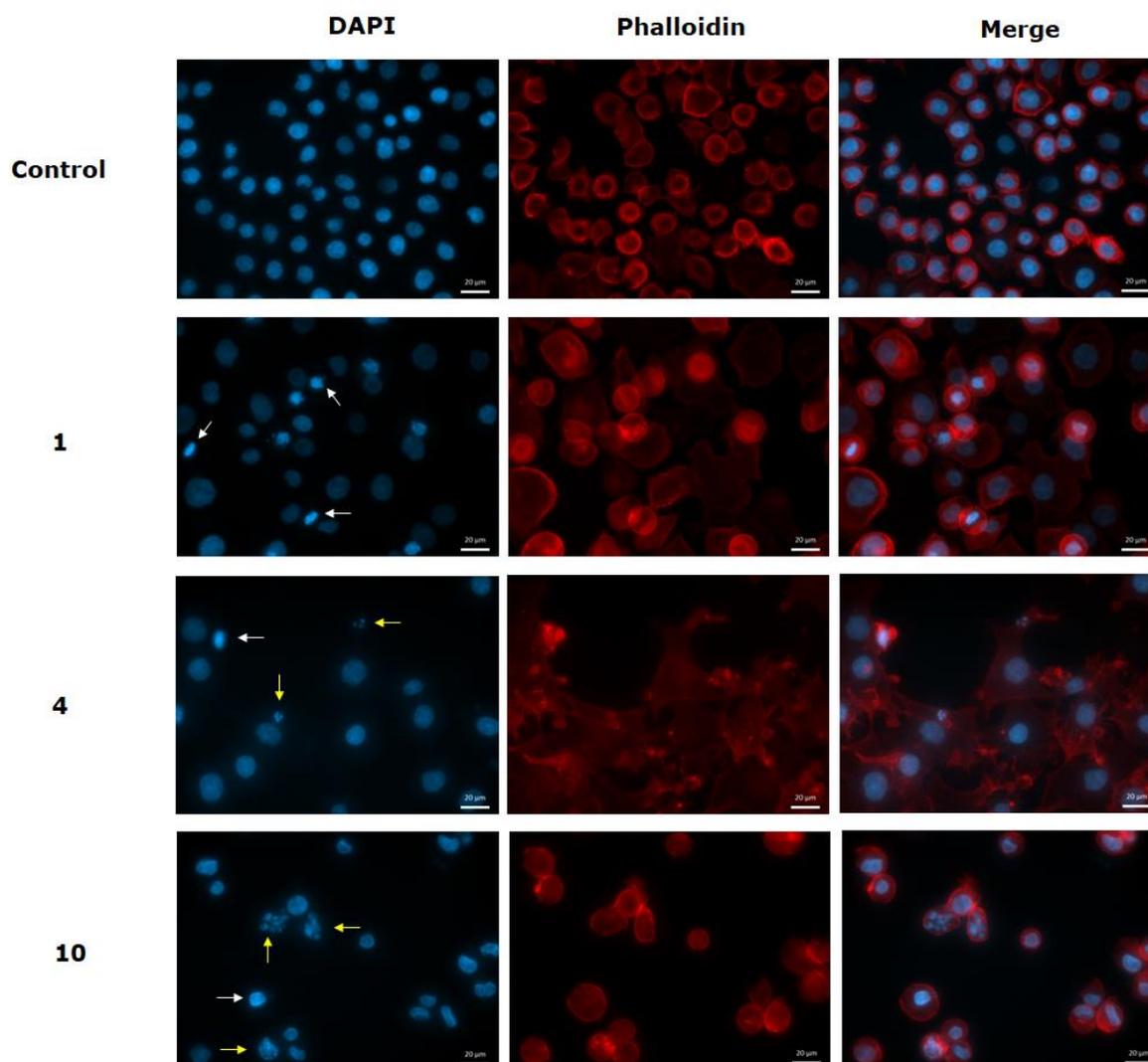


Figure 1.23 Évaluation morphologique de l'effet des composés **1**, **4** et **10** sur les cellules AGS après 24 h d'incubation. Les composés ont été testés à la valeur du CI_{50} , comme indiqué dans le tableau 1. La morphologie globale des cellules a été évaluée à l'aide de la phalloïdine (traits cytoplasmiques) et du DAPI (statut de la chromatine). Flèches jaunes : caryorrhexie (fragmentation nucléaire), flèches blanches : pycnose (condensation de la chromatine).

5.3.2. Etude de l'implication du RIPK1 sur la toxicité des composés **1**, **4** et **10**

Plusieurs processus de mort cellulaire régulée (MCR) sont connus de nos jours, dont beaucoup incluent les traits morphologiques observés et le maintien de l'intégrité de membranaire. La nécroptose est un processus qui est déclenché par des perturbations de l'homéostasie extracellulaire ou intracellulaire, dépendant fortement de l'activité de RIPK1. Afin d'évaluer l'implication possible de RIPK1 dans la toxicité provoquée par **1**, **4** et **10**, les cellules ont été incubées avec ces composés en présence de nécrostatine-1, un inhibiteur de RIPK1. Afin d'étudier préalablement les événements cellulaires en amont de la mort cellulaire enregistrés à 24 h, les composés ont été testés à leur IC₅₀ déterminée après 8 h d'incubation (IC₅₀ = **1**: 100 µM ; **4**: 73 µM ; **10**: 18 µM).

Comme le montre la figure 1.24, aucune modification de la toxicité exercée par les composés n'a été détectée, raison pour laquelle nous avons exclu la contribution de RIPK1 au processus de mort cellulaire.

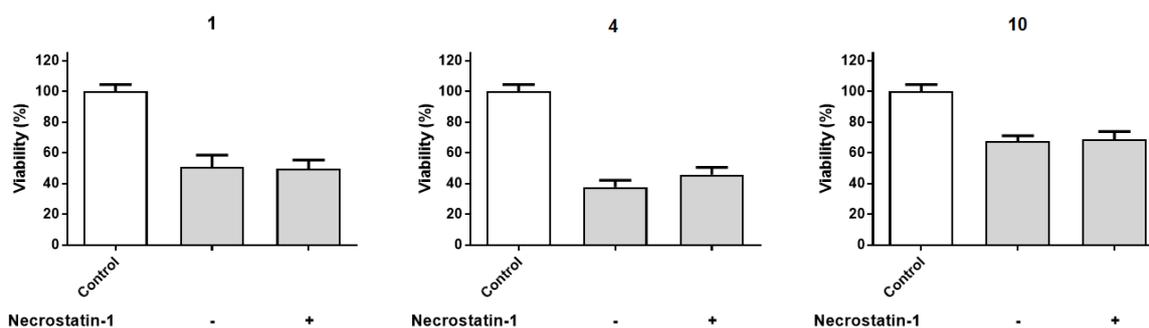


Figure 1.24 Viabilité de la lignée des cellules AGS incubée avec **1**, **4** et **10** avec et sans la nécrostatine-1 (25 µM) comme co-incubateur. Les résultats sont exprimés comme la moyenne \pm déviation standard de cinq expériences indépendantes réalisées en triple (triplicate).

5.3.3. Etude de l'implication des mitochondries dans la toxicité des composés **1**, **4** et **10**

L'implication possible des mitochondries dans la toxicité provoquée par les composés testés **1**, **4** et **10**, a été évaluée par l'impact de ces composés sur le potentiel de membrane mitochondriale ($\Delta\Psi_m$). Tenant compte du fait que la perte de $\Delta\Psi_m$ est un événement précoce de la mort cellulaire mitochondrie-dépendante,⁹⁹ (tous les tests ont été effectués en amont de la toxicité précédemment constatée à 24 h et rapportés dans le Tableau 1.1), après 8 h d'incubation. Comme le montre la figure 1.25, l'incubation de cellules cancéreuses avec les composés **1**, **4** et **10** a provoqué une diminution notable de $\Delta\Psi_m$, indiquant ainsi l'implication de cet organelle dans le processus de mort cellulaire. À la lumière des données publiées

précédemment, l'activateur de la protéine kinase C **PMA** (Phorbol 12-myristate 13-acetate) a été utilisé comme contrôle positif pour la perte de $\Delta\Psi_m$.¹⁰⁰ L'analyse statistique a été réalisée en utilisant un test ANOVA à sens unique. Les différences entre les diverses mesures sont considérées comme statistiquement significatives lorsque $p \leq 0,05$.

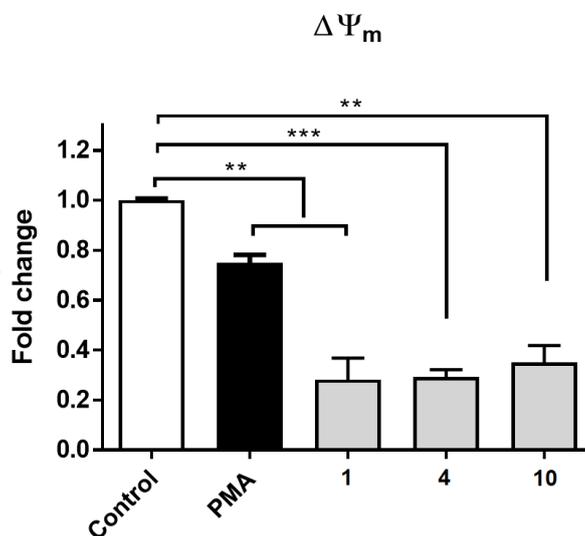


Figure 1.25 Effet des composés **1** (100 μM), **4** (73 μM) et **10** (18 μM) sur l'activité du potentiel de la membrane mitochondriale membrane ($\Delta\Psi_m$) contre la lignée du cancer gastrique humain (A549) après 8 h d'incubation. Les résultats sont exprimés comme la moyenne \pm déviation standard de cinq expériences indépendantes réalisées en triple (triplicate). ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. PMA (250 nM) a été utilisé comme contrôle positif.

5.3.4. Etude de l'implication de caspase dans la toxicité des composés 1,4 et 10

En nous basant sur le fait qu'un processus de mort cellulaire organisée avec l'implication des mitochondries était en cours, nous avons examiné si cet événement était dépendant de la caspase. Les cellules ont été exposées aux composés à l'étude en présence d'un pan-inhibiteur pharmacologique de l'activité de caspases, Z-VAD.fmk. À des fins de contrôle de qualité, l'activateur de caspase staurosporine a été utilisé, sa toxicité étant atténuée en présence de Z-VAD.fmk. Comme le montre la figure 1.26, la toxicité exercée par les composés **1**, **4** et **10** a été atténuée en présence de l'inhibiteur de pan-caspases, montrant ainsi la dépendance de l'effet toxique sur l'activité de la caspase.

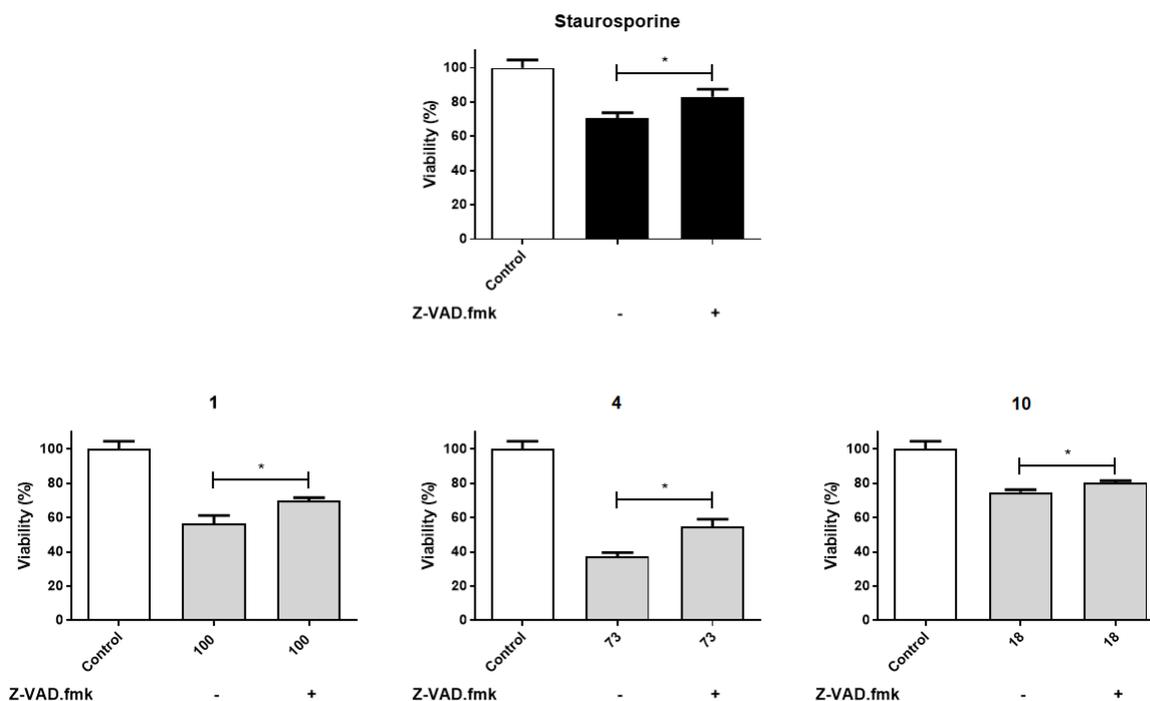


Figure 1.26 Influence de la Z-VAD.fmk (50 µM), un inhibiteur de la pan-caspase, sur la toxicité occasionnée par **1**, **4** et **10** envers les cellules cancéreuses AGS après 8 h d'incubation. La Staurosporine (0.5 µM) a été utilisée comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés comme la moyenne \pm déviation standard de trois expériences indépendantes réalisées en triple (triplicate). * $p < 0.05$.

Après avoir montré l'implication de caspases, nous nous sommes demandé quels isoformes étaient impliqués, car cette information ne pouvait pas être extraite de l'inhibiteur pan-caspases utilisé. L'un des processus les plus largement rapportés du MCR est l'apoptose *via* la voie intrinsèque. Dans ce processus, la perméabilisation de la membrane externe mitochondriale a lieu et entraîne la dissipation du potentiel transmembranaire mitochondrial, provoquant par la suite la sortie du cytochrome *C* vers le cytosol. Ici, le cytochrome *C* conduira à l'activation de l'apoptosome, qui active ensuite l'exécuteur caspase-3.¹⁰¹

En tenant compte des résultats précédents montrant l'implication des caspases et également la dépolérisation des membranes mitochondriales, nous avons émis l'hypothèse que l'implication des mitochondries était également extensible à celle de la caspase-3, la caspase la plus pertinente dans la voie mitochondriale de la mort cellulaire.

Comme le montre la figure 1.27, l'incubation de cellules avec les composés **4** et **10** a entraîné une augmentation de l'activité de la caspase-3. En revanche, dans le cas du composé **1**,

aucun changement n'a été détecté. Cependant, si l'on considère que la toxicité de **1** a également été améliorée par la co-incubation avec un inhibiteur pan-caspases, on peut émettre l'hypothèse que d'autres isoformes de caspases devraient être impliquées dans la toxicité provoquée par le composé **1**. Cette capacité des composés **1**, **4** et **10** à augmenter l'activité caspases est en accord avec les résultats des tests précédents, y compris la perte de viabilité cellulaire, les traits morphologiques et la perte de $\Delta\Psi_m$. De plus, ces résultats sont en accord avec les rapports précédents indiquant l'activation de la voie mitochondriale de la cellule par les chalcones et leurs dérivés.^{97,102,103}

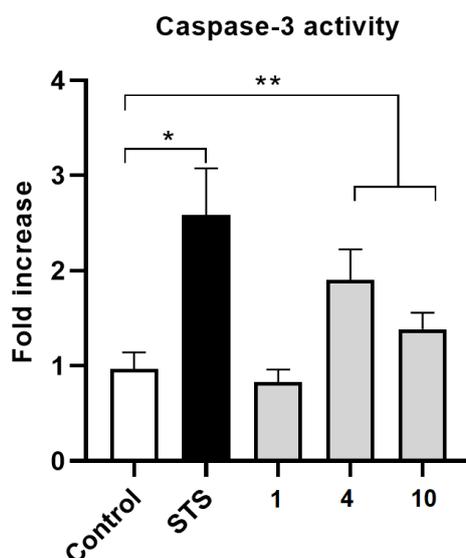


Figure 1.27 Effets de **1**, **4** et **10** sur l'activité de la caspase-3 sur la lignée des cellules AGS après 8h d'incubation. Afin d'étudier les phénomènes en amont de la mort cellulaire, les molécules ont été testées à la concentration de leur IC_{50} déterminée après 8h d'incubation (**1** : 100 μ M; **4** : 73 μ M; **10** : 18 μ M). Les résultats sont exprimés comme la moyenne \pm déviation standard de cinq expériences indépendantes réalisées en triple (triplicate). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, comparés au contrôle. La Staurosporine (STS, 500 nM) a été utilisée comme contrôle positif.

L'étude du mécanisme d'action de **1**, **4** et **10** a montré que ces composés déclenchent une perte de viabilité cellulaire et de potentiel membranaire mitochondrial, tout en provoquant des traits morphologiques compatibles avec la mort cellulaire régulé (apoptose). Les trois composés étaient moins toxiques lorsqu'ils étaient incubés en présence d'un inhibiteur de la pan-caspase et les composés **4** et **10** se sont avérés activateurs de la caspase-3.

5.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

Parmi les chalcones synthétisées, les composés **1**, **3**, **4**, **13**, **15** et **18** ont été soumis à l'évaluation de leur activité antibactérienne, en utilisant la méthode de diffusion sur disque (voir partie expérimentale). Les cinq (05) souches testées : une souche à Gram (+) (*Staphylococcus aureus*), et 4 souches à Gram (-) (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia*, *Salmonella typhi*) selon la disponibilité, ont été isolées à partir prélèvements urinaires et de coprocultures de patients ou de prélèvements alimentaires, une galerie biochimique API a été effectuée pour l'identification des souches, (l'espèce de la souche *Serratia* n'a pas été identifiée). Le DMSO a été utilisé comme contrôle négatif, et les antibiotiques colistine, ofloxacin, oxacilline, céfoxitine ont été utilisés comme contrôle positif en fonction de leur sélectivité. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

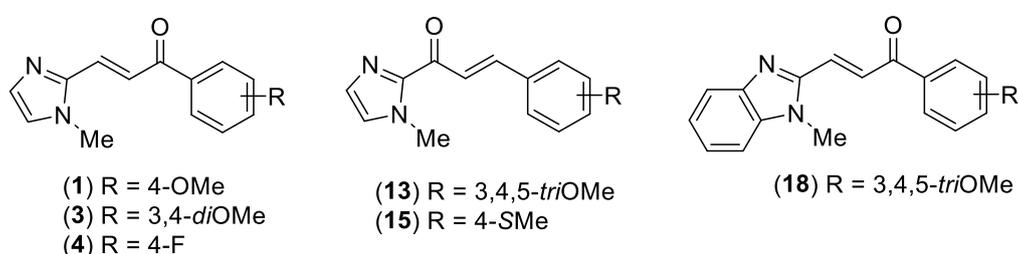


Figure 1.28 Structure des chalcones testées

Tableau 1.2 Profil antibactérien des chalcones testées

Composés	Diamètre des zones d'inhibition (mm)				
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Serratia</i>	<i>Escherichia coli</i>
1	9	r	nd	nd	13
3	nd	7	8	8	r
4	nd	7	8	8	7
13	r	r	nd	nd	r
15	nd	r	r	r	r
18	nd	r	r	r	r
DMSO	r	r	r	r	r
Colistine	-	-	-	-	18
Ofloxacin	-	31	-	20	-
Oxacilline	27	-	-	-	-
Céfoxitine	-	-	38	-	-

r : résistant (zone d'inhibition < 6 mm) ; nd : non disponible

L'analyse des résultats préliminaires montre que toutes les chalcones porteuses d'un noyau imidazole en position β du carbonyle, ont une activité antibactérienne sur la majorité des souches testées : le composé **1** porteur d'un groupement 4-OMe sur le noyau benzénique présente une activité envers *Staphylococcus aureus* (Gram (+)) et *Escherichia coli* (Gram (-)) avec des zones d'inhibition de 9 et 13 mm respectivement. Les composés **1**, **3**, **4** porteurs d'un groupement 4-OMe, 3,4-diOMe et 4-F sur le noyau benzénique respectivement, exhibent un profil antibactérien à large spectre. Le composé **1** présente une activité envers *Staphylococcus aureus* (Gram (+)) et *Escherichia coli* (Gram (-)) avec des zones d'inhibition de 9 et 13 mm respectivement, le composé **4** est actif envers toutes les souches à Gram (-) (*Salmonella typhi* (7 mm), *Klebsiella pneumoniae* (8 mm), *Serratia* (8 mm), *Escherichia coli* (7 mm)), tandis que le composé **3** inhibe toutes les souches à Gram (-) sauf *E. coli* (*Salmonella typhi* (7 mm), *Klebsiella pneumoniae* (8 mm), *Serratia* (8 mm)). L'activité inhibitrice des composés testés est relativement faible comparée aux standards utilisés.

Aucune activité inhibitrice envers les souches sélectionnées dans cette étude n'a été observée pour les composés **13**, **15**, et **18** porteurs d'un noyau imidazole ou benzimidazole directement lié au carbonyle.

5.5. Evaluation de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant des chalcones imidazoliques **1 - 9** (**Série 1**) a été évalué en utilisant quatre méthodes complémentaires, le piégeage du radical DPPH \cdot , le piégeage du radical cation ABTS $^{+\cdot}$, le piégeage du radical anion superoxyde O $_2^{\cdot-}$, et la méthode CUPRAC « *Cupric Reducing Antioxidant Capacity* », dans des plages de concentration allant jusqu'à 200 $\mu\text{g/mL}$.

L'analyse des résultats montre que les composés testés ne présentent aucune activité antioxydante par les 4 méthodes utilisées.

6. Conclusion

Un certain nombre de chalcones porteur d'un motif (benz)imidazole dans leur structure ont été préparées par une réaction de condensation de type *Claisen-Schmidt* entre des 1-méthyl-1*H*-(benz)imidazole-2-carbaldéhydes et des dérivés de l'acétophénone (**Série 1**, 10 composés, **1-10**), et des 2-acétyl-1-méthyl-1*H*-méthyl (benz)imidazoles avec des dérivés du benzaldéhyde (**Série 2**, 10 composés, **11-20**). De même un composé constitué par deux unités 1-méthyl-1*H*-imidazole reliées par une cétone α,β -insaturée a été préparé (**21**). Les rendements sont bons et tous les produits synthétisés ont été identifiés par les méthodes spectroscopiques usuelles et sont conformes aux structures proposées.

Parmi les dérivés préparés, un certain nombre de chalcone (9 composés) ont été sélectionnés et soumis à un screening de l'activité antiproliférative contre trois lignées cellulaires humaines, deux lignées cancéreuses AGS (cancer gastrique), A549 (cancer du poumon), ainsi que la lignée cellulaire non cancéreuses du poumon (MRC-5), dans des plages de concentration allant jusqu'à 100 μ M.

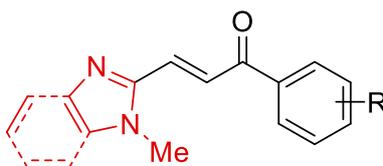
L'analyse des résultats de la Relation Structure-Activité (SAR) des composés testés montrent l'importance de l'agencement des unités structurales présentes dans l'activité antiproliférative. En effet, les composés de la **Série 1** (le cycle (benz)imidazole est en position β du groupe carbonyle) ont montré une toxicité supérieure à celle des composés de la **Série 2** (le cycle (benz)imidazole est directement lié au groupe carbonyle). On notera en particulier que les composés **1,4** et **10** sont les plus actifs avec une toxicité intéressante envers les cellules A549 (poumon), et envers les cellules cancéreuses gastriques (AGS). Les composés **13, 15** et **20** (**Série 2**) sont sélectifs envers les cellules AGS avec une toxicité moindre et non toxiques envers les cellules non cancéreuses MRC-5. Ce qui laisse envisager une utilisation possible de ces composés comme médicaments anticancéreux sélectifs, malgré leur plus faible activité.

Les chalcones **1, 3, 4, 13, 15** et **18** ont été soumis à l'évaluation de leur activité antibactérienne, en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Cinq (05) souches pathogènes ont été testées : une souche à Gram (+) (*Staphylococcus aureus*), et 4 souches à Gram (-) (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia*, *Salmonella typhi*).

L'analyse des résultats préliminaires montre que toutes les chalcones porteuses d'un noyau imidazole en position β du carbonyle (**1, 3** et **4** – **Série 1**), sont actifs (le composé **1** envers *S. aureus* et *E. coli*, **3** et **4** envers les souches à Gram (-)), avec une activité inhibitrice relativement faible comparée aux standards utilisés. Les composés **13, 15**, et **18** (**Série 2**) porteurs d'un noyau imidazole ou benzimidazole directement lié au carbonyle ne possèdent aucune activité antibactérienne.

7. Perspectives

Bien que les résultats obtenus montrent que certains composés sélectionnés dans cette étude possèdent un effet cytotoxique avéré envers les deux lignées de cellules cancéreuses humaines A549 (poumon) et AGS (estomac), ainsi que l'importance des unités structurales présentent et la cohérence des analyses de la relation structure-activité (SAR). Sur cette base, la conception d'une deuxième bibliothèque de composés ciblés présentant des propriétés biologiques améliorées est à envisager (chalcones hybrides type **Série 1**).



Chalcones hybrides type série 1

Figure 1.29 Chalcones hybrides ciblées

Les travaux futurs devraient s'orienter vers la détermination et une meilleure compréhension des voies de signalisation impliquées dans la perte de $\Delta\Psi_m$ et l'activation de la caspase, qui sont étroitement liés au processus de la mort cellulaire (apoptose). De plus, il serait intéressant d'évaluer la chronologie de ces événements, afin d'élucider quelles sont les principales cibles cellulaires et moléculaires de ces composés.

Une étude plus approfondie de l'activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) reste à entreprendre pour compléter et valider les résultats préliminaires obtenus.

8. Références bibliographiques

- (1) Grimmett, M. R. *Imidazole and benzimidazole synthesis*; Academic press, 1997.
- (2) Silakari, O. *Key heterocycle cores for designing multitargeting molecules*; Elsevier, 2018.
- (3) Boiani, M.; González, M. Imidazole and benzimidazole derivatives as chemotherapeutic agents. *Mini rev. Med. Chem.* **2005**, 5(4), 409.
- (4) Hu, Y.; Das, A.; Hecht, M. H.; Scoles, G. Nanografting de novo proteins onto gold surfaces. *Langmuir* **2005**, 21 (20), 9103.
- (5) Koswatta, P. B.; Sivappa, R.; Dias, H. V. R.; Lovely, C. J. Total Synthesis of (±)-Calcaridine A and (±)-epi-Calcaridine A. *Org. Lett.* **2008**, 10(21), 5055.
- (6) Luca, L. D. Naturally occurring and synthetic imidazoles: Their chemistry and their biological activities. *Curr. Med. Chem.* **2006**, 13(1), 1.
- (7) Berlinck, R. G.; Britton, R.; Piers, E.; Lim, L.; Roberge, M.; Moreira da Rocha, R.; Andersen, R. J. Granulatimide and isogranulatimide, aromatic alkaloids with G2 checkpoint inhibition activity isolated from the Brazilian ascidian *Didemnum granulatum*: structure elucidation and synthesis. *J. Org. Chem.* **1998**, 63(26), 9850.
- (8) Pedpradab, S.; Edrada, R.; Ebel, R.; Wray, V.; Proksch, P. New β -carboline alkaloids from the Andaman sea sponge *Dragmacidon* sp. *J. Nat. Prod.* **2004**, 67(12), 2113.
- (9) Jiao, W.-H.; Li, J.; Wang, D.; Zhang, M.-M.; Liu, L.-Y.; Sun, F.; Li, J.-Y.; Capon, R. J.; Lin, H.-W. Cinerols, nitrogenous meroterpenoids from the marine sponge *Dysidea cinerea*. *J. Nat. Prod.* **2019**, 82(9), 2586.
- (10) Wang, W.; Tang, X.; Hua, F.; Ling, T.-J.; Wan, X.-C.; Bao, G.-H. Camellimidazole A–C, three methylene-bridged dimeric imidazole alkaloids from Keemun black tea. *Org. Lett.* **2018**, 20(9), 2672.
- (11) Tomašič, T.; Nabergoj, D.; Vrbek, S.; Zidar, N.; Jakopin, Ž.; Žula, A.; Hodnik, Ž.; Jukič, M.; Anderluh, M.; Ilaš, J. Analogues of the marine alkaloids oroidin, clathrocin, and hymenidin induce apoptosis in human HepG2 and THP-1 cancer cells. *MedChemComm* **2015**, 6 (1), 105.
- (12) Benoit-Vical, F.; Saléry, M.; Soh, P. N.; Ahond, A.; Poupat, C. Girolline: A potential lead structure for antiplasmodial drug research. *Planta Med.* **2008**, 74 (04), 438.
- (13) Tsujii, S.; Rinehart, K. L.; Gunasekera, S. P.; Kashman, Y.; Cross, S. S.; Lui, M. S.; Pomponi, S. A.; Diaz, M. C. Topsentin, bromotopsentin, and dihydrodeoxybromotopsentin: Antiviral and antitumor bis (indolyl) imidazoles from

- Caribbean deep-sea sponges of the family Halichondriidae. Structural and synthetic studies. *J. Org. Chem.* **1988**, 53(23), 5446.
- (14) Zidar, N.; Montalvão, S.; Hodnik, Ž.; Nawrot, D. A.; Žula, A.; Ilaš, J.; Kikelj, D.; Tammela, P.; Mašič, L. P. Antimicrobial activity of the marine alkaloids, clathrocin and oroidin, and their synthetic analogues. *Mar. Drugs* **2014**, 12 (2), 940.
- (15) Dingsdag, S. A.; Hunter, N. Metronidazole: an update on metabolism, structure–cytotoxicity and resistance mechanisms. *J. Antimicrob. Chemother.* **2018**, 73 (2), 265.
- (16) Reynold, J. E.; Martindale, K. B. the extra pharmacopoeia 31st edition. *Published by the council of royal pharmaceutical society of Great Britain* **1996**, 885.
- (17) Green, J. R.; Müller, K.; Jaeggi, K. A. Preclinical pharmacology of CGP 42' 446, a new, potent, heterocyclic bisphosphonate compound. *J. Bone Miner. Res.* **1994**, 9 (5), 745.
- (18) Elks, J. *The dictionary of drugs: chemical data: chemical data, structures and bibliographies*; Springer, 2014.
- (19) Morton, I.; Hall, J. M. *Concise dictionary of pharmacological agents: properties and synonyms*; Springer Science & Business Media, 1999.
- (20) Strand, D. S.; Kim, D.; Peura, D. A. 25 years of proton pump inhibitors: a comprehensive review. *Gut liver*, **2017**, 11(1), 27.
- (21) Dubbelman, A.-C.; Rosing, H.; Darwish, M.; D'Andrea, D.; Bond, M.; Hellriegel, E.; Robertson, P.; Beijnen, J. H.; Schellens, J. H. Pharmacokinetics and excretion of 14 C-bendamustine in patients with relapsed or refractory malignancy. *Drugs in R* **2013**, 13(1), 17.
- (22) Boulebd, H.; Ismaili, L.; Martin, H.; Bonet, A.; Chioua, M.; Marco Contelles, J.; Belfaitah, A. New (benz) imidazolopyridino tacrines as nonhepatotoxic, cholinesterase inhibitors for Alzheimer disease. *Future Med. Chem.* **2017**, 9(8), 723.
- (23) Boulebd, H.; Zama, S.; Insaf, B.; Bouraiou, A.; Bouacida, S.; Merazig, H.; Romero, A.; Chioua, M.; Marco-Contelles, J.; Belfaitah, A. J. M. f. C.-C. M. Synthesis and biological evaluation of heterocyclic privileged medicinal structures containing (benz) imidazole unit. **2016**, 147(12), 2209.
- (24) Zhou, B.; Xing, C. Diverse molecular targets for chalcones with varied bioactivities. *Med. Chem.* **2015**, 5(8), 388.
- (25) Singh, P.; Anand, A.; Kumar, V. Recent developments in biological activities of chalcones: a mini review. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 85, 758.
- (26) K Sahu, N.; S Balbhadra, S.; Choudhary, J.; V Kohli, D. Exploring pharmacological significance of chalcone scaffold: a review. *Curr. Med. Chem.* **2012**, 19(2), 209.

- (27) Hussein, H. A.; Fadhil, G. F. Theoretical investigation of para amino-dichloro chalcone isomers, part I: A DFT structure-stability study. *J. Phys. Org. Chem.* **2020**, 33(9), e4073.
- (28) Batovska, D. I.; Todorova, I. T. Trends in utilization of the pharmacological potential of chalcones. *Curr. Clin. Pharmacol.* **2010**, 5 (1), 1.
- (29) Ono, M.; Ikeoka, R.; Watanabe, H.; Kimura, H.; Fuchigami, T.; Haratake, M.; Saji, H.; Nakayama, M. Synthesis and evaluation of novel chalcone derivatives with ^{99m}Tc/Re complexes as potential probes for detection of β -amyloid plaques. *ACS Chem. Neurosci.* **2010**, 1(9), 598.
- (30) Niu, C.-G.; Guan, A.-L.; Zeng, G.-M.; Liu, Y.-G.; Li, Z.-W. Fluorescence water sensor based on covalent immobilization of chalcone derivative. *Anal. Chim. Acta* **2006**, 577(2), 264.
- (31) Lee, S.-C.; Kang, N.-Y.; Park, S.-J.; Yun, S.-W.; Chandran, Y.; Chang, Y.-T. Development of a fluorescent chalcone library and its application in the discovery of a mouse embryonic stem cell probe. *Chem. Commun.* **2012**, 48(53), 6681.
- (32) Jiang, Y.-B.; Wang, X.-J. Stoichiometric-dependent intramolecular charge transfer fluorescence of p-dimethylaminochalcone in β -cyclodextrin host-guest systems. *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* **1994**, 81 (3), 205.
- (33) Jiang, Y.-B.; Wang, X.-J.; Lin, L. Fluorescent probing of the restriction by aqueous micelles of the formation of the photoinduced biradical state P* of 4-(Dimethylamino) chalcone. *J. Phys. Chem.* **1994**, 98(47), 12367.
- (34) Zhou, B.; Jiang, P.; Lu, J.; Xing, C. Characterization of the Fluorescence Properties of 4-Dialkylaminochalcones and Investigation of the Cytotoxic Mechanism of Chalcones. *Arch. Pharm.* **2016**, 349 (7), 539.
- (35) Claisen, L.; Claparède, A. Condensationen von ketonen mit aldehyden. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, **1881**, 14 (2), 2460.
- (36) Schmidt, J. G. Ueber die Einwirkung von Aceton auf Furfurol und auf Bittermandelöl bei Gegenwart von Alkalilauge. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, **1881**, 14(1), 1459.
- (37) Powers, D. G.; Casebier, D. S.; Fokas, D.; Ryan, W. J.; Troth, J. R.; Coffen, D. L. Automated parallel synthesis of chalcone-based screening libraries. *Tetrahedron*, **1998**, 54(16), 4085.
- (38) Nielsen, A. T.; Houlihan, W. J. The aldol condensation. *Organic reactions*, **2004**, 16, 1.
- (39) Go, M.; Wu, X.; Liu, X. Chalcones: an update on cytotoxic and chemoprotective properties. *Curr. Med. Chem.* **2005**, 12 (4), 483.

- (40) Mahapatra, D. K.; Asati, V.; Bharti, S. K. Chalcones and their therapeutic targets for the management of diabetes: structural and pharmacological perspectives. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *92*, 839.
- (41) Mahapatra, D. K.; Bharti, S. K.; Asati, V. Chalcone scaffolds as anti-infective agents: Structural and molecular target perspectives. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *101*, 496.
- (42) Mahapatra, D. K.; Bharti, S. K.; Asati, V. Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *98*, 69.
- (43) Mahapatra, D. K.; Bharti, S. K. Therapeutic potential of chalcones as cardiovascular agents. *Life Sci.* **2016**, *148*, 154.
- (44) Kontogiorgis, C.; Mantzanidou, M.; Hadjipavlou-Litina, D. Chalcones and their potential role in inflammation. *Mini Rev. Med. Chem.* **2008**, *8*(12), 1224.
- (45) Kumar, D.; Kumar, M.; Kumar, A.; Kumar Singh, S. Chalcone and curcumin derivatives: a way ahead for malarial treatment. *Mini Rev. Med. Chem.* **2013**, *13*(14), 2116.
- (46) Wang, Q.; Ding, Z.-H.; Liu, J.-K.; Zheng, Y.-T. Xanthohumol, a novel anti-HIV-1 agent purified from Hops *Humulus lupulus*. *Antiviral Res.* **2004**, *64*(3), 189.
- (47) Inamori, Y.; BABA, K.; Tsujibo, H.; Taniguchi, M.; Nakata, K.; Kozawa, M. Antibacterial activity of two chalcones, xanthoangelol and 4-hydroxyderricin, isolated from the root of *Angelica keiskei* Koidzumi. *Chem. Pharma. Bull.* **1991**, *39* (6), 1604.
- (48) Harikumar, K. B.; Kunnumakkara, A. B.; Ahn, K. S.; Anand, P.; Krishnan, S.; Guha, S.; Aggarwal, B. B. Modification of the cysteine residues in I κ B α kinase and NF- κ B (p65) by xanthohumol leads to suppression of NF- κ B-regulated gene products and potentiation of apoptosis in leukemia cells. *Blood, J. Am. Soc. Hemat.* **2009**, *113*(9), 2003.
- (49) Viegas-Junior, C.; Danuello, A.; da Silva Bolzani, V.; Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*(17), 1829.
- (50) Zhan, P.; Liu, X. Designed multiple ligands: an emerging anti-HIV drug discovery paradigm. *Curr. Pharm. Des.* **2009**, *15*(16), 1893.
- (51) Kamal, A.; Kashi Reddy, M.; Viswanath, A. The design and development of imidazothiazole-chalcone derivatives as potential anticancer drugs. *Expert Opin. Drug Discov.* **2013**, *8*(3), 289.
- (52) Zhuang, C.; Miao, Z.; Wu, Y.; Guo, Z.; Li, J.; Yao, J.; Xing, C.; Sheng, C.; Zhang, W. Double-edged swords as cancer therapeutics: novel, orally active, small molecules

- simultaneously inhibit p53–MDM2 interaction and the NF- κ B pathway. *J. Med. Chem.* **2014**, 57(3), 567.
- (53) Romagnoli, R.; Baraldi, P. G.; Carrion, M. D.; Cruz-Lopez, O.; Cara, C. L.; Balzarini, J.; Hamel, E.; Canella, A.; Fabbri, E.; Gambari, R. Hybrid α -bromoacryloylamido chalcones. Design, synthesis and biological evaluation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19 (7), 2022.
- (54) Dong, X.; Du, L.; Pan, Z.; Liu, T.; Yang, B.; Hu, Y. J. E. j. o. m. c. Synthesis and biological evaluation of novel hybrid chalcone derivatives as vasorelaxant agents. *Euro. J. Med. Chem.* **2010**, 45(9), 3986.
- (55) Schobert, R.; Biersack, B.; Dietrich, A.; Knauer, S.; Zoldakova, M.; Fruehauf, A.; Mueller, T. Pt (II) complexes of a combretastatin A-4 analogous chalcone: effects of conjugation on cytotoxicity, tumor specificity, and long-term tumor growth suppression. *J. Med. Chem.* **2009**, 52(2), 241.
- (56) Pingaew, R.; Saekee, A.; Mandi, P.; Nantasenamat, C.; Prachayasittikul, S.; Ruchirawat, S.; Prachayasittikul, V. Synthesis, biological evaluation and molecular docking of novel chalcone–coumarin hybrids as anticancer and antimalarial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 85, 65.
- (57) Qiao, Z.; Wang, Q.; Zhang, F.; Wang, Z.; Bowling, T.; Nare, B.; Jacobs, R. T.; Zhang, J.; Ding, D.; Liu, Y. Chalcone–benzoxaborole hybrid molecules as potent antitrypanosomal agents. *J. Med. Chem.* **2012**, 55(7), 3553.
- (58) Vazquez-Rodriguez, S.; López, R. L.; Matos, M. J.; Armesto-Quintas, G.; Serra, S.; Uriarte, E.; Santana, L.; Borges, F.; Crego, A. M.; Santos, Y. Design, synthesis and antibacterial study of new potent and selective coumarin–chalcone derivatives for the treatment of tenacibaculosis. *Bioorganic medicinal chemistry* **2015**, 23(21), 7045.
- (59) Robinson, M. W.; Overmeyer, J. H.; Young, A. M.; Erhardt, P. W.; Maltese, W. A. Synthesis and evaluation of indole-based chalcones as inducers of methuosis, a novel type of nonapoptotic cell death. *J. Med. Chem.* **2012**, 55(5), 1940.
- (60) Loch-Neckel, G.; Bicca, M. A.; Leal, P. C.; Mascarello, A.; Siqueira, J. M.; Calixto, J. B. In vitro and in vivo anti-glioma activity of a chalcone-quinoline hybrid. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 90, 93.
- (61) Shankaraiah, N.; Siraj, K.; Nekkanti, S.; Srinivasulu, V.; Sharma, P.; Senwar, K. R.; Sathish, M.; Vishnuvardhan, M.; Ramakrishna, S.; Jadala, C. DNA-binding affinity and anticancer activity of β -carboline–chalcone conjugates as potential DNA intercalators: Molecular modelling and synthesis. *Bioorg. Chem.* **2015**, 59, 130.

- (62) Kamal, A.; Balakrishna, M.; Nayak, V. L.; Shaik, T. B.; Faazil, S.; Nimbarte, V. D. Design and Synthesis of Imidazo [2, 1*b*] thiazole-Chalcone Conjugates: Microtubule-Destabilizing Agents. *ChemMedChem*. **2014**, 9(12), 2766.
- (63) Ouattara, M.; Sissouma, D.; Koné, M. W.; Menan, H. E.; Touré, S. A.; Ouattara, L. Synthesis and anthelmintic activity of some hybrid Benzimidazolyl-chalcone derivatives. *Trop. J. Pharm. Res.* **2011**, 10(6), 767.
- (64) Lindel, T.; Jensen, P. R.; Fenical, W.; Long, B. H.; Casazza, A. M.; Carboni, J.; Fairchild, C. R. Eleutherobin, a new cytotoxin that mimics paclitaxel (Taxol) by stabilizing microtubules. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119(37), 8744.
- (65) D'Ambrosio, M.; Guerriero, A.; Pietra, F. Sarcodictyin A and sarcodictyin B, novel diterpenoidic alcohols esterified by (*E*) *N* (1)-methylurocanic acid. Isolation from the Mediterranean stolonifer *Sarcodictyon roseum*. *Helv. Chim. Acta*, **1987**, 70(8), 2019.
- (66) Ciomei, M.; Albanese, C.; Pastori, W.; Grandi, M.; Pietra, F.; D'Ambrosio, M.; Guerriero, A.; Battistini, C. Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 1997.
- (67) Nicolaou, K.; Pfefferkorn, J.; Xu, J.; Winssinger, N.; Ohshima, T.; Kim, S.; Hosokawa, S.; Vourloumis, D.; Van Delft, F.; Li, T. Total synthesis and chemical biology of the sarcodictyins. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, 47(9), 1199.
- (68) Nicolaou, K.; Kim, S.; Pfefferkorn, J.; Xu, J.; Ohshima, T.; Hosokawa, S.; Vourloumis, D.; Li, T. Synthesis and biological activity of sarcodictyins. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37(10), 1418.
- (69) Nicolaou, K.; Winssinger, N.; Vourloumis, D.; Ohshima, T.; Kim, S.; Pfefferkorn, J.; Xu, J.-Y.; Li, T. Solid and solution phase synthesis and biological evaluation of combinatorial sarcodictyin libraries. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120(42), 10814.
- (70) Ciupa, A.; Griffiths, N. J.; Light, S. K.; Wood, P. J.; Caggiano, L. Design, synthesis and antiproliferative activity of urocanic-chalcone hybrid derivatives. *MedChemComm* **2011**, 2(10), 1011.
- (71) Pettit, G.; Singh, S.; Hamel, E.; Lin, C. M.; Alberts, D. S.; Garcia-Kendal, D. Isolation and structure of the strong cell growth and tubulin inhibitor combretastatin A-4. *Experientia*, **1989**, 45(2), 209.
- (72) Rezig, R.; Chebah, M.; Rhouati, S.; Ducki, S.; Lawrence, N. Synthesis of some quinolyl aryl alpha-unsaturated ketones. *J. Soc. Alg. Chim.* **2000**, 10 (1), 111.
- (73) Bray, F.; Laversanne, M.; Weiderpass, E.; Soerjomataram, I. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer. In press.*

- (74) World Health Organization (WHO). Global Health Estimates 2020: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2019. who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death **2020**.
- (75) Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R.; Laversanne, M.; Soerjomataram, I.; Jemal, A.; Bray, F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* **2021**.
- (76) Hanahan, D.; Weinberg, R. A. The hallmarks of cancer. *J. Cell.* **2000**, *100*(1), 57.
- (77) Hanahan, D.; Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *J. Cell.* **2011**, *144*(5), 646.
- (78) Chabner, B. A.; Roberts, T. G. Chemotherapy and the war on cancer. *J. Nature Rev. Cancer*, **2005**, *5*(1), 65.
- (79) Debatin, K.-M. The role of CD95 system in chemotherapy. *J. Drug resistance updates* **1999**, *2*(2), 85.
- (80) Herr, I.; Debatin, K.-M. Cellular stress response and apoptosis in cancer therapy. *J. Blood, J. Am. Soc. Hemat.* **2001**, *98*(9), 2603.
- (81) Debatin, K.-M. Cytotoxic drugs, programmed cell death, and the immune system: defining new roles in an old play. *J. Natl. Cancer Inst.* **1997**, *89* (11), 750.
- (82) Kaufmann, S. H.; Earnshaw, W. C. Induction of apoptosis by cancer chemotherapy. *Exp. Cell Res.* **2000**, *256*(1), 42.
- (83) Solary, E.; Droin, N.; Bettaieb, A.; Corcos, L.; Dimanche-Boitrel, M.; Garrido, C. Positive and negative regulation of apoptotic pathways by cytotoxic agents in hematological malignancies. *Leukemia* **2000**, *14*(10), 1833.
- (84) Lowe, S. W.; Lin, A. W. Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis*, **2000**, *21*(3), 485.
- (85) Kaufmann, S. H.; Gores, G. J. Apoptosis in cancer: cause and cure. *Bioessays*, **2000**, *22*(11), 1007.
- (86) Danial, N. N.; Korsmeyer, S. J. Cell death: critical control points. *Cell.* **2004**, *116*(2), 205.
- (87) Lopez, J.; Tait, S. Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within. *Br. J. Cancer.* **2015**, *112*(6), 957.
- (88) Zaman, S.; Wang, R.; Gandhi, V. Targeting the apoptosis pathway in hematologic malignancies. *Leuk. Lymphoma*, **2014**, *55*(9), 1980.
- (89) Pfeffer, C. M.; Singh, A. T. Apoptosis: a target for anticancer therapy. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*(2), 448.

- (90) Hassan, M.; Watari, H.; AbuAlmaaty, A.; Ohba, Y.; Sakuragi, N. Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer. *Biomed. Res. Int.* **2014**, *2014*.
- (91) LaRonde, F. J.; Brook, M. A. Stereoselective reduction of ketones using extracoordinate silicon: C2-symmetric ligands. *Inorg. Chim. Acta*, **1999**, *296*(1), 208.
- (92) Myers, M. C.; Bharadwaj, A. R.; Milgram, B. C.; Scheidt, K. A. Catalytic conjugate additions of carbonyl anions under neutral aqueous conditions. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*(42), 14675.
- (93) Benhassine, A.; Boulebd, H.; Anak, B.; Bouraiou, A.; Bouacida, S.; Bencharif, M.; Belfaitah, A. Copper (II) and zinc (II) as metal-carboxylate coordination complexes based on (1-methyl-1H-benzo [d] imidazol-2-yl) methanol derivative: Synthesis, crystal structure, spectroscopy, DFT calculations and antioxidant activity. *J. Mol. Struct.* **2018**, *1160*, 406.
- (94) Benhassine, A.; Boulebd, H.; Anak, B.; Bouraiou, A.; Bouacida, S.; Bencharif, M.; Belfaitah, A. Cobalt (II) complexes based on (1-methyl-1 H-benzo [d] imidazol-2-yl) methanol derivative: synthesis, crystal structure, spectroscopy, DFT calculations, and antioxidant activity. *J. Coord. Chem.* **2018**, *71*(2), 311.
- (95) Mathew, B.; Suresh, J.; Anbazhagan, S. Development of novel (1-H) benzimidazole bearing pyrimidine-trione based MAO-A inhibitors: Synthesis, docking studies and antidepressant activity. *J. Saudi Chem. Soc.* **2016**, *20*, S132.
- (96) Fitzmaurice, C.; Allen, C.; Barber, R. M.; Barregard, L.; Bhutta, Z. A.; Brenner, H.; Dicker, D. J.; Chimed-Orchir, O.; Dandona, R.; Dandona, L. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: a systematic analysis for the global burden of disease study. *JAMA oncology*, **2017**, *3*(4), 524.
- (97) Break, M. K. B.; Hossan, M. S.; Khoo, Y.; Qazzaz, M. E.; Al-Hayali, M. Z.; Chow, S. C.; Wiart, C.; Bradshaw, T. D.; Collins, H.; Khoo, T.-J. Discovery of a highly active anticancer analogue of cardamonin that acts as an inducer of caspase-dependent apoptosis and modulator of the mTOR pathway. *Fitoterapia*, **2018**, *125*, 161.
- (98) Yadav, P.; Lal, K.; Kumar, A.; Guru, S. K.; Jaglan, S.; Bhushan, S. Green synthesis and anticancer potential of chalcone linked-1, 2, 3-triazoles. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *126*, 944.
- (99) Galluzzi, L.; Vitale, I.; Aaronson, S. A.; Abrams, J. M.; Adam, D.; Agostinis, P.; Alnemri, E. S.; Altucci, L.; Amelio, I.; Andrews, D. W. Molecular mechanisms of cell

- death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell. Death Differentiation*, **2018**, 25(3), 486.
- (100) Pereira, D. M.; Silva, T. C.; Losada-Barreiro, S.; Valentão, P.; Paiva-Martins, F.; Andrade, P. B. Toxicity of phenolipids: protocatechuic acid alkyl esters trigger disruption of mitochondrial membrane potential and caspase activation in macrophages. *Chem. Phys. Lipids* **2017**, 206, 16.
- (101) M Pereira, D.; Valentao, P.; Correia-da-Silva, G.; Teixeira, N.; B Andrade, P. Plant secondary metabolites in cancer chemotherapy: where are we? *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2012**, 13(5), 632.
- (102) Ramirez-Tagle, R.; Escobar, C. A.; Romero, V.; Montorfano, I.; Armisen, R.; Borgna, V.; Jeldes, E.; Pizarro, L.; Simon, F.; Echeverria, C. Chalcone-induced apoptosis through caspase-dependent intrinsic pathways in human hepatocellular carcinoma cells. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, 17 (2), 260.
- (103) Ahmed, F. F.; Abd El-Hafeez, A. A.; Abbas, S. H.; Abdelhamid, D.; Abdel-Aziz, M. New 1, 2, 4-triazole-Chalcone hybrids induce Caspase-3 dependent apoptosis in A549 human lung adenocarcinoma cells. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 151, 705.

PARTIE 2

Synthèse, caractérisation et évaluations biologiques de dérivés hybrides tricycliques imidazole - hétérocycle - aryle

1. Pyrazole et pyrazoline : structures et activités biologiques

1.1. Généralités

Le pyrazole est un système cyclique à cinq chaînons analogue structural de l'imidazole contenant deux doubles liaisons et deux atomes d'azote adjacents.

La tautomérie annulaire est une caractéristique importante du pyrazole. Une deuxième caractéristique structurale importante du pyrazole est qu'il contient à la fois un azote de type pyrrole, dont la paire isolée fait partie du sextet aromatique, et un azote de type pyridine avec une paire isolée qui ne fait pas partie du sextet aromatique (schéma 2.1).

La liaison NH du pyrazole est faiblement acide et le traitement du pyrazole ($pK_a = 14,2$) avec une base forte donne l'anion pyrazolyle, qui est stabilisé par résonance et retient le sextet aromatique (schéma 2.1). D'autre part, le traitement du pyrazole, par exemple, par des composés à caractère acide (des protons ou des électrophiles) donne des cations pyrazolium qui sont également stabilisés par résonance et conservent le sextet aromatique (schéma 2.1). Le noyau pyrazole peut se comporter comme un acide ou une base faible donnant des ions stabilisés par résonance.

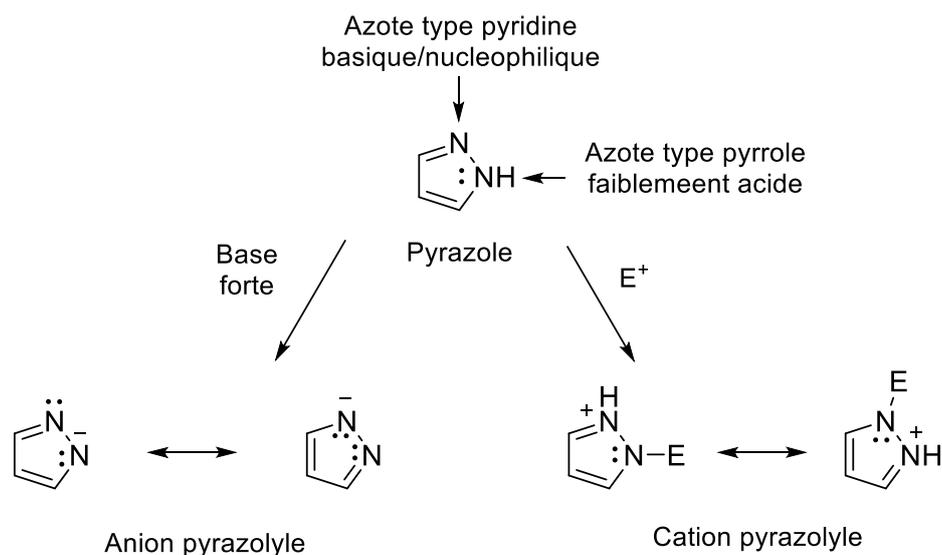


Schéma 2.1. Le pyrazole est ses structures stabilisées (milieu acide ou basique)

La réduction d'une des deux doubles liaisons du cycle pyrazole donne des systèmes insaturés non aromatiques. Ces dérivés sont appelés pyrazolines ou dihydropyrazoles selon la nomenclature IUPAC (Fig. 2.1).

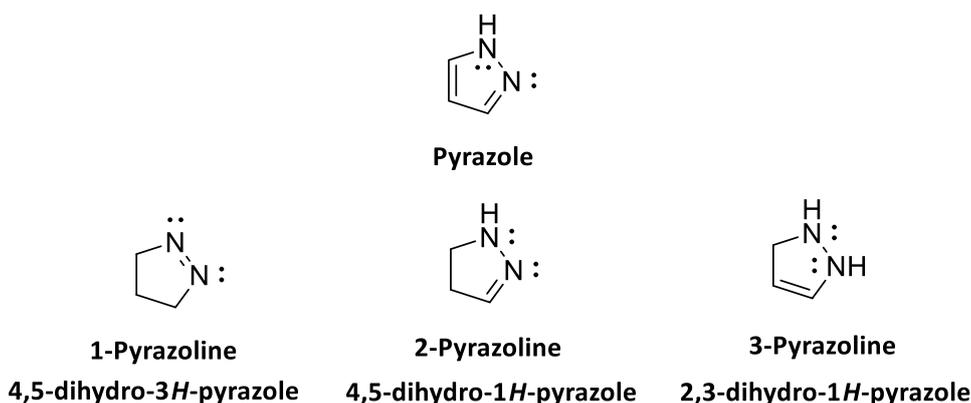


Figure 2.1. Les différentes structures du noyau pyrazoline

1.2. Intérêts biologiques des dérivés du pyrazole

➤ Occurrence naturelle

Parmi les hétérocycles à cinq chaînons, les pyrazoles sont les moins abondants dans la nature, sont les moins répertoriés (connus) et par conséquent les moins explorés. La rareté des pyrazoles naturels a été attribuée à la difficulté de formation de la liaison N–N par les organismes vivants.¹ Néanmoins, le motif pyrazole se retrouve dans la structure de quelques alcaloïdes possédant des propriétés physiologiques, pharmacologiques variées.² Les withasomnines possèdent des propriétés analgésiques et antiinflammatoires,³⁻⁵ les pyrazofurines ont montré une activité antitumorale et autre antivirale contre un large spectre de virus.^{6,7} La nostocine A est un pigment cytotoxique extracellulaire⁸, les fluviols A-E sont des antibiotiques bicycliques riches en azote produits par *Pseudomonas fluorescens*,⁹ et plus récemment les pyrazolofluostatins A-C à activité antioxydante modérée.¹⁰ Quelques exemples sont donnés dans la figure ci-dessous.

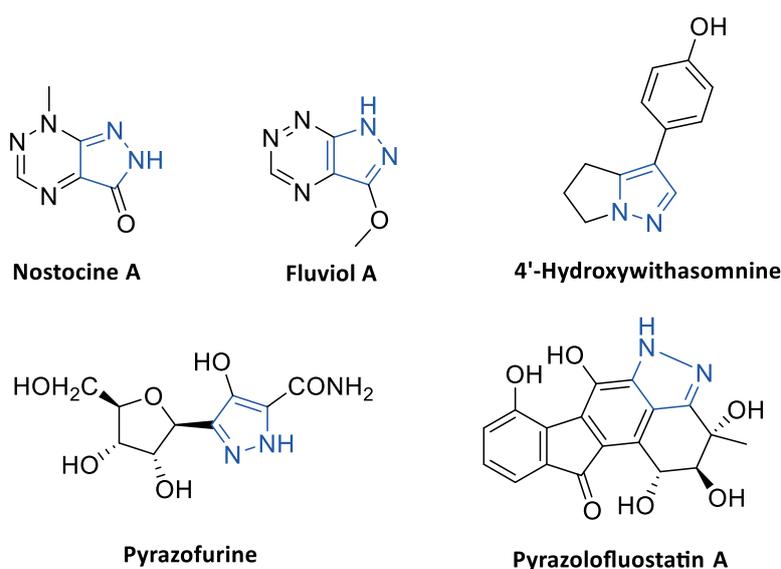


Figure 2.2. Quelques exemples d'alcaloïdes contenant le noyau pyrazole.

L'acide (*S*)-2-amino-3-(1*H*-pyrazol-1-yl)propanoïque est un isomère de l'histidine qui possède une activité antidiabétique, il a été isolé pour la première fois en 1957 à partir de *Citrullus vulgaris* dans du jus de pastèque (Fig. 2.3). Ce produit naturel est le premier exemple d'acide α -aminé contenant un noyau pyrazole.^{11,12} Récemment le pyrrolopyrazole (**p1**) et son dérivé galactosylé (**p2**), représentés dans la figure 2.3, ont été isolés à partir des graines de *Citrullus lanatus*, une espèce de pastèque.¹³ Ces composés ont été classés comme alcaloïdes pyrazoliques et considérés comme dérivés de l'acide (*S*)-2-amino-3-(1*H*-pyrazol-1-yl)propanoïque.

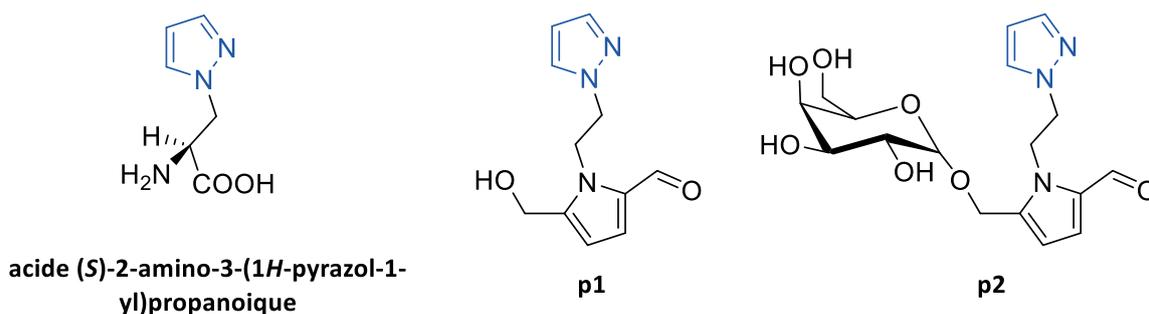


Figure 2.3. Quelques alcaloïdes naturels dérivés de pyrazole

Dans la famille de la mangrove sur pilotis, *Rhizophora apiculata*, qui est un arbre qu'on retrouve en Inde et dans les pays du Pacifique Ouest, est utilisé en médecine traditionnelle. L'écorce de mangrove sur pilotis est associée au traitement de divers pathologies tel que l'angine de poitrine, des furoncles et des infections fongiques.¹⁴ L'étude des principaux composants actifs de *Rhizophora apiculata* a été réalisée, et la caractérisation des constituants de l'extrait de la plante entière a révélé la présence de nouveaux dérivés de pyrazole et autres composés apparentés, dont un dérivé de 4,5-dihydropyrazolyltriazole (**p4**) et le *N*-phényl-1-pyrazolidine carboxamide (**p5**) (Fig. 2.4).¹⁵

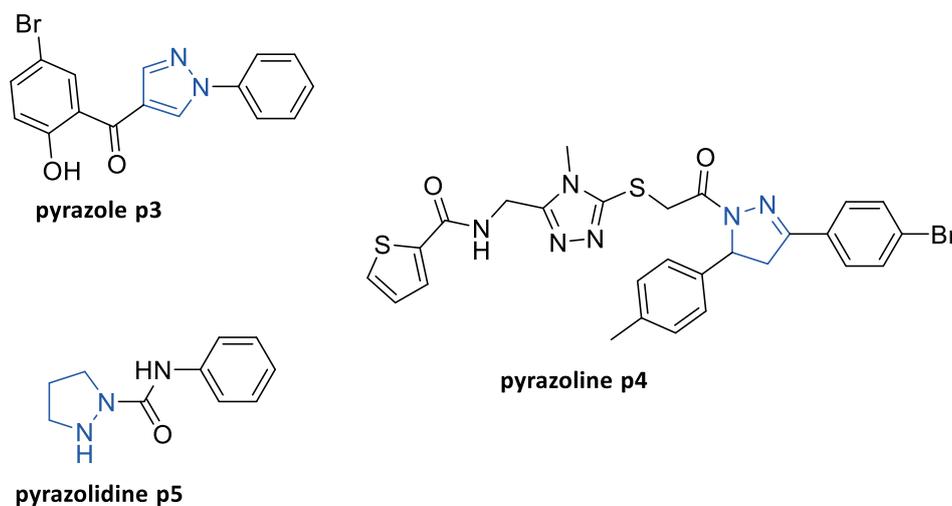


Figure 2.4. Quelques composés naturels à noyau pyrazole et composés apparentés

➤ Approche synthétique

Outre les composés naturels, un grand nombre de composés synthétiques comportant un noyau pyrazole possédant d'importantes propriétés physiologiques et pharmacologiques sont également connus¹. Les dérivés de pyrazole représentent l'une des classes les plus actives de composés à large spectre d'activités biologiques.^{1,16,17}

Ces dernières années, plusieurs médicaments ont été développés à partir des dérivés du pyrazole comme le **celecoxib** (Célébrex®) qui possède un effet anti-inflammatoire remarquable, et inhibiteur la COX-2¹⁸, le **rimonabant** qui fonctionne comme récepteur cannabinoïde, est utilisé dans le traitement de l'obésité¹⁹. Le **fomépipzole** inhibe l'alcool déshydrogénase²⁰, l'**allopurinol** est l'un des traitements les plus efficaces pour la goutte²¹, tandis que la **phénazone** est un agent antipyrétique puissant utilisé pour le traitement symptomatique de l'otite moyenne aiguë, le plus souvent en association avec la benzocaïne²² (Fig. 2.5).

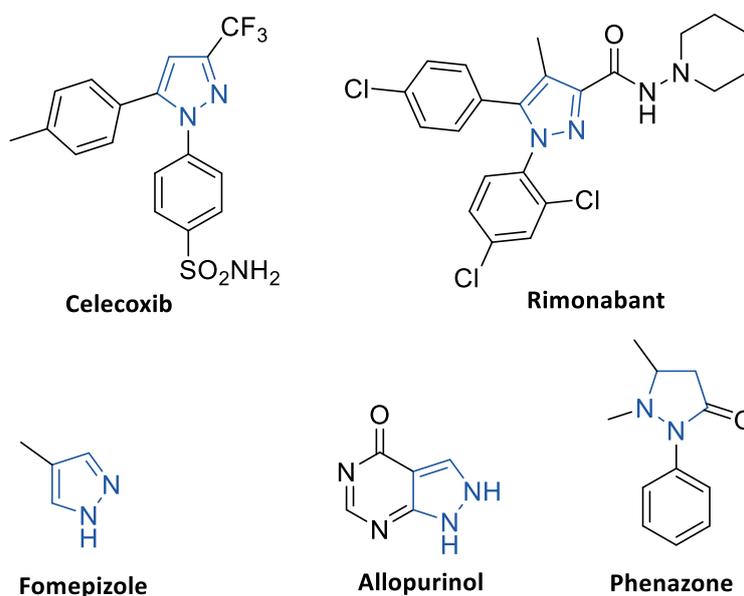


Figure 2.5. Quelques médicaments comportant le motif pyrazole et dérivés apparentés.

En agriculture, des dérivés à base de pyrazole ont trouvé des applications comme pesticides. Un mode de bio-toxicité relativement nouveau contre les insectes et les tiques a été découvert dans certains dérivés du pyrazole (Fig.2.6). Le **fenpyroximate** possède une activité uvénoïde, supprimant la mue des larves chez les tiques par l'inhibition du cofacteur NADH dans le processus de phosphorylation oxydative mitochondriale,²³ le **tebufenpyrad** montre une toxicité systémique, par un mécanisme similaire, contre une série de tiques végétales.²⁴ Le **pyrazoxyfen**, est un nouveau composé possédant dans sa structure un cycle pyrazole. C'est un herbicide à puissante activité non seulement sur les mauvaises herbes annuelles telles que *Echinochloa* spp, mais aussi sur les adventices vivaces telles que *Cyperus serotinus* RoTTB et *Sagittaria pygmaea* MIQ.²⁵

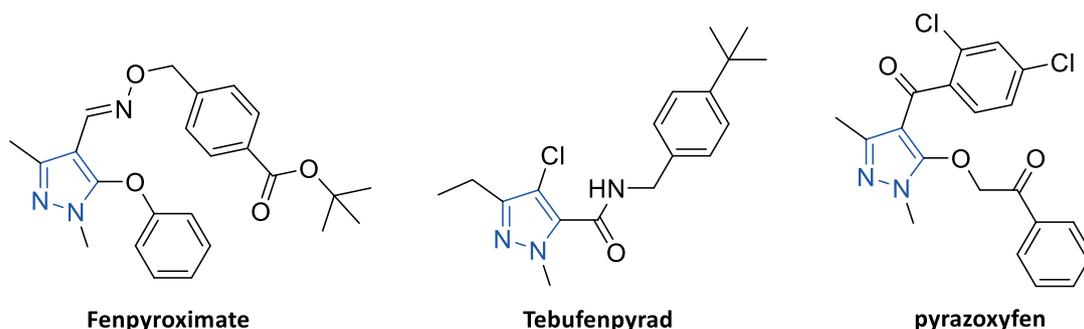


Figure 2.6 Quelques dérivés de pyrazole utilisés dans le domaine agricole.

Dans le domaine des colorants, une blancheur parfaite peut rarement être obtenue dans la fabrication de revêtements en lin, en papier et en plastique car ces matières ont souvent une teinte jaunâtre qui s'intensifie fréquemment pendant l'utilisation. À l'époque moderne, l'application de ce que l'on appelle « agents azurants » a atteint l'objectif souhaité (une blancheur parfaite), leur efficacité est due à l'émission de lumière bleue par luminescence, ces blanchisseurs optiques sont en fait des colorants fluorescents incolores. Les 2-pyrazolines et leurs dérivés sulfonées contenant deux, trois et quatre groupements phényles ont été synthétisées et examinées en tant qu'agents de blanchiment fluorescents de la laine.^{26,27}

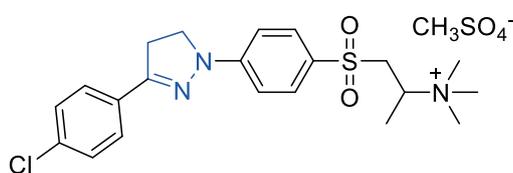
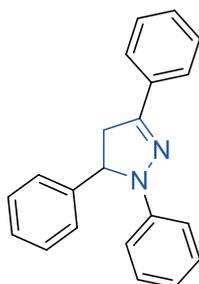


Figure 2.7. Un « agent azurant » à base de pyrazoline

Ces luminophores se sont avérés également irremplaçables en tant que marqueurs et traceurs pour une multitude d'applications.^{28,29} Parmi les agents de scintillation hétérocycliques, la 1,3,5-triphényl-2-pyrazoline (Fig. 2.8) dissoute dans des solvants organiques est souvent utilisée comme agent scintillateur liquide. Ces solutions peuvent être préparées dans un volume pratiquement illimité, et les luminophores sont donc particulièrement utiles pour détecter la présence de particules à très faible densité d'écoulement.³⁰



1,3,5-triphenyl-2-pyrazoline

Figure 2.8. Un agent luminophore "scintillateur liquide" à base de pyrazoline

1.3. Quelques méthodes de synthèse de pyrazoles et autres pyrazolines

Les approches classiques pour la préparation des pyrazoles substitués impliquent soit la formation de deux liaisons C-N par condensation d'hydrazines avec des composés 1,3-dicarbonylés (ou leurs équivalents, les 1,3-diélectrophiles) (schéma 2.2, voie a), ou bien la génération d'une liaison C-N et une liaison C-C par des réactions de cycloaddition [3+2] intermoléculaires en faisant réagir des dipôles-1,3 (des diazo-composés) avec des dipolarophiles (dérivés insaturés) (schéma 2.2, voie b).^{31,32}

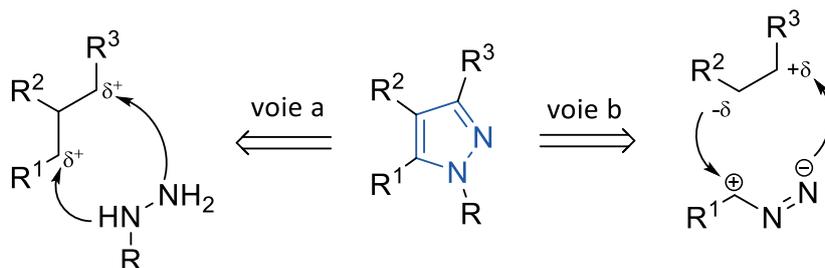


Schéma 2.2. Schéma rétro-synthétique de la synthèse de pyrazole

1.3.1 La cycloaddition 1,3-dipolaire

La réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire constitue l'un des outils de synthèse les plus puissants pour fournir des hétérocycles à cinq chaînons de manière stéréo-contrôlée, dont les pyrazoles substitués.³³ Trois classes principales de 1,3-dipôles ont été utilisées comme synthons [CNN], à savoir, les diazoalcanes, les nitrilimines, et les imines d'azométhine, le fragment [CC] proviendrait d'alcènes ou d'alcynes (schéma 2.3).

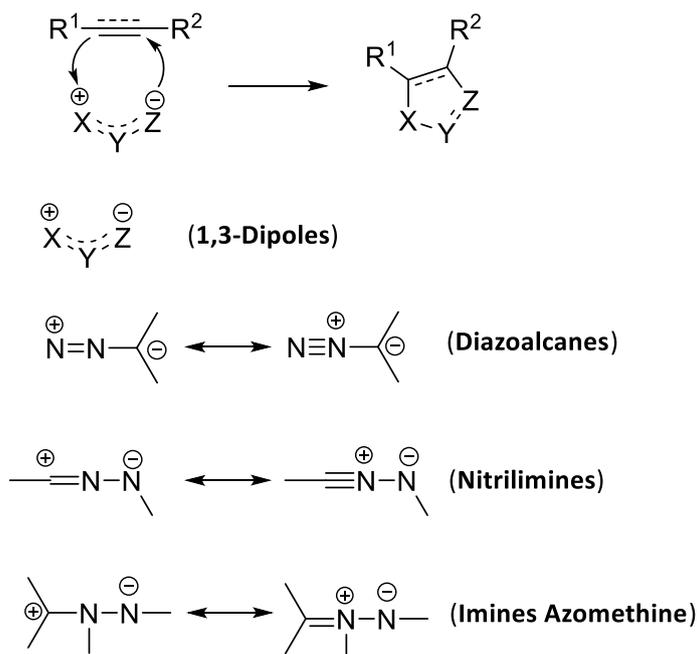


Schéma 2.3 : Les dérivés de pyrazole et la cycloaddition 1,3-dipolaire

1.3.2 La cyclo-condensation des composés 1,3-diélectrophiles avec des dérivés de l'hydrazine

La méthode de synthèse la plus courante pour la préparation des pyrazoles fonctionnalisés en positions 3 et 5 consiste en une addition-cyclo-condensation intramoléculaire de dérivés de l'hydrazine, qui agit comme un double nucléophile, à une entité à trois carbones comportant deux carbones électrophiles dans une position 1,3 (schéma 2.4), tels que les 1,3-dicarbonylés (I), les dérivés carbonyles α,β -insaturés (II, III), et les β -énaminones ou les composés apparentés (IV).

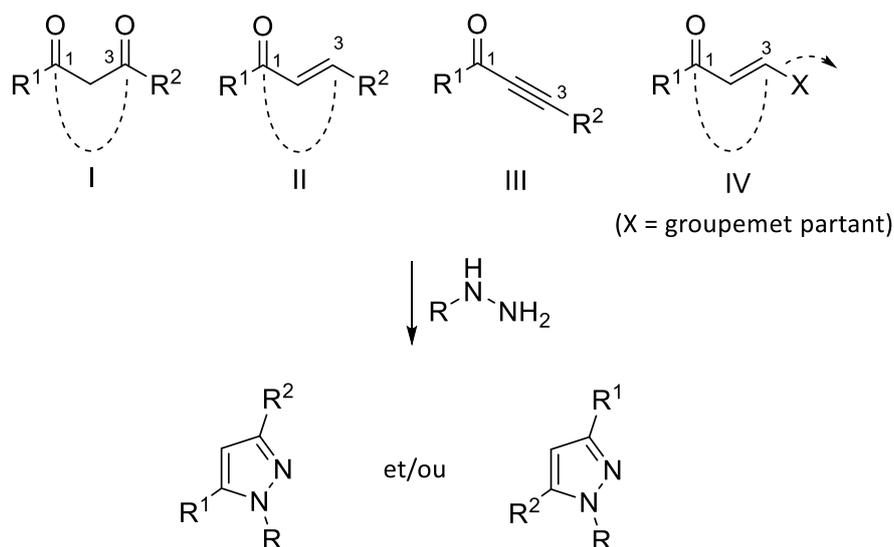


Schéma 2.4. Synthèse de pyrazoles par addition-cyclo-condensation de dérivés de l'hydrazine

1.3.3 Autres méthodes

Une méthode de synthèse "verte" utilisée dans la préparation de pyrazoles a récemment été rapportée par *Wen J. et al.*³⁴ Cette méthode consiste en une réaction de condensation de cétones α,β -insaturées, avec le *p*-toluène sulfonyl hydrazide dans l'eau, catalysée par l'hydroxyde de sodium et en présence de bromure de *tétra-n*-butylammonium (TBAB) comme catalyseur de transfert de phase. Après extraction avec l'acétate d'éthyle les pyrazoles sont obtenus avec des rendements de 69 à 99 %.

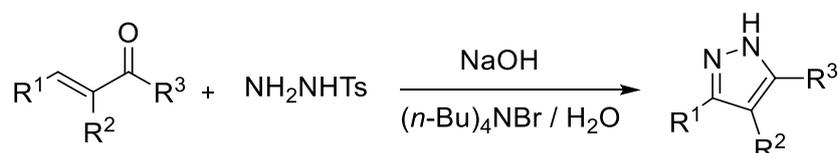


Schéma 2.5. Une méthode de synthèse de pyrazole par la chimie « verte »

Une autre voie de synthèse simple de pyrazole à partir de cétone α,β -insaturées a été décrite par *Bhat, B. A et al.*³⁵ Cette méthode consiste en une réaction d'époxydation de cétone α,β -insaturé en présence de peroxyde d'hydrogène, l'époxychalcone obtenue est ensuite traitée par l'hydrazine

hydrate pour avoir une 3-hydroxypyrazoline qui réagit en présence d'un mélange acide acétique/acide sulfurique pour former le pyrazole correspondant.

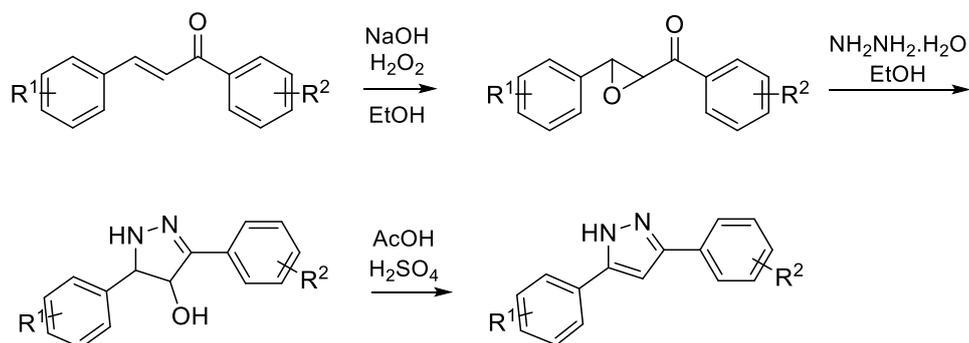


Schéma 2.6. Synthèse de pyrazole *via* des époxydes

Ces dérivés de pyrazole ont montré une activité cytotoxique *in vitro* intéressante contre une variété de lignées cellulaires.³⁶

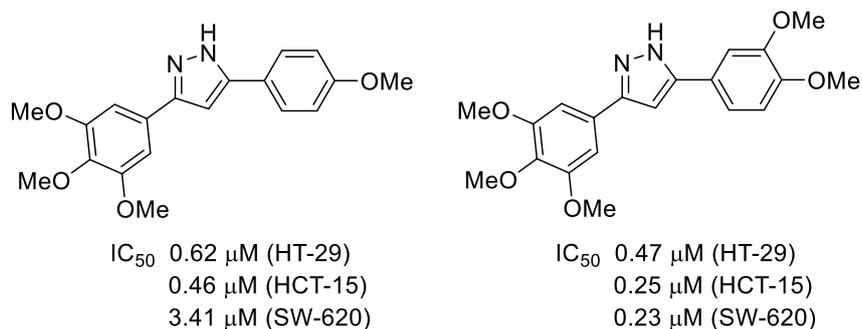


Figure 2.9 Quelques dérivés de pyrazole à activité antitumorale

En plus de leurs intéressantes activités biologiques, les chalcones (di-aryl cétone α,β -insaturée) peuvent également servir comme matière première pour la synthèse d'autres molécules bioactives de structure plus complexe tel que les pyrazolines, les pyrimidines, les isoxazolines et autres thiazolines. La disponibilité de dérivés d'acétophénone et de benzaldéhyde substitués commerciaux, a permis l'élargissement de la chimiothèque de ces composés.

Le noyau 2-pyrazoline, dans la plupart du temps, est obtenu par chauffage de la chalcone correspondante en présence d'un excès d'hydrazine dans l'éthanol pendant un temps relativement court (1 à 2 heures). Le mécanisme peut être visualisé comme une addition de type 1,2 de l'hydrazine pour donner une hydrazone, qui suite à une addition intramoléculaire conduit au cycle pyrazoline.^{37,38} La tautomérisation conduit au motif structural le plus stable « 2-pyrazoline » dans lequel la double liaison est en position benzylique (schéma 2.7).

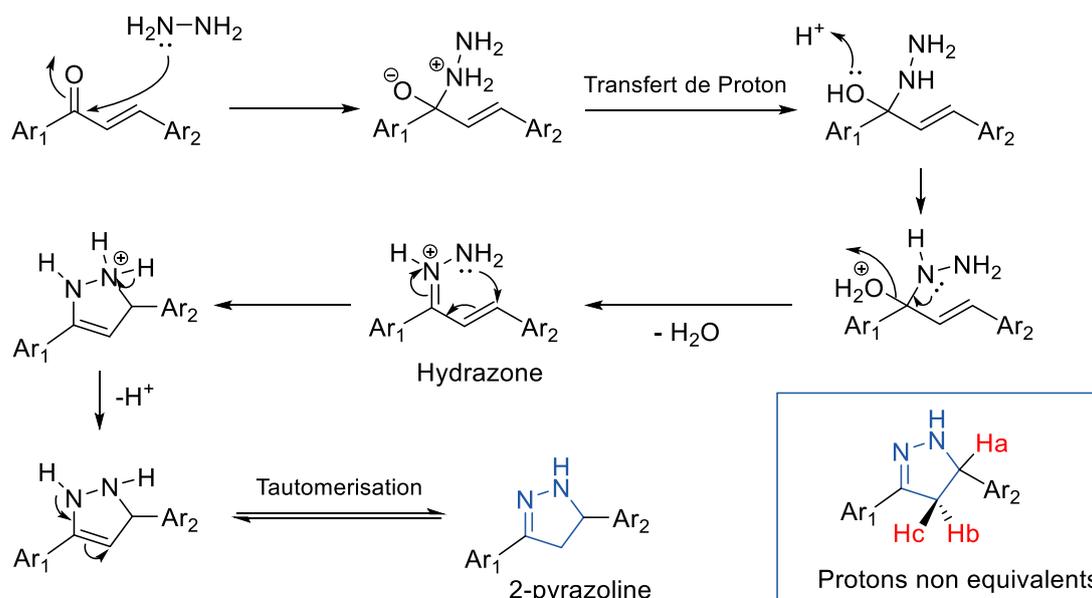


Schéma 2.7 Mécanisme de formation de 2-pyrazolines

Cette méthode de synthèse a depuis subi quelques améliorations et autres optimisations en utilisant différents catalyseurs, et autres conditions opératoires.

*R. Gupta, et al.*³⁹ ont rapporté une méthode de synthèse des dérivés de la 2-pyrazoline à activité antimicrobienne avérée, par réaction de chalcones avec la phénylhydrazine dans l'acide acétique glacial sous irradiation ultrasonique.

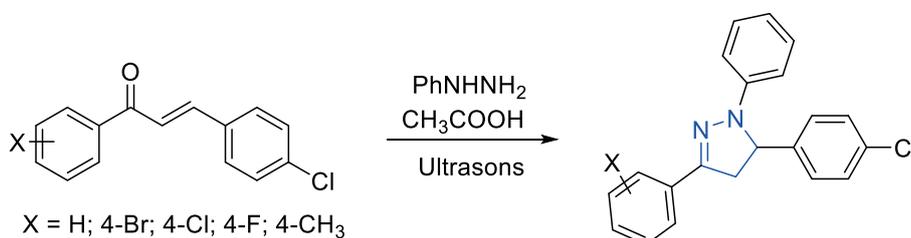
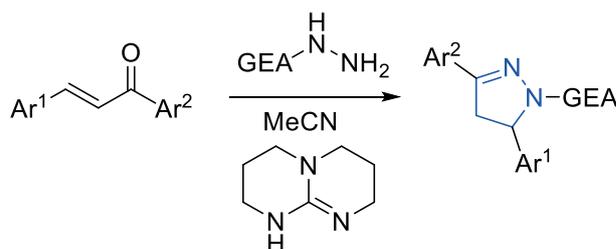


Schéma 2.8. Synthèse de 2-pyrazoline en milieu acide sous irradiation ultrasonique.

*O. Mahe, et al.*⁴⁰ ont synthétisé une série de 3,5-diarylpirazolines *N*-substitués, selon une séquence domino aza-Michaël-cyclo-condensation en utilisant une base de type guanidine (*tri*-azabicyclodécène) (schéma 2.9). La réaction se déroule à 60°C dans l'acétonitrile anhydre et conduit aux pyrazolines avec des rendements variables entre 68 et 84%.



GEA (EWG) : groupement électroattracteur

Schéma 2.9 : Synthèse de 2-pyrazolines par une réaction aza-Michaël-cyclo-condensation

2. Le pouvoir antioxydant et le stress oxydatif

2.1. Introduction

De nombreux processus qui se déroulent à l'intérieur de nos cellules et dans la nature en général (respiration cellulaire, *oxidative burst*) présentent parfois des effets négatifs. Parmi ces processus on retrouve la chaîne de transport d'électrons, bien que celle-ci nous permette de générer une quantité d'énergie élevée (molécules d'ATP), ce n'est pas un processus parfait. En effet, elle génère parfois des sous-produits nocifs pouvant endommager les cellules (Fig 2.10). Ces sous-produits nocifs sont en fait des molécules dérivées de l'oxygène, ils sont appelés espèces réactives de l'oxygène (**ERO**). Les espèces réactives de l'oxygène peuvent également être produites par des processus externes (à savoir les xénobiotiques, l'ozone, le smog photochimique, l'exposition cutanée aux rayons ultraviolets, la chimiothérapie, les cancérogènes et les rayonnements ionisants).

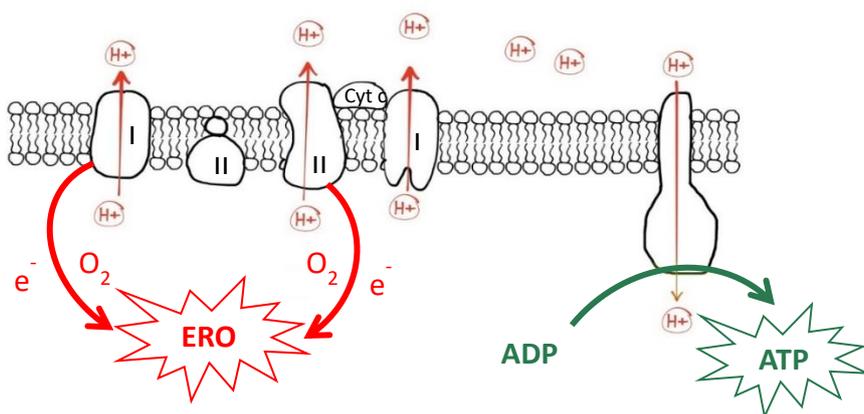


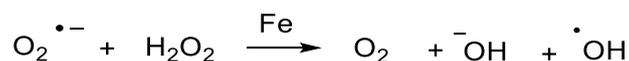
Figure 2.10 Processus de formation des ERO au niveau de la chaîne de transport des électrons

Les ERO impliquées sont principalement constituées de radicaux oxygénés (superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et hydroxyle (OH^{\cdot})), mais aussi certains dérivés non radicalaires susceptibles de former des radicaux tels que l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'ozone (O_3). Une élévation de la concentration dans la cellule d'une variété ERO entraîne un déséquilibre entre ces dernières et les défenses antioxydantes de l'organisme. Ceci caractérise un phénomène appelé « stress oxydatif ».

Les actions cytotoxiques des ERO sont accrues en présence de catalyseurs à base de métaux de transition (fer, cuivre), le fer étant le métal de transition le plus abondant. La capacité

de ce métal à exister dans deux états rédox le rend utile au centre catalytique des réactions biochimiques fondamentales. Le fer peut réagir avec $O_2^{\bullet -}$ et H_2O_2 , donnant lieu à un radical OH^{\bullet} qui est considéré comme le plus réactif de tous les radicaux oxygénés, *via* la réaction de *Haber-Weiss* ou de *Fenton*,⁴¹ respectivement.

La réaction de *Haber-Weiss* :⁴²



La réaction de *Fenton* :⁴³



Schéma 2.10. Quelques équations chimiques portant formation de radicaux libres

2.2. Les dommages oxydatifs

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent facilement oxyder (endommager) les composantes cellulaires : lipides, protéines, glucides et autres acides nucléiques.

Le radical superoxyde $O_2^{\bullet -}$ ne réagit pas particulièrement avec les lipides, les glucides ou les acides nucléiques, mais participe avec une réactivité limitée dans la métallo-catalyse de l'oxydation des protéines contenant des groupes prosthétiques de métal de transition, tels que des fractions de l'hème qui contient du fer.⁴⁴ De telles réactions endommagent les acides aminés et peuvent causer la désactivation de certains enzymes (Fig. 2.11).⁴⁵

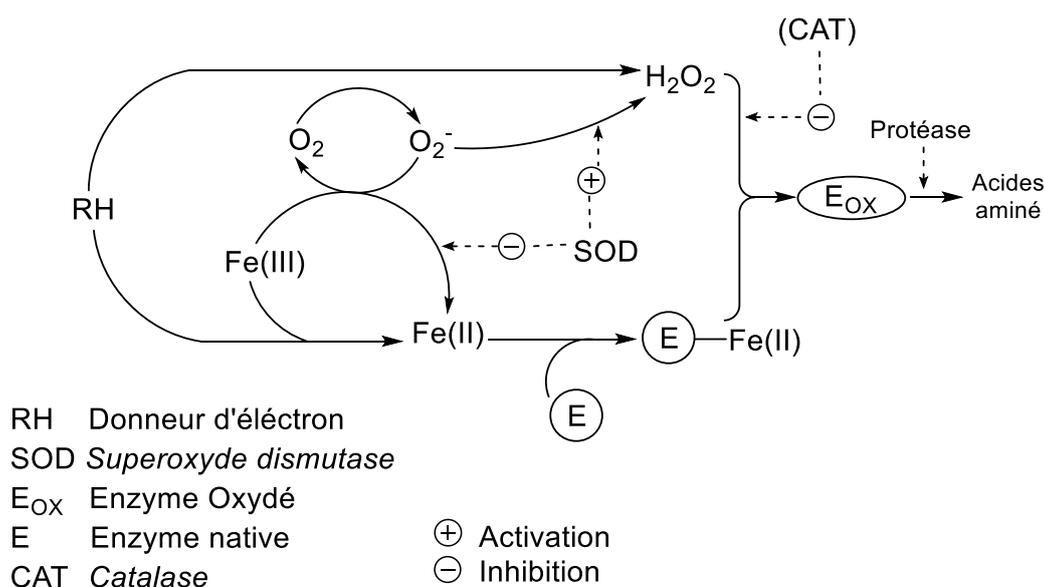


Figure 2.11 Représentation schématique du rôle du fer en présence du radical superoxyde dans la dégradation des enzymes

2.3. Les Antioxydants

Les antioxydants sont le mécanisme de défense de l'organisme contre les ERO. Ces substances ont la capacité de piéger les radicaux libres, de réduire les oxydants ou de chélater les ions de métaux de transition (Fe, Cu), sans pour autant être elles-mêmes déstabilisées, et jouent donc un effet protecteur contre le stress oxydatif.

2.3.1. Les antioxydants endogènes (mécanismes de défense cellulaire)

En raison de l'implication des ERO dans les dommages causés aux composants cellulaires, une grande attention a été accordée aux systèmes antioxydants cellulaires, et à leur importance dans la prévention ou la suppression de ces dommages. Les mécanismes de défense cellulaire comprennent des systèmes enzymatiques et non enzymatiques, qui agissent parfois en synergie. Le glutathion (GSH) (Fig. 2.12), un *tri*.peptide omniprésent, est une molécule de défense non enzymatique présente dans la plupart des cellules de mammifères à des concentrations élevées. On pense qu'elle joue un rôle crucial dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs.

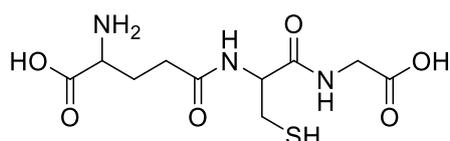


Figure 2.12 Structure du glutathion

Parmi les systèmes antioxydants enzymatiques connus, les mieux caractérisés sont :

➤ Le GPx (*Glutathion peroxydase*) qui métabolise H₂O₂ et réduit les radicaux de peroxydation lipidique tels que LOOH. Dans ce processus, le GSH est oxydé en glutathion disulfure (GSSG). La *glutathion réductase* GSR utilise ensuite le NADPH pour réduire une molécule de GSSG en deux molécules de GSH, permettant ainsi l'action continue de la *glutathion peroxydase* GPx.

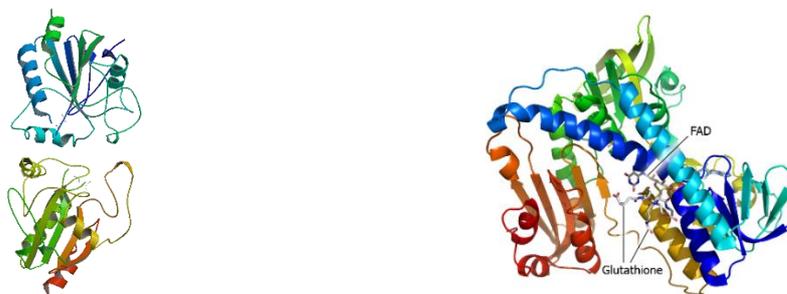


Figure 2.13 Représentation schématisée de la réaction de peroxydation par le Glutathion.

➤ La *superoxyde dismutase* qui convertit le radical anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ en peroxyde d'hydrogène H_2O_2

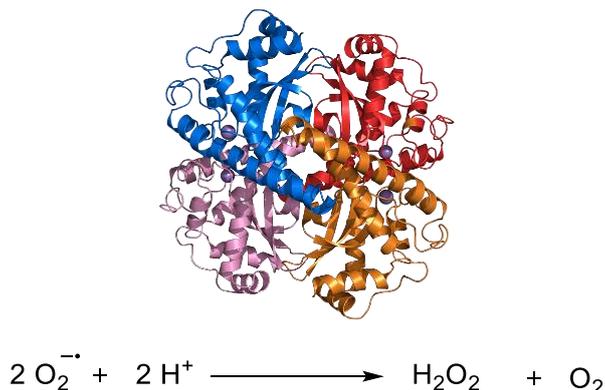


Figure 2.14 Représentation schématique de la réaction d'oxydation par la *superoxyde dismutase*.

➤ La *catalase*, qui sert à catalyser la décomposition du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en eau (H_2O) et en oxygène moléculaire O_2 .

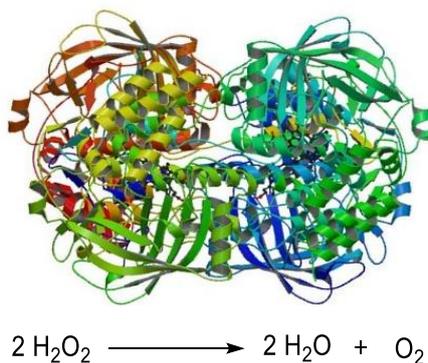


Figure 2.15 Représentation schématique de la *catalase*

2.3.2. Les antioxydants exogènes.

Les systèmes de défense antioxydants endogènes sont incomplets sans la participation de composés réducteurs provenant de la nature, et issues de l'alimentation comme source principale tels que la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes, les polyphénols et les flavonoïdes. Cette catégorie d'antioxydants joue un rôle essentiel dans de nombreux mécanismes antioxydants chez les organismes vivants.

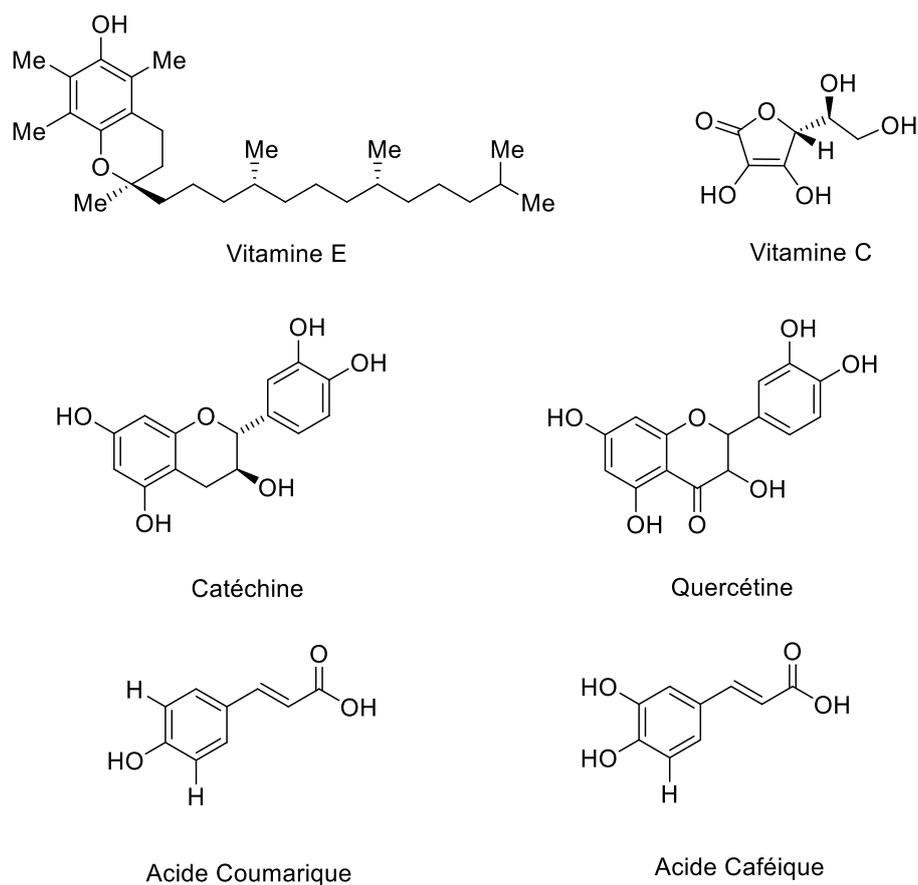


Figure 2.16 Structures moléculaires de quelques antioxydants naturels

Au cours des dernières décennies, l'industrie alimentaire a manifesté un intérêt croissant pour la synthèse de nouveaux antioxydants (AO). Ces composés sont souvent caractérisés par un squelette structural apparenté aux antioxydants naturels.

Parmi les antioxydants synthétiques les plus utilisés, le BHA, le BHT et les esters de l'acide gallique se sont révélés très efficaces, et ont trouvé une large application comme conservateurs dans les produits cosmétiques et autres alimentaires afin de protéger les lipides du rancissement.

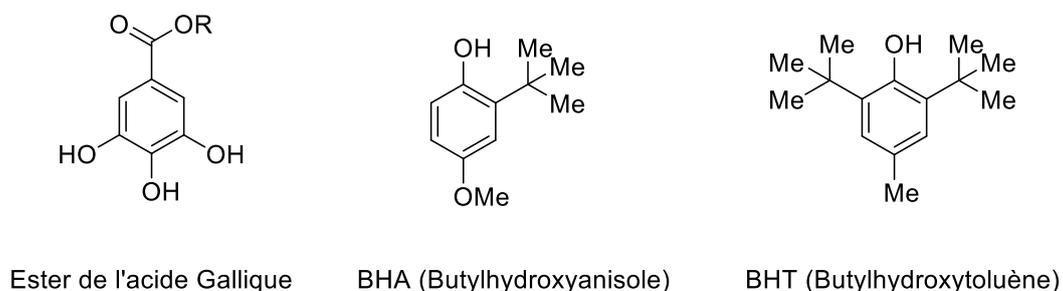
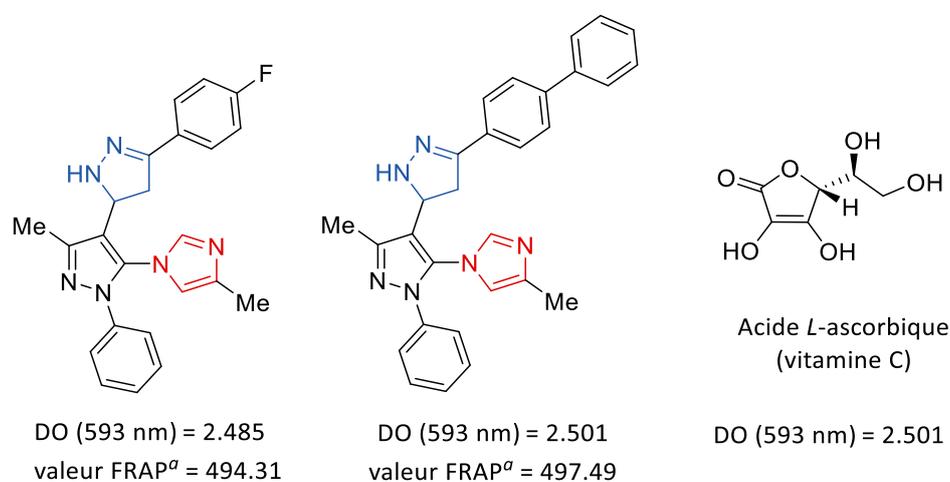


Figure 2.17 Structures moléculaires de quelques antioxydants synthétiques

2.4. La pyrazoline comme agent antioxydant potentiel

De récents travaux de recherche ont révélé que certains dérivés de la 2-pyrazoline ont un potentiel considérable en tant qu'agents antioxydants, parmi ces derniers on citera :

Les travaux de *Kalaria et al.*⁴⁶ concernant la synthèse et l'évaluation biologique *in vitro* de certains dérivés nouveaux du 5-imidazopyrazole incorporant un noyau imidazole. Les composés synthétisés ont été évalué pour leur activité antioxydante *in vitro* en utilisant la méthode FRAP (pouvoir réducteur du fer ferrique). Les résultats obtenus indiquent que la majorité des 2-pyrazolines testées sont de bons antioxydants avec des valeurs de FRAP allant de 421,71 à 497,49 mmol pour 100 g de substrat.



FRAP (valeur) : équivalents mmol. d'acide ascorbique pour 100 g de composé

Figure 2.18 Quelques dérivés hybrides pyrazoline-pyrazole-imidazole antioxydants

Récemment *El Bordiny et Coll.*⁴⁷ ont préparé des hybrides dans lesquels le 2-phénylindole est substitué par un cycle pyrazoline en position 3. Ces dérivés se sont avérés être d'excellents agents antioxydants, exhibant un pouvoir inhibiteur de radical DPPH supérieur à celui de l'acide ascorbique (naturel).

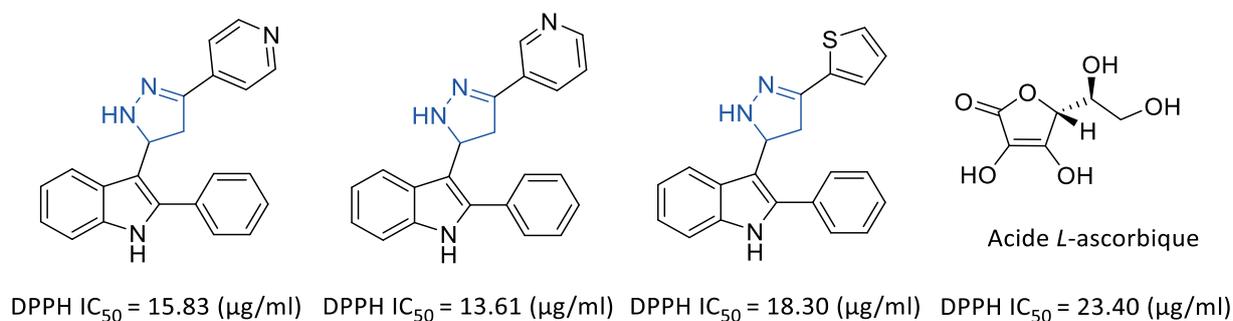


Figure 2.19 Quelques dérivés hybrides indole-pyrazoline-pyridine (thiophène) antioxydants

3. Objectifs ciblés

L'objectif principal de ce chapitre est la conception de nouveaux dérivés hybrides tricycliques associant deux noyaux hétérocycliques, imidazole-pyrazole et imidazole-pyrazoline, et l'étude de leurs activités biologiques (antioxydante, anticancéreuse).

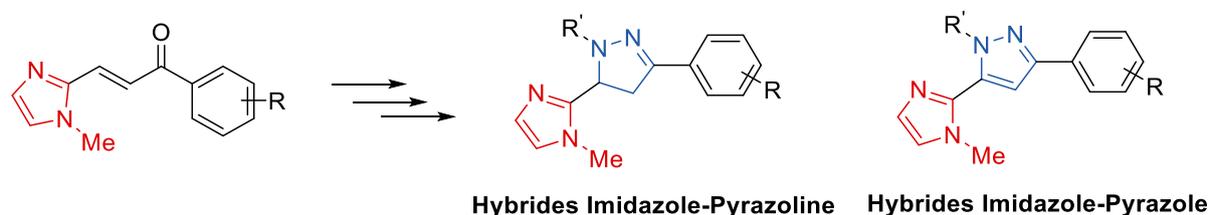


Figure 2.20 Hybrides imidazole-2-pyrazoline et -pyrazole /aryle ciblés

Une variété de dérivés d'hydrazine différemment substitués sera utilisée pour produire des 2-pyrazolines structurellement apparentés porteurs de substituants divers en position 1 et un groupement méthoxyle en position 4 du groupement phényle.

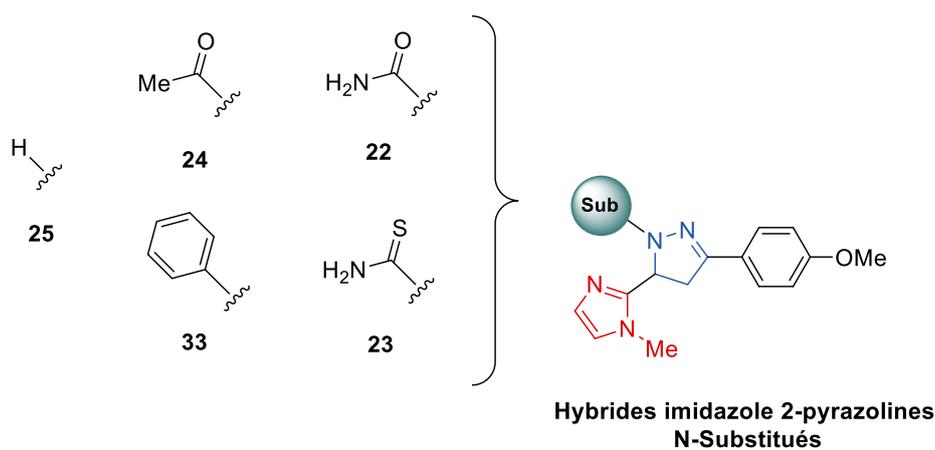


Figure 2.21 Hybrides imidazole-2-pyrazoline *N*-substitués ciblés

Susceptible de présenter le meilleur profil antioxydant, le composé **25** a été sélectionné comme tête de série pour élargir la série des 2-pyrazolines en préparant les hybrides *N*-H pyrazoline-imidazole différemment substitués en position 4 sur le noyau phényle, permettant ainsi une étude SAR.

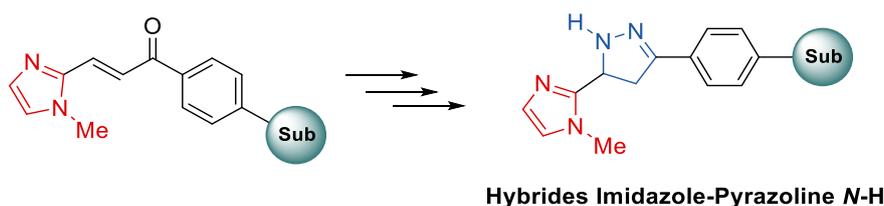


Figure 2.22 Hybrides imidazole-2-pyrazoline *NH*-Aryle substitués en *para* ciblés

4. Travaux réalisés et discussion des résultats obtenus

4.1. Préparation de dérivés de 2-pyrazoline

4.1.1. Préparation de 3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole-1-carboxamide (**22**) et 3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole-1-carbothioamide (**23**)

L'addition à la chalcone **1** dissoute dans l'éthanol, de 2 équivalents de dérivés de l'hydrazine [semi-carbazine X=O ou de thiosemi-carbazine X=S], suivie d'une alcalinisation (addition de solution aqueuse d'hydroxyde de potassium (10%)), conduit après chauffage à reflux et traitement aux produits **22** et **23** pratiquement purs avec de bons rendements.

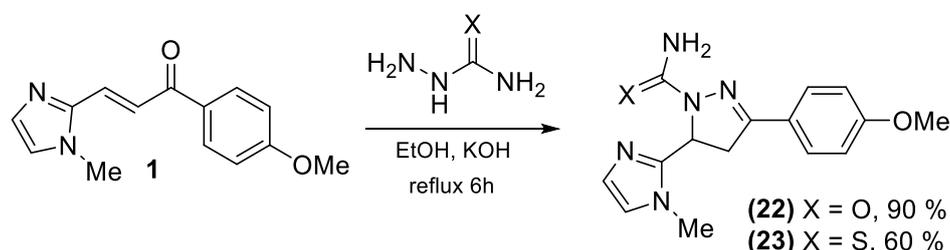


Schéma 2.11 Préparation des dérivés hybrides imidazole-2-pyrazoline **22** et **23**

Les résultats des analyses par RMN ¹H, RMN ¹³C et spectrométrie de masse des composés **22**, et **23** sont en bon accord avec les structures proposées.

4.1.2. Préparation de 1-(3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl) éthan-2-one (**24**)

Dans le but d'introduire un groupement acétyle en position 1 du noyau 2-pyrazoline, nous avons opté pour la méthode décrite par *Nepali, et al.*⁴⁸ en faisant réagir la chalcone **1** avec l'hydrazine monohydrate au reflux de l'acide acétique. Après traitement, le 1-(3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-one **24** est obtenu avec un rendement de 65% (schéma 2.12).

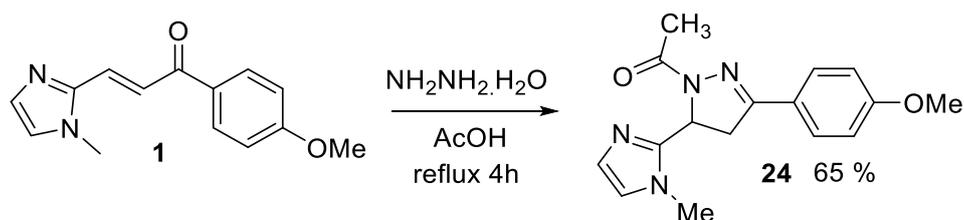


Schéma 2.12. Préparation du dérivé hybride imidazole-2-pyrazoline **24**

4.1.3. Préparation des dérivés de 2-pyrazoline non substitués en position 1

Pour la préparation des dérivés hybrides imidazole-pyrazoline **25-31** non substitués en position 1, nous avons opté pour le procédé décrit par Vishnu-Nayak, *et Coll.*⁴⁹ Ce procédé consiste en une réaction « condensation-cyclisation », des chalcones **1, 4-9** en présence d'un excès d'hydrazine monohydrate, au reflux de l'éthanol pendant 4 heures. La réaction est illustrée dans le schéma 2.13.

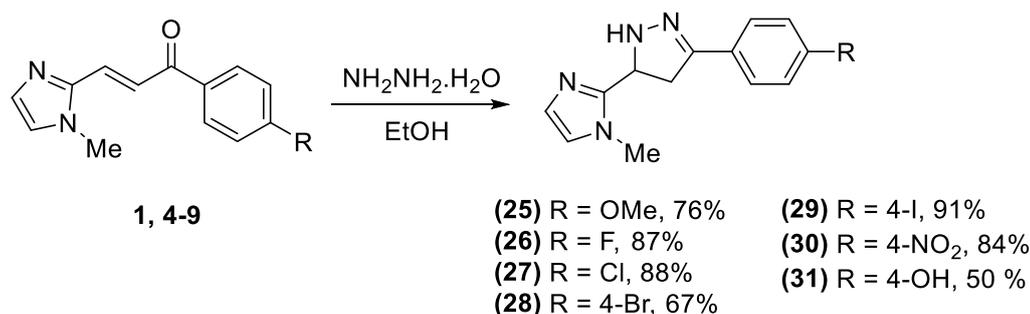


Schéma 2.13. Dérivés hybrides imidazole-2-pyrazoline *N*-hydrogénés préparés

Les résultats des analyses par RMN ¹H, RMN ¹³C et spectrométrie de masse des composés **25 - 31** sont en bon accord avec les structures proposées.

4.1.4. Préparation de 1-(3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)phényléthan-2-one (**32**)

La réaction du dérivé pyrazolinique **25** avec le chlorure de 2-phénylacétyle dans l'acétone en présence de la triéthylamine comme catalyseur, conduit au 2-(3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)phényléthan-1-one (**32**) avec un rendement de 40% (schéma 2.14)⁵⁰.

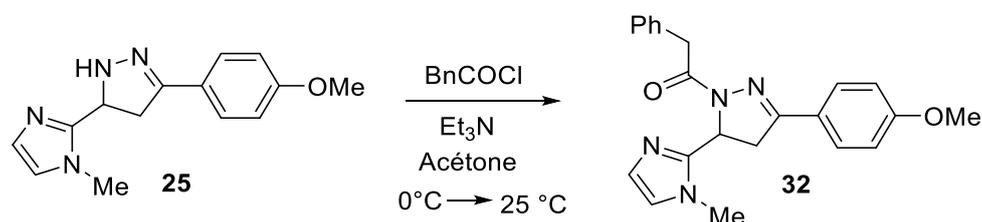


Schéma 2.14 Préparation du dérivé hybride imidazole-2-pyrazoline **32**

Les résultats des analyses par RMN ¹H, RMN ¹³C et spectrométrie de masse du composé **32** sont en bon accord avec la structure proposée.

L'analyse du spectre RMN¹H du composé **32** montre en particulier la présence de signaux caractéristiques des protons du noyau pyrazoline, un doublet de doublet à 5,50 ppm

avec $^3J = 11,5$ et $5,7$ Hz attribué au proton en C5. Les deux protons en C4 sortent sous forme de doublet de doublet à $3,75$ ppm avec des constantes de couplage respectives $^2J = 17,3$ Hz et $^3J = 5,7$ Hz et à $3,61$ ppm avec $^2J = 17,3$ Hz et $^3J = 11,5$ Hz.

4.1.5 Préparation de dérivés de *N*-aryl-2-pyrazoline

Dans le but d'introduire une modification structurale aux 2-pyrazolines *N*-substitués, nous avons introduit des groupements aryles diversement substitués sur l'atome d'azote du noyau 2-pyrazoline. Les composés **33-40** ont été préparés selon la méthode décrite par *Ozdemir*, et *Coll.*⁵¹ qui consiste à faire réagir les chalcones **1-3** et **6** avec une aryl-hydrazine en milieu basique, au reflux de l'éthanol, avec d'excellents rendements (67-91 %). La réaction est illustrée dans le schéma 2.15.

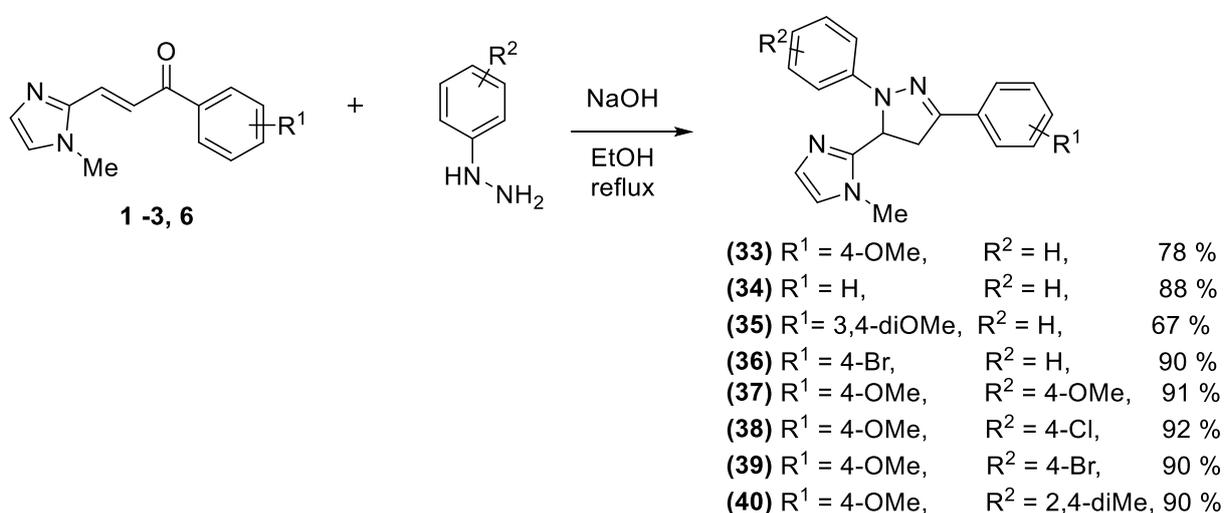


Schéma 2.15. Dérivés hybrides imidazole-2-pyrazoline *N*-substitués préparés.

Les résultats des analyses par RMN ¹H, RMN ¹³C et spectrométrie de masse des composés **33 - 40** sont en bon accord avec les structures proposées.

4.2. Préparation de dérivés imidazole-pyrazole

Plusieurs voies d'accès aux dérivés imidazole-pyrazole ont été explorées pour une étude biologique comparative avec leurs analogues imidazole-2-pyrazoline synthétisés précédemment.

4.2.1. Utilisation des chalcones comme produit de départ

➤ Synthèse de pyrazole *via* un intermédiaire époxyde

La première méthode testée a été rapportée par *Bhat, B. A. et al*³⁵. La préparation du dérivé de pyrazole se déroule en 3 étapes en utilisant une chalcone comme matière première.

Le test a été réalisé en utilisant la chalcone imidazolique **1**, qui réagit en présence de peroxyde d'hydrogène pour donner l'époxychalcone **41**. Cette dernière est traitée avec l'hydrate d'hydrazine pour avoir une 3-hydroxypyrazoline qui réagit *in-situ* en présence d'un mélange acide acétique / acide sulfurique pour former le pyrazole correspondant. Malheureusement, une réaction inattendue s'est produite probablement lors de la 3^{ème} étape (déshydratation) pour donner une 3-hydroxypyrazoline *N*-acétylé **42** à la place du pyrazole attendu (schéma 2.16).

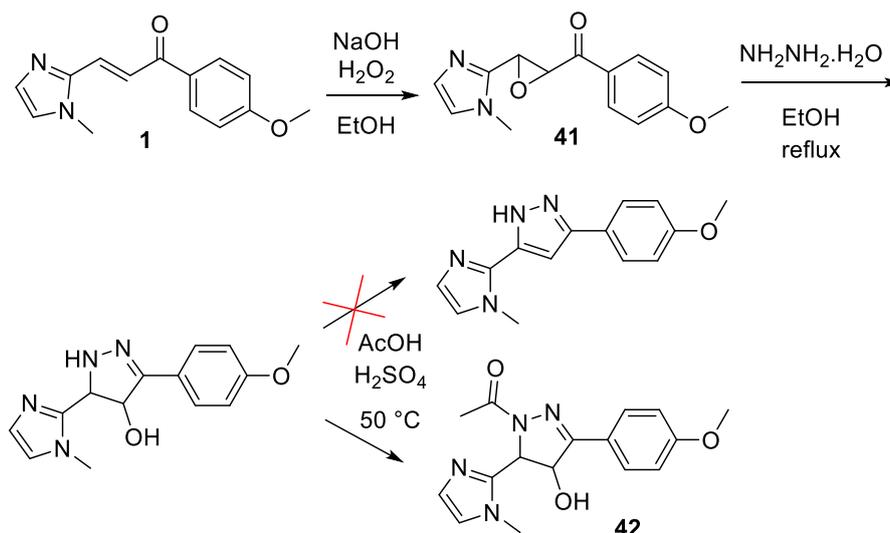


Schéma 2.16 Synthèse de pyrazole à partir de chalcone et époxyde correspondants

L'analyse des résultats de résonance magnétique nucléaire du proton de l'époxychalcone et de la 3-hydroxypyrazoline *N*-acétylé confirme les structures proposées. Dans le spectre de l'époxychalcone **41**, les deux signaux à 5,04 et 4,12 ppm apparaissant sous forme de doublet avec une constante de couplage de 2,0 Hz, confirment la configuration *cis* de l'époxyde. Dans le spectre RMN¹H du dérivé **42**, on notera la présence de deux signaux à 5,36 et 5,15 ppm sous forme de doublets avec une constante de couplage de 2,7 Hz attribués aux protons en C4 et C5 du noyau pyrazoline, le singulet large à 6,46 est attribué au groupement OH en C4. L'introduction d'un groupement acétyle en position 1 du noyau pyrazoline est confirmée par la présence d'un singulet d'intégration 3H à 2,25 ppm.

➤ Synthèse de pyrazole en milieu aqueux

Une autre tentative de synthèse d'hybrides imidazole-pyrazole a été testée selon une méthode rapportée par Wen J. et al.³⁴ qui consiste en une réaction de condensation de 1,3-diarylcétones α,β -insaturées, avec l'hydrazide de tosylo dans l'eau en présence d'hydroxyde de sodium et du bromure de *tétra-N*-butylammonium (TBAB) comme catalyseur de transfert de phase.

Les pyrazoles **43** et **44** ont été préparés et caractérisés avec succès en utilisant cette méthode avec de légères modifications. La réaction a été effectuée sous irradiation micro-ondes à 80 °C dans un temps de réaction court (30 min), et le tosylé hydrazide n'étant pas disponible, il a été remplacé par le benzènesulfonyl hydrazide. Cependant les rendements étaient trop faibles (< 10%), nous avons donc dû explorer d'autres voies d'accès au noyau pyrazole

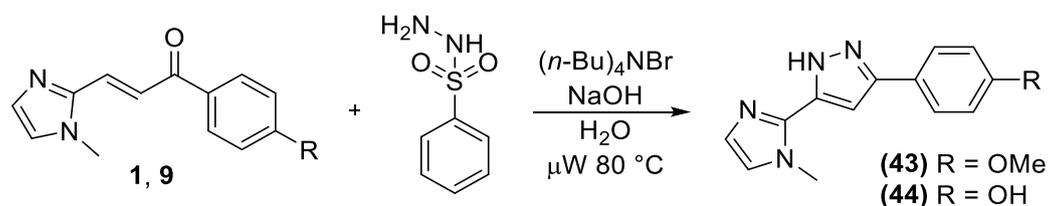


Schéma 2.17 Synthèse de pyrazole *N*-H sous irradiations microondes

L'analyse des spectres RMN ¹H des composés **43** et **44** confirme la structure attendue (spectres en annexe). Le signal caractéristique du noyau pyrazole attribuable au proton en C4 apparaît sous forme d'un singulet d'intégration 1H à 6,89 ppm pour **43** et 6,91 ppm pour **44**.

4.2.2. Utilisation des 2-pyrazolines comme matière première

➤ Oxydation par MnO₂ activé

Une tentative de préparation des dérivé hybrides imidazole-pyrazole par une réaction d'oxydation ménagée a été testée, en utilisant la pyrazoline **30** comme produit de départ selon la méthode mise au point *Huang, Y. R., et Katzenellenbogen, J. A.*⁵² Aucune évolution de la réaction n'a été constaté lors du suivie par CCM, et l'analyse du spectre RMN ¹H du mélange réactionnel ne montre que les signaux de la pyrazoline de départ.

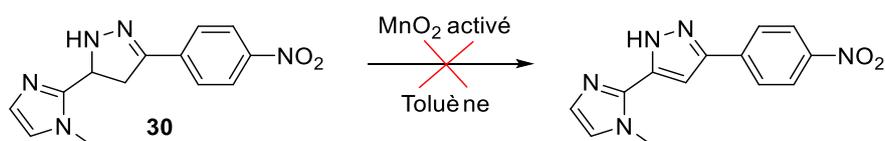


Schéma 2.18 Oxydation de 2-pyrazoline par MnO₂ activé

➤ Oxydation par I₂

Une autre réaction d'oxydation a été également explorée, cette fois en utilisant l'iode comme agent oxydant, selon la procédure rapportée par *Zhang X et al.*⁵³ qui consiste à faire réagir la 2-pyrazoline **30** avec 2 équiv. de I₂ au reflux de l'éthanol. L'analyse par RMN ¹H du mélange réactionnel après 3 jours de réaction montre une dégradation de la pyrazoline de départ (formation de plusieurs taches non séparables) avec un spectre non interprétable, plutôt que la formation du pyrazole désiré.

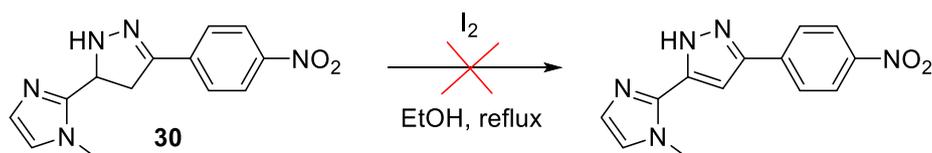


Schéma 2.19 Oxydation de 2-pyrazoline par I₂

4.2.3. Synthèse « one-pot »

Les hybrides imidazole-pyrazole ont été synthétisés avec succès par une réaction one-pot en deux étapes, selon la procédure décrite par *Heller et al.*⁵⁴ mais avec des rendements relativement faibles (10 à 37 %). On fait réagir le 2-acétyl-1-méthyl-1*H*-imidazole **II** avec des dérivés de chlorure de benzoyle (ou le chlorure de naphtoyle en présence de LiHMDS (lithium bis(triméthylsilyl)amide). L'intermédiaire 1,3-dicétone formé est transformé *in situ* en pyrazole par addition d'hydrazine hydratée (schéma 2.20).

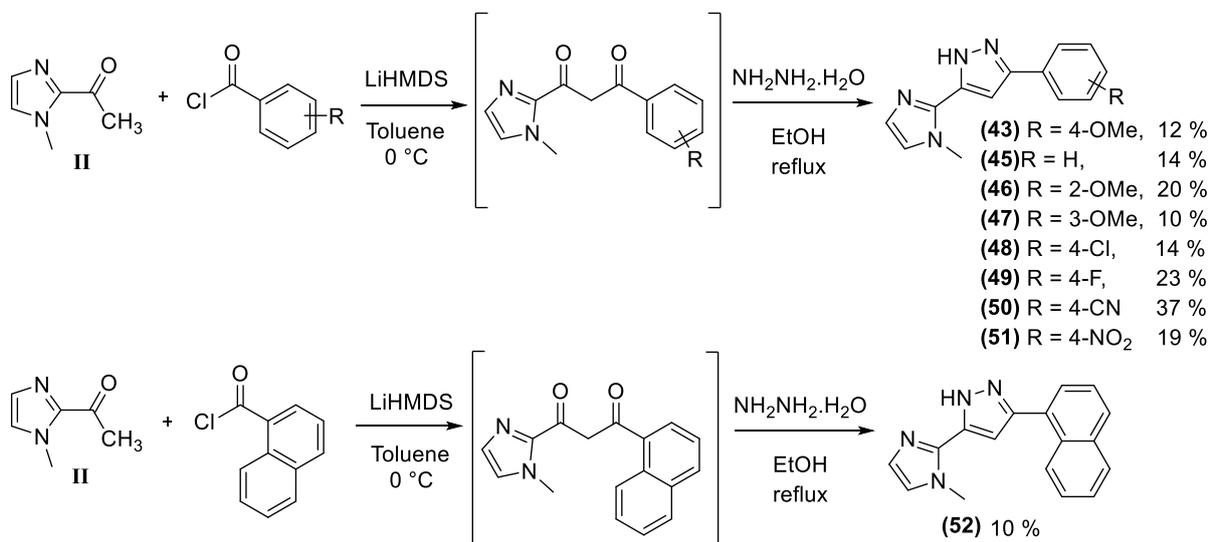


Schéma 2.20. Synthèse de dérivés de pyrazole *N*-H par une réaction one-pot

Les dérivés de pyrazole *N*-H préparés ont été caractérisés par différentes méthodes analytiques (résonance magnétique nucléaire et ESI-HRMS).

L'analyse des spectres RMN ¹H des dérivés de pyrazole (spectres en annexe), montre en particulier l'apparition d'un singulet dans l'intervalle [6,96 – 6,88] ppm (CDCl₃) et [7,45 – 7,25] ppm (Methanol-*d*₄/TFAA) attribué au proton pyrazolique en C4.

L'analyse des spectres RMN ¹³C des composés **43**, **45** et **48** en utilisant le CDCl₃, montrent la présence de tous les signaux attendus, sauf ceux des carbones quaternaires du noyau pyrazole C3 et C5, qui ne sont pas observables dans le CDCl₃, cette observation a également été confirmé antécédemment sur des spectres de dérivés de pyrazoles.⁵⁵

Pour détecter les signaux des carbones C3 et C5, nous avons utilisé le Methanol- d_4 pour une meilleure solubilité, et quelques gouttes de TFAA pour accélérer l'équilibre tautomérique. Les spectres RMN ^{13}C des composés **46**, **47**, **49** et **50** dissous dans le système (Methanol- d_4 /TFAA) montrent la présence de tous les signaux attendus y compris ceux des carbones quaternaires du pyrazole C3 et C5. Cependant le tautomère dominant en solution n'a pu être déterminé et nécessite très probablement de faire de la RMN à basse température pour réduire la vitesse de tautomérisation.

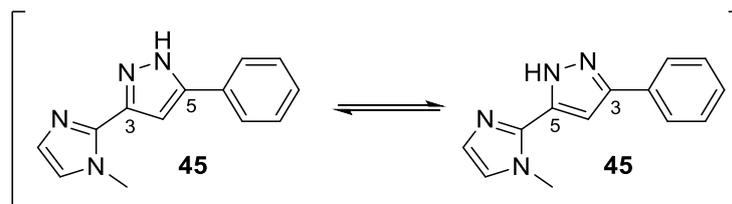


Schéma 2.21 échange tautomérique

L'analyse par rayons X du composé **43** prit comme modèle montre bien que le proton porté par l'azote est bien situé du côté de l'imidazole.

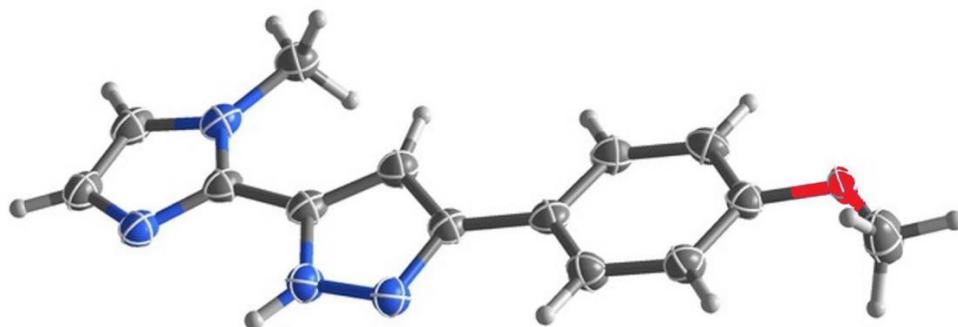


Figure 2.23 représentation ORTEP-Plot du composé **43**

L'analyse des spectres HRMS des composés **43**, **46-52**, montre la présence du pic moléculaire $[\text{M}+1]^+$, et un pic caractéristique correspondant à $[(\text{M}+1) - \text{M}_{\text{Aryle}}]^+$ à $m/z = 149.0117$ Da attribué au fragment représenté dans la figure ci-dessous comportant les deux noyaux imidazole et pyrazole.

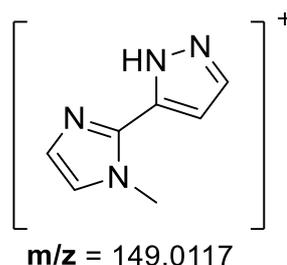


Figure 2.24 Fragment caractéristique imidazole-pyrazole

5. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

5.1. Méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant

L'étude de l'activité antioxydante a été réalisée au Centre national de recherche en biotechnologie (CRBt) de Constantine.

Le pouvoir antioxydant des 2-pyrazolines (**22-31**, **33**) a été évalué en utilisant quatre méthodes complémentaires, le piégeage du radical DPPH[•],⁵⁶ le piégeage du radical cation ABTS^{•+},⁵⁷ le piégeage du radical anion superoxyde O₂^{•-},⁵⁸ et la méthode CUPRAC « *Cupric Reducing Antioxidant Capacity* ». ⁵⁹

➤ Piégeage du radical DPPH[•]

Le DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical stable, sa stabilité est due à la délocalisation de l'électron célibataire sur la totalité de la molécule. Cette délocalisation est à l'origine de la coloration violette de ce radical en solution éthanolique (ou méthanolique), présentant une bande d'absorption maximale à 517 nm.

En présence de molécules antioxydantes, le DPPH[•] subit une réduction (réaction de transfert d'atome d'hydrogène ou d'un électron) en DPPH-H (schéma 2.22), qui se traduit par un changement de coloration (virage du violet au jaune pâle). Le changement de coloration est représentatif de la capacité des molécules de piéger les radicaux.

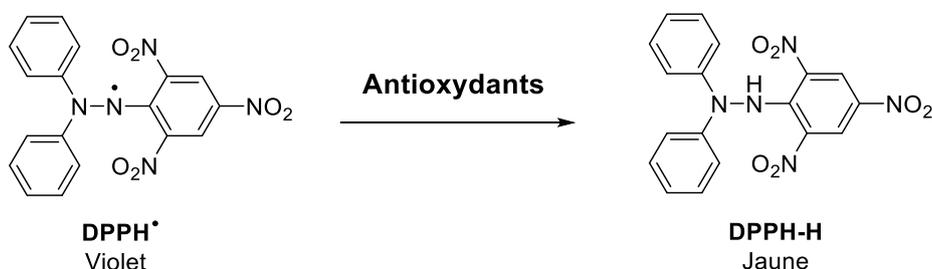


Schéma 2.22 La réaction de réduction du DPPH[•] en présence d'antioxydants

Cette réaction est suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm après une incubation de 30 min dans l'obscurité à la température ambiante. L'expérience a été conduite dans un milieu méthanolique à différentes concentrations (3,125, 6,25, 12,5, 25, 50, 100 et 200 µg/mL). Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standard de référence, et le test a été effectué trois fois dans les mêmes conditions (triplicate).

Le pourcentage d'inhibition de DPPH[•] a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$(\%) = [(absorbance\ du\ contrôle - absorbance\ échantillon) / absorbance\ du\ contrôle] \times 100$$

Les IC₅₀ sont déterminés graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, en pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations testées.

Ce test est simple et rapide en raison de la disponibilité commerciale de DPPH[•], qui est un radical stable, et qui nécessite uniquement un spectrophotomètre UV-vis.

➤ Piégeage du radical cation ABTS^{•+}

L'avantage de cette méthode réside dans sa simplicité sur le plan opérationnel, le radical ABTS^{•+} réagit rapidement avec les antioxydants, généralement dans les 30 minutes, et peut être utilisé sur une large gamme de pH. Cette espèce est soluble dans les solvants aqueux et organiques et n'est pas affecté par la force ionique.⁶⁰

L'ABTS^{•+} (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) en état stable, est généré en faisant réagir l'ABTS avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈) dans l'eau distillé (schéma 2.23). Ce chromophore de couleur bleue en solution aqueuse présente une absorption maximale à 734 nm.

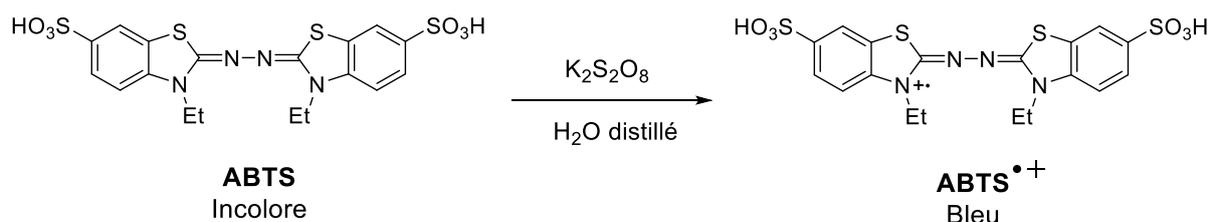


Schéma 2.23 Oxydation de l'ABTS en ABTS^{•+} en présence de persulfate de potassium

En présence de molécules antioxydantes, le radical cation ABTS^{•+} subit une réaction de réduction et retourne à sa forme initiale ABTS incolore (schéma 2.24).

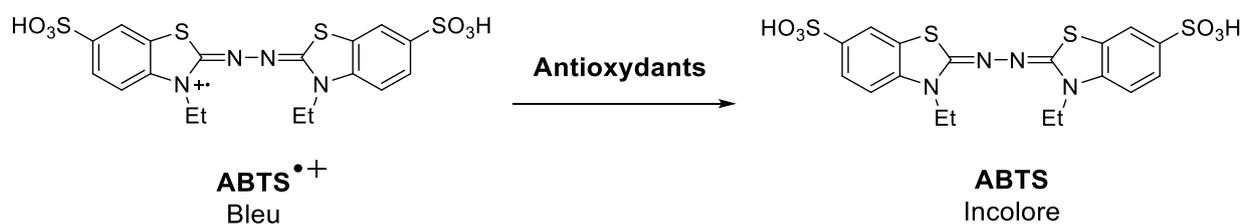


Schéma 2.24 Réduction de l'ABTS^{•+} en présence d'antioxydants

Cette réaction est suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 734 nm après une incubation de 10 min dans l'obscurité à la température ambiante. L'expérience a été conduite dans un milieu méthanolique à différentes concentrations (3,125, 6,25, 12,5, 25, 50, 100, et 200µg/mL). Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standard de référence, et le test a été effectué trois fois (triplicate).

Le pourcentage d'inhibition de l'ABTS^{•+} a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$(\%) = [(absorbance\ du\ contrôle - absorbance\ échantillon) / absorbance\ du\ contrôle] \times 100$$

Les IC₅₀ sont déterminés graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, en pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations testées.

➤ Piégeage du radical anion superoxyde O₂^{•-}

Le radical anion superoxyde O₂^{•-} est formé dans presque toutes les cellules aérobies, il joue un rôle majeur dans le mécanisme de la toxicité de l'oxygène. Dans le but d'étudier le pouvoir de nos molécules à piéger le radical superoxyde, nous avons utilisé la méthode décrite par Rao, M. N. A et al.⁵⁸

Le radical anion superoxyde O₂^{•-} a été généré selon la méthode décrite par Hyland, et al.⁶¹ en faisant réagir le DMSO avec l'hydroxyde de sodium dissous dans une quantité minimale d'eau distillée, en présence de l'oxygène atmosphérique (O₂). La production de superoxyde est inversement proportionnelle à la concentration en eau du DMSO, et les solutions obtenues sont stables jusqu'à trois jours. Cette réaction est illustrée par l'équation chimique ci-dessous.

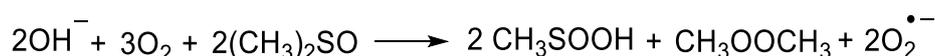


Schéma 2.25 Equation chimique portant formation du radical anion superoxyde O₂^{•-}

Le principe de la méthode de piégeage du radical anion superoxyde O₂^{•-} repose sur la réaction de réduction du NBT (nitrobleu tétrazolium) de couleur jaune par le radical anion O₂^{•-} en Formazan de couleur bleue, qui présente une absorption maximale à 560 nm (schéma 2.26).

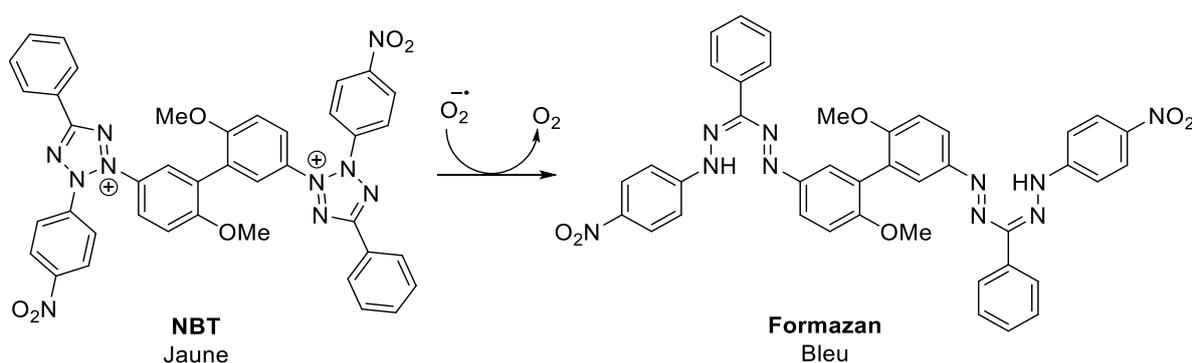


Schéma 2.26 Réduction du radical anion superoxyde O₂^{•-} en Formazan

En présence de molécules antioxydantes, les anions superoxydes sont piégés et la réduction du NBT est empêchée, le changement de coloration n'aura pas lieu.

La réaction a été suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant l'absorbance à 560 nm à température ambiante. L'expérience a été conduite dans un milieu méthanolique à différentes concentrations (3,125, 6,25, 12,5, 25, 50, 100 et 200µg/mL). L'acide tannique et l' α -tocophérol ont été utilisés comme standards de référence, et le test a été effectué trois fois dans les mêmes conditions (triplicate).

Le pourcentage d'inhibition du superoxyde $O_2^{\cdot -}$ a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$(\%) = [(absorbance\ du\ contrôle - absorbance\ échantillon) / absorbance\ du\ contrôle] \times 100$$

Les IC_{50} sont déterminés graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, en pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations testées.

➤ Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC

La phosphatidyléthanolamine (PE) est le deuxième lipide le plus abondant dans les cellules des mammifères (25% des lipides membranaires), et il est aussi présent à des niveaux élevés dans le cerveau (45% des lipides membranaires).⁶² Historiquement, la PE n'a pas été prise en compte parmi les lipides fixant les métaux, étant donné qu'elle ne porte pas de charge négative au pH physiologique.⁶³ La PE contient cependant une amine primaire qui pourrait servir de ligand pour les ions de métaux de transition.

Récemment les travaux de *Poyton, Matthew et al.*⁶⁴ ont révélés que le Cu(II) se lie au fragment amine sur les lipides PE et peut réagir avec le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) pour augmenter la concentration des ERO, ce qui pourrait, à son tour, oxyder des doubles liaisons sur les queues lipidiques adjacentes à la surface de la membrane (Fig. 2.24).

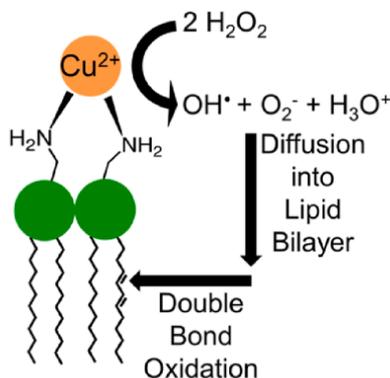


Figure 2.25 Représentation schématique du rôle de Cu(II) dans la production de radicaux.⁶⁴

Dans ce contexte nous avons testé la capacité antioxydante de nos molécules par réduction de l'espèce Cu(II) (CUPRAC). Cette Méthode consiste à utiliser le complexe Cu(II)-néocuproïne [Cu(II)-Nc₂] en tant qu'agent oxydant chromogène.

En effet, en présence de molécules antioxydantes et un tampon aqueux d'acétate d'ammonium à pH 7, le complexe cuivre-néocuproïne en solution méthanolique subit une réaction de réduction, qui se traduit par un changement de coloration (virage du bleu au jaune-orangé) (schéma 2.27).

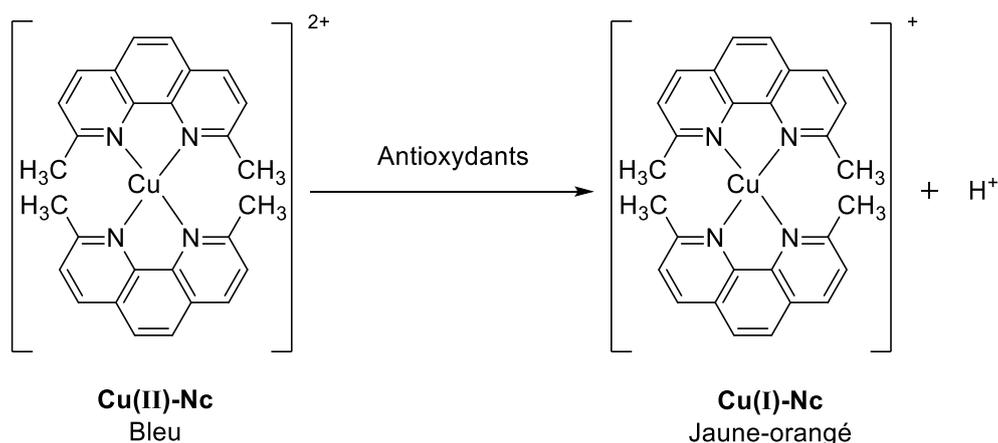


Schéma 2.27 Réduction du complexe [Cu(II)-Nc₂] par un antioxydant

La réaction est suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant l'absorbance à 450 nm après une incubation de 60 min à température ambiante. L'expérience a été conduite dans un milieu méthanolique à différentes concentrations (3,125, 6,25, 12,5, 25, 50, 100 et 200 µg/mL). Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standard de référence, et le test a été effectué en triplicate (trois fois).

Les A_{0,5} (la concentration indiquant 0,50 absorbance) sont déterminés graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, en valeurs d'absorbance en fonction de différentes concentrations testées.

5.2. Activité antioxydante des pyrazolines N-Substitués (22, 33, 37-39)

5.2.1. L'Activité antioxydante et les dérivés de 2-pyrazolines

Pour réaliser une étude cohérente de la relation structure-activité, nous avons en premier évalué l'activité antioxydante d'une série de molécules différemment substituées en position 1 du noyau 2-pyrazoline.

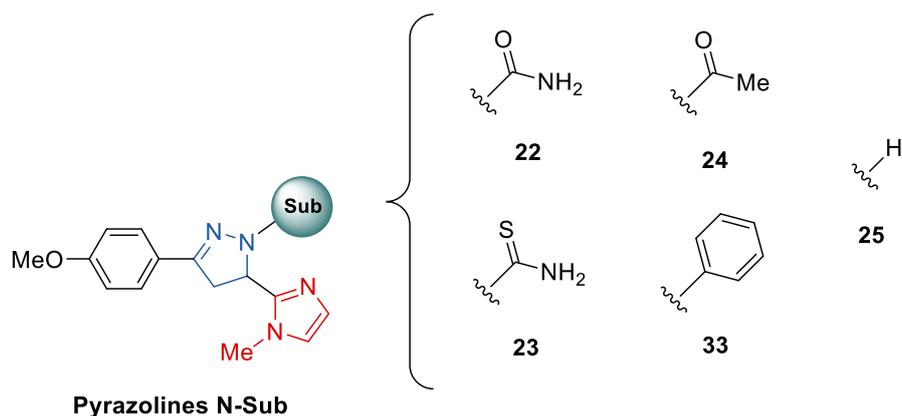


Figure 2.26 Dérivés de 2-pyrazoline *N*-H et *N*-substitués préparés

Les résultats de l'activité antioxydante de cette série, sont exprimés en concentration inhibitrice médiane IC_{50} pour les tests DPPH, ABTS, et superoxyde. Pour l'évaluation de la capacité antioxydante par réduction du cuivre II (méthode CUPRAC), les résultats sont exprimés en concentration indiquant 0,50 absorbance $A_{0.5}$ (absorbance médiane)

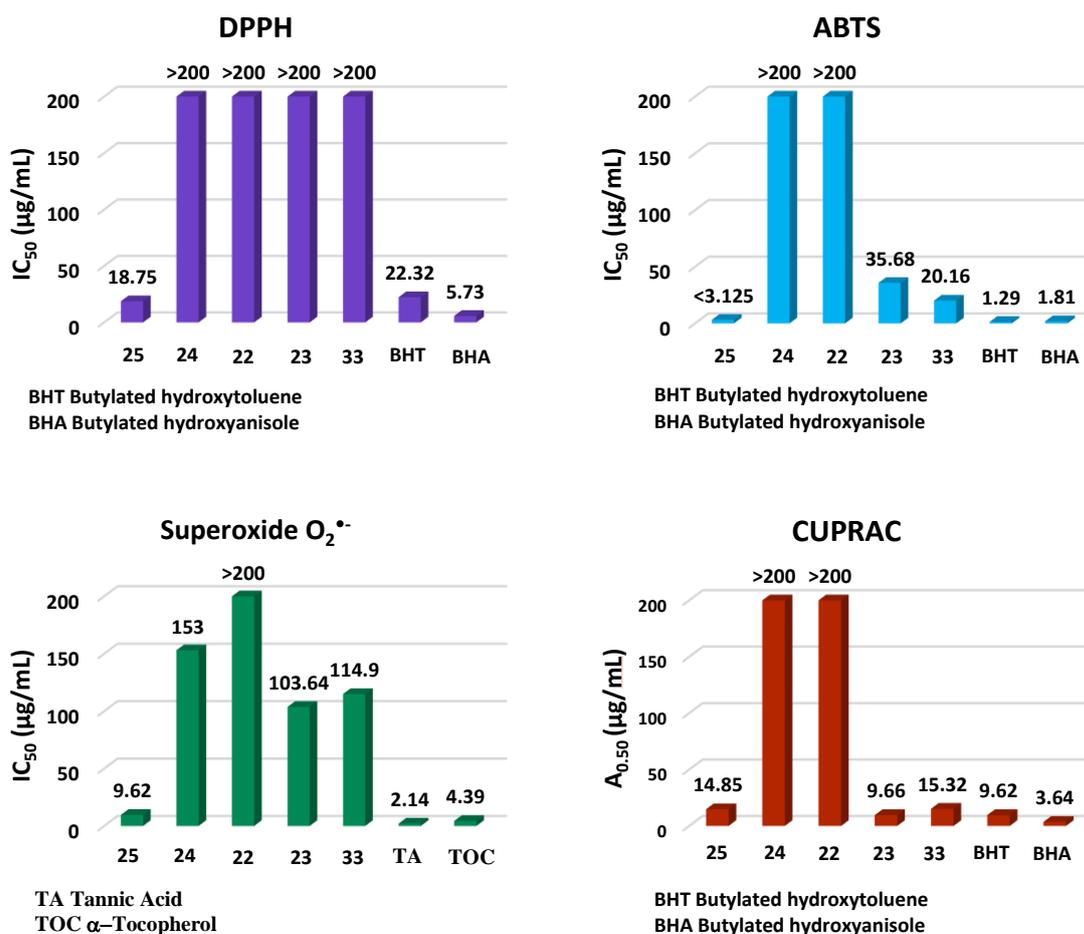


Figure 2.27 Profil des activités antioxydantes des 2-pyrazolines 22-25 et 33

➤ **Le piégeage du radical DPPH'**

Les résultats obtenus montrent que :

- La pyrazoline **25** non substituée en position 1 ($IC_{50} = 18,75 \pm 0,37 \mu\text{g/mL}$) présente une activité comparable à celle du standard BHT ($IC_{50} = 22,32 \pm 1,19 \mu\text{g/mL}$).
- Les composés **22-24** et **33** montrent une très faible activité vis-à-vis du radical DPPH' avec des $IC_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$.

➤ **Le piégeage du radical ABTS•+**

Les résultats obtenus montrent que :

- Le meilleur résultat a été obtenu avec le composé **25** avec un $IC_{50} < 3,125 \mu\text{g/mL}$
- Les deux dérivés **23** et **33** substitués par *N*-CSNH₂ et phényle montrent une activité antioxydante avec des IC_{50} respectivement de $35,68 \pm 1,32$ et $20,16 \pm 0,36 \mu\text{g/mL}$.
- Les composés **22** et **24** montrent une très faible activité vis-à-vis du radical ABTS^{•+} avec des $IC_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$

➤ **Le piégeage du radical superoxyde.**

Les résultats obtenus montrent que :

- Le meilleur résultat a été obtenu avec le composé **25** avec un $IC_{50} = 9,62 \pm 1,95 \mu\text{g/mL}$
- Les dérivés **24**, **23** et **33** montrent également une activité antioxydante par la méthode de piégeage du superoxyde avec des IC_{50} de $153,00 \pm 0,21$, $103,64 \pm 0,82$ et $20,16 \pm 0,36 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

➤ **La méthode CUPRAC.**

Les résultats obtenus montrent que :

- Les meilleurs résultats ont été obtenus avec les dérivés **23** ($A_{0,5} = 9,66 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$) et **25** ($A_{0,5} = 14,85 \pm 0,67 \mu\text{g/mL}$) suivis par le dérivé **33** ($A_{0,5} = 15,32 \pm 0,55 \mu\text{g/mL}$).
- Les dérivés **22** et **24** ne montrent aucune activité antioxydante avec un $A_{0,5} > 200 \mu\text{g/mL}$.

Conclusion :

Les 2-pyrazolines *N*-substituées **22-25**, **33** ont été soumises à un criblage systématique pour déterminer leurs activités antioxydantes par l'utilisation de quatre méthodes : DPPH, ABTS, superoxyde et CUPRAC. Une étude de la relation structure-activité (SAR) montre que le dérivé **25** (2-pyrazoline non substituée) est le plus prometteur de la série, et de ce fait révèle l'importance la présence de l'atome d'hydrogène en position 1 du noyau 2-pyrazoline, en parfait accord et cohérence avec l'hypothèse envisagée, permettant ainsi la conception d'une seconde bibliothèque constituée de 2-pyrazoline *N*-H dont le noyau aryle sera différemment substitué.

5.2.2. Activité antioxydante des 2-pyrazolines N-H (25-31)

Le dérivé de la 2-pyrazoline non substitué en position 1 (25) ayant montré la meilleure activité antioxydante que ses congénères N-substitués, nous a incité à préparer toute une série de 2-pyrazoline N-H porteurs de substituants divers en position *para* du noyau phényle.

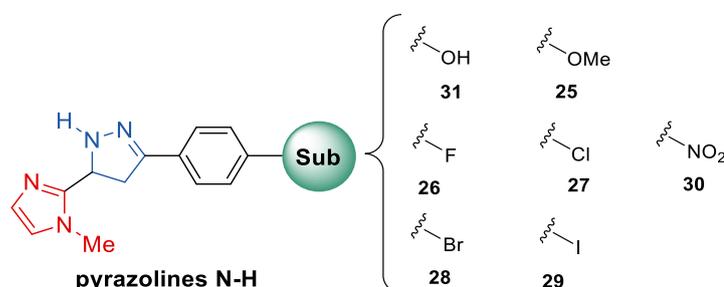


Figure 2.28 Dérivés de 2-pyrazoline N-H substitués en position 4 du phényle 25-31

Les résultats de l'activité antioxydante de cette série, sont exprimés en concentration inhibitrice médiane IC₅₀ pour les tests DPPH, ABTS, et superoxyde. Pour l'évaluation de la capacité antioxydante par réduction du cuivre II (méthode CUPRAC), les résultats sont exprimés en concentration médiane A_{0,50} (0,50 absorbance).

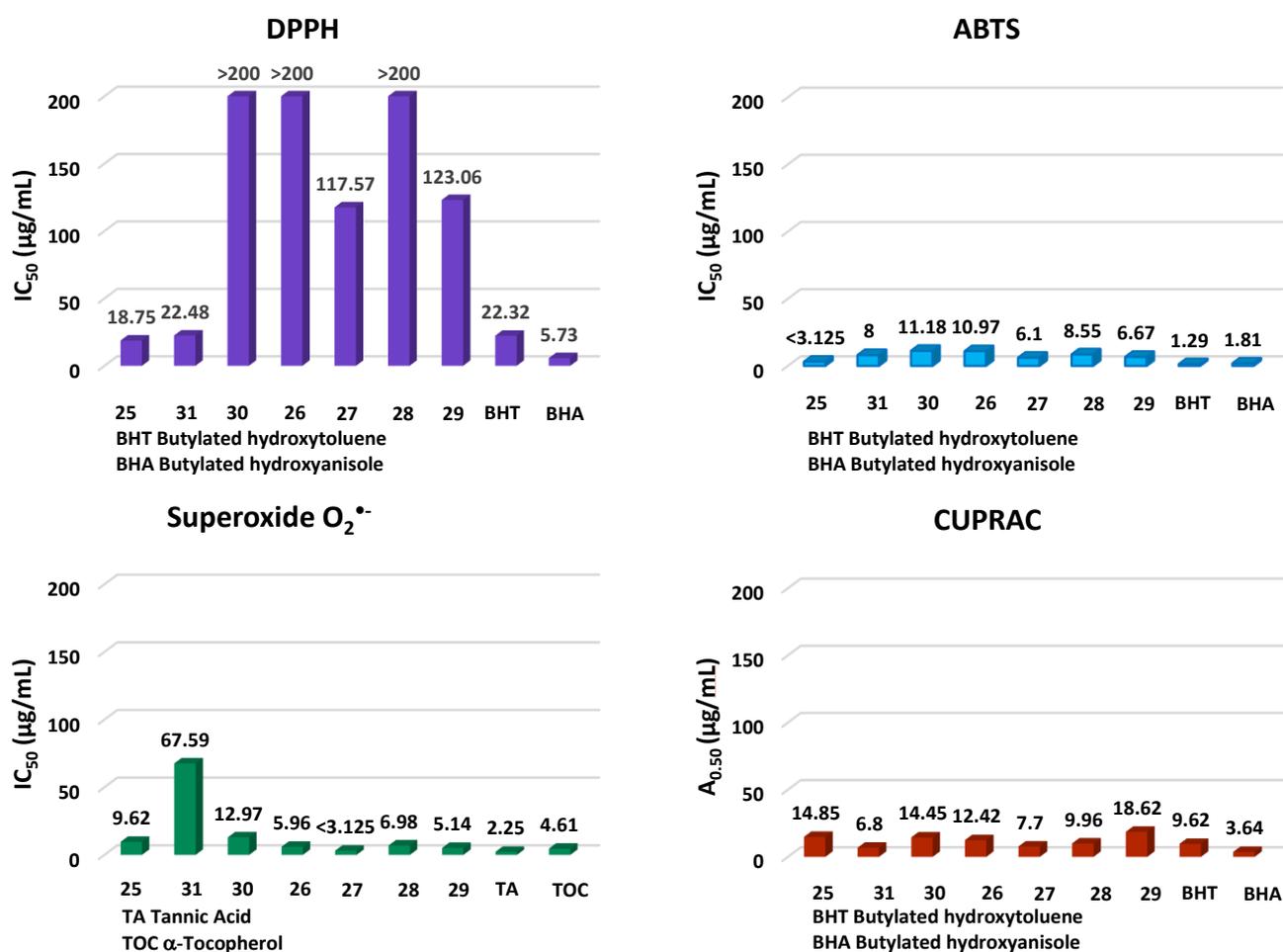


Figure 2.29 Profils des activités antioxydantes des 2-pyrazolines N-H.

➤ **Le piégeage du radical DPPH***

Les résultats obtenus montrent que :

- A l'exception des composés **26** (R = 4-F, IC₅₀ > 200 µg/mL), **28** (R = 4-Br IC₅₀ > 200 µg/mL), et **30** (R = 4-NO₂, IC₅₀ > 200 µg/mL), toutes les molécules testées possèdent un pouvoir antioxydant avec des IC₅₀ allant de 18,75 ± 0,37 à 123,06 ± 4,16 µg/mL.
- Les meilleurs résultats ont été obtenus avec les dérivés **31** (R= OH, IC₅₀ = 22,48 ± 1,81 µg/mL) et **25** (R = OMe, IC₅₀ = 18,75 ± 0,37 µg/mL) qui montrent une activité comparable à celle du standard BHT (IC₅₀ = 22,32 ± 1,19 µg/mL).
- Dans la série des molécules comportant un halogène les dérivés porteurs du chlore **27** (IC₅₀ = 117,57 ± 0,85 µg/mL) et de l'iode **29** (IC₅₀ = 123,06 ± 4,16 µg/mL) ont montré une activité relativement modérée en comparaison avec les standards BHT (IC₅₀ = 22,32 ± 1,19 µg/mL) et BHA (IC₅₀ = 5,73 ± 0,41 µg/mL), mais nettement plus actives sont plus actives que leur analogue porteur du fluor **26** (IC₅₀ > 200 µg/mL) et du brome **28** (IC₅₀ > 200 µg/mL).

➤ **Le piégeage du radical ABTS⁺.**

Les résultats obtenus montrent que :

- Toutes les molécules testées possèdent un pouvoir antioxydant remarquable avec des valeurs IC₅₀ variant de < 3,125 à 10,97 ± 0,23 µg/mL.
- Le meilleur résultat a été obtenu avec le dérivé **25** (R = OMe, IC₅₀ < 3,125 µg/mL).
- Le dérivé porteur d'un groupement OMe (**25**, IC₅₀ < 3,125 µg/mL) est 2.7 fois plus actif que le dérivé porteur d'un groupement OH (**31**, IC₅₀ = 8,00 ± 0,67 µg/mL).
- Dans la série des molécules comportant un halogène les deux dérivés porteurs du chlore **27** (IC₅₀ = 6,10 ± 0,04 µg/mL) et de l'iode **29** (IC₅₀ = 6,67 ± 0,22 µg/mL) sont plus actives que leurs analogues porteurs du brome **28** (IC₅₀ = 8,55 ± 0,06 µg/mL) et du fluor **26** (IC₅₀ = 10,97 ± 0,23 µg/mL).

➤ **La méthode CUPRAC**

Les résultats obtenus montrent que :

- Toutes les molécules testées possèdent un pouvoir antioxydant puissant avec des A_{0,50} variants de 6,8 ± 0,11 à 18,62 ± 1,01 µg/mL.
- Les composés **31** (R = OH, A_{0,50} = 6,80 ± 0,11 µg/mL), **27** (R = Cl, A_{0,50} = 7,70 ± 0,22 µg/mL) et **28** (R = Br, A_{0,50} = 6,96 ± 0,45 µg/mL) possèdent un pouvoir antioxydant supérieur à celui du standard BHT (IC₅₀ = 9,62 ± 0,87 µg/mL).

- Dans la série des molécules comportant un halogène l'ordre de l'activité est le suivant **27** (R = Cl, $A_{0,50} = 7,70 \pm 0,22 \mu\text{g/mL}$) > **28** (R = Br, $A_{0,50} = 9,96 \pm 0,45 \mu\text{g/mL}$) > **26** (R = F, $A_{0,50} = 12,42 \pm 0,52 \mu\text{g/mL}$) > **29** (R = I, $A_{0,50} = 18,62 \pm 1,01 \mu\text{g/mL}$).

➤ **Le piégeage du radical superoxyde**

Les résultats obtenus montrent que :

- Toutes les molécules testées possèdent un pouvoir antioxydant avec des IC_{50} allant de $5,14 \pm 0,12$ à $67,59 \pm 2,65 \mu\text{g/mL}$.
- Le meilleur résultat a été obtenu avec le dérivé **27** (R = Cl, $IC_{50} < 3,125 \mu\text{g/mL}$) qui montre un pouvoir antioxydant comparable à celui du standard TOC ($IC_{50} = 2,14 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$) et inférieur à celui du standard TAA ($IC_{50} = 4,39 \pm 0,86 \mu\text{g/mL}$).
- Dans la série des molécules comportant un halogène les deux dérivés porteurs du chlore **27** ($IC_{50} < 3,125 \mu\text{g/mL}$) et de l'iode **29** ($IC_{50} = 5,14 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$) sont plus actifs que leurs analogues porteurs du fluor **26** ($IC_{50} = 5,96 \pm 0,27 \mu\text{g/mL}$) et du brome **28** ($IC_{50} = 6,98 \pm 0,25 \mu\text{g/mL}$).
- Le dérivé substitué par un chlore (**27**, $IC_{50} < 3,125 \mu\text{g/mL}$) est trois fois plus actif que le dérivé substitué par un groupement méthoxyle (**25**, $IC_{50} = 9,62 \pm 1,95 \mu\text{g/mL}$).
- Le composé substitué par un groupement hydroxyle (**31**, $IC_{50} = 67,59 \pm 0,32 \mu\text{g/mL}$) montre un pouvoir antioxydant le moins important que ces autres analogues structuraux et doit être retesté pour confirmer les résultats.

Conclusion :

L'analyse des résultats et l'étude de la SAR de l'activité antioxydante des 2-pyrazolines non substituées (**25-31**) par les quatre méthodes utilisées révèle les observations suivantes :

- Les deux méthodes DPPH et ABTS montrent que le dérivé substitué par un méthoxyle (**25**) est l'antioxydant le plus puissant de la série, suivi par le dérivé porteur du groupement hydroxyle (**31**).
- La méthode du piégeage du radical superoxyde montre que le dérivé porteur du chlore (**27**) est un antioxydant aussi puissant que le standard TA, trois fois plus puissant que le dérivé porteur du OH et neuf fois plus puissant que le dérivé porteur du groupement OMe.
- Les trois méthodes DPPH, ABTS, et superoxyde montrent que les dérivés porteurs du chlore (**27**) et de l'iode (**29**) sont plus actifs que leurs analogues porteurs du brome (**28**) et fluor (**26**). Cet ordre d'activité n'est pas observé par la méthode CUPRAC.

6. Evaluation de l'activité anticancéreuse des pyrazoline N-Substitués

Parmi les dérivés hybrides imidazole-2-pyrazolines préparés, les composés **22-25**, **32**, et **33** ont été sélectionnés et soumis à l'évaluation de leur activité antiproliférative contre la lignée cellulaire du cancer gastrique humain AGS, la lignée cellulaire du cancer des cellules de poumon humain A549, et de la lignée cellulaire humaine non cancéreuse, MRC-5 (poumon), dans des plages de concentration allant jusqu'à 100 μ M.

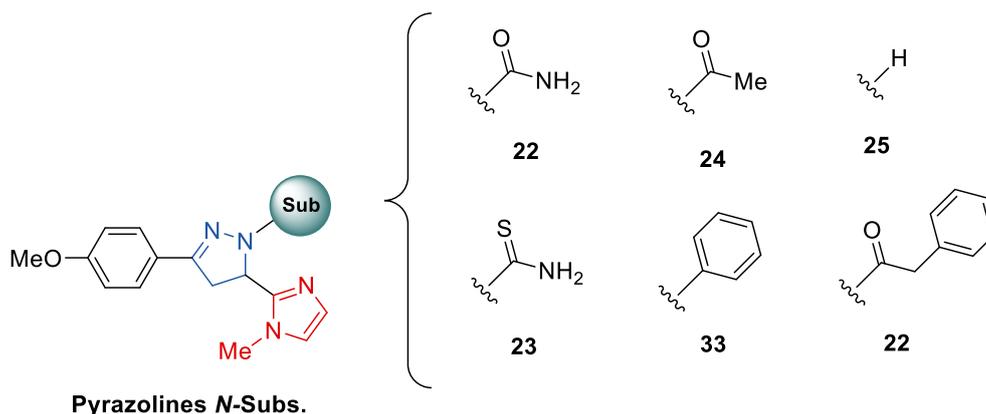


Figure 2.30 Dérivés de 2-pyrazoline étudiés pour leur activité anticancéreuse

L'analyse des résultats obtenus ne permet pas d'établir une relation structure-activité du fait qu'aucun des dérivés de la 2-pyrazoline testé n'a présenté de toxicité envers les lignés cellulaires humaines cancéreuses (AGS et A549) et non cancéreuses (MRC-5).

7. Conclusion

Dans cette partie, nous avons procédé à la synthèse et la caractérisation de composés hybrides tricycliques hybrides imidazole-hétérocycle-aryle nouveaux où le noyau hétérocyclique central est une 2-pyrazoline *N*-H ou *N*-substituée, ou un pyrazole. L'évaluation biologique (activité antiproliférative et pouvoir antioxydant) a concerné exclusivement les dérivés de 2-pyrazoline.

Les dérivés de (*E*)-3-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-1-arylprop-2-en-1-one (chalcones "imidazoliques") précédemment préparés (composés **1-9**) ont été soumis à une réaction d'addition-cyclisation par l'utilisation de dérivés de l'hydrazine pour conduire à des dérivés hybrides tricycliques imidazole-2-pyrazoline-aryle diversement substitués. Divers dérivés de l'hydrazine ont été utilisés pour accéder aux composés ciblés. Pour le dérivé de 2-pyrazoline *N*-substitué **22** (le semi-carbazide), **23** (thiosemi-carbazide), **24** ($N_2H_4.H_2O/AcOH$), et **33-40** (ArN_2H_3). Les 2-pyrazolines *N*-H (non substitués) **25-31** ont été préparés par addition de $N_2H_4.H_2O$ au dérivé de la chalcone, au reflux de l'éthanol. Le composé **32** a été synthétisé à partir du composé **25** par addition du chlorure de 2-phénylacétyle dans l'acétone en présence de la triéthylamine comme catalyseur. Les rendements sont bons voire excellents (50-92%).

Plusieurs tentatives de préparation des dérivés de pyrazole (à partir de chalcones, via une réaction d'époxydation et par oxydation des 2-pyrazoline) ont été effectuées et n'ont pas donner les résultats attendus. Quelques dérivés hybrides imidazole-pyrazole-aryle ont été synthétisés avec succès selon une réaction "one-pot" en deux étapes. On fait réagir le 2-acétyl-1-méthyl-1*H*-imidazole avec des dérivés de chlorure de benzoyle (ou le chlorure de 1-naphtoyle) en présence de LiHMDS. L'intermédiaire 1,3-dicétone obtenu est ensuite transformé *in situ* en pyrazole par addition d'hydrazine monohydrate. Les rendements obtenus des composé préparés (**43, 45-52**) sont relativement faibles (10-37%).

L'évaluation du pouvoir antioxydant des 2-pyrazolines, répartis en deux séries : les 2-pyrazolines *N*-H (7 composés) et les 2-pyrazolines *N*-substitués (5 composés), a été réalisée par les quatre méthodes : DPPH[•], ABTS^{•+}, le superoxyde $O_2^{\bullet-}$, et CUPRAC. L'étude comparative des résultats du pouvoir antioxydant des deux séries a montré que les 2-pyrazolines *N*-H ont un pouvoir antioxydant nettement supérieur à celui des 2-pyrazoline *N*-substitués.

De même quelques dérivés de 2-pyrazoline ont été évalués pour leur activité antiproliférative contre les lignées cellulaires cancéreuses AGS, A549, et leur sélectivité étudiée par rapport à des cellules non cancéreuses du poumon (MCR5) dans des plages de concentration allant jusqu'à 100 μ M. Aucune activité n'a été observée pour tous les composés testés.

8. Perspectives

Sur la base des résultats obtenus qui mettent en relief l'importance de la structure hétérocyclique centrale (2-pyrazoline *N*-H) dans l'activité antioxydante ainsi que de la qualité et la position du substituant porté par le noyau aryle. Les investigations futures seront orientées vers la mise au point de nouvelles méthodologies de synthèse pour accéder au pyrazole avec des rendements acceptables (procédé, conditions opératoires et autre agent d'oxydation). La synthèse et l'évaluation biologique de nouveaux composés poly-hétérocycliques (création de chimiothèques) contenant dans leur structure outre le noyau pyrazole (d'autres voies de synthèse seront explorées pour améliorer les rendements), un motif pyrrolidine, pyridine, pyrimidine, pyrrole, oxazole, isoxazole ...).

Il est également envisagé de soumettre les dérivés de 2-pyrazoline *N*-H à d'autres réactions telle que la complexation et déterminer les propriétés optiques de ces matériaux qui sont susceptibles de trouver une utilité dans le domaine médical comme sondes fluorescentes pour la détection de métaux impliqués dans les processus biologiques, ou toxiques tel que Cd^{2+} ou le Hg^{2+} , ainsi que dans le domaine de l'électroluminescence, la microélectronique, ...

Ces approches seront étendues également aux dérivés du benzimidazole.

9. Références bibliographiques

- (1) Kumar, V.; Kaur, K.; Gupta, G. K.; Sharma, A. K. Pyrazole containing natural products: synthetic preview and biological significance. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *69*, 735.
- (2) Ansari, A.; Ali, A.; Asif, M. Biologically active pyrazole derivatives. *New J. Chem.* **2017**, *41*(1), 16.
- (3) Schröter, H.-B.; Neumann, D.; Katritzky, A.; Swinbourne, F. Withasomnine. A pyrazole alkaloid from *Withania somnifera* Dun. *Tetrahedron*, **1966**, *22*(8), 2895.
- (4) Aladesanmi, A. J.; Nia, R.; Nahrstedt, A. New pyrazole alkaloids from the root bark of *Newbouldia laevis*. *Planta Med.* **1998**, *64*(1), 90.
- (5) Wube, A. A.; Wenzig, E.-M.; Gibbons, S.; Asres, K.; Bauer, R.; Bucar, F. Constituents of the stem bark of *Discopodium penninervium* and their LTB₄ and COX-1 and-2 inhibitory activities. *Phytochem.* **2008**, *69*(4), 982.
- (6) Crain, P.; McCloskey, J. A.; Lewis, A. F.; Schram, K. H.; Townsend, L. B. Mass spectra of C-nucleosides II. An unusual fragmentation reaction of the heterocyclic moiety of pyrazomycin and some closely related compounds. *J. Heterocycl. Chem.* **1973**, *10*(5), 843.
- (7) Petrie III, C. R.; Revankar, G. R.; Dalley, N. K.; George, R. D.; McKernan, P. A.; Hamill, R. L.; Robins, R. K. Synthesis and biological activity of certain nucleoside and nucleotide derivatives of pyrazofurin. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*(2), 268.
- (8) Hirata, K.; Yoshitomi, S.; Dwi, S.; Iwabe, O.; Mahakant, A.; Polchai, J.; Miyamoto, K. Generation of reactive oxygen species undergoing redox cycle of nostocine A: a cytotoxic violet pigment produced by freshwater cyanobacterium *Nostoc spongiaeforme*. *J. Biotechnol.* **2004**, *110*(1), 29.
- (9) Smirnov, V. V.; Kiprianova, E. A.; Garagulya, A. D.; Esipov, S. E.; Dovjenko, S. A. Fluviols, bicyclic nitrogen-rich antibiotics produced by *Pseudomonas fluorescens*. *FEMS Microbiol. Lett.* **1997**, *153*(2), 357.
- (10) Zhang, W.; Yang, C.; Huang, C.; Zhang, L.; Zhang, H.; Zhang, Q.; Yuan, C.-s.; Zhu, Y.; Zhang, C. Pyrazolofluostatins A–C, pyrazole-fused benzo [a] fluorenes from South China Sea-derived *Micromonospora rosaria* SCSIO N160. *Org. Lett.* **2017**, *19* (3), 592.
- (11) Noe, F.; Fowden, L. A-amino- β -(pyrazolyl-N) propionic acid: a new amino-acid from *Citrullus vulgaris* (water melon). *Nature*, **1959**, *184*(4688), BA69.
- (12) Seeman, N.; McGandy, E.; Rosenstein, R. Crystal and molecular structure of. beta.-(3-pyrazolyl)-L-alanine. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*(5), 1717.

- (13) Kikuchi, T.; Ikedaya, A.; Toda, A.; Ikushima, K.; Yamakawa, T.; Okada, R.; Yamada, T.; Tanaka, R. Pyrazole alkaloids from watermelon (*Citrullus lanatus*) seeds. *Phytochem. Lett.* **2015**, *12*, 94.
- (14) Duke, N. *Rhizophora apiculata*, *R. mucronata*, *R. stylosa*, *R. × annamalai*, *R. × lamarckii* (Indo–West Pacific stilt mangroves), ver. 2.1. *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry, Hawaii 'i*. Retrieved September **2006**, *2*, 2018.
- (15) Prabhu, V. V.; Guruvayoorappan, C. Anti-inflammatory and anti-tumor activity of the marine mangrove *Rhizophora apiculata*. *J. Immunotoxicol.* **2012**, *9* (4), 341.
- (16) Kucukguzel, S. G.; Senkardes, S. Recent advances in bioactive pyrazoles. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 786.
- (17) Li, M.; Zhao, B. X. ChemInform Abstract: Progress of the Synthesis of Condensed Pyrazole Derivatives (from 2010 to mid-2013). *ChemInform*, **2014**, *45*(45).
- (18) Clemett, D.; Goa, K. L. Celecoxib. *Drugs*, **2000**, *59*(4), 957.
- (19) Van Gaal, L. F.; Rissanen, A. M.; Scheen, A. J.; Ziegler, O.; Rössner, S.; Group, R.-E. S. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *The Lancet*, **2005**, *365*(9468), 1389.
- (20) Brent, J.; McMartin, K.; Phillips, S.; Burkhart, K. K.; Donovan, J. W.; Wells, M.; Kulig, K. Fomepizole for the treatment of ethylene glycol poisoning. *N. Engl. J. Med.* **1999**, *340*(11), 832.
- (21) Rundles, R. W.; Metz, E. N.; Silberman, H. Allopurinol in the treatment of gout. *Annals of internal medicine* **1966**, *64*(2), 229.
- (22) Ramakrishnan, K.; Sparks, R. A.; Berryhill, W. E. Diagnosis and treatment of otitis media. *Am. Fam. Phys.* **2007**, *76*(11), 1650.
- (23) Hamaguchi, H.; Kajihara, O.; Katoh, M. Development of a new acaricide, fenpyroximate. *J. Pestic. Sci.* **1995**, *20*, 173.
- (24) Okada, I.; Fukushi. Development of a new acaricide, tebufenpyrad. *J. Pestic. Sci.* **2000**, *25* (3), 310.
- (25) Arita, H.; Kuwatsuka, S. Relationships between the degradation rate of the herbicide pyrazoxyfen and soil properties. *J. Pestic. Sci.* **1991**, *16*(1), 71.
- (26) Wagner, A.; Schellhammer, C. W.; Petersen, S. Aryl- Δ^2 -pyrazolines as optical brighteners. *Angew. Chem. Int.. Ed. Engl.* **1966**, *5*(8), 699.

- (27) Evans, N.; Rivett, D.; Waters, P. Effect of photostability of 2-pyrazoline fluorescent whitening agents on the rate of yellowing of whitened wool. *Text. Res. J.* **1976**, *46*(3), 214.
- (28) Sabatini, D. A.; Austin, T. A. Characteristics of rhodamine WT and fluorescein as adsorbing ground-water tracers. *Groundwater*, **1991**, *29*(3), 341.
- (29) Bellhorn, R. W. Permeability of blood-ocular barriers of neonatal and adult cats to fluorescein-labeled dextrans of selected molecular sizes. *Invest. ophthalm. visual sci.* **1981**, *21*(2), 282.
- (30) Peng, A. D.; Xiao, D. B.; Ma, Y.; Yang, W. S.; Yao, J. N. Tunable emission from doped 1, 3, 5-triphenyl-2-pyrazoline organic nanoparticles. *Adv. Mater.* **2005**, *17*(17), 2070.
- (31) Katritzky, A. R.; Rees, C. W. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry I*, Pergamon Press, New York, 1984.
- (32) Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Scriven, E. F. *Comprehensive heterocyclic chemistry II*; Pergamon Press, Ed. Elsevier science, Ltd., Tarrytown, New York, 1996.
- (33) 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*(13), 5381.
- (34) Wen, J.; Fu, Y.; Zhang, R.-Y.; Zhang, J.; Chen, S.-Y.; Yu, X.-Q. A simple and efficient synthesis of pyrazoles in water. *Tetrahedron*, **2011**, *67*(49), 9618.
- (35) Bhat, B.; Puri, S.; Qurishi, M.; Dhar, K.; Qazi, G. Synthesis of 3, 5-diphenyl-1 H-pyrazoles. *Synth. Commun.* **2005**, *35*(8), 1135.
- (36) Bhat, B.; Dhar, K.; Puri, S.; Saxena, A.; Shanmugavel, M.; Qazi, G. Synthesis and biological evaluation of chalcones and their derived pyrazoles as potential cytotoxic agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*(12), 3177.
- (37) Léavai, A. Synthesis of 2-pyrazolines by the reactions of α , β -unsaturated aldehydes, ketones, and esters with diazoalkanes, nitrile imines, and hydrazines. *J. Heterocycl. Chem.* **2002**, *39*(1), 1.
- (38) Liu, W.-Y.; Xie, Y.-S.; Zhao, B.-X.; Wang, B.-S.; Lv, H.-S.; Gong, Z.-L.; Lian, S.; Zheng, L.-W. The synthesis, X-ray crystal structure and optical properties of novel 5-aryl-1-arylthiazolyl-3-ferrocenyl-pyrazoline derivatives. *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, **2010**, *214*(2-3), 135.
- (39) Gupta, R.; Gupta, N.; Jain, A. Improved synthesis of chalcones and pyrazolines under ultrasonic irradiation. *Cheminform.* **2010**, *41*, 351.

- (40) Mahé, O.; Frath, D.; Dez, I.; Marsais, F.; Levacher, V.; Brière, J.-F. TBD-organocatalysed synthesis of pyrazolines. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7 (18), 3648.
- (41) Aust, S. D.; Morehouse, L. A.; Thomas, C. E. Role of metals in oxygen radical reactions. *J. Free Radic. Biol. Med.* **1985**, 1(1), 3.
- (42) Kehrer, J. P. The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*, **2000**, 149(1), 43.
- (43) Wardman, P.; Candeias, L. P. Fenton chemistry: an introduction. *Radiat. Res.* **1996**, 145 (5), 523.
- (44) Stadtman, E. R. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic. Biol. Med.* **1990**, 9(4), 315.
- (45) Flint, D. H.; Tuminello, J.; Emptage, M. The inactivation of Fe-S cluster containing hydro-lyases by superoxide. *J. Biol. Chem.* **1993**, 268(30), 22369.
- (46) Kalaria, P. N.; Satasia, S. P.; Raval, D. K. Synthesis, identification and in vitro biological evaluation of some novel 5-imidazopyrazole incorporated pyrazoline and isoxazoline derivatives. *New J. Chem.* **2014**, 38(7), 2902.
- (47) ElBordiny, H. S.; El-Miligy, M. M.; Kassab, S. E.; Daabees, H.; Ali, W. A. M.; El-Hawash, S. A. M. Design, synthesis, biological evaluation and docking studies of new 3-(4, 5-dihydro-1H-pyrazol/isoxazol-5-yl)-2-phenyl-1H-indole derivatives as potent antioxidants and 15-lipoxygenase inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 145, 594.
- (48) Nepali, K.; Singh, G.; Turan, A.; Agarwal, A.; Sapra, S.; Kumar, R.; Banerjee, U. C.; Verma, P. K.; Satti, N. K.; Gupta, M. K. A rational approach for the design and synthesis of 1-acetyl-3, 5-diaryl-4, 5-dihydro (1H) pyrazoles as a new class of potential non-purine xanthine oxidase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19(6), 1950.
- (49) Nayak, B. V.; Ciftci-Yabanoglu, S.; Jadav, S. S.; Jagrat, M.; Sinha, B. N.; Ucar, G.; Jayaprakash, V. Monoamine oxidase inhibitory activity of 3, 5-biaryl-4, 5-dihydro-1H-pyrazole-1-carboxylate derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 69, 762.
- (50) Altıntop, M. D.; Özdemir, A.; Kaplancikli, Z. A.; Turan-Zitouni, G.; Temel, H. E.; Çiftçi, G. A. Synthesis and biological evaluation of some pyrazoline derivatives bearing a dithiocarbamate moiety as new cholinesterase inhibitors. *Arch. Pharm.* **2013**, 346(3), 189.
- (51) Özdemir, Z.; Kandilci, H. B.; Gümüsel, B.; Çalış, Ü.; Bilgin, A. A. Synthesis and studies on antidepressant and anticonvulsant activities of some 3-(2-furyl)-pyrazoline derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 42(3), 373.

- (52) 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 (18), 2833.
- (53) Zhang, X.; Kang, J.; Niu, P.; Wu, J.; Yu, W.; Chang, J. I₂-Mediated oxidative C–N bond formation for metal-free one-pot synthesis of di-, tri-, and tetrasubstituted pyrazoles from α , β -unsaturated aldehydes/ketones and hydrazines. *J. Org. Chem.* **2014**, 79(21), 10170.
- (54) Heller, S. T.; Natarajan, S. R. 1, 3-Diketones from acid chlorides and ketones: a rapid and general one-pot synthesis of pyrazoles. *Org. Lett.* **2006**, 8(13), 2675.
- (55) Lopez, C.; Claramunt, R. M.; Trofimenko, S.; Elguero, J. A ¹³C NMR spectroscopy study of the structure of NH pyrazoles and indazoles. *Can. J. Chem.* **1993**, 71(5), 678.
- (56) Blois, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **1958**, 181(4617), 1199.
- (57) Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **1999**, 26(9-10), 1231.
- (58) Kunchandy, E.; Rao, M. Oxygen radical scavenging activity of curcumin. *Int. J. Pharm.* **1990**, 58(3), 237.
- (59) Apak, R.; Güçlü, K.; Özyürek, M.; Karademir, S. E. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52(26), 7970.
- (60) Prior, R. L.; Wu, X.; Schaich, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53(10), 4290.
- (61) Hyland, K.; Auclair, C. The formation of superoxide radical anions by a reaction between O₂, OH⁻ and dimethyl sulfoxide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1981**, 102(1), 531.
- (62) Vance, J. E.; Tasseva, G. Formation and function of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in mammalian cells. *Biochim. . Biophys. Acta -Molec. Cell. Biol. Lipids*, **2013**, 1831(3), 543.
- (63) Mclaughlin, A.; Poo, M.M. The role of electro-osmosis in the electric-field-induced movement of charged macromolecules on the surfaces of cells. *Biophys. J.* **1981**, 34(1), 85.

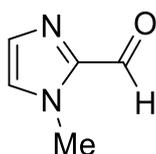
- (64) Poyton, M. F.; Sendeki, A. M.; Cong, X.; Cremer, P. S. Cu²⁺ binds to phosphatidylethanolamine and increases oxidation in lipid membranes. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138* (5), 1584.

Partie expérimentale

1. Préparation du 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-carbaldéhyde (I) et -2-acétyle (II)

Mode opératoire : A une solution contenant 5 g (48 mmol.) de 1-méthylimidazole dans 80 mL de THF anhydre refroidie à -55°C et maintenue sous atmosphère d'azote, on ajoute, goutte à goutte, 32 mL d'une solution de *n*-BuLi (1,6 M dans l'hexane). Le mélange réactionnel est agité pendant 30 minutes à -55 °C, puis on ajoute, goutte à goutte, 1.2 équiv. de DMF (pour le composé **II**, (1.2 équiv.) 5.09 g de DMA), la température est maintenue à -55 °C durant l'ajout. Après 1 heure d'agitation, 100 mL d'eau sont ajoutés, puis on laisse sous agitation pendant 1 heure à température ambiante. Le THF est évaporé, et le mélange résultant est extrait avec CHCl₃ (3 x 80 mL). Les extraits organiques sont réunis, séchés sur du sulfate de sodium anhydre et le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : acétate d'éthyle 1: hexane 2).

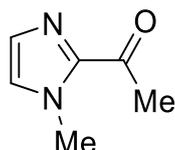
1-méthyl-1*H*-imidazole-2-carbaldéhyde (I) ⁹¹



Formule Brute	M.M (g/mol)	Aspect	Rdt %
C ₅ H ₆ N ₂ O	110.12	Huile transparente	79

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ 9.83 (s, 1H, CHO), 7.28 (s_L, 1H, H_{imid}), 7.11 (s_L, 1H, H_{imid}), 4.03 (s, 3H, NCH₃).

1-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)éthan-1-one (II) ⁹²



Formule Brute	M.M (g/mol)	Aspect	Rdt %
C ₆ H ₈ N ₂ O	124.14	Huile transparente	82

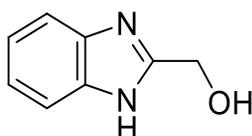
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ 7,14 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,03 (s_L, 1H, H_{imid}), 4,00 (s, 3H, NCH₃), 2,66 (s, 3H, CH₃).

2. Préparation du 1-méthyl-1*H*-benzo[*d*]imidazole-2-carbaldehyde (V)

2.1. Préparation de 1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)méthanol (III)

Mode Opérateur : A 5.0 g d'*o*-phénylènediamine dissous dans 100 mL d'une solution d'acide chlorhydrique (4N), sont ajoutés 3.0 équiv. (10.5 g) d'acide glycolique. Sous agitation, le mélange réactionnel est chauffé à 90°C pendant 48 heures. Il est ensuite refroidi puis alcalinisé par l'ajout goutte à goutte, d'une solution d'ammoniaque 10% jusqu'à pH 9. Le solide formé est alors séparé par filtration sous vide, lavé à l'eau, puis séché à l'air libre.

1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)méthanol (III)⁹³



Formule Brute	M.M (g/mol)	Aspect	Rdt %	Tf (°C)
C ₈ H ₈ N ₂ O	148.17	Solide jaune	88	114-16

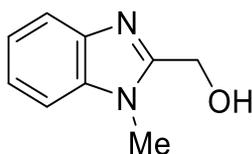
IR ν_{\max} (KBr) : 3300-2750 (OH ; NH ; CH_{Ar} ; CH₂) 1630 (C=N), 1500 (C=C) cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 8,10 – 8,03 (m, 2H, H_{benz}), 7,72-7,65 (m, 2H, H_{benz}), 5,41 (s, 2H, CH₂).

2.2. Préparation du (1-méthyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)méthanol (IV)

Mode Opérateur : 1.0 équ. (6.5 g) de (1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)méthanol (III) est ajouté à 1.2 équiv. de NaOH dissous dans un mélange H₂O/EtOH (8 /17 mL). Après dissolution totale, le mélange réactionnel est refroidi à 0 °C, puis sous vive agitation 1.1 équiv. de diméthyle sulfate sont ajoutés goutte à goutte pendant 30 à 40 minutes, tout en maintenant la température entre 0 et 5°C. Le mélange réactionnel est abandonné sous agitation pendant 30 min à 0 °C. Le solide formé est alors séparé par filtration sous vide, lavé avec un mélange glacé eau/éthanol (8/17), puis séché à l'air libre.

(1-méthyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)méthanol (IV)⁹⁴



Formule Brute	M.M (g/mol)	Aspect	Rdt %	Tf (°C)
C ₉ H ₁₀ N ₂ O	162.19	Solide blanc	72	122 - 24

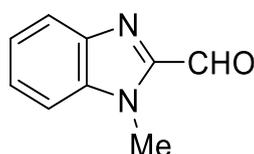
IR ν_{\max} (KBr) : $\nu = 3300 - 2750$ (OH, CH_{Ar}, CH₃, CH₂), 1690 (C=N), 1500 (C=C) cm⁻¹

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ 7,76-7,64 (m, 1H), 7,29-7,19 (m, 3H), 5,13 (s_L, 1H, OH), 4,88 (s, 2H, CH₂), 3,81 (s, 3H, NCH₃).

2.3. Préparation du 1-méthyl-1H-benzo[d]imidazol-2-carbaldehyde (V)

Mode Opérateur : 1.3 g de (1-méthyl-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)méthanol (IV) dissous dans le toluène sont placés dans un ballon de 50 mL, puis on ajoute sous vive agitation 1.2 équiv. de dioxyde de sélénium (SeO₂). Le mélange réactionnel est chauffé de 80 à 90 °C pendant deux heures. Le résidu obtenu est filtré à chaud, puis le solvant est chassé sous pression réduite.

1-méthyl-1H-benzo[d]imidazol-2-carbaldehyde (V)



Formule Brute	M.M (g/mol)	Aspect	Rdt %	Tf (°C)	Rf
C ₉ H ₈ N ₂ O	160.18	Solide blanc	79	116	0.68(AE1:Hex1)

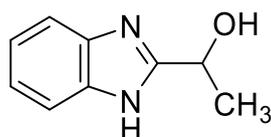
IR ν_{\max} (KBr) : $\nu = 1689$ (C=O), 1520 (C=N), 1470 (C=C) cm⁻¹

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 10,12 (s, CHO), 7,94-7,90 (m, 1H, H_{benz}), 7,55-7,47 (m, 3H, H_{benz}), 4,15 (s, 3H, NCH₃).

3. Préparation du 1-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)éthan-1-one (VII)

3.1. Préparation du 1-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)éthanol (VI)

Mode Opérateur : 5 g d'*o*-phénylènediamine et 1.44 équiv. (6.5 g) d'acide lactique sont introduits dans un ballon muni d'un barreau magnétique, puis chauffés à reflux pendant trois heures. On laisse le mélange réactionnel revenir à température ambiante, puis une solution de NaOH (10%) est lentement ajoutée jusqu'à obtention d'un précipité rosâtre. Le précipité formé est ensuite placé dans un bécher contenant 80 mL d'eau bouillante, puis une quantité de charbon actif est ajouté. Après 15 minutes d'agitation on filtre le charbon actif, on laisse revenir à température ambiante, le produit désiré précipite sous forme de cristaux blanc, qui sont filtrés lavés à l'eau, et séchés à l'air libre.⁹⁵

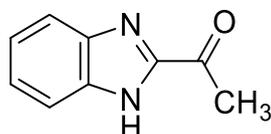
1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl) ethanol (VI)

Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C₉H₁₀N₂O	162.19	Solide blanc	40	184-86

IR ν_{\max} (KBr) : $\nu = 3440-3050$ (O-H ; N-H, CH_{Ar} ; CH) 1650-1500 (C=N ; C=C) cm⁻¹

3.2. Préparation du 1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)éthan-1-one (VII)

Mode Opératoire : 1.5 g de 1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)éthan-1-ol (VI) dissous dans du H₂SO₄ 5% sont ajoutés goutte à goutte et sous vive agitation, à une solution de K₂Cr₂O₇ (1.5 équiv.) dissous dans du H₂SO₄ 25% durant 30 minutes. Le mélange réactionnel est abandonné sous vive agitation à température ambiante pendant 2 heures. L'acidité du milieu est neutralisée avec une solution de NH₄OH 25%. Un précipité orange est formé, il est alors filtré, lavé à l'eau, séché, puis recristallisé dans l'acétate d'éthyle.⁹⁵

1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)éthan-1-one (VII)

Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
C₉H₈N₂O	160.18	Solide jaune	49	191 - 93	0.73(AE1 :Hex1)

IR ν_{\max} (KBr) : $\nu = 3286$ (N-H), 1666 (C=O) 1600-1495 (C=N; C=C) cm⁻¹

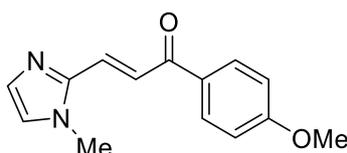
RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz): δ 10,6 (s, 1H, NH), 7,9-7,3 (m, 4H, H_{benz}), 2,85 (s, 3H, CH₃).

4. Préparation des chalcones (1 – 21)

Mode opératoire général : Dans un ballon de 25 mL, 1 mmol. de 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-carbaldehyde (I) [ou de 1-méthyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-carbaldehyde (V)] est solubilisé dans l'éthanol, puis on ajoute sous agitation 1 équiv. (1 mmol.) de dérivé de l'acétophénone. Le mélange réactionnel est refroidi à 0°C, puis une solution de KOH 10% (1 mL) est ajoutée goutte à goutte, et la solution est abandonnée sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. Le résidu obtenu est versé sur de l'eau glacée, le précipité formé est filtré, lavé à l'eau glacée,

puis séché à l'air libre. Le solide obtenu est alors purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant un mélange (acétate d'éthyle 1: hexane 1) comme éluant (chalcones **1** – **10**). Suivant la même procédure, on a obtenu les chalcones (**11** - **21**) en utilisant du 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-acétyl **II** [ou 1- (1*H*-benzo [d] imidazol-2-yl) éthan-1-one) **VII**] et des dérivés du benzaldéhyde.

1-(4-méthoxyphényl)-3-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one (**1**)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
C ₁₄ H ₁₄ N ₂ O ₂	242.28	Solide jaune	76	110-12 °C	0.7 (AE)

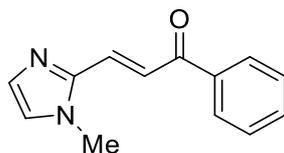
IR ν_{\max} (**KBr**) : $\nu = 1654$ (CO), 1600 (C=N), 1590 (C=C) cm^{-1} .

RMN ¹H (**CDCl₃**, **250 MHz**) : δ 8,14 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H, H_{Ar}), 8,06 (d, $J = 14,9$ Hz, 1H, H _{β}), 7,70 (d, $J = 14,9$ Hz, 1H, H _{α}), 7,22 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,04 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,99 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H, H_{Ar}), 3,91 (s, 3H, OCH₃), 3,83 (s, 3H, NCH₃).

RMN ¹³C (**CDCl₃**, **62.9 MHz**) : δ 187,8 (C=O), 163,7 (C_q-O), 144,0 (C_qimid), 131,0 (2 x CH_{Ar}), 130,7 (C_qAr), 130,4 (CH _{β}), 126,9 (CH_{imid}), 123,8 (CH _{α}), 123,4 (CH_{imid}), 113,9 (2 x CH_{Ar}), 55,6 (CH₃-O), 33,0 (CH₃-N).

ESI(+)-HRMS : Calculé C₁₄H₁₄N₂O₂ [M+H]⁺ m/z = 243,1134; trouvé 243,1122.

3-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-1-phénylprop-2-en-1-one (**2**)



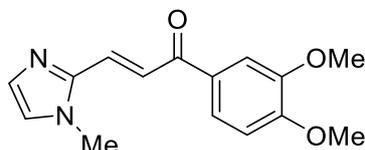
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O	212.25	Solide jaune	88	125-27

IR ν_{\max} (**KBr**) : $\nu = 1657$ (CO), 1583 (C=N) cm^{-1} .

RMN ¹H (**CDCl₃**, **250 MHz**) : δ 8,11 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, H_{Ar}), 8,04 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H, H _{β}), 7,70 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H, H _{α}), 7,62-7,42 (m, 3H, H_{Ar}), 7,21 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,03 (s_L, 1H, H_{imid}), 3,81 (s, 3H, NCH₃).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 62.9 MHz) : δ 189,5, 143,8, 137,8, 133,2, 130,6, 128,7, 127,6, 124,0, 123,3, 120,3, 33,0

1-(3,4-diméthoxyphényl)-3-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one (3)



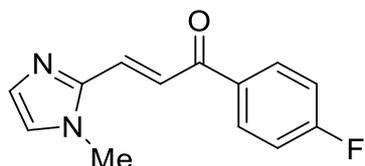
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$	272.30	Solide jaune	80	172

IR ν_{max} (KBr) : $\nu = 1662$ (CO), 1584 (C=C) cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ 8,05 (d, $J = 14,9$ Hz, 1H, H_β), 7,81 (dd, $J = 8,4$ et 1,9 Hz, 1H, H_{Ar}), 7,68 (d, $J = 14,9$ Hz, 1H, H_α), 7,65 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7,20 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,03 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,93 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H_{Ar}), 3,98 (s, 3H, OCH_3), 3,97 (s, 3H, OCH_3), 3,81 (s, 3H, NCH_3).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 62.9 MHz) : δ 187,7, 153,5, 149,2, 144,0, 130,9, 130,3, 126,8, 123,8, 123,6, 123,3, 119,5, 110,6, 110,1, 56,2, 56,1, 33,1.

1-(4-fluorophényl)-3-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one (4)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}$	230.24	Solide jaune	45	126-28	0.8 (AE)

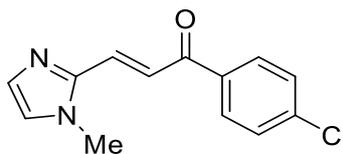
IR ν_{max} (KBr) : $\nu = 1642$ (C=O) 1607 (C=N), 1533 (C=C) cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ 8,18 – 8,11 (m, 2H, H_{Ar}), 8,01 (d, $J = 14,9$ Hz, 1H, H_β), 7,70 (d, $J = 14,9$ Hz, 1H, H_α), 7,21–7,13 (m, 3H, $\text{H}_{\text{imid}} + \text{H}_{\text{Ar}}$), 7,05 (s_L, 1H, H_{imid}), 3,82 (s, 3H, NCH_3).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 62.9 MHz) : δ 187,9 (C=O), 165,8 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 254,7$ Hz, $\text{C}_q\text{-F}$), 143,7 ($\text{C}_{q\text{imid}}$), 134,2 ($\text{C}_{q\text{Ar}}$), 131,3 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 9,3$ Hz, 2CH_{Ar}), 130,6 (CH_β), 127,7 (CH_{imid}), 124,1 (CH_α), 122,9 (CH_{imid}), 115,8 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 21,7$ Hz, 2CH_{Ar}), 33,1 ($\text{CH}_3\text{-N}$).

ESI(+)-HRMS : Calculé $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 231,0934$; trouvé 231,0922.

1-(4-chlorophényl)-3-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one (5)

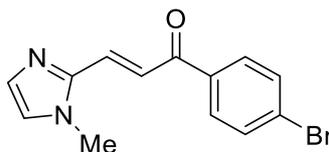


Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
C₁₃H₁₁ClN₂O	246.69	Solide jaune	60	118 - 20	0.8 (AE)

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 8,15 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H_{Ar}), 8,01 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H, H_β), 7,73 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H, H_α), 7,19 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,15 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H_{Ar}), 7,09 (s_L, 1H, H_{imid}), 3,82 (s, 3H, NCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 188,3, 143,8, 139,7, 136,2, 130,7, 130,1, 129,1, 128,0, 124,2, 122,8, 33,2.

1-(4-bromophényl)-3-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one (6)

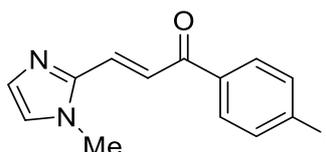


Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
C₁₃H₁₁BrN₂O	291.15	Solide jaune	67	120 - 22	0.6 (AE)

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 7,99 (d, 2H, *J* = 8,0 Hz, H_{Ar}), 7,96 (d, 1H, *J* = 15,0 Hz, H_β), 7,68 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H, H_α), 7,62 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H_{Ar}), 7,20 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,04 (s_L, 1H, H_{imid}), 3,85 (s, 3H, NCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 188,4, 143,7, 136,0, 132,0, 130,7, 130,1, 129,6, 128,4, 128,0, 124,2, 122,6, 120,3, 33.

1-(4-iodophényl)-3-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one (7)

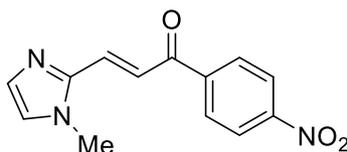


Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
C₁₃H₁₁IN₂O	338.15	Solide jaune	91	178 - 80	0.8 (AE)

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz): δ 7,96 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H, H_β), 7,86 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H, H_{Ar}), 7,80 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H, H_{Ar}), 7,69 (d, *J* = 15,0 Hz 1H, H_α), 7,21 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,04 (s_L, 1H, H_{imid}), 3,81 (s, 3H, NCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz): δ 188,7, 143,7, 138,0, 137,0, 130,8, 130,1, 128,0, 124,2, 122,6, 101,3, 33,1.

3-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-1-(4-nitrophényl)prop-2-en-1-one (8)

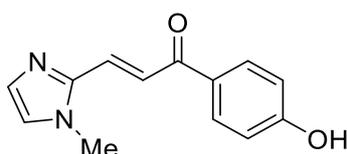


Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
C ₁₃ H ₁₁ N ₃ O ₃	257.25	Solide orange	84	210 - 12	0.7 (AE)

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 8,35 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H_{Ar}), 8,24 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H_{arom}), 8,00 (d, *J* = 15,0 Hz 1H, H_β), 7,76 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H, H_α), 7,27 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,10 (s_L, 1H, H_{imid}), 3,86 (s, 3H, NCH₃)

RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 187,9, 150,3, 143,5, 142,5, 131,2, 129,6, 129,2, 124,7, 124,0, 122,1, 33,2.

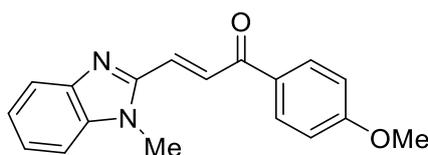
1-(4-hydroxyphényl)-3-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one (9)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O ₂	228.25	Solide jaune	43

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 9,28 (s_L, 1H, OH), 7,90 – 6,70 (m, 3H, H_{Ar}, H_β), 6,84 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H, H_α), 6,06 (s_L, 1H, H_{imid}), 5,99 (s_L, 1H, H_{imid}), 5,76 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H_{Ar}), 2,71 (s, 3H, NCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 186,5, 162,1, 143,1, 130,5, 129,4, 128,8, 126,6, 124,0, 115,2, 114,6, 32,5.

1-(4-méthoxyphényl)-3-(1-méthyl-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one (10)

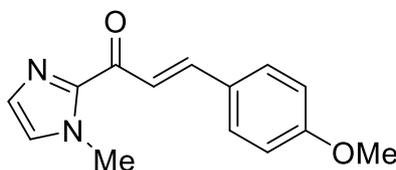
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C₁₈H₁₆N₂O₂	292.34	Solide jaune	87	144 - 46

IR (KBr) : $\nu = 1654$ (C=O) 1610 (C=N), 1500 (C=C) cm^{-1}

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 8,41 (d, $J = 14,9$ Hz, 1H, H _{β}), 8,19 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,93–7,85 (m, 2H, H_{benz}, H _{α}), 7,44–7,30 (m, 3H, H_{benz}), 7,01 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H_{Ar}), 3,95 (s, 3H, OCH₃), 3,92 (s, 3H, NCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 187,4 (C=O), 164,0 (Cq-O), 148,7 (Cq_{benz}), 143,0 (Cq_{benz}), 136,2 (Cq_{benz}), 131,3 (2 x CH_{Ar}), 130,4 (Cq_{Ar}), 128,2 (CH _{β}), 127,0 (CH_{benz}), 124,0 (CH_{benz}), 123,5 (CH _{α}), 120,1 (CH_{benz}), 114,0 (2 x CH_{Ar}), 109,8 (CH_{benz}), 55,6 (CH₃-O), 30,0 (CH₃-N).

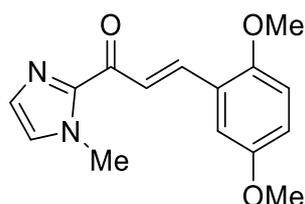
ESI(+)-HRMS : Calculé C₁₈H₁₆N₂O₂ [M+H]⁺ m/z = 293,1290, trouvé 293,1276.

3-(4-méthoxyphényl)-1-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one (11)

Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
C₁₄H₁₄N₂O₂	242.28	Solide jaune	50

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 7,98 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H, H _{β}), 7,81 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H, H _{α}), 7,67 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,22 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,08 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,93 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H_{Ar}), 4,10 (s, 3H, OCH₃), 3,86 (s, 3H, NCH₃).

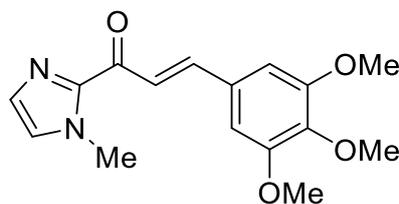
RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 180,6, 161,7, 143,3, 130,6, 129,2, 127,8, 127,2, 120,5, 120,1, 114,4, 55,4, 36,4.

3-(2,5-diméthoxyphényl)-1-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one (12)

Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
C₁₅H₁₆N₂O₃	272.30	Solide jaune	65

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 8,26 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H, H_β), 8,06 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H, H_α), 7,31 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H, H_{Ar}), 7,24 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,10 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,96 (dd, *J* = 8,9 et 2,8 Hz, 1H, H_{Ar}), 6,88 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, H_{Ar}), 4,12 (s, 3H, OCH₃), 3,88 (s, 3H, OCH₃), 3,84 (s, 3H, NCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 180,6 (C=O), 153,5 (C-O), 153,4 (C-O), 144,2, 138,4, 123,2, 127,2, 124,4, 122,7, 119,9, 118,3, 112,6, 112,2, 56,2, 56,0, 36,5.

1-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-3-(3,4,5-triméthoxyphényl)prop-2-en-1-one (13)

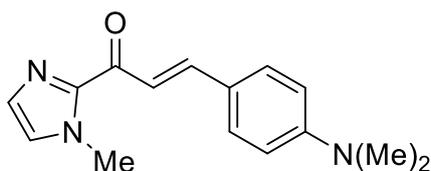
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C₁₆H₁₈N₂O₄	302.33	Solide blanc	70	130 - 32

IR (KBr) : ν = 1670 (C=O), 1615 (C=N), 1510 C=C cm⁻¹

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 8,06 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H, H_β), 7,85 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H, H_α), 7,33 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,20 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,02 (s, 2H, H_{Ar}), 4,20 (s, 3H, OCH₃), 4,01 (s, 6H, 2OCH₃), 3,99 (s, 3H, NCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 180,3 (C=O), 153,4 (2C_q-O), 144,1 (C_qimid), 143,7 (CH_β), 140,3 (C_q-O), 130,5 (C_qAr), 129,3 (CH_{imid}), 127,4 (CH_{imid}), 121,8 (CH_α), 105,9 (2CH_{Ar}), 61,0 (CH₃-O), 56,3 (2CH₃-O), 36,5 (CH₃-N).

ESI(+)-HRMS : Calculé C₁₆H₁₈N₂O₄ [M+H]⁺ m/z = 303,1345; trouvé 303,1331.

3-(4-(diméthylamino)phényl)-1-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one (14)

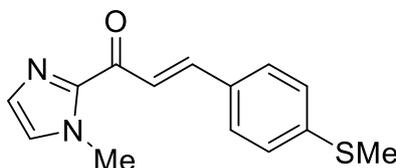
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C₁₅H₁₇N₃O	255.32	Solide orange	67	70-72

IR (KBr) : ν 1657 (C=O), 1623 (C=N), 1514 (C=C) cm^{-1} .

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 7,90 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H, H _{β}), 7,81 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H, H _{α}), 7,62 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,21 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,06 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,69 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H_{Ar}), 4,10 (s, 3H, NCH₃), 3,05 (s, 6H, N(CH₃)₂).

RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 180,7 (C=O), 152,1 (C_q-N), 144,5 (C_qimid, CH _{β}), 130,8 (2CH_{Ar}), 128,9 (CH_{imid}), 126,8 (CH_{imid}), 122,8 (C_qAr), 117,5 (CH _{α}), 111,8 (2CH_{Ar}), 40,2 ((CH₃)₂N), 36,4 (CH₃-N).

ESI(+)-HRMS : Calculé C₁₅H₁₇N₃O [M+H]⁺ m/z = 256,1450; trouvé 256,1437.

1-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-3-(4-(méthylthio)phényl)prop-2-en-1-one (15)

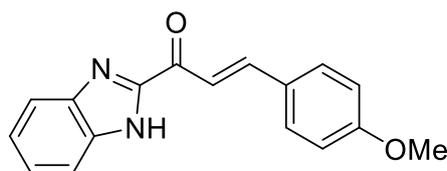
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C₁₄H₁₄N₂OS	258.34	Solide jaune	90	94-96

IR (KBr): $\nu = 1651$ (C=O) 1590 (C=N), 1488 (C=C) cm^{-1}

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 8,05 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H, H _{β}), 7,80 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H, H _{α}), 7,63 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,26 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,24 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,10 (s_L, 1H, H_{imid}), 4,11 (s, 3H, NCH₃), 2,53 (s, 3H, SCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 180,5 (C=O), 144,1 (C_qimid), 142,9 (CH _{β}), 142,3 (C_q-S), 131,5 (C_qAr), 129,3 (CH_{imid}), 129,2 (2xCH_{Ar}), 127,3 (CH_{imid}), 125,9 (2xCH_{Ar}), 121,8 (CH _{α}), 36,4 (CH₃-N), 15,2 (CH₃-S).

ESI(+)-HRMS : Calculé C₁₄H₁₄N₂OS [M+H]⁺ m/z = 259,0905; trouvé 259,0893.

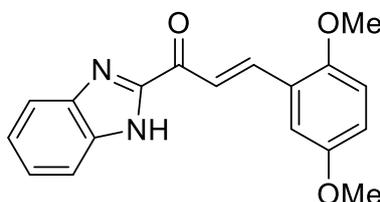
1-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-3-(4-méthoxyphényl)prop-2-en-1-one (16)

Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C₁₇H₁₄N₂O₂	278.31	Solide jaune	72	202-04

IR (KBr) : $\nu = 3259$ (NH), 1651 (C=O), 1580 (C=N), 1500 (C=C) cm^{-1}

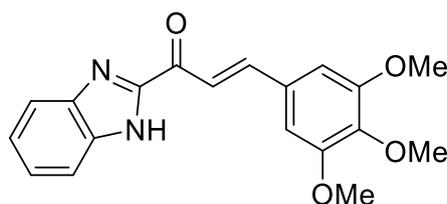
RMN ¹H (CDCl₃/DMSO-d₆, 250 MHz) : δ 11,26 (s, 1H, NH), 8,16–8,04 (m, 2H, H _{α} , H _{β}), 7,93 (dd, $J = 7,5$ et 2,5 Hz 1H, H_{benz}), 7,74 (dd, $J = 8,7$ et 3,8 Hz, 2H_{Ar}), 7,65–7,61 (m, 1H, H_{benz}), 7,49–7,37 (m, 2H, H_{benz}), 6,97 (dd, $J = 8,7$ et 3,8 Hz, 2H_{Ar}), 3,88 (s, 3H, OCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃/DMSO-d₆, 62,9 MHz) : δ 180,9 (C=O), 161,4 (C_q-O), 149,0 (C_qbenz), 144,2 (CH _{β}), 142,9 (C_qbenz), 134,3 (C_qbenz), 130,3 (2CH_{Ar}), 126,8 (C_qAr), 125,1 (CH_{benz}), 122,6 (CH_{benz}), 120,6 (CH_{benz}), 118,6 (CH _{α}), 113,9 (2CH_{Ar}), 112,4 (CH_{benz}), 54,9 (OCH₃).

1-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-3-(2,5-méthoxyphényl)prop-2-en-1-one (17)

Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
C₁₈H₁₆N₂O₃	308.34	Solide jaune	70

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 13,48 (s, 1H, NH), 8,22 (d, $J = 16,2$ Hz, 1H, H _{β}), 8,13 (d, $J = 16,2$ Hz, 1H, H _{α}), 8,01 – 7,52 (m, 2H, H_{benz}), 7,44 – 7,33 (m, 3H, H_{benz} + H_{Ar}), 7,12 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7,09 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, H_{Ar}), 3,90 (s, 3H, OCH₃), 3,82 (s, 3H, OCH₃).

1-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-3-(3,4,5-méthoxyphényl)prop-2-en-1-one (18)

Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C₁₉H₁₈N₂O₄	338.36	Solide jaune	75	209 - 11

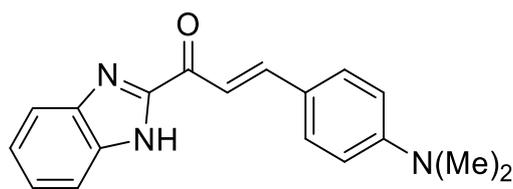
IR (KBr): $\nu = 3217$ (NH), 1651 (C=O), 1600 (C=N), 1500 (C=C) cm^{-1} .

RMN ¹H (Méthanol-*d*₄/ DMSO-*d*₆, 250 MHz) : δ 11,26 (s, 1H, NH), 8,09 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H, H _{β}), 8,05–7,96 (m, 2H, H _{α} , H_{benz}), 7,64–7,60 (m, 1H, H_{benz}), 7,49–7,37 (m, 2H, H_{benz}), 6,99 (s, 2H, H_{Ar}), 3,94 (s, 6H, 2OCH₃), 3,93 (s, 3H, OCH₃).

RMN ¹³C (Méthanol-*d*₄/ DMSO-*d*₆, 62,9 MHz) : δ 181,5 (C=O), 153,5 (2C_q-O), 149,0 (C_qbenz), 146,4 (CH _{β}), 143,7 (C_qbenz), 141,1 (C_q-O), 134,0 (C_qbenz), 130,0 (C_qAr), 126,5 (CH_{benz}), 124,0 (CH_{benz}), 121,8 (CH_{benz}), 120,0 (CH _{α}), 112,4 (CH_{benz}), 106,4 (2CH_{Ar}), 61,1 (OCH₃), 56,3 (2OCH₃).

ESI(+)-HRMS : Calculé C₁₉H₁₈N₂O₄ [M+H]⁺ $m/z = 339,345$; trouvé 339,1331.

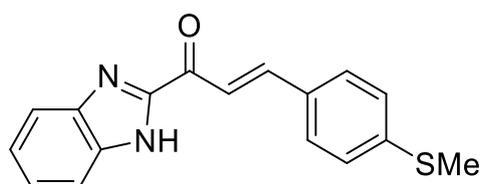
1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)-3-(4-(diméthylamino)phényl)prop-2-en-1-one (19)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
C₁₈H₁₇N₃O	291.35	Solide rouge	66

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 10,48 (s_L, 1H, NH), 8,10 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, H _{β}), 8,02 – 7,96 (m, 1H, H_{benz}), 7,94 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, H _{α}), 7,72 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,60 (dd, $J = 7,11$ et 1,7 Hz, 1H, H_{benz}), 7,50–7,35 (m, 2H, H_{benz}), 7,19 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, H_{Ar}) 3,11 (s, 6H, N(CH₃)₂).

1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)-3-(4-(méthylthio)phényl)prop-2-en-1-one (20)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C₁₇H₁₄N₂OS	294.37	Solide jaune	73	203 - 05

IR (KBr) : $\nu = 3244$ (NH), 1654 (C=O), 1590 (C=N), 1490 (C=C) cm^{-1}

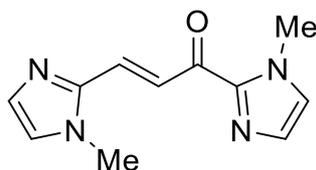
RMN ^1H (CDCl₃/DMSO-d₆, 250 MHz) : δ 13,12 (s_L, 1H, NH), 8,07 (d, $J = 16,1$ Hz, 1H, H _{β}), 7,86 (d, $J = 16,1$ Hz, 1H, H _{α}), 7,80 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H_{benz}), 7,59 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, 2H_{Ar}), 7,57–7,49 (m, 1H, H_{benz}), 7,42–7,21 (m, 2H, H_{benz}), 7,19 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, H_{Ar}) 2,46 (s, 3H, SCH₃).

RMN ^{13}C (CDCl₃/DMSO-d₆, 62,9 MHz) : δ 180,7 (C=O), 148,8 (C_{qbenz}), 143,5 (CH _{β}), 142,8 (C_{qbenz}), 142,5 (C_{q-S}), 134,4 (C_{qbenz}), 130,4 (C_{qAr}), 128,7 (2CH_{Ar}), 125,1 (CH_{benz}, 2CH_{Ar}), 122,7 (CH_{benz}), 120,6 (CH_{benz}), 119,8 (CH _{α}), 112,4 (CH_{benz}), 14,2 (SCH₃).

ESI(+)-HRMS : Calculé C₁₇H₁₄N₂OS [M+H]⁺ m/z = 295,0905; trouvé 295,0891.

Suivant la même procédure, on a obtenu la chalcone bisimidazolique (**21**) en utilisant le 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-carbaldéhyde (**I**) et le 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-acétyle (**II**).

1,3-bis(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)prop-2-en-1-one (**21**)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O	216.24	Solide jaune	45

RMN ^1H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 8,33 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, H _{α}), 7,72 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, H _{β}), 7,24 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,10 (s_L, 1H, H_{imid}), 4,10 (s, 3H, NCH₃), 3,84 (s, 3H, NCH₃).

RMN ^{13}C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 180,5, 143,8, 130,7, 129,7, 127,4, 127,3, 125,1, 124,0, 119,8, 36,3, 33,4.

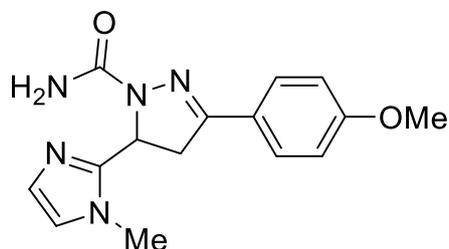
5. Préparation des dérivés de la pyrazoline 22 – 40

5.1. Préparation du 3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole-1-carboxamide (**22**) et du 3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole-1-carbothioamide (**23**)

Mode opératoire général : Dans un ballon de 25 mL muni d'un barreau magnétique, on introduit 1 mmol (242 mg) de la chalcone (**1**), dissous dans 3 mL d'éthanol. Ensuite 2 équiv. de semicarbazide (pour la préparation du dérivé (**22**)) ou thiosemicarbazide (pour la préparation du dérivé (**23**)), et 2.5 équiv. de KOH sont ajoutés. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 4 heures. Une fois revenu à la température ambiante le résidu obtenu est filtré, lavé à

l'éthanol et séché pour donner le produit désiré pratiquement pur (ne nécessite pas de purification supplémentaire).

3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole-1-carboxamide (22)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C₁₅H₁₇N₅O₂	299.33	Solide blanc	90	257 - 59

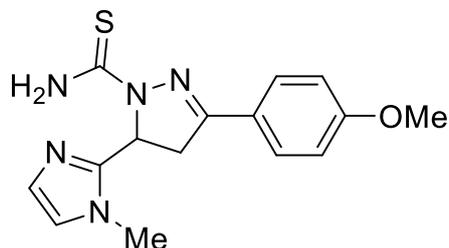
IR (KBr) : $\nu = 3475$ (NH₂_{asym}), 3348 (NH₂_{sym}), 1685 (C=O) cm⁻¹

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 250 MHz) : δ 7,75 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,02 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,01 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,75 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,39 (s, 2H, NH₂), 5,46 (dd, $J = 11,7$ et $6,1$ Hz, 1H, H_{py}), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 3,78 (s, 3H, NCH₃), 3,77–3,35 (m, 2H, H_{py}).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 62.9 MHz) : δ 160,4 (C_q-O), 155,1 (C=O), 150,6 (C_qimid), 147,6 (C_qpy), 128,0 (2CH_{Ar}), 126,5 (CH_{imid}), 124,1 (C_qAr), 121,1 (CH_{imid}), 114,0 (2CH_{Ar}), 55,3 (CH₃-O), 51,0 (CH_{py}), 38,5 (CH₂py), 32,5 (NCH₃).

ESI(+)-HRMS : Calculé C₁₅H₁₇N₅O₂ [M+H]⁺ m/z = 300,1460, trouvé 300,1446.

3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole-1-carbothioamide (23)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C₁₅H₁₇N₅OS	315.40	Solide blanc	60	>260

IR (KBr) : $\nu = 3435$ (NH₂_{asym}), 3332 (NH₂_{sym}), 1616 (C=N) cm⁻¹.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 250 MHz) : δ 7,96 (s, 1H, NH), 7,83 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,78 (s, 1H, NH), 7,03 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,97 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,72 (s_L, 1H, H_{imid}), 5,46 (dd, $J =$

11,5 et 4,2 Hz, 1H, H_{py}), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 3,73 (s, 3H, NCH₃), 3,82–3,70 (m, 1H, H_{pyraz}), 3,22 (dd, $J = 17,7$ et 4,2 Hz, 1H, H_{py}).

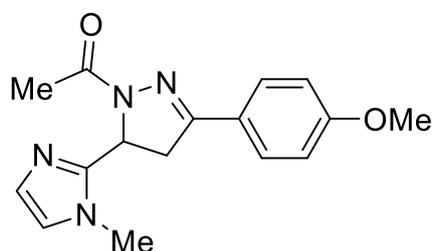
RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 62,9 MHz) : δ 175,0 (C=S), 161,0 (C_q-O), 154,4 (C_qimid), 147,9 (C_qpy), 128,7 (2CH_{Ar}), 126,8 (CH_{imid}), 123,5 (C_qAr), 120,4 (CH_{imid}), 114,1 (2CH_{Ar}), 55,4 (CH₃-O), 54,4 (CH_{py}), 38,5 (CH₂py), 32,8 (CH₃-N).

ESI(+)-HRMS : Calculé C₁₅H₁₇N₅OS [M+H]⁺ $m/z = 316,1232$, trouvé 316,1215

5.2. Préparation du 1-(3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl) éthanone (24)

Mode Opérateur : A une solution de la chalcone **1** (150 mg) dans de l'acide acétique (2,5 mL), (3 éq) d'hydrazine monohydrate sont ajoutés. Après pendant 4 heures de reflux, le mélange réactionnel est versé sur de l'eau glacée (25 mL). Le résidu obtenu est filtré, lavé avec de l'éthanol froid, séché et purifié par recristallisation dans de l'éthanol pour donner le produit attendu.

1-(3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)éthanone (24)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C ₁₆ H ₁₈ N ₄ O ₂	298.35	Solide blanc	65	200 -02

IR (KBr) : $\nu = 1647$ (C=O), 1605 (C=N), 1500 (C=C) cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 7,73 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,98 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,94 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 2H_{Ar}), 6,80 (s_L s, 1H, H_{imid}), 5,52 (dd, $J = 11,2$ et 6,1 Hz, 1H, H_{py}), 3,91 (s, 3H, OCH₃), 3,86 (s, 3H, NCH₃), 3,86–3,57 (m, 2H, H_{py}), 2,36 (s, 3H, CH₃).

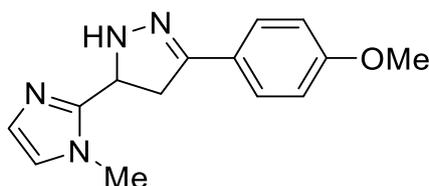
RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 169,1 (C=O), 161,3 (C_q-O), 154,1 (C_qimid), 146,7 (C_qpy), 128,4 (2xCH_{Ar}), 127,9 (CH_{imid}), 123,9 (C_qAr), 121,1 (CH_{imid}), 114,0 (2xCH_{Ar}), 55,4 (OCH₃), 50,9 (CH_{py}), 40,0 (CH₂py), 33,2 (NCH₃), 22,0 (CH₃).

ESI(+)-HRMS : Calculé C₁₆H₁₈N₄O₂ [M+H]⁺ $m/z = 299,1508$, trouvé 299,1494.

5.3. Préparation des pyrazolines N-H (25 - 31)

Mode opératoire général : Dans un ballon de 25 mL, on dissout 1 mmol de chalcone (**1, 4 -9**) dans l'EtOH, puis on ajoute 3 équiv. d'hydrazine monohydrate. Le mélange réactionnel est ensuite porté à reflux pendant 4 heures. On laisse revenir à température ambiante, ensuite le mélange réactionnel est versé lentement sur de l'eau glacée, puis on abandonne sous agitation pendant 15 minutes. Le précipité formé est alors filtré, lavé à l'eau glacée, séché, puis recristallisé dans l'éthanol.

3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole (25)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C ₁₄ H ₁₆ N ₄ O	256.31	Solide blanc	85	202 - 04

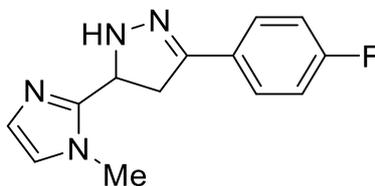
IR (KBr) : $\nu = 3259$ (NH) cm⁻¹

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 7,64 (dd, $J = 7,0$ et $2,0$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,95 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,92 (dd, $J = 7,0$ et $2,0$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,89 (s_L, 1H, H_{imid}), 5,16–5,07 (m, 1H, H_{py}), 3,90–3,80 (m, 1H, H_{py}), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 3,73 (s, 3H, NCH₃), 3,50–3,42 (m, 1H, H_{py}).

RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 160,4 (C_q-O), 152,1 (C_qimid), 146,9 (C_qpy), 127,7 × 2 (CH_{Ar}), 127,4 (CH_{imid}), 125,2 (C_qAr), 122,5 (CH_{imid}), 114,0 × 2 (CH_{Ar}), 56,5 (CH₃-O), 55,4 (CH_{py}), 38,3 (CH₂py), 33,3 (NCH₃).

ESI(+)-HRMS : Calculé C₁₄H₁₆N₄O [M+H]⁺ m/z = 257,1402, trouvé 257,1387

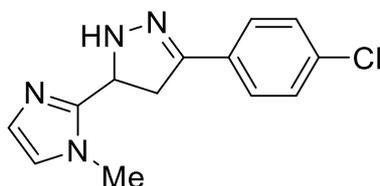
3-(4-fluorophényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole (26)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
C ₁₃ H ₁₃ FN ₄	244.27	Solide blanc	48	168	0.4 (AE)

RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ 7,71 – 7,63 (m, 2H, H_{Ar}), 7,13 – 7,02 (m, 2H, H_{Ar}), 6,96 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 6,90 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 5,14 (dd, $J = 10,5$ et $9,6$ Hz, 1H, H_{py}), 3,92-3,78 (m, 1H, H_{py}), 3,73 (s, 3H, NCH_3), 3,50 – 3,33 (m, 1H, H_{py}).

3-(4-chlorophényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole (27)



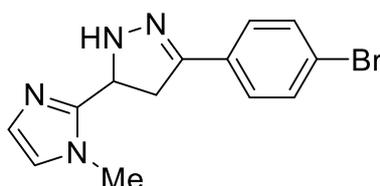
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
$\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{ClN}_4$	260.73	Solide blanc	79	184	0.2 (AE)

RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ 7,61 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,33 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,96 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,88 (s_L, 1H, H_{imid}), 5,15-5,13 (m, 1H, H_{py}), 3,80-3,40 (m, 2H, H_{py}), 3,71 (s, 3H, NCH_3).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 62,9 MHz) : δ 150,9, 146,8, 134,9, 130,9, 128,8, 127,5, 127,4, 122,6, 56,6, 38, 33.

ESI(+)-MS : Calculé $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{ClN}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 261,1$, trouvé 261,2.

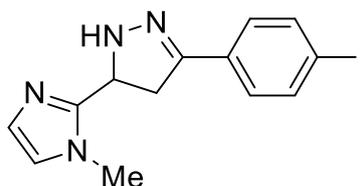
3-(4-bromophényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole (28)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
$\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{BrN}_4$	305.18	Solide blanc	69	190	0.2 (AE)

RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ 7,62 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,32 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,91 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,79 (s_L, 1H, H_{imid}), 5,08-4,97 (m, 1H, H_{py}), 3,74-3,67 (m, 1H, H_{py}), 3,62 (s, 3H, CH_3), 3,36-3,30 (m, 1H, H_{py}).

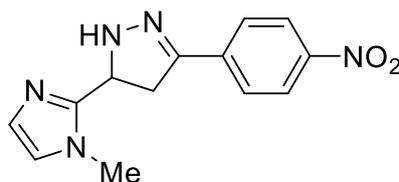
ESI(+)-MS : Calculé $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{BrN}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 305,04$, trouvé 305,14.

3-(4-iodophényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole (29)

Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
C ₁₃ H ₁₃ IN ₄	352.18	Solide blanc	91	194	0.1 (AE)

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 7,65 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H_{Ar}), 7,35 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H_{Ar}), 6,89 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,83 (s_L, 1H, H_{imid}), 5,13-5,03 (m, 1H, H_{py}), 3,80-3,74 (m, 1H, H_{py}), 3,65 (s, 3H, CH₃), 3,40-3,34 (m, 1H, H_{py}).

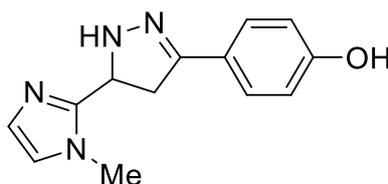
ESI(+)-MS : Calculé C₁₃H₁₃IN₄ [M+H]⁺ m/z = 353,0, trouvé 353,1.

5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-3-(4-nitrophényl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole (30)

Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
C ₁₃ H ₁₃ N ₄ O ₂	271.28	Solide jaune	70	260	0.8 (AE)

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 8,24 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H_{Ar}), 7,86 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H_{Ar}), 7,15 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,81 (s_L, 1H, H_{imid}), 5,20 – 5,10 (m, 1H, H_{py}), 3,68 (s, 3H, NCH₃), 3,53–3,23 (m, 2H, H_{py}).

ESI(+)-MS : Calculé C₁₃H₁₃N₄O₂ [M+H]⁺ m/z = 272,1, trouvé 272,2

4-(5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)phénol (31)

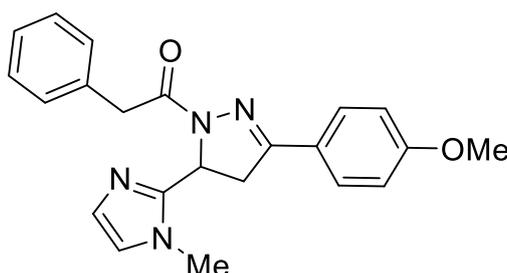
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C	Rf
C ₁₃ H ₁₄ N ₄ O	242.28	Solide blanc	85	> 260	0.8 (AE)

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 250 MHz) : δ 9,69 (s, 1H, NH), 7,64 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H_{Ar}), 7,11 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,80 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H_{Ar}), 6,77 (s_L, 1H, H_{imid}), 4,98 – 4,87 (m, 1H, H_{py}), 4,12 (s_L, 1H, OH), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 3,66 (s, 3H, NCH₃), 3,65 – 3,46 (m, 1H, H_{py}), 3,24 – 3,17 (m, 1H, H_{py}).

5.4. Préparation du 1-(3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)-2-phényléthan-1-one (32)

Mode opératoire : A 150 mg de pyrazoline (25) dissoute dans 2,5 mL d'acétone anhydre et refroidi à 0 °C, on ajoute 1 équiv. de triéthylamine. En maintenant la température à 0 °C, 1 équiv. de chlorure de 2-phénylacétyle est ajouté goutte à goutte, puis on laisse sous agitation pendant 2 heures à température ambiante. Le mélange réactionnel est ensuite filtré, le solvant éliminé, et le résidu obtenu est recristallisé dans de l'éthanol pour donner le composé 32.

1-(3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)-2-phényléthan-1-one (32)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C ₁₆ H ₁₈ N ₄ O ₂	298.35	Solide brun	40	177 - 79

IR (KBr) : ν = 1654 (C=O), 1610 (C=N), 1495 (C=C) cm⁻¹.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 250 MHz) : δ 7,77 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H_{Ar}), 7,35–7,23 (m, 5H, H_{Ar}), 6,99 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,97 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H_{Ar}), 6,78 (s_L, 1H, H_{imid}), 5,50 (dd, *J* = 11,5 et 5,7 Hz, 1H, H_{py}), 4,30 (d, *J* = 14,5 Hz, 1H, H_{CH2}), 3,94 – 3,87 (m, 4H, H_{CH2}, OCH₃), 3,86 (s, 3H, NCH₃), 3,75 (dd, *J* = 17,3 et 5,7 Hz, 1H, H_{py}), 3,61 (dd, *J* = 17,3 et 11,5 Hz 1H, H_{py}).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 62,9 MHz) : δ 169,3 (C=O), 161,4 (Cq-O), 154,4 (Cq_{imid}), 146,7 (Cq_{py}), 135,4 (Cq_{Ar}), 129,7 (2 x CH_{Ar}), 128,5 (4 x CH_{Ar}), 127,9 (CH_{Ar}), 126,7 (CH_{imid}), 123,9 (Cq_{Ar}), 121,1 (CH_{imid}), 114,1 (2 x CH_{Ar}), 55,4 (CH₃-O), 51,1 (CH_{py}), 41,1 (CH₂), 40,0 (CH_{2py}), 33,3 (CH₃-N).

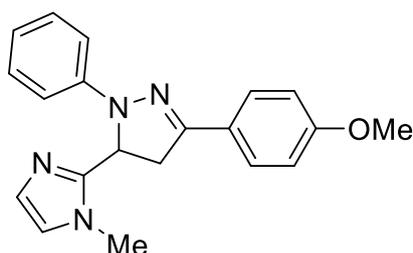
ESI(+)-HRMS : Calculé C₂₂H₂₂N₄O₂ [M+H]⁺ m/z = 375,1821, trouvé 375,1802.

5.5. Préparation des pyrazolines *N*-aryle (33 - 40)

Mode opératoire général : Dans un ballon de 25 mL, on dissout 1 mmol de chalcone **1-3**, **6** dans l'EtOH, puis on ajoute 2 équiv. de dérivé de la phénylhydrazine et 2,5 équiv. de NaOH. Le mélange réactionnel est ensuite porté à reflux pendant 4 heures. On laisse revenir à température ambiante, le précipité formé est filtré lavé à l'éthanol, séché, puis recristallisé dans le DMSO.

3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-1-phényl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole

(33)



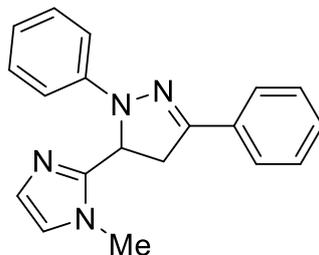
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O	332.41	Solide blanc	78	182-84

IR (KBr) : $\nu = 1600$ (C=N), 1570 (C=C) cm⁻¹

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 7,72 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,17 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,10 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,05–7,00 (m, 4H, H_{Ar}), 6,84 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,74 (t, $J = 7,1$ Hz, 1H, H_{Ar}), 5,54 (dd, $J = 13,1$ et $8,2$ Hz, 1H, H_{py}), 3,94–3,81 (m, 1H, H_{py}), 3,81 (s, 3H, OCH₃), 3,51 (s, 3H, NCH₃), 3,42–3,31 (m, 1H, H_{py}).

RMN ¹³C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 159,9 (C_q-O), 147,6 (C_qimid), 146,0 (C_qpy), 145,0 (C_q-N), 128,9 (2 x CH_{Ar}), 127,3 (2 x CH_{Ar}), 126,6 (CH_{imid}), 124,5 (C_qAr), 122,9 (CH_{Ar}), 118,7 (CH_{imid}), 114,1 (2 x CH_{Ar}), 112,7 (2 x CH_{Ar}), 57,7 (CH₃-O), 55,2 (CH_{py}), 38,5 (CH₂py), 32,5 (NCH₃).

5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-1,3-diphényl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole (34)



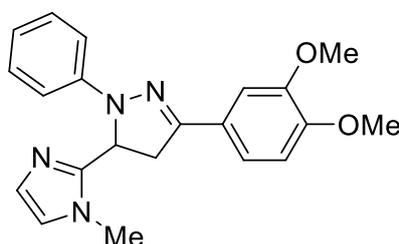
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
C ₁₉ H ₁₈ N ₄	302.38	Solide blanc	88	180 - 82

IR (KBr) : $\nu = 1665$ (C=N), 1575 (C=C) cm^{-1}

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 250 MHz) : δ 7,84-7,73 (m, 2H, H_{Ar}), 7,58 – 7,36 (m, 3H, H_{Ar}), 7,28 – 7,01 (m, 5H, H_{Ar} + H_{imid}), 6,89 – 6,71 (m, 2H, H_{Ar} + H_{imid}), 5,61 (dd, $J = 13,0$ Hz et $J = 8,1$ Hz, 1H, H_{py}), 3,90 (dd, $J = 17,6$ Hz et $J = 13,5$ Hz, 1H, H_{py}), 3,53 (s, 3H, NCH_3), 3,50 – 3,27 (m, 1H, H_{py}).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 62,9 MHz) : δ 147,6, 145,9, 144,7, 132,0, 128,9, 128,7, 126,7, 125,8, 123,0, 119,0, 112,8, 57,7, 38,5, 32,5.

3-(3,4-diméthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-1-phényl-4,5-dihydro-1H-pyrazole (35)



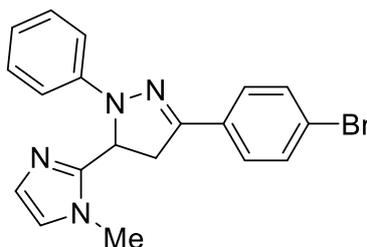
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2$	362.43	Solide jaune	67	223 - 25

IR (KBr): $\nu = 1665$ (C=N), 1575 (C=C) cm^{-1}

RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ 7,57 (s, 1H, H_{Ar}), 7,34 – 6,79 (m, 9H, H_{Ar}), 5,61 (dd, $J = 13,5$ et $9,2$ Hz, 1H, H_{py}), 4,02 (s, 3H, OCH_3), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 3,88 (dd, $J = 17,7$ et $13,5$ Hz, 1H, H_{py}), 3,51 (s, 3H, NCH_3), 3,31 (dd, $J = 17,7$ et $9,2$ Hz, 1H, H_{py}).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 62,9 MHz) : δ 149,8, 148,8, 147,8, 146,1, 144,9, 128,9, 126,6, 124,7, 122,9, 119,2, 118,7, 112,7, 111,5, 108,5, 57,7, 55,5, 55,4, 38,5, 32,5.

3-(4-bromophényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-1-phényl-4,5-dihydro-1H-pyrazole (36)

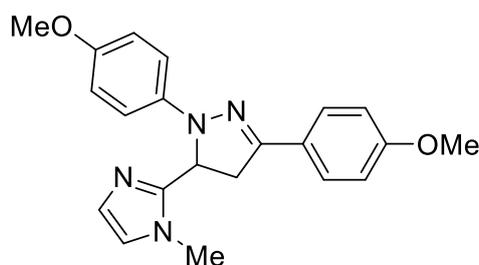


Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{BrN}_4$	381.27	Solide jaune	90	213 - 15

IR (KBr): $\nu = 1665$ (C=N), 1575 (C=C) cm^{-1}

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 250 MHz) : δ 7,76 – 7,61 (m, 4H, H_{Ar}), 7,27 – 7,00 (m, 5H, H_{Ar} + H_{imid}), 6,88 – 6,73 (m, 2H, H_{Ar} + H_{imid}), 5,64 (dd, $J = 13,2$ et $7,9$ Hz, 1H, H-5_{py}), 3,87 (dd, $J = 17,9$ et $13,2$ Hz, 1H, H-4_{py}), 3,52 (s, 3H, NCH_3), 3,42–3,28 (m, 1H, H-4_{py}).

1,3-bis(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole (37)



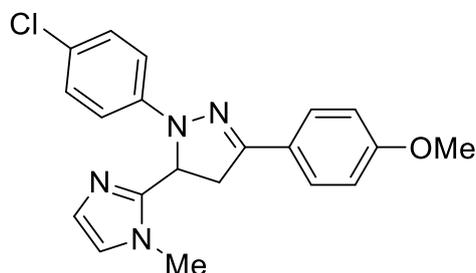
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2$	362.43	Solide vert	91	200 - 02

IR (KBr): $\nu = 1665$ (C=N), 1575 (C=C) cm^{-1}

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 250 MHz) : δ 7,70 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,11 (sL, 1H, 1H_{imid}), 7,02 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,95 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,85 (sL, 1H, 1H_{imid}), 6,79 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, H_{Ar}), 5,41 (dd, $J = 12,8$ et $9,2$ Hz, H-5_{py}), 3,95 – 3,75 (m, 4H, H-4_{py} + OCH_3), 3,66 (s, 3H, OCH_3), 3,53 (s, 3H, NCH_3), 3,47 – 3,29 (m, 1H, H-4_{py}).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 62,9 MHz) : δ 159,8, 152,9, 147,1, 146,0, 139,7, 127,2, 126,6, 124,7, 123,0, 114,4, 114,3, 114,1, 58,9, 55,3, 55,2, 38,5, 32,6.

1-(4-chlorophényl)-3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole (38)



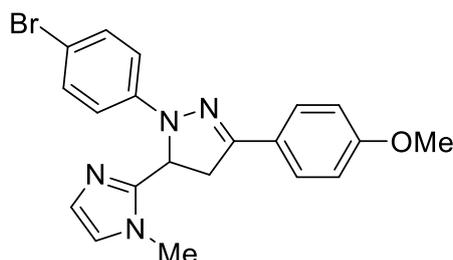
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
$\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}$	366.85	Solide blanc	92	228 - 30

IR (KBr): $\nu = 1665$ (C=N), 1575 (C=C) cm^{-1}

RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ 7,71 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,18 (d, $J = 9,1$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,10 (d, $J = 9,1$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,03 (s_{L} , 1H, H_{imid}), 6,97 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,83 (s_{L} , 1H, H_{imid}), 5,60 (dd, $J = 13,5$ et 8,9 Hz, H-5_{py}), 3,95 – 3,76 (m, 4H, H-4_{py} + OCH_3), 3,51 (s, 3H, NCH_3), 3,31 (dd, $J = 17,8$ et 8,9 Hz, 1H, H-4_{py}).

RMN ^{13}C ($\text{DMSO-}d_6$, 62,9 MHz) : δ 160,1, 148,4, 145,6, 143,7, 128,6, 127,5, 126,7, 124,3, 123,0, 122,2, 114,2, 114,1, 57,4, 55,3, 38,5, 32,5.

1-(4-bromophényl)-3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole (39)



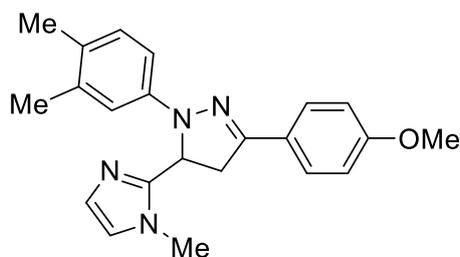
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
$\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{BrN}_4\text{O}$	411.30	Solide blanc	90	240 - 42

IR (KBr): $\nu = 1665$ (C=N), 1575 (C=C) cm^{-1}

RMN ^1H ($\text{DMSO-}d_6$, 250 MHz) : δ 7,72 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,32 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,11 (s_{L} , 1H, H_{imid}), 7,02 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,95 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,82 (s_{L} , 1H, H_{imid}), 5,57 (dd, $J = 13,0$ et 7,6 Hz, H-5_{py}), 3,98-3,73 (m, 4H, H-4_{py} + OCH_3), 3,52 (s, 3H, NCH_3), 3,49 – 3,29 (m, 1H, H-4_{py}).

RMN ^{13}C ($\text{DMSO-}d_6$, 62,9 MHz): δ 160,1, 148,4, 145,6, 144,0, 131,4, 127,5, 126,7, 124,3, 123,0, 114,5, 114,1, 109,8, 57,3, 55,3, 38,5, 32,5.

1-(3,4-diméthylphényl)-3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole (40)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %	Tf °C
$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}$	360.19	Solide blanc	90	244 - 46

IR (KBr): $\nu = 1665$ (C=N), 1575 (C=C) cm^{-1}

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 250 MHz) : δ 7,70 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,08 (s_L, 1H, H_{imid}), 7,01 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,94 – 6,83 (m, 2H, H_{Ar}), 6,82 (s_L, 1H, H_{imid}), 6,66 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, H_{Ar}), 5,47 (dd, $J = 12,6$ et $8,7$ Hz, 1H, H_{py}), 3,94-3,68 (m, 4H, $\text{H}_{\text{py}} + \text{OCH}_3$), 3,48 (s, 3H, NCH_3), 3,42–3,16 (m, 1H, H_{py}), 2,12 (s, 3H, CH_3), 2,08 (s, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (CDCl₃, 62,9 MHz) : δ 160,3, 146,8, 146,5, 143,5, 137,4, 130,2, 127,9, 127,4, 127,3, 125,0, 122,9, 119,8, 115,0, 114,2, 110,6, 59,7, 55,5, 39,9, 33,3, 20,2, 18,9.

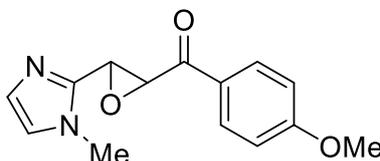
6. Préparation des dérivés imidazole-pyrazole (43 – 52)

6.1. Utilisation des chalcones comme produit de départ

➤ Synthèse de pyrazole *via* un intermédiaire époxyde 41

Mode opératoire : A une solution de la chalcone **1** (2.5 mmol dans 10 mL d'éthanol) refroidit à 0 °C, on ajoute goutte à goutte 1 mL d'une solution de H₂O₂ 30 %, puis 1 mL de NaOH 30 %. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à 0 °C pendant 5 h, il est filtré, le solvant est ensuite éliminé. Le résidu obtenu est recristallisé dans de l'éthanol pour donner l'époxychalcone **41** avec un bon rendement (60%).

(4-méthoxyphényl)(3-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)oxiran-2-yl)méthanone



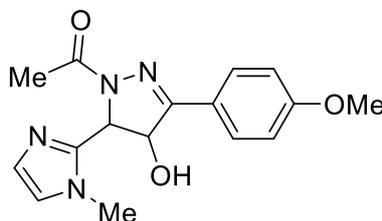
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
C ₁₄ H ₁₄ N ₂ O ₃	258.28	Solide jaune	60 %

RMN ^1H (CDCl₃, 300 MHz) : δ 8,14 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,06 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 6,99 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,92 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 5,04 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H_{epox}), 4,12 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H_{epox}), 3,89 (s, 3H, OCH_3), 3,81 (s, 3H, NCH_3).

Essai d'ouverture de l'époxychalcone 41 : Dans un ballon de 25 mL, on dissout 1 mmol de l'époxychalcone **41** dans 10 mL d'éthanol, puis on ajoute 3 équiv. d'hydrazine hydrate (3 mmol). Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 6 h, puis le solvant est évaporé. Le résidu obtenu est dissout dans 1 mL d'acide acétique, suivi par l'ajout d'une goutte d'acide sulfurique concentré. Le mélange est laissé sous agitation à 50 °C pendant 6 h, puis neutralisé

par ajout d'une solution de NH_4OH ($\text{pH} = 7$). Le mélange réactionnel est ensuite versé sur de la glace pilée, filtré, lavé avec de l'eau et cristallisé dans le méthanol pour donner **42**.

1-(4-hydroxy-3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-one (42)



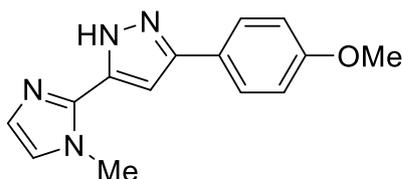
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3$	314.34	Solide blanc	-

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) : δ 7,83 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,12 – 6,98 (m, 3H, H_{Ar} + H_{imid}), 6,74 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 5,36 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H, H_{py}), 5,15 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H, H_{py}), 3,82 (s, 3H, OCH_3), 3,80 (s, 3H, NCH_3), 2,25 (s, 3H, CH_3).

➤ **Synthèse de pyrazole en milieu aqueux**

Mode opératoire : Dans un ballon de 25 mL muni d'un barreau magnétique, on introduit 5 mL d'eau distillée, 0,5 mmol de chalcone **1, 9** et 0,6 mmol de benzènesulfonyl hydrazide (1,2 équiv.), puis on ajoute l'hydroxyde de sodium (1,5 équiv), et le bromure de *tétra-N*-butylammonium (1,5 équiv). Le mélange réactionnel est chauffé à 80 °C pendant 10 h, on laisse revenir à température ambiante puis on ajoute 20 mL d'acétate d'éthyle. On lave le mélange avec une solution saturé de NaCl (saumure) (15 mL), et avec de l'eau (15 mL). On sépare la phase organique qui est séchée sur Na_2SO_4 anhydre. Le solvant est éliminé sous vide, et le produit est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange AcOEt/hexane (1 : 1).

3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-1*H*-pyrazole (43)



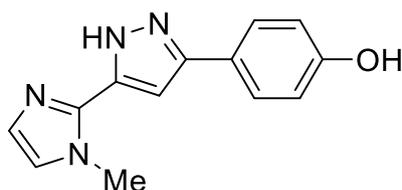
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$	254.29	Solide blanc	< 10

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) : δ 7,70 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,16 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 6,97 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 6,96 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,89 (s, 1H, H_{pyraz}), 3,99 (s, 3H, NCH_3), 3,85 (s, 3H, OCH_3).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) : δ 159,7 (C_{qAr}), 140,2 (C_{qimid}), 128,2 (CH_{imid}), 126,9 (2CH_{Ar}), 124,0 (C_{qAr}), 122,6 (CH_{imid}), 114,3 (2CH_{Ar}), 100,9 (CH_{pyraz}), 55,3 (OCH_3), 34,9 (NCH_3) .
 C_{qpyraz} non observé.

ESI(+)-HRMS : Calculé $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 255,1240$, trouvé 255,1230.

4-(5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl)phénol (44)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}$	240.26	Solide blanc	< 10

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) : δ 7,53 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,12 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 6,96 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 6,91 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H_{Ar}), 6,85 (s, 1H, H_{pyraz}), 3,98 (s, 3H, NCH_3).

6.2. Utilisation des 2-pyrazolines comme matière première

➤ Oxydation par MnO_2 activé

Mode opératoire : Un mélange de 0,14 mmol de pyrazoline **30** et de 1,44 mmol de MnO_2 (10 -11 équiv.) dans 6 mL de toluène est chauffé à 110 °C avec un dispositif Dean-Stark pendant 3,5 jours. Le mélange résultant une fois revenu à la température ambiante est filtré à travers une colonne de célite. Le solvant est ensuite éliminé, et le résidu obtenu est recristallisé dans l'éthanol.

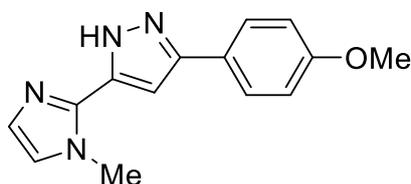
➤ Oxydation par I_2

Mode opératoire : À une solution de pyrazoline **30** (0,5 mmol) dans l'éthanol (10 mL) est ajouté sous atmosphère d'azote 1 mmol d'iode moléculaire (2 équiv.), puis la réaction est portée à reflux pendant 36 h jusqu'à conversion totale (jugé par CCM). Le mélange réactionnel est concentré, on ajoute une solution de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 5 % (neutralisation de l'excès de I_2), puis on extrait avec l'acétate d'éthyle (15 mL x 3). La phase organique est séchée sur du sulfate de sodium anhydre, le solvant est ensuite éliminé sous pression réduite.

6.3. Synthèse « one-pot »

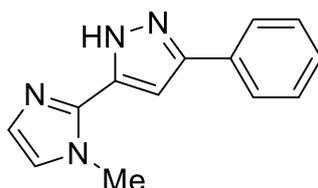
Mode opératoire général : Le 1-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl) éthan-1-one **II** (2 mmol) est dissout dans 5 mL de toluène sec dans un flacon à bouchon à vis (avec septum), la solution est refroidie à 0°C sous azote atmosphérique. LiHMDS (2,1 mL, 1,0 M dans du THF, 2,1 mmol) est ajouté rapidement via une seringue et l'anion formé est laissé au repos pendant environ 1 minute avant l'ajout *via* une seringue de chlorure d'acide (1 mmol) en une portion sous agitation. Le flacon est ensuite retiré du bain de glace et laissé au repos pendant 1 minute, puis 2 ml d'AcOH ont est ajoutés sous agitation. 10 mL d'EtOH ont est ajoutés pour former un mélange homogène, puis de l'hydrate d'hydrazine (243 µL, 250 mg, 5 mmol), le mélange est chauffé au reflux pendant 1 heure. La solution résultante est ajoutée à une solution de NaOH 1,0 M et extraite avec EtOAc. La fraction organique est ensuite lavée avec de la saumure, séchée sur Na₂SO₄ et évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie en utilisant des plaques préparatives avec l'acétate d'éthyle comme éluant pour donner les composés imidazole-pyrazole correspondants (**43**, **45-52**).

3-(4-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-1*H*-pyrazole (**43**)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O	254.29	Solide blanc	12

5-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-3-phényl-1*H*-pyrazole (**45**)



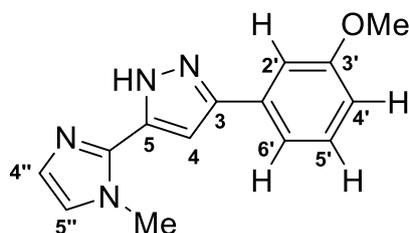
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
C ₁₃ H ₁₂ N ₄	224.26	Solide blanc	14

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) : δ 12,97 (sL, 1H, NH_{pyraz}), 7,82 – 7,77 (m, 2H, H_{Ar}), 7,43 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,34 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7,19 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 6,98 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 6,96 (s, 1H, H_{pyraz}), 4,00 (s, 3H, NCH_3).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) : δ 140,0 (C_{qimid}), 131,6 (C_{qAr}), 128,8 ($2\times\text{CH}_{\text{Ar}}$), 128,2 (CH_{imid}), 128,2 (CH_{Ar}), 125,6 ($2\times\text{CH}_{\text{Ar}}$), 122,6 (CH_{imid}), 101,3 (CH_{pyraz}), 34,9 (NCH_3). C_{qpyraz} non observé.

ESI(+)-HRMS : Calculé. $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 225,1135$, trouvé 225,1127.

3-(3-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-1H-pyrazole (46)



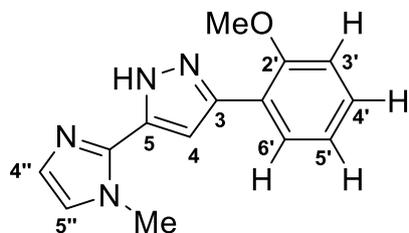
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$	254.29	Solide blanc	10

RMN ^1H (Méthanol- d_4 /TFAA, 300 MHz) : δ 7,63 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{4''}$), 7,60 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{5''}$), 7,43 (pst, $J = 8,2$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'}$), 7,38-7,33 (m, 2H, $\text{H}_{4'} + \text{H}_{2'}$), 7,28 (s, 1H, H_4), 7,05-6,99 (m, 1H, $\text{H}_{6'}$), 4,21 (s, 3H, NCH_3), 3,89 (s, 3H, OCH_3).

RMN ^{13}C (Méthanol- d_4 /TFAA, 75 MHz) : δ 160,5 ($\text{C}_{\text{q}3'}$), 145,2 ($\text{C}_{\text{q}3}/\text{C}_{\text{q}5\text{pyraz}}$), 139,3 ($\text{C}_{\text{q}2''}$), 136,9 ($\text{C}_{\text{q}3}/\text{C}_{\text{q}5\text{pyraz}}$), 130,1 ($\text{C}_{\text{t}5'}$), 129,2 ($\text{C}_{\text{q}1'}$), 124,4 ($\text{C}_{\text{t}4''}$), 118,4 ($\text{C}_{\text{t}5''}$), 117,7 ($\text{C}_{\text{t}4'}$), 114,4 ($\text{C}_{\text{t}6'}$), 110,9 ($\text{C}_{\text{t}2'}$), 102,8 ($\text{C}_{\text{t}4}$), 54,4 (OCH_3), 35,8 (NCH_3).

ESI(+)-HRMS : Calculé. $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 255,1240$, trouvé 255,1230.

3-(2-méthoxyphényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-1H-pyrazole (47)



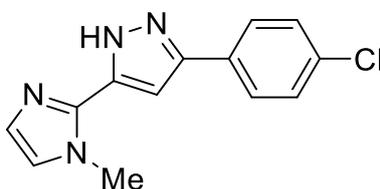
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$	254.29	Solide jaune	20

RMN ^1H (Méthanol- d_4 /TFAA, 300 MHz) : δ 7,74 (dd, $J = 7,8$ et $1,7$ Hz, 1H, $\text{H}_{6'}$), 7,62 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{4''}$), 7,59 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, $\text{H}_{5''}$), 7,48-7,40 (m, 1H, $\text{H}_{4'}$), 7,35 (s, 1H, H_{pyraz}), 7,20 (dd, $J = 8,5$ et $1,1$ Hz, 1H, $\text{H}_{3'}$), 7,10 (td, $J = 7,5$ et $1,1$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'}$), 4,22 (s, 3H, NCH_3), 4,01 (s, 3H, OCH_3).

RMN ^{13}C (Méthanol- d_4 /TFAA, 75 MHz) : δ 156,2 ($\text{C}_{\text{q}2'}$), 142,0 (C_{qpyraz}), 139,5 (C_{qimid}), 136,0 (C_{qpyraz}), 130,3 ($\text{C}_{\text{t}4'}$), 127,8 ($\text{C}_{\text{t}6'}$), 124,3 ($\text{C}_{\text{t}4''}$), 120,8 ($\text{C}_{\text{t}5'}$), 118,3 ($\text{C}_{\text{t}5''}$), 116,3 ($\text{C}_{\text{q}1'}$), 111,4 ($\text{C}_{\text{t}3'}$), 104,2 (C_{tpyraz}), 54,7 (OCH_3), 35,8 (NCH_3)

ESI(+)-HRMS : Calculé. $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 255.1240$, trouvé 255.1230.

3-(4-chlorophényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-1H-pyrazole (48)



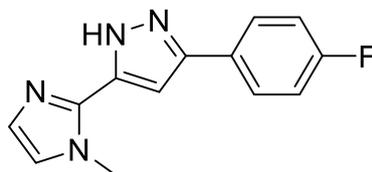
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClN}_4$	258.71	Solide blanc	14

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : δ 12,94 (s_{L} , 1H, NH_{pyraz}), 7,76 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,40 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,20 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 7,00 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 6,88 (s, 1H, H_{pyraz}), 3,97 (s, 3H, NCH_3).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : δ 139,4 (C_{qimid}), 133,8 (C_{qAr}), 130,3 (C_{qAr}), 128,9 ($2\times\text{CH}_{\text{Ar}}$), 128,3 (CH_{imid}), 126,9 ($2\times\text{CH}_{\text{Ar}}$), 122,7 (CH_{imid}), 100,8 (CH_{pyraz}), 34,7 (NCH_3) . C_{qpyraz} non observé.

ESI(+)-HRMS : Calculé $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClN}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 259,0745$, trouvé 259,0736.

3-(4-fluorophényl)-5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-1H-pyrazole (49)



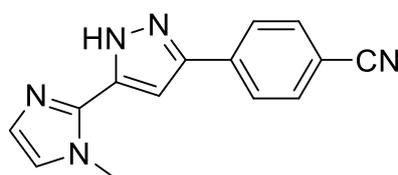
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{FN}_4$	242.25	Solide blanc	23

RMN ^1H (Méthanol- d_4 /TFAA, 300 MHz) : δ 7,86 – 7,78 (m, 2H, H_{Ar}), 7,64 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H_{imid}), 7,60 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H_{imid}), 7,32 – 7,23 (m, 2H, H_{Ar}), 7,25 (s, 1H, H_{pyraz}), 4,22 (s, 1H, NCH_3).

RMN ^{13}C (Méthanol- d_4 /TFAA, 75 MHz) : δ 163,26 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 248,2$ Hz, F- Cq_{Ar}), 144,4 (Cq_{pyraz}), 139,2 (Cq_{imid}), 137,0 (Cq_{pyraz}), 127,6 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 8,4$ Hz, $2\times\text{CH}_{\text{Ar}}$), 124,56 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 3,4$ Hz, Cq_{Ar}), 124,4 (CH_{imid}), 118,4 (CH_{imid}), 115,8 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 22,3$ Hz, $2\times\text{CHA}_{\text{r}}$), 102,6 (CH_{pyraz}), 35,8 (NCH_3).

ESI(+)-HRMS : Calculé $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{FN}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 243,1041$, trouvé 243,1030.

4-(5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl)benzonitrile (50)



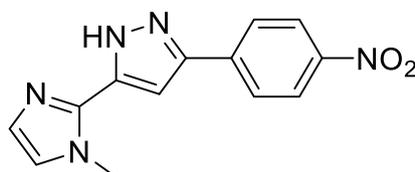
Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
$\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_5$	249.28	Solide blanc	37

RMN ^1H (Méthanol- d_4 /TFAA, 300 MHz) : δ 7,99 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,89 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7,65 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, H_{imid}), 7,62 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H_{imid}), 7,45 (s, 1H, H_{pyraz}), 4,23 (s, 3H, NCH_3).

RMN ^{13}C (Méthanol- d_4 /TFAA, 75 MHz) : δ 143,5 (Cq_{pyraz}), 138,9 (Cq_{imid}), 137,2 (Cq_{pyraz}), 132,8 ($2\times\text{CH}_{\text{Ar}}$), 126,1 ($2\times\text{CH}_{\text{Ar}}$), 124,5 (CH_{imid}), 118,5 (CH_{imid}), 117,8 (CN), 112,2 (Cq_{Ar}), 104,2 (CH_{pyraz}), 35,86 (CH_3).

ESI(+)-HRMS : Calculé $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 250,1087$, trouvé 250,1076.

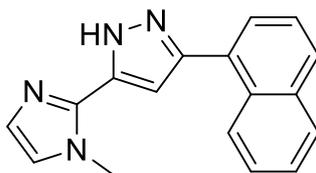
5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-3-(4-nitrophényl)-1H-pyrazole (51)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}_2$	269.26	Solide jaune	19

ESI(+)-HRMS : Calculé $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 270,0986$, trouvé 270,0973.

5-(1-méthyl-1H-imidazol-2-yl)-3-(naphthalen-1-yl)-1H-pyrazole (52)



Formule Brute	M.M g/mol.	Aspect	Rdt %
C ₁₇ H ₁₄ N ₄	269.26	Solide jaune	19

RMN ¹H (Méthanol-*d*₄/TFAA, 300 MHz) : δ 8,37 – 8,30 (m, 1H, H_{Ar}), 7,92 (m, 2H, H_{Ar}), 7,66 (dd, $J = 7,1, 1,3$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7,57 – 7,50 (m, 3H, H_{Ar}), 7,09 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 7,07 (s, 1H, H_{pyraz}), 6,96 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H_{imid}), 4,02 (s, 3H, NCH₃).

ESI(+)-HRMS : Calculé C₁₇H₁₄N₄ [M+H]⁺ $m/z = 275,1300$, trouvé 275,1280.

7. Etude *in vitro* de l'activité anticancéreuse

7.1. Culture cellulaire

Trois lignées cellulaires humaines ont été utilisées dans cette recherche : le carcinome gastrique (AGS ; Sigma-Aldrich), le carcinome pulmonaire (A549 ; ECACC, Salisbury, Royaume-Uni) et les fibroblastes pulmonaires humains (MRC-5 ; ATCC, Barcelone, Espagne). Les cellules ont été cultivées en monocouche à 37°C dans un incubateur humidifié avec 5% de CO₂. Les cellules AGS ont été cultivées dans du DMEM enrichi en glutamine, les MRC-5 ont été cultivées dans le milieu minimum essentiel d'Eagle (Gibco) et les cellules A549 ont été cultivées dans du DMEM/F-12. Tous les milieux ont été supplémentés avec 1% de streptomycine/pénicilline et 10 % de FBS. Pour la sous-culture, les cellules ont été lavées avec du HBSS, traitées avec une solution de Trypsine-EDTA à 0,25% pendant 3 min à 37°C, remises en suspension dans 5 mL de milieu de culture et centrifugées à 1200 tr/min pendant 3 minutes. Le surnageant a été éliminé et le culot cellulaire a été remis en suspension dans du milieu de culture. Les passages cellulaires ont été maintenus bas pour toutes les lignées cellulaires, avec un maximum de 12 passages.

7.2. Test MTT

La viabilité cellulaire a été évaluée par le test de réduction MTT. Les cellules ont été cultivées dans des plaques à 96 puits (15.000 cellules/puits pour AGS, 10.000 pour A549 et 20.000 pour MRC-5) et laissées se fixer pendant 24 h. Après incubation avec les composés étudiés (6,25 à 100 μ M) pendant 24 h, du MTT (concentration finale de 0,5 mg/mL) a été ajouté

dans chaque puits et la plaque incubée pendant 90 min à 37°C. Les cristaux de formazan ont été dissous avec un mélange DMSO/isopropanol (3:1) puis quantifiés par spectrophotométrie à 560 nm dans un lecteur de microplaques (Multiskan ASCENT, MA, USA). Les résultats correspondent à la moyenne \pm erreur standard d'au moins trois expériences indépendantes réalisées en triple et sont exprimés en pourcentage des cellules témoins non traitées. Pour l'étude de l'implication de la RIP1 kinase, le même test a été réalisé en présence de l'inhibiteur de RIPK1 nécrostatine-1.

7.3. Études morphologiques

Les cellules ont été cultivées en lamelles à une densité de 5×10^4 cellules/puits dans des plaques à 24 puits en présence des composés à l'étude. Les cellules ont été incubées pendant 24 h, puis lavées avec du HBSS et fixées avec du méthanol (30 min, 4°C). Pour la visualisation du cytosquelette, des fibres F-actine et des noyaux, les cellules ont été fixées et colorées pendant une heure avec de l'isothiocyanate de phalloïdine-tétraméthylrhodamine B (0,5 g/mL) et du DAPI (0,1 g/mL ; Sigma-Aldrich). Les échantillons ont été observés avec un microscope AxioImager Z1 m (Zeiss, Oberkochen, Allemagne).

7.4. Évaluation de l'intégrité membranaire : test de libération de LDH

Pour évaluer l'intégrité membranaire, l'activité de la LDH extracellulaire a été mesurée. Les cellules ont été cultivées comme décrit pour le test MTT, et après 24 h, le milieu a été collecté et la LDH a été évaluée en surveillant la diminution de NADH lors de la conversion du pyruvate en lactate, à 340 nm, dans un lecteur de microplaques. (ASCENSION Multiskan). Triton X-100 1% a été utilisé comme contrôle positif pour la lyse cellulaire. Tous les résultats correspondent au facteur d'augmentation de l'absorbance dans les cellules traitées par rapport aux cellules non traitées.

7.5. Tests d'inhibition de la caspase

Les cellules AGS ont été cultivées dans des plaques à 96 puits, comme décrit pour le test MTT et laissées se fixer pendant 24 h. Les cellules ont été pré-incubées avec Z-VAD.fmk (50 μ M) pendant 1 h puis les composés à l'étude ont été ajoutés et incubés pendant 8 h à 37°C. Après cela, le test MTT a été effectué.

L'activité de la caspase-3 a été évaluée en utilisant le test du kit Caspase-Glo® 3/7. Les cellules ont été incubées avec les composés comme indiqué pour le test MTT, après quoi le tampon Caspase-Glo 3/7 et le substrat Caspase-Glo 3/7 ont été ajoutés pendant 35 min à 22 °C et le signal luminescent a été mesuré à l'aide d'un lecteur de microplaques. (Cytation™ 3,

BioTek, VT, USA). Dans la lignée cellulaire utilisée, la caspase-3 est la caspase effectrice et donc les résultats du test du kit Caspase-Glo 3/7 sont attribués à la caspase-3. La staurosporine a été utilisée comme contrôle positif pour l'activation de la caspase-3.

7.6. Évaluation du potentiel membranaire mitochondrial ($\Delta\Psi_m$)

Les cellules ont été étalées dans des plaques à 96 puits à fond noir à la densité décrite ci-dessus pour le test MTT. Les cellules ont été pré-incubées pendant 8 h avec les composés à l'étude, après quoi 7 μ M de JC-1 ont été ajoutés et incubés encore pendant 30 minutes supplémentaires. Pour la quantification du potentiel de membrane mitochondriale ($\Delta\Psi_m$), la fluorescence a été lue à 485/530 nm et à 530/590 nm dans un lecteur de microplaques multifonctionnel (Cytation™ 3, BioTek, VT, USA). $F_{590/530}$ a été déterminé. Le PMA (250) nM a été utilisé comme contrôle positif.³

7.7. Analyse statistique

Lors de l'évaluation préliminaire des données, des valeurs aberrantes ont été identifiées par le test de Grubbs. Le test de normalité Shapiro-Wilks a été effectué dans le pool de données pour s'assurer que toutes les données suivaient une distribution normale. La comparaison entre les moyennes des témoins et chaque condition expérimentale a été réalisée par ANOVA. Les données ont été exprimées comme la moyenne \pm erreur standard de la moyenne de trois expériences indépendantes, sauf indication contraire, chacune réalisée en triple. Le logiciel GraphPad Prism a été utilisé et les valeurs ont été considérées comme statistiquement significatives lorsque $p \leq 0,05$.

8. Tests antimicrobiens

8.1. Préparation des suspensions de micro-organismes et ensemencement

Les différentes souches sélectionnées, sont repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri contenant un milieu d'enrichissement (gélose nutritive (GN) pour *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia*, sélénite pour *Salmonella typhi* et Giolitti Cantoni pour *Staphylococcus aureus*), puis incubées à 37°C pendant 24 h. Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique dont la turbidité est ajustée à 0,5 McFarland (densitimètre) qui correspond à une densité microbienne de l'ordre de 10⁶ cellules/mL. Un prélèvement à partir de cet inoculum (400 μ L) sert à ensemercer de nouvelles boîtes de Pétri (de diamètre 9 cm), contenant 18 mL du milieu Mueller-Hinton-Agar (MHA) par la technique d'écouvillonnage. Un écouvillon stérile et sec est trempé dans la suspension bactérienne précédemment préparée et on essore l'écouvillon contre les parois de la

boite de pétri. Onensemence la boite de pétri contenant le MHA à partir du point le plus éloigné du centre (au niveau de la bordure) en faisant déplacer l'écouvillon sur toute la surface de la boite, de la gauche vers la droite tout le long de la boite. On fait pivoter ensuite la boite de 60° et on répète la même opération encore 3 fois. On laisse sécher les boites de Pétri pendant quelques minutes à la température ambiante (le couvercle doit être emboîté).

8.2. Méthode des disques

Nous avons utilisé dans notre étude les disques de papier Wattman N° 3 de diamètre 6 mm, ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Les disques une fois stérilisés dans l'autoclave pendant 20 minutes à 120 °C, Ils sont chargés de 20 µL de composés testés dissout dans le DMSO (solution à 10 mg/mL), ce qui donne une charge du disque de 200 µg, puis ils sont placés à la surface de ces boites préalablementensemencée avec la suspension bactérienne. Les disques de contrôle négatif sont imprégnés de DMSO. Les boites de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24h. Les diamètres des zones d'inhibition produites autour des disques sont mesurés et exprimés en mm. Des disques d'antibiotique (colistine, ofloxacine, oxacilline, céfoxitine) de même diamètre seront utilisés comme standard positif.

9. Etude *in vitro* de l'activité antioxydante

9.1. Préparation des échantillons

La solution-mère (S1) ($c = 1\text{ mg/mL}$) est préparée par ajout de 1 mg de chaque composé à tester dans 1 mL de DMSO ou MeOH.

L'expérience est effectuée sur 7 concentrations différentes de chaque échantillon en ordre décroissant, en d'autres termes, à partir de la solution-mère (S1) on effectue une dilution au $\frac{1}{2}$ pour obtenir la solution (S2), puis à partir de la solution (S2), on effectue une dilution au $\frac{1}{2}$ une nouvelle fois pour obtenir la solution (S3), les dilutions au $\frac{1}{2}$ sont répétées jusqu'à obtention de la solution (S7). Les solutions à différentes concentrations des standards (BHT et BHA), sont préparées de la même manière.

9.2. La méthode du piégeage du radical DPPH

Préparation de la solution DPPH

La solution de DPPH est préparée en faisant dissoudre 6 mg de DPPH dans 100 mL de méthanol. Cette solution est gardée à -20 °C à l'abri de la lumière. Avant l'utilisation, la concentration de la solution DPPH est ajustée par dilution avec le méthanol, pour avoir une absorbance de 0,5 à $\lambda = 517\text{ nm}$.

Procédure

Dans une microplaque à 96 puits, on introduit dans chaque puit 40 μL de solution méthanolique des produits à différentes concentrations, puis on ajoute 160 μL de la solution DPPH. Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 40 μL de méthanol avec 160 μL de la solution DPPH. Après 20 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 517 nm. Le test a été effectué sur trois répétition (Les résultats ont été exprimés comme la moyenne de trois mesures séparées \pm écart type).

9.3. La méthode du piégeage du radical cation ABTS^{•+}

Préparation de la solution ABTS

Le radical cation ABTS^{•+} a été préparé en mélangeant une solution d'ABTS (19,2 mg dans 5 mL H₂O) et une solution de persulfate de potassium K₂S₂O₈ (3,3 mg dans 5 mL H₂O). Le mélange obtenu est abandonné pendant 12-16h à température ambiante et à l'abri de la lumière. Avant usage, la concentration de la solution ABTS est ajustée par dilution avec le méthanol, pour avoir une absorbance de $0,700 \pm 0,020$ à 734 nm.

Procédure

Dans une microplaque à 96 puits, on introduit dans chaque puit 40 μL de solution méthanolique des produits à différentes concentrations, puis on ajoute 160 μL de la solution ABTS. Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 40 μL de méthanol avec 160 μL de la solution ABTS. Après 10 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 734 nm. Le test a été effectué sur trois répétitions (les résultats ont été exprimés comme la moyenne de trois mesures séparées \pm écart type).

9.4. La méthode du piégeage du radical anion superoxyde O₂^{•-}

Préparation du radical anion superoxyde O₂^{•-}

Le superoxyde O₂^{•-} est généré en utilisant la méthode du DMSO alcalin. La solution DMSO alcalin est préparée en faisant dissoudre 20 mg d'hydroxyde de sodium (NaOH) dans 1 mL d'eau distillée, et compléter par le DMSO jusqu'à 100 mL.

Préparation de la solution du NBT

La solution de Nitrobleu tetrazolium (NBT) est préparée en faisant dissoudre 10 mg de NBT dans 10 mL de l'eau distillée.

Procédure

Dans une microplaque à 96 puits, on introduit dans chaque puit 40 μL de solution méthanolique des produits à différentes concentrations, puis on ajoute 130 μL de la solution DMSO alcalin, et 30 μL de NBT. Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant

40 μL de méthanol avec 130 μL de la solution DMSO alcalin, et 30 μL de NBT. Les absorbances sont mesurées instantanément à température ambiante à 560 nm. Le test a été effectué sur trois répétitions (les résultats ont été exprimés comme la moyenne de trois mesures séparées \pm écart type).

9.5. La méthode CUPRAC

Préparation des solutions

La solution (S1) a été préparée par solubilisation de 1,927 g d'acétate d'ammonium (AcNH_4) dans 25 mL d'eau distillée, la solution (S2) a été préparée par solubilisation de 0,0426 g de ($\text{CuCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$) dans 25 mL d'eau distillée, cette solution à une coloration bleue, et la solution (S3) a été préparée en faisant dissoudre 0,039 g de (Neocupronin) dans 25 mL d'éthanol.

Procédure

Dans une microplaque à 96 puits, on introduit dans chaque puit 40 μL de solution méthanolique des produits à différentes concentrations, puis on ajoute 60 μL de la solution (S1), 50 μL de la solution (S2) et 50 μL de la solution (S3). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 40 μL de méthanol avec 60 μL (S1), 50 μL (S2) et 50 μL (S3). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 40 μL de méthanol avec 60 μL (S1), 50 μL (S2) et 50 μL (S3). Après 60 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 450 nm. Le test a été effectué sur trois répétitions (les résultats ont été exprimés comme la moyenne de trois mesures séparées \pm écart type).

Conclusion Générale

Au cours de notre travail et dans le cadre de cette thèse, nous avons procédé à la synthèse et la caractérisation de composés hybrides tricycliques hybrides imidazole-hétérocycle-aryle nouveaux où le noyau hétérocyclique central est une 2-pyrazoline *N*-H ou *N*-substituée, ou un pyrazole. L'évaluation biologique (activité antiproliférative envers des lignées de cellules cancéreuses et non cancéreuses humaines et pouvoir antioxydant) a concerné quelques composés de chalcones et des dérivés de 2-pyrazoline.

Pour ce faire, des dérivés de chalcones possédant un motif (benz)imidazole dans leur structure ont été préparés par une réaction classique de type *Claisen-Schmidt*. Ainsi deux séries de composés ont été constituées. Les composés de la **Série 1 (1-10)** ont été préparés en faisant réagir le 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-carbaldéhyde (**I**) [ou le 1-méthyl-1*H*-benzo[*d*]imidazole-2-carbaldéhyde (**V**)], avec des dérivés de l'acétophénone, en présence de NaOH dans l'éthanol, alors que ceux de la **Série 2 (11-20)** sont obtenus par la réaction du 1-méthyl-1*H*-imidazole-2-acétyle (**II**) [ou le 1-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)éthan-1-one (**VII**)] avec des dérivés du benzaldéhyde. Les rendements sont bons (67-91%)

Parmi les dérivés de chalcones préparés, quelques composés (9 composés) ont été sélectionnés et soumis à un screening de l'activité antiproliférative contre des lignées cellulaires humaines cancéreuses, celle du cancer gastrique AGS et la lignée cellulaire du cancer de poumon A549, et une lignée non cancéreuse MRC-5 (poumon), dans des plages de concentration allant jusqu'à 100 μ M. L'étude de la Relation Structure-Activité (SAR) des composés testés a montré l'importance de l'agencement des unités structurales présentes dans l'activité antiproliférative. En effet, les composés de la **Série 1** (le cycle (benz)imidazole est en position β du groupe carbonyle) ont montré une toxicité supérieure à celle des composés de la **Série 2** (le cycle (benz)imidazole est directement lié au groupe carbonyle). On notera en particulier que les composés **1**, **4** et **10** sont les plus actifs avec une toxicité intéressante envers les cellules A549 (poumon) : IC₅₀ de 61,7 et 68,1 μ M pour **1** et **10**, et envers les cellules cancéreuses gastriques (AGS) : IC₅₀ de 20,9, 29,3 et 15,1 μ M pour les composés **1**, **4** et **10**, respectivement (les composés **13**, **15** et **20** de la **Série 2** ont un IC₅₀ moins significatif : 49,9, 33,7 et 69,8 μ M respectivement). Un indice de sélectivité supérieur à 3 a été calculé pour **1**, **4** et **10**, ce résultat est très intéressant car il montre que les composés étudiés sont significativement plus toxiques envers les cellules cancéreuses (AGS) que pour les non-cancéreuses MRC-5 (poumon). Cependant les composés **4** (**Série 1**), **13**, **15** et **20** (**Série 2**), qui ont montré une toxicité moindre contre les cellules AGS, se sont avérés non toxiques envers les cellules non cancéreuses (MCR-5), ce qui laisse envisager une utilisation possible de ces composés comme médicament anticancéreux sélectifs, malgré leur plus faible activité.

Quelques chalcones ont été sélectionnés et soumis à l'évaluation de leur activité antibactérienne, en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Cinq (05) souches pathogènes ont été testées : une souche à Gram (+) (*Staphylococcus aureus*), et 4 souches à Gram (-) (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia*, *Salmonella typhi*). L'analyse des résultats préliminaires de l'évaluation de l'activité antibactérienne des chalcones **1**, **3**, **4**, **13**, **15** et **18** montre que toutes les chalcones porteuses d'un noyau imidazole en position β du carbonyle (**1**, **3** et **4** – **Série 1**), sont actifs sur la majorité des souches testées. Les composés **13**, **15**, et **18** (**Série 2**) porteurs d'un noyau imidazole ou benzimidazole directement lié au carbonyle ne possèdent aucune activité antibactérienne.

Quatre méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante différentes mais complémentaires DPPH[•], ABTS^{•+}, le superoxyde O₂^{•-}, et CUPRAC ont été utilisés sur quelques dérivés de chalcone et sont révélées infructueuses (pas d'activité).

Des dérivés de (*E*)-3-(1-méthyl-1*H*-imidazol-2-yl)-1-arylprop-2-en-1-one (chalcones "imidazoliques") précédemment préparés (composés **1-9**) ont été soumis à une réaction d'addition-cyclisation par l'utilisation de dérivés de l'hydrazine pour conduire à des dérivés hybrides tricycliques imidazole-2-pyrazoline-aryle diversement substitués. Des dérivés de l'hydrazine de structures diverses ont été utilisés. Les dérivés de 2-pyrazoline *N*-substitués ont été préparés en utilisant le semicarbazide (**22**), le thiosemicarbazide (**23**), N₂H₄.H₂O/AcOH (**24**) et ArN₂H₃ (**33-40**). Les 2-pyrazolines *N*-H (non substitués) **25-31** ont été préparés par addition de N₂H₄.H₂O au dérivé de la chalcone, au reflux de l'éthanol. Le composé **32** a été synthétisé à partir du composé **25** par addition du chlorure de 2-phénylacétyle dans l'acétone en présence de la triéthylamine comme catalyseur. Les rendements sont bons voire excellents (50-92%).

Plusieurs tentatives de préparation des dérivés de pyrazole (à partir de chalcones, *via* une réaction d'époxydation et par oxydation des 2-pyrazoline) ont été effectuées et n'ont pas donné les résultats attendus, cependant quelques dérivés hybrides imidazole-pyrazole-aryle ont été également synthétisés en deux étapes selon une réaction "one-pot". On fait réagir le 2-acétyl-1-méthyl-1*H*-imidazole avec des dérivés de chlorure de benzoyle (ou le chlorure de naphthoyle) en présence de LiHMDS. L'intermédiaire obtenu est ensuite transformé *in situ* en pyrazole par addition d'hydrazine monohydrate. Les rendements obtenus des composés préparés (**41-49**) sont relativement faibles (10-37%).

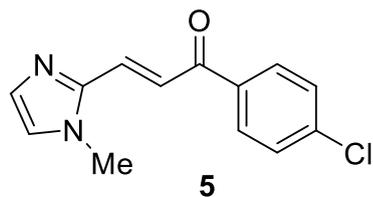
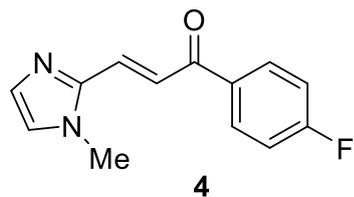
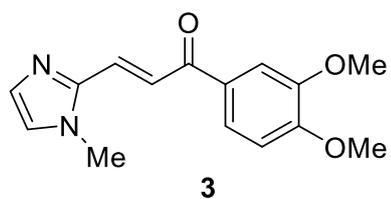
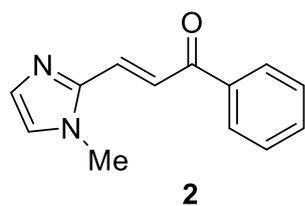
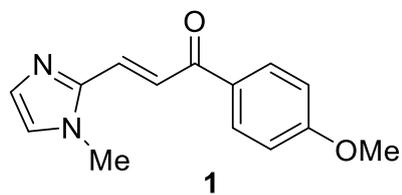
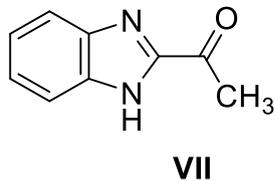
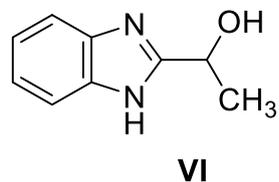
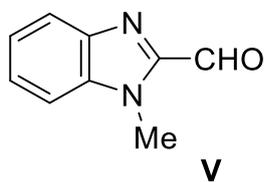
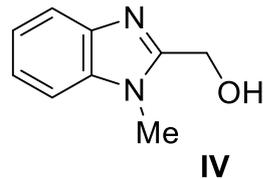
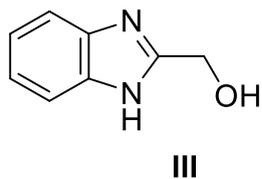
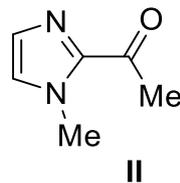
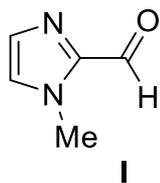
L'évaluation de l'activité antioxydante des dérivés sélectionnés de 2-pyrazoline, répartis en deux séries : les 2-pyrazolines *N*-H (7 composés) et les 2-pyrazolines *N*-substitués (5 composés), a été réalisée par les quatre méthodes : DPPH[•], ABTS^{•+}, le Superoxyde O₂^{•-}, et

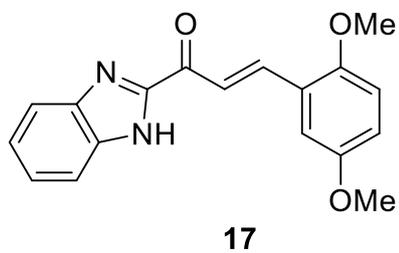
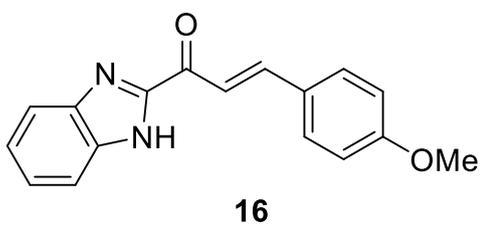
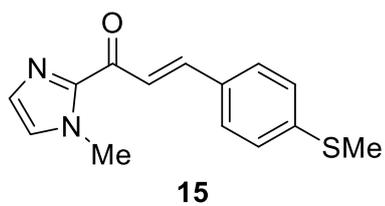
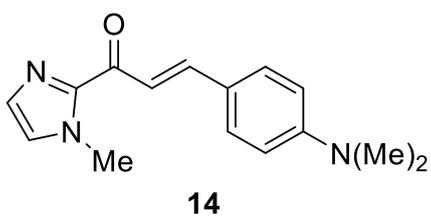
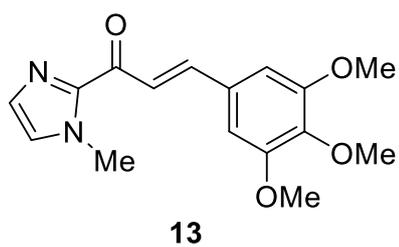
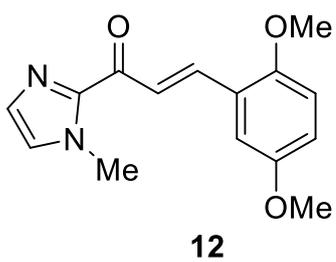
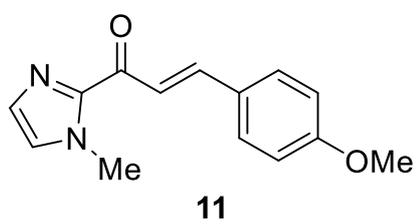
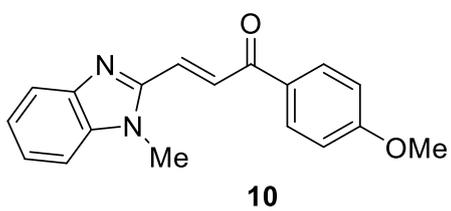
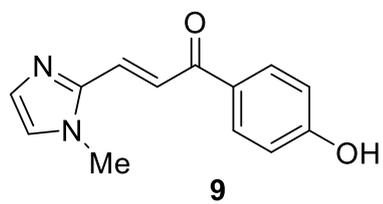
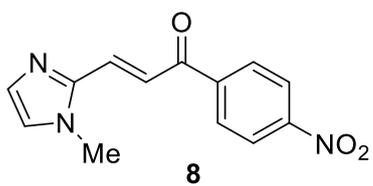
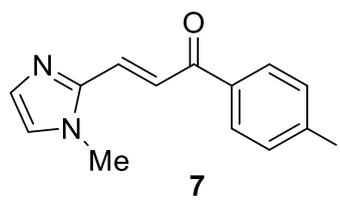
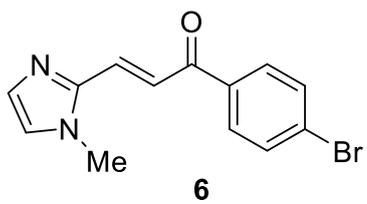
CUPRAC. L'étude comparative des résultats du pouvoir antioxydant des deux séries a montré que les 2-pyrazoline *N*-H ont un pouvoir antioxydant nettement supérieur à celui des 2-pyrazoline *N*-substitués.

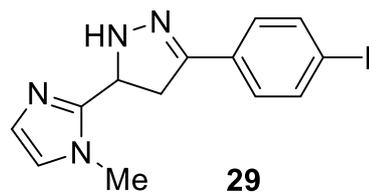
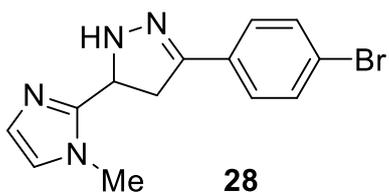
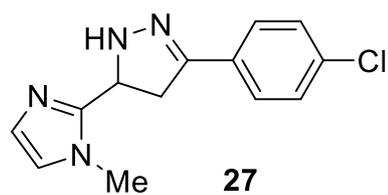
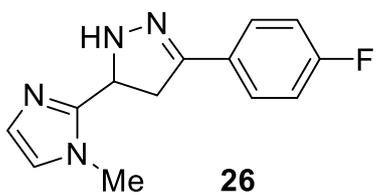
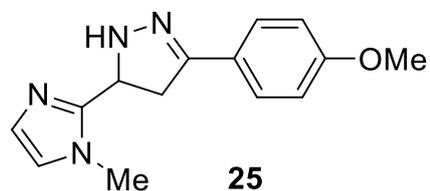
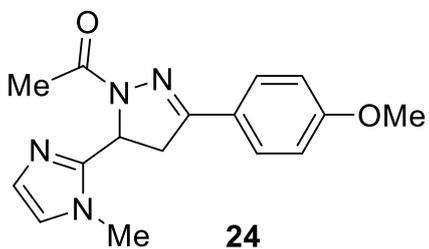
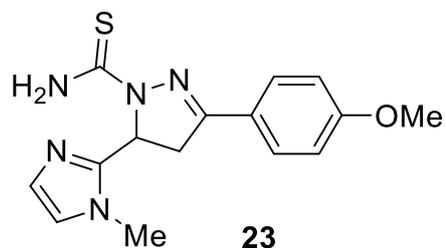
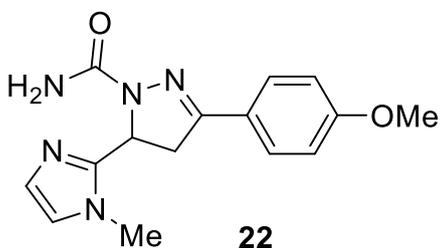
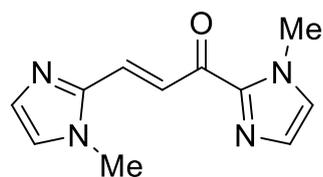
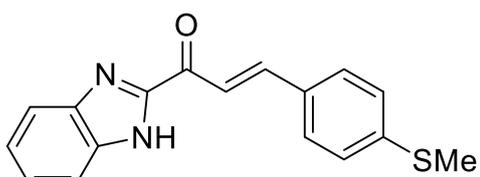
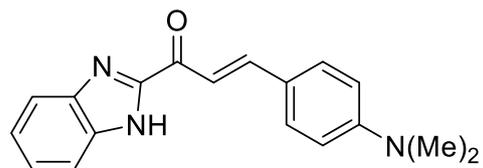
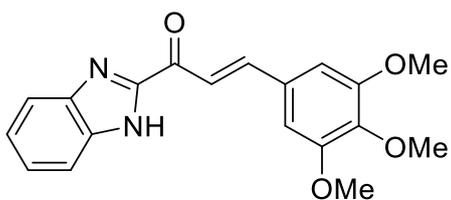
De même quelques dérivés de 2-pyrazoline ont été évalués pour leur activité antiproliférative contre les lignées cellulaires cancéreuses AGS, A549, et leur sélectivité étudiée par rapport à des cellules non cancéreuses du poumon (MCR5) dans des plages de concentration allant jusqu'à 100 μ M. Aucune activité n'a été observée pour tous les composés testés.

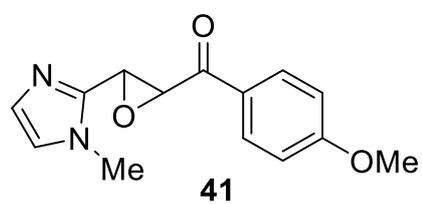
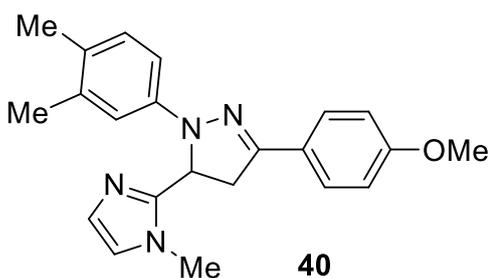
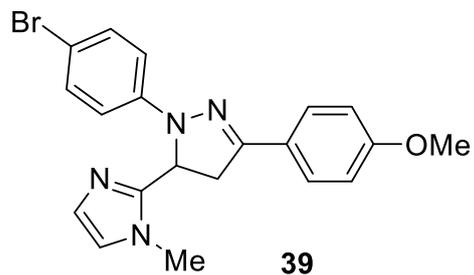
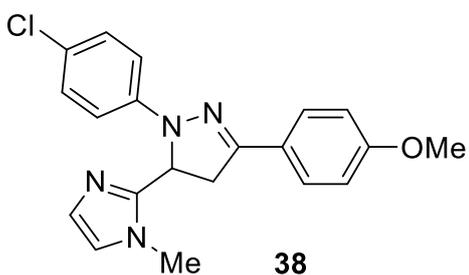
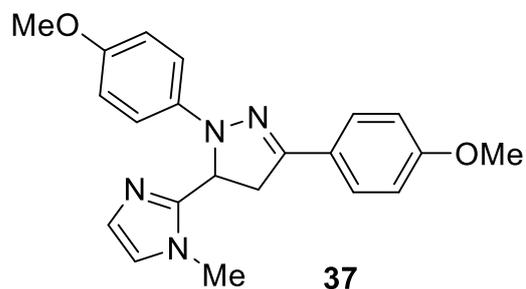
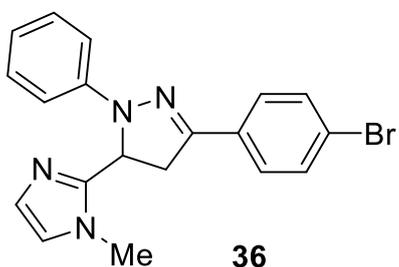
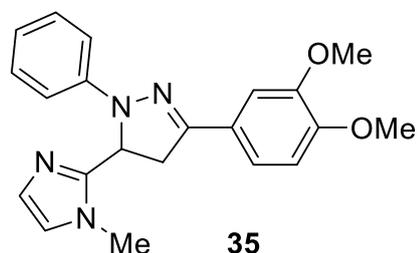
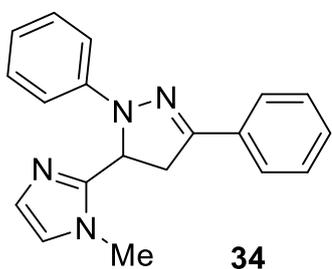
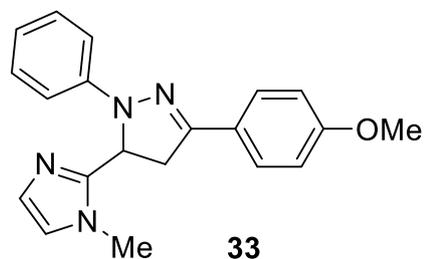
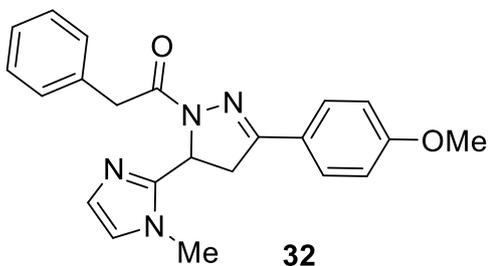
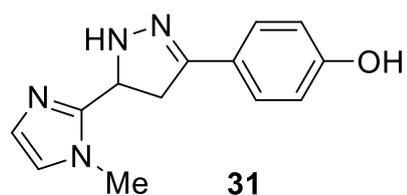
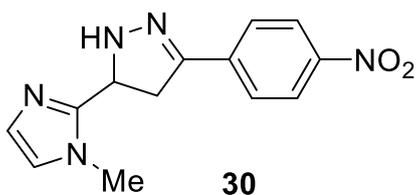
Annexes

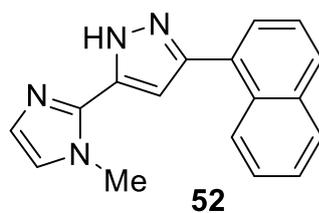
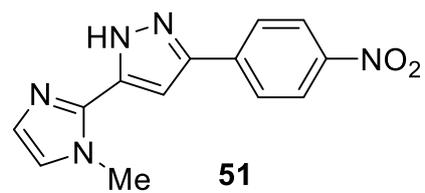
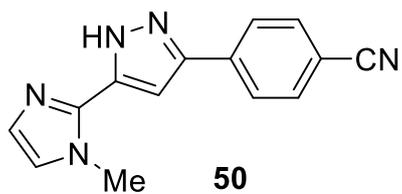
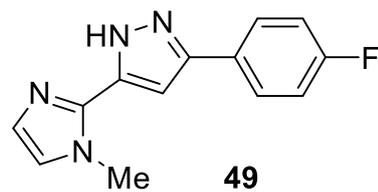
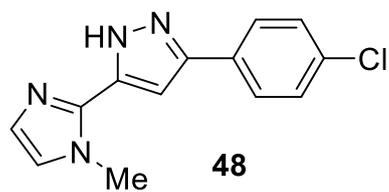
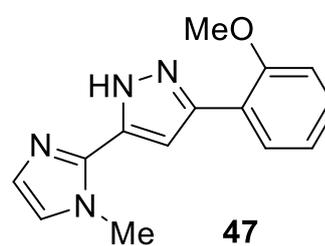
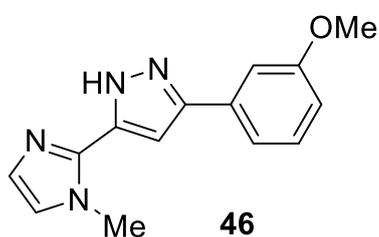
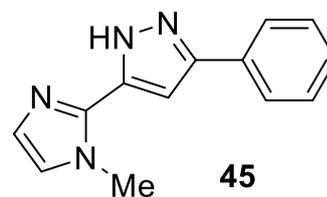
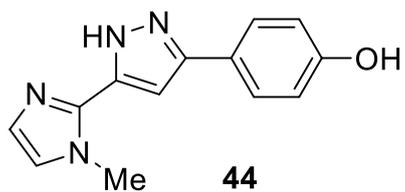
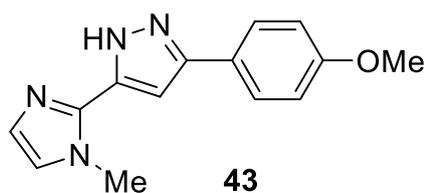
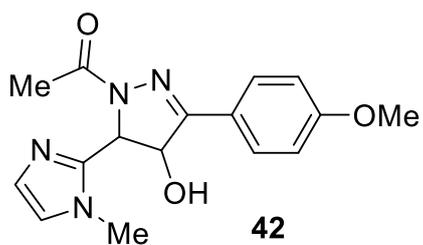
Formulaire :



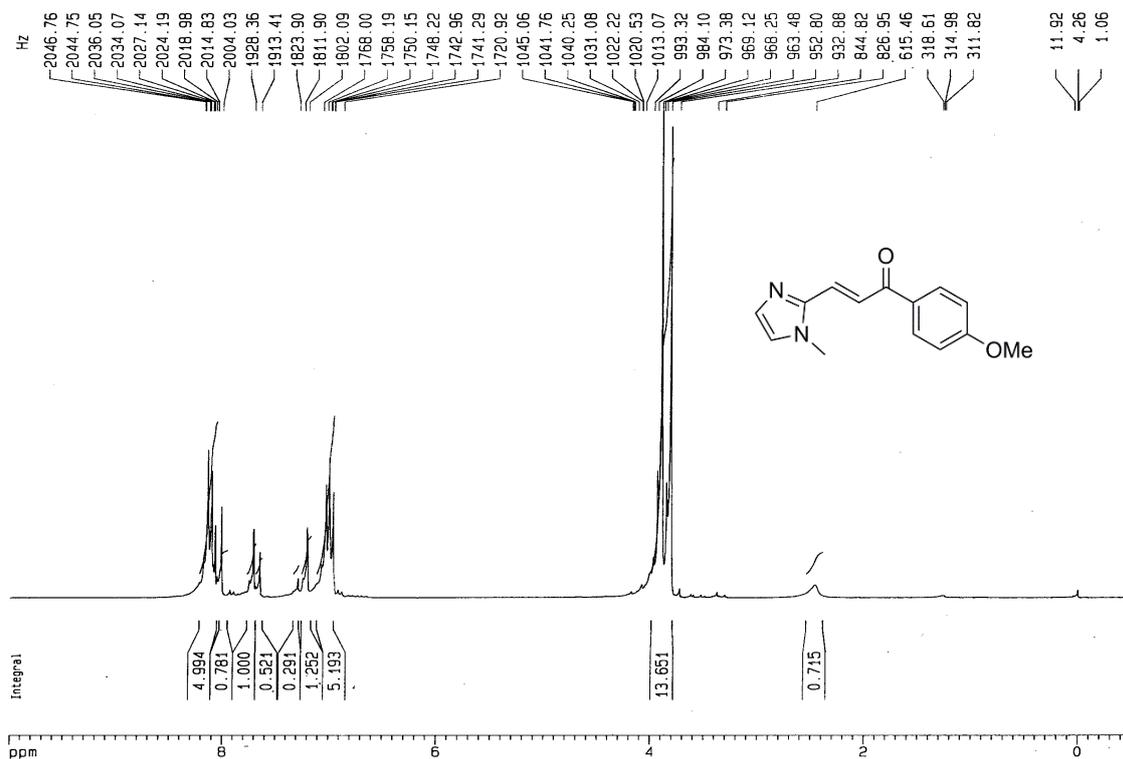
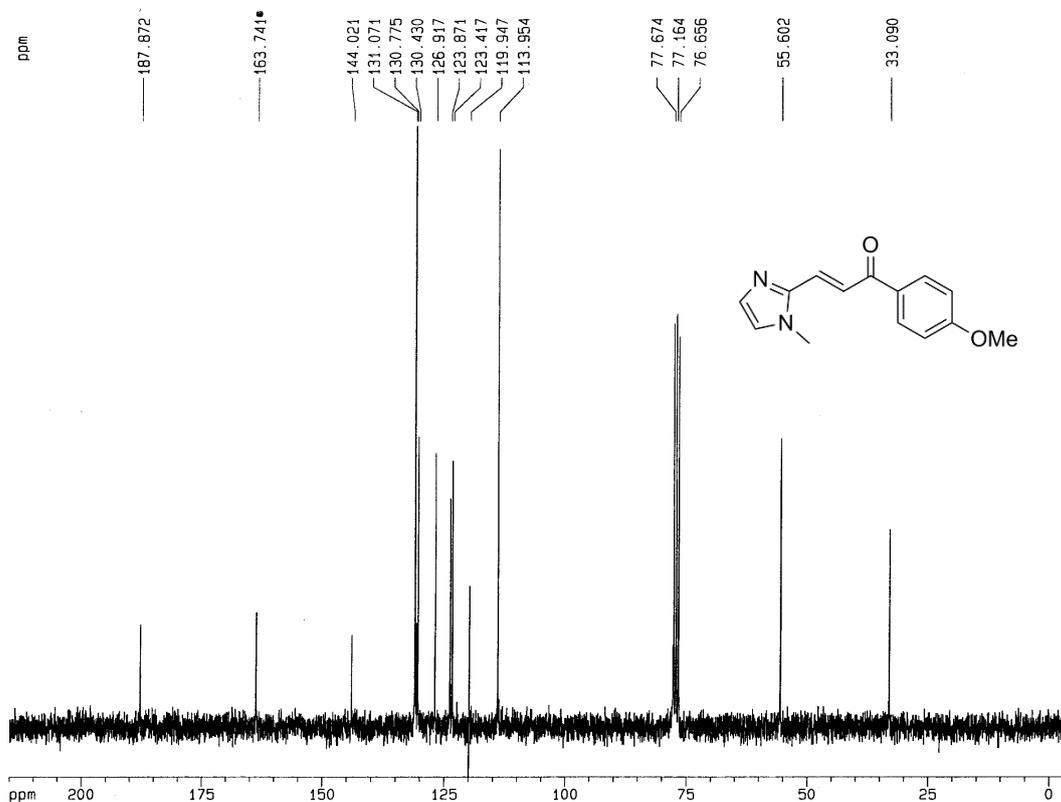


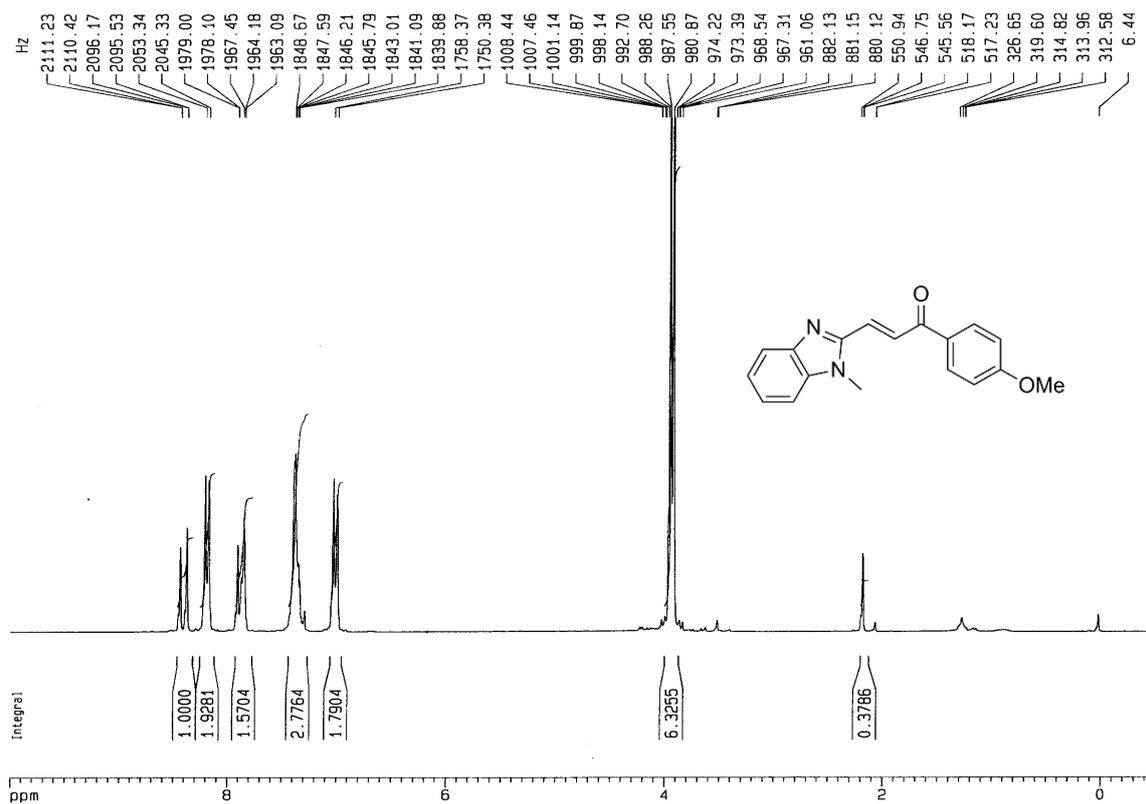
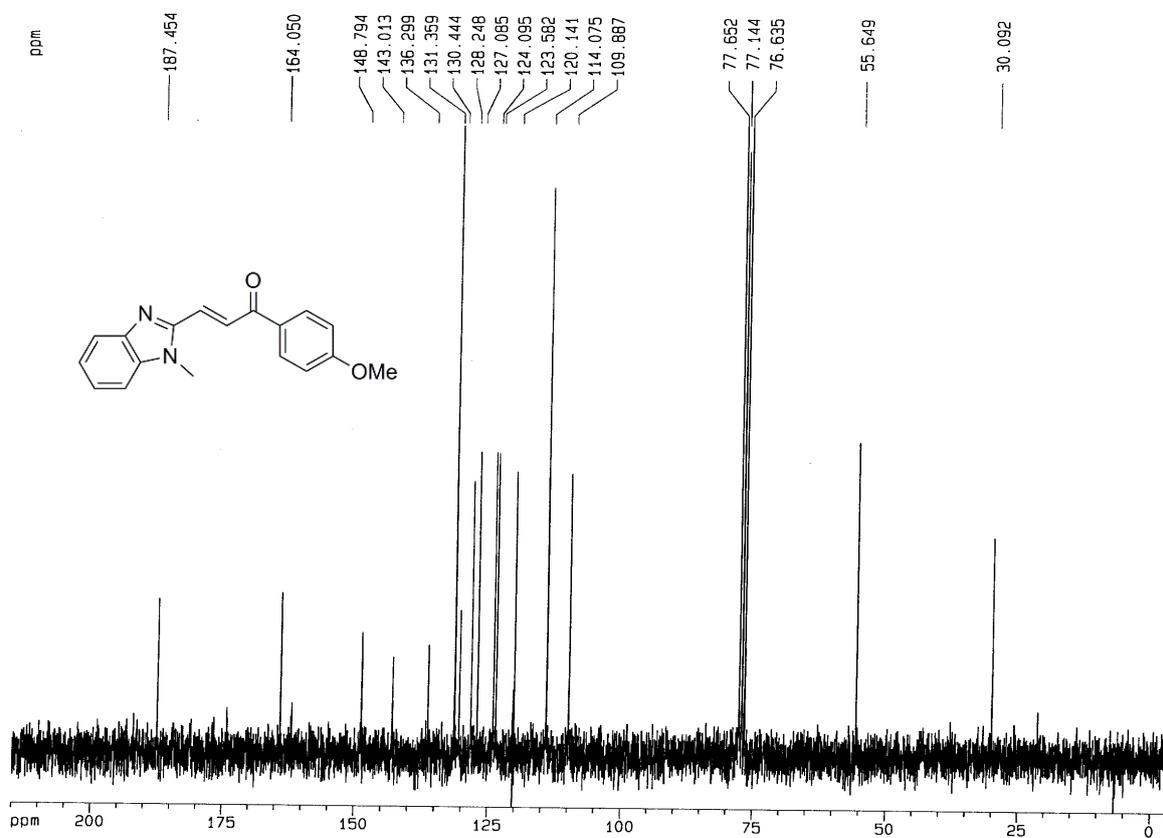


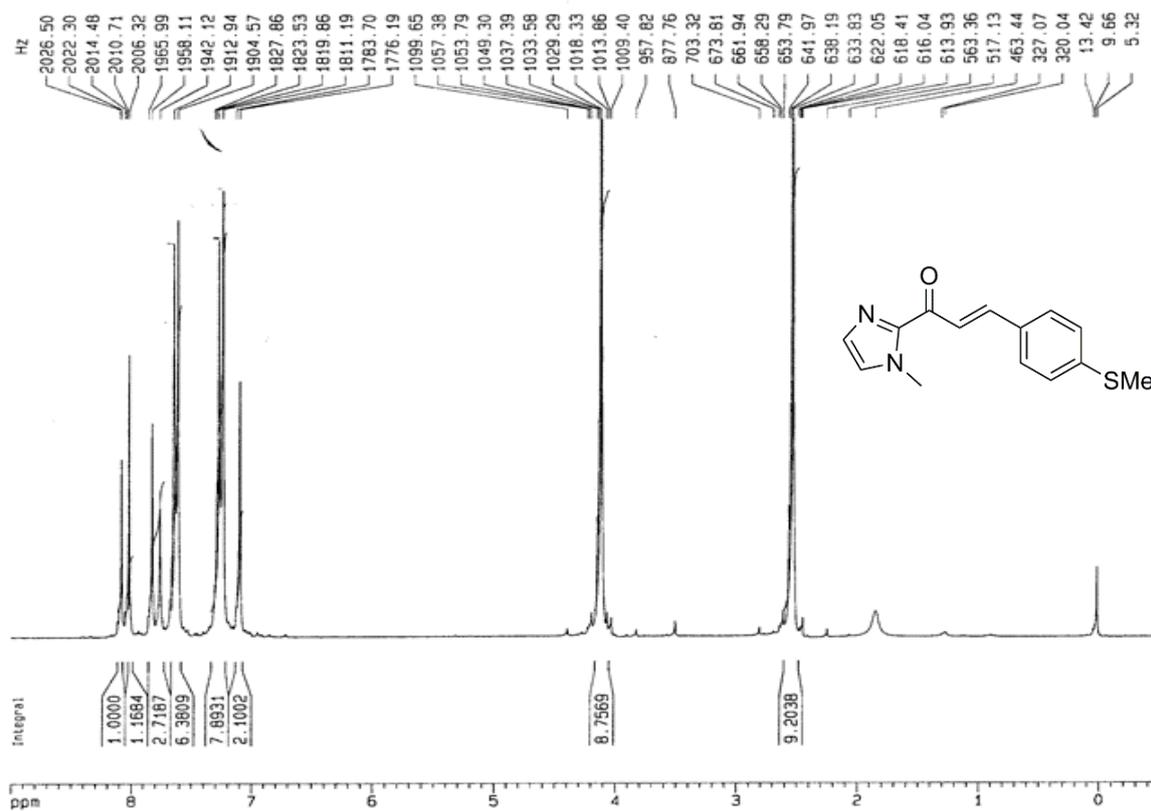
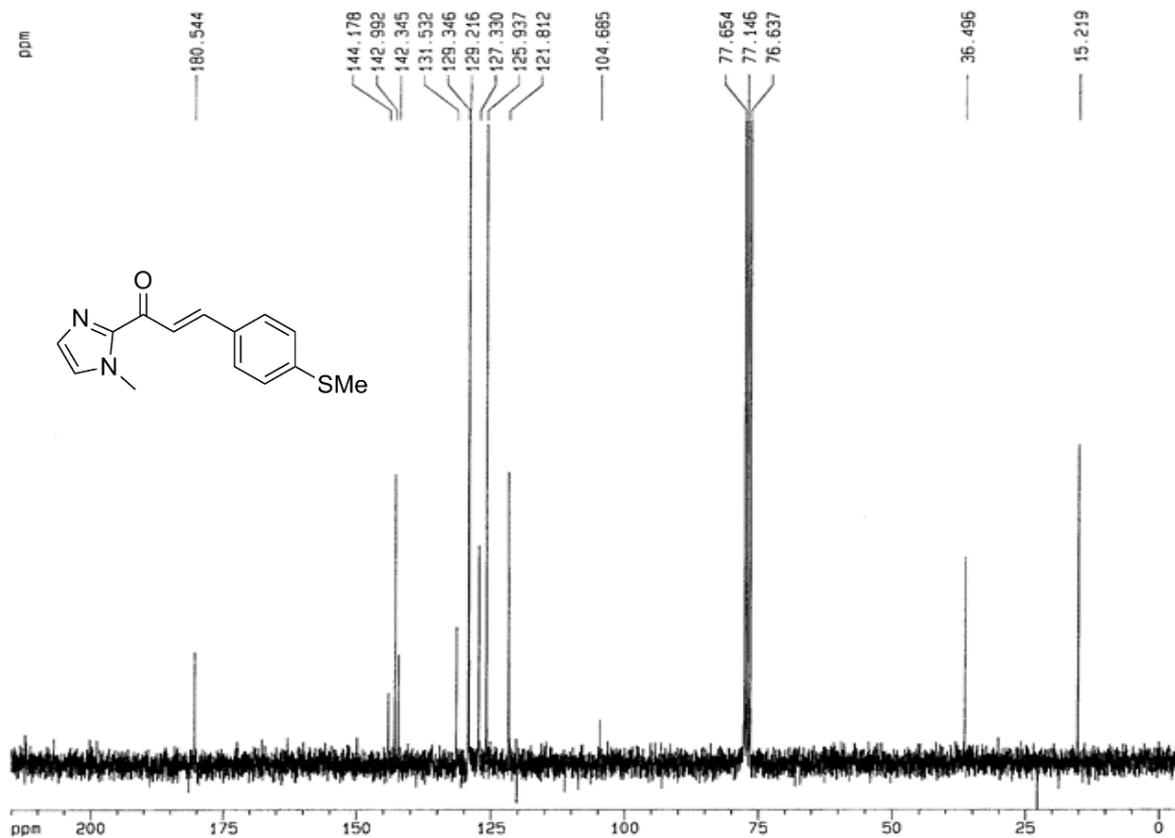


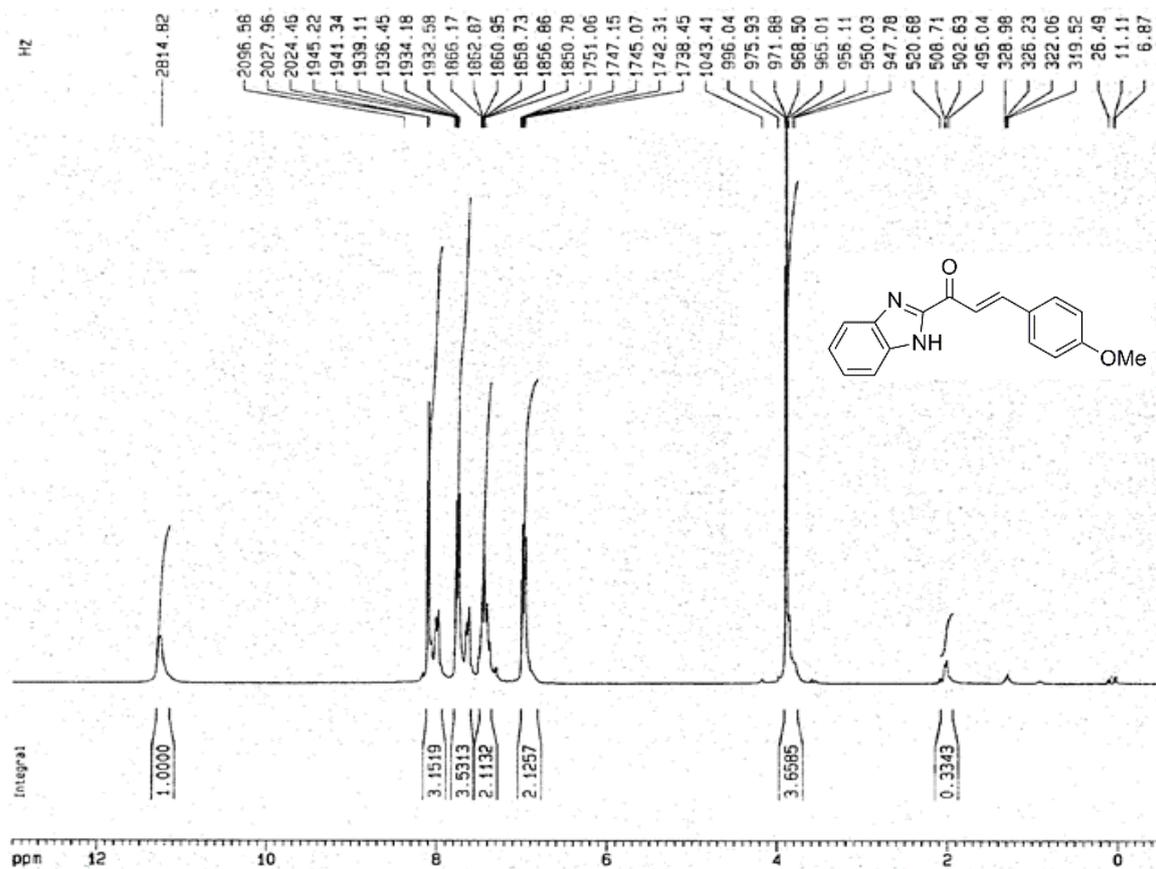
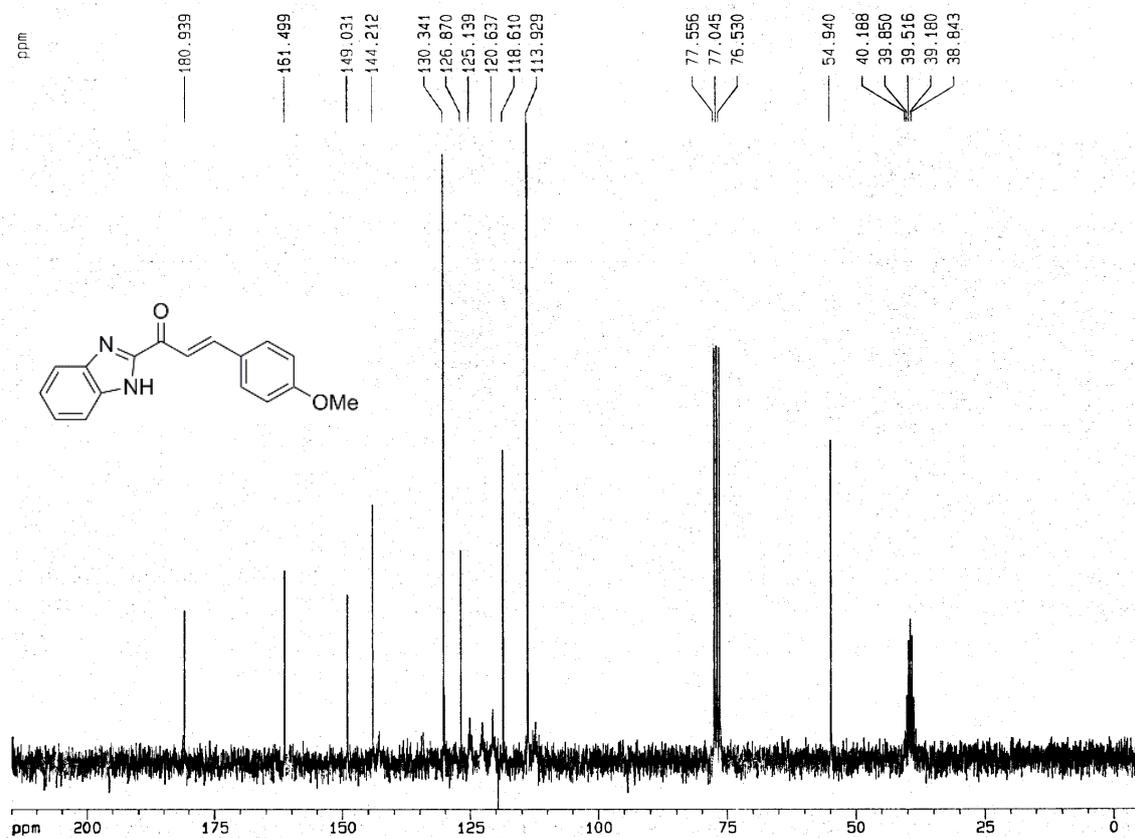


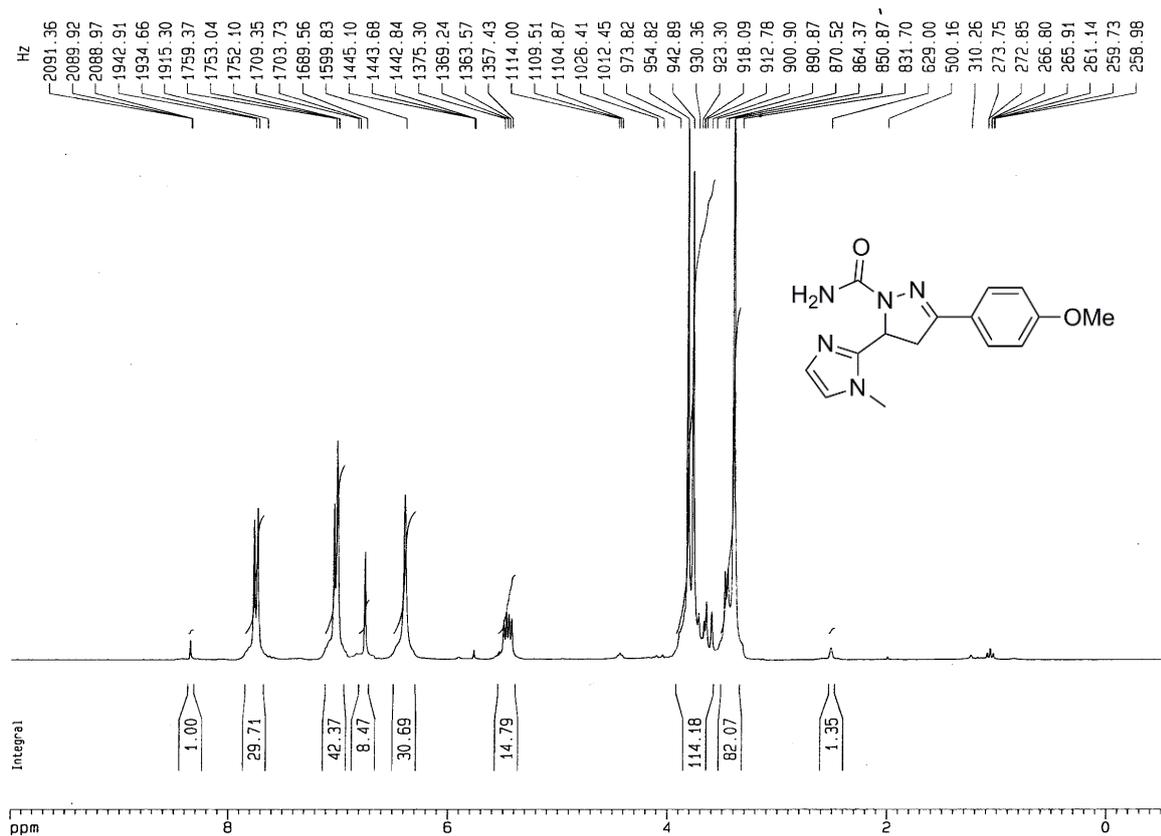
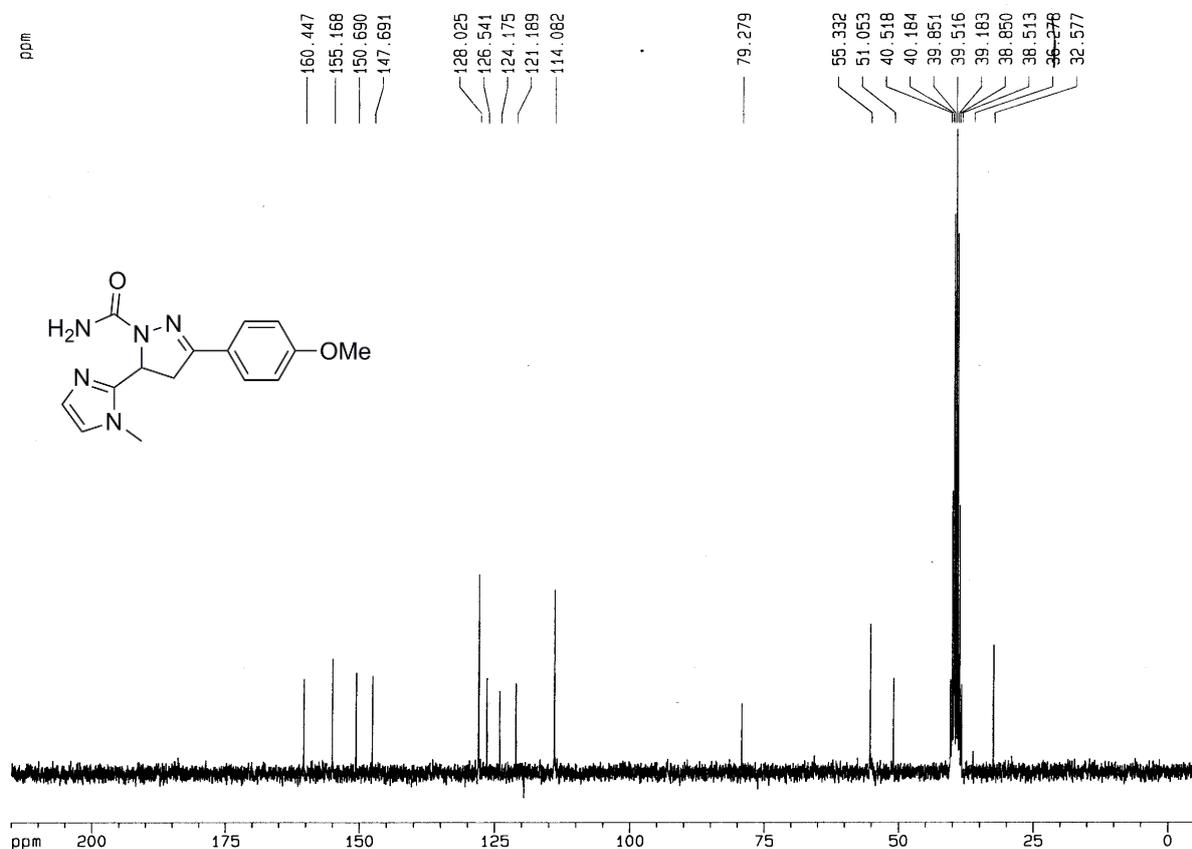
Quelques Spectres RMN et de Masse :

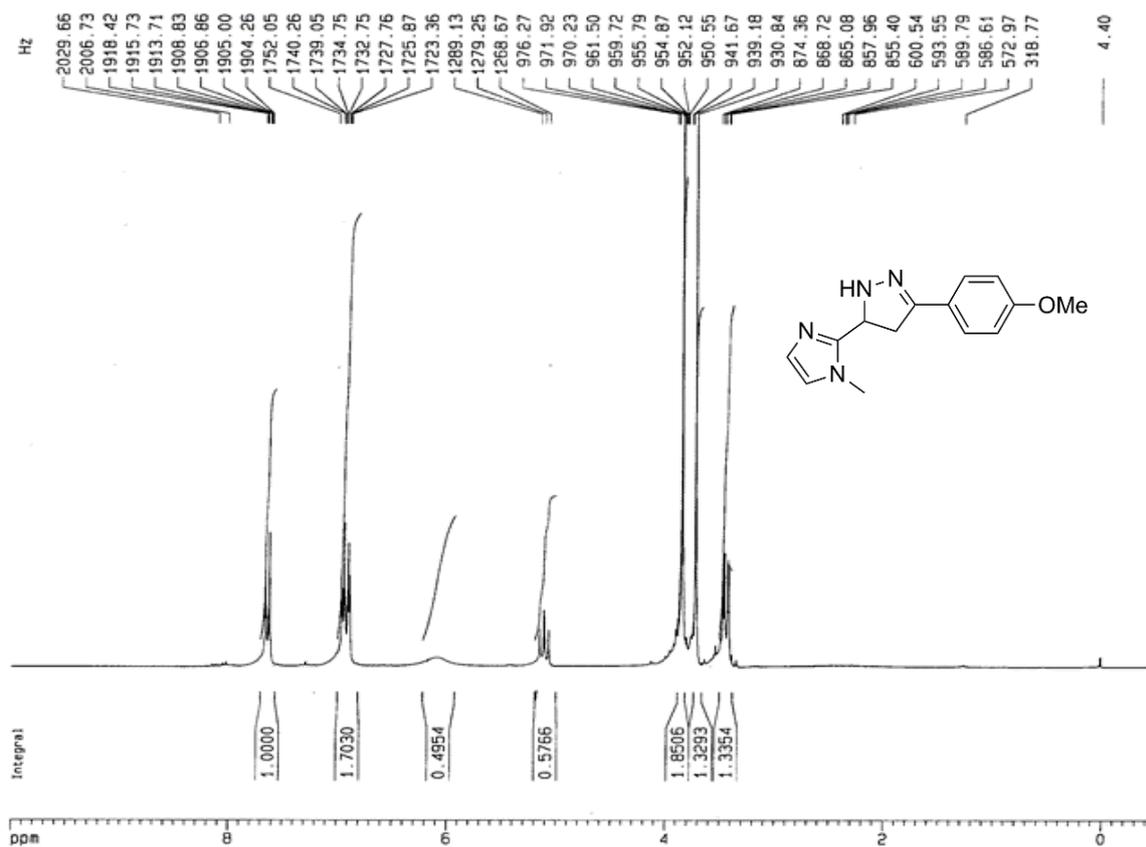
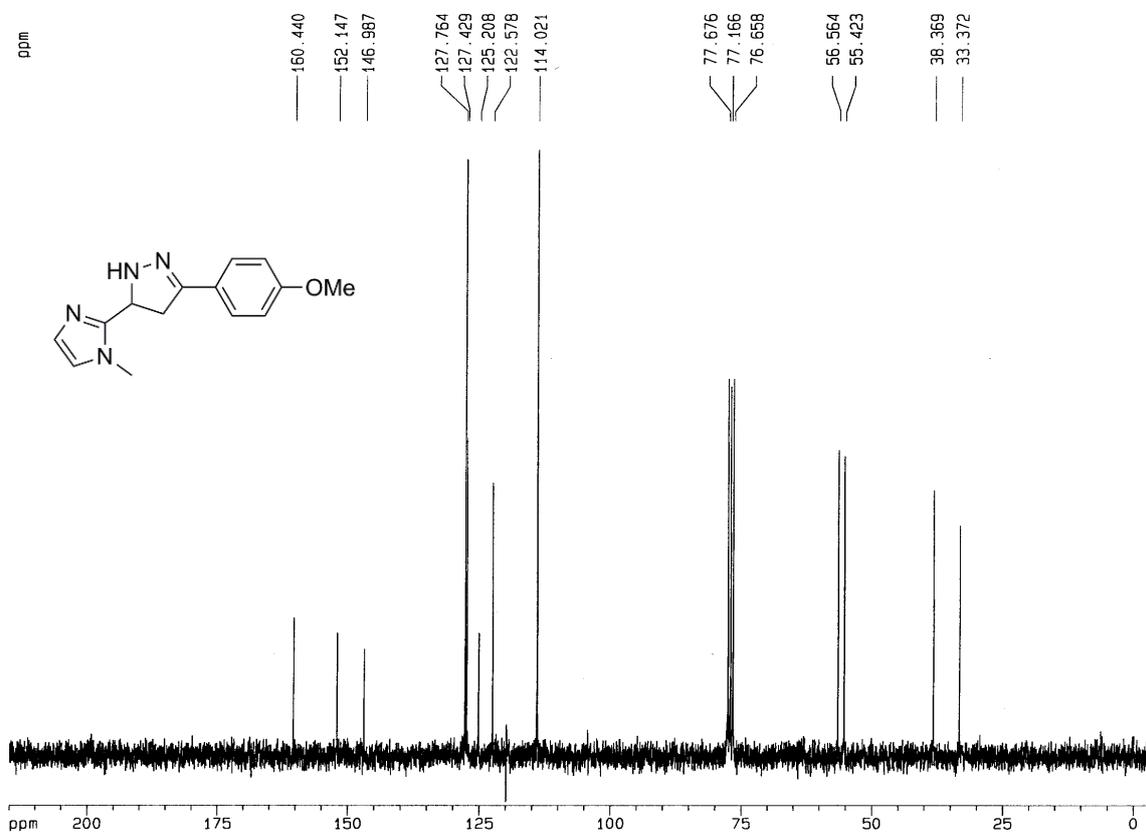
Spectre RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) du composé 1Spectre RMN ¹³C (62.9 MHz, CDCl₃) du composé 1

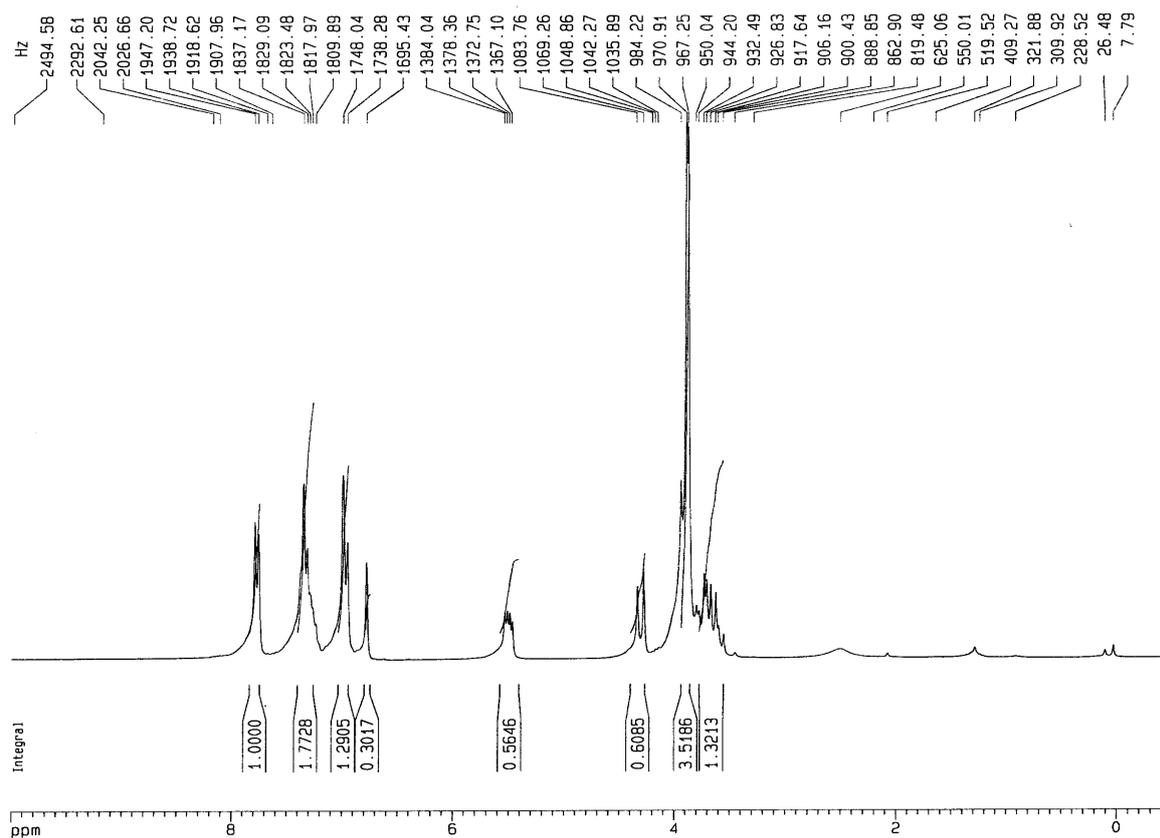
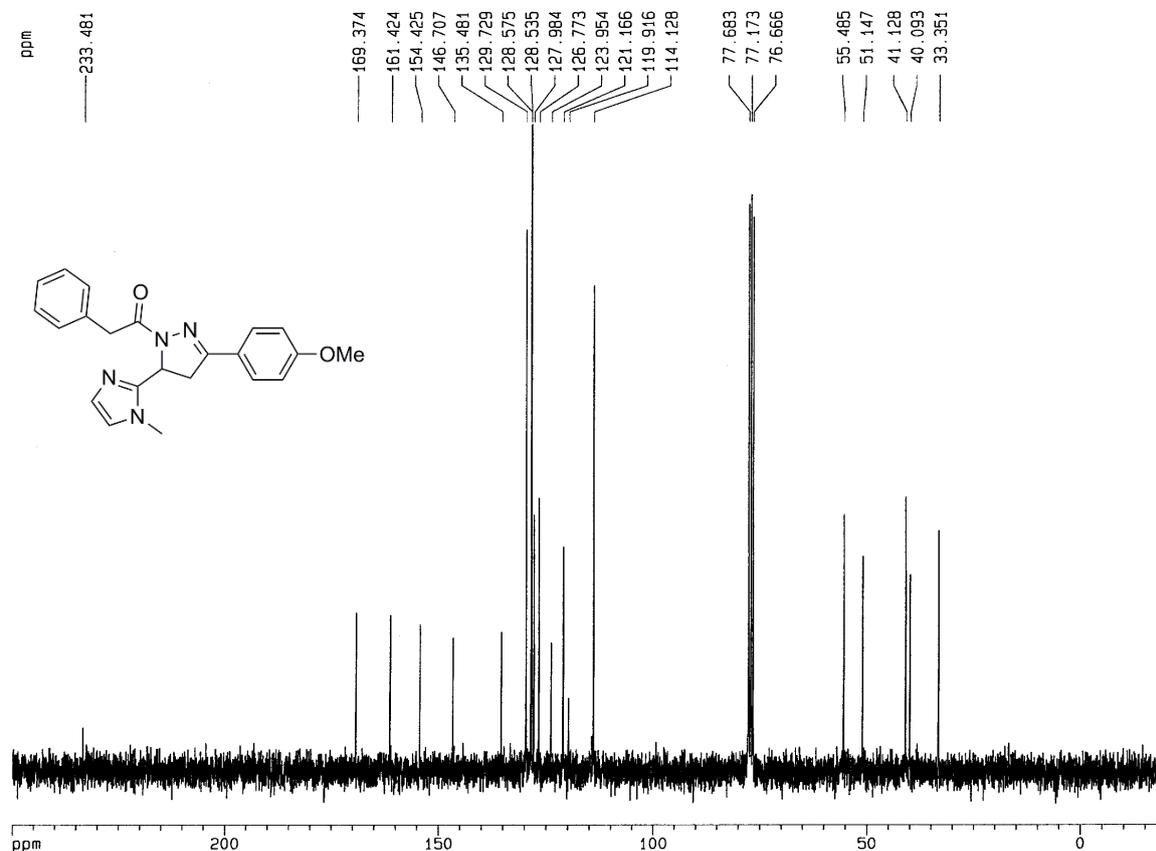
Spectre RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3) du composé 10Spectre RMN ^{13}C (62.9 MHz, CDCl_3) du composé 10

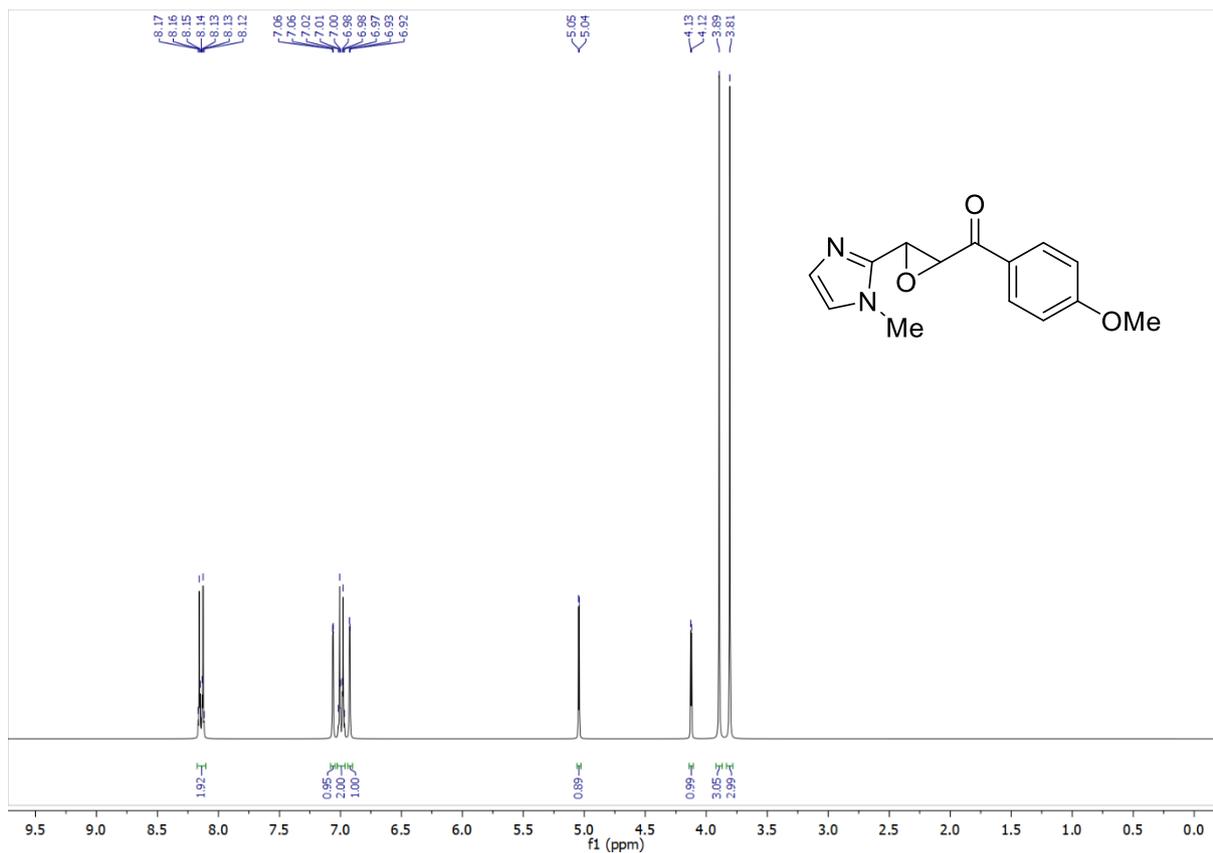
Spectre RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) du composé 15Spectre RMN ¹³C (62.9 MHz, CDCl₃) du composé 15

Spectre RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3) du composé 16Spectre RMN ^{13}C (62.9 MHz, $\text{CDCl}_3 / \text{DMSO}-d_6$) du composé 16

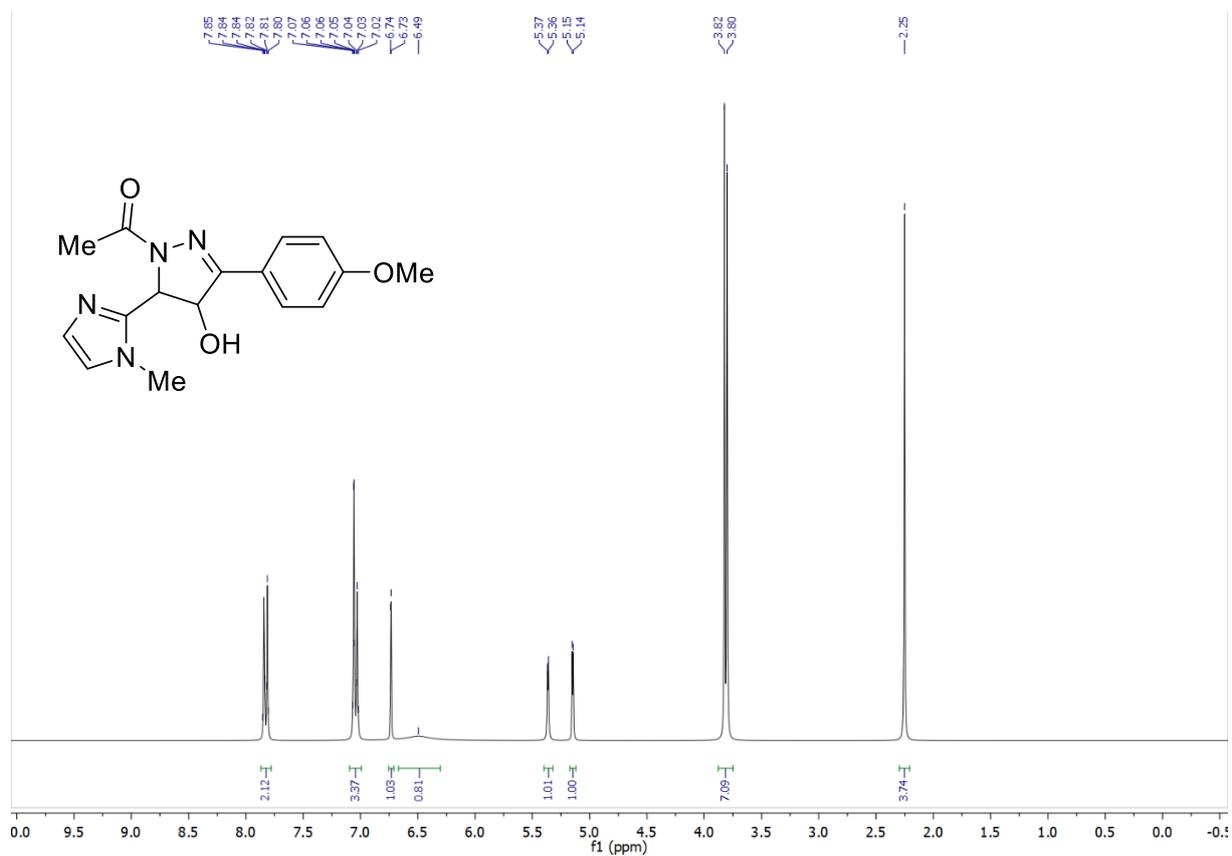
Spectre RMN ¹H (250 MHz, DMSO-d₆) du composé 22Spectre RMN ¹³C (62.9 MHz, DMSO-d₆) du composé 22

Spectre RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3) du composé 25Spectre RMN ^{13}C (62.9 MHz, CDCl_3) du composé 25

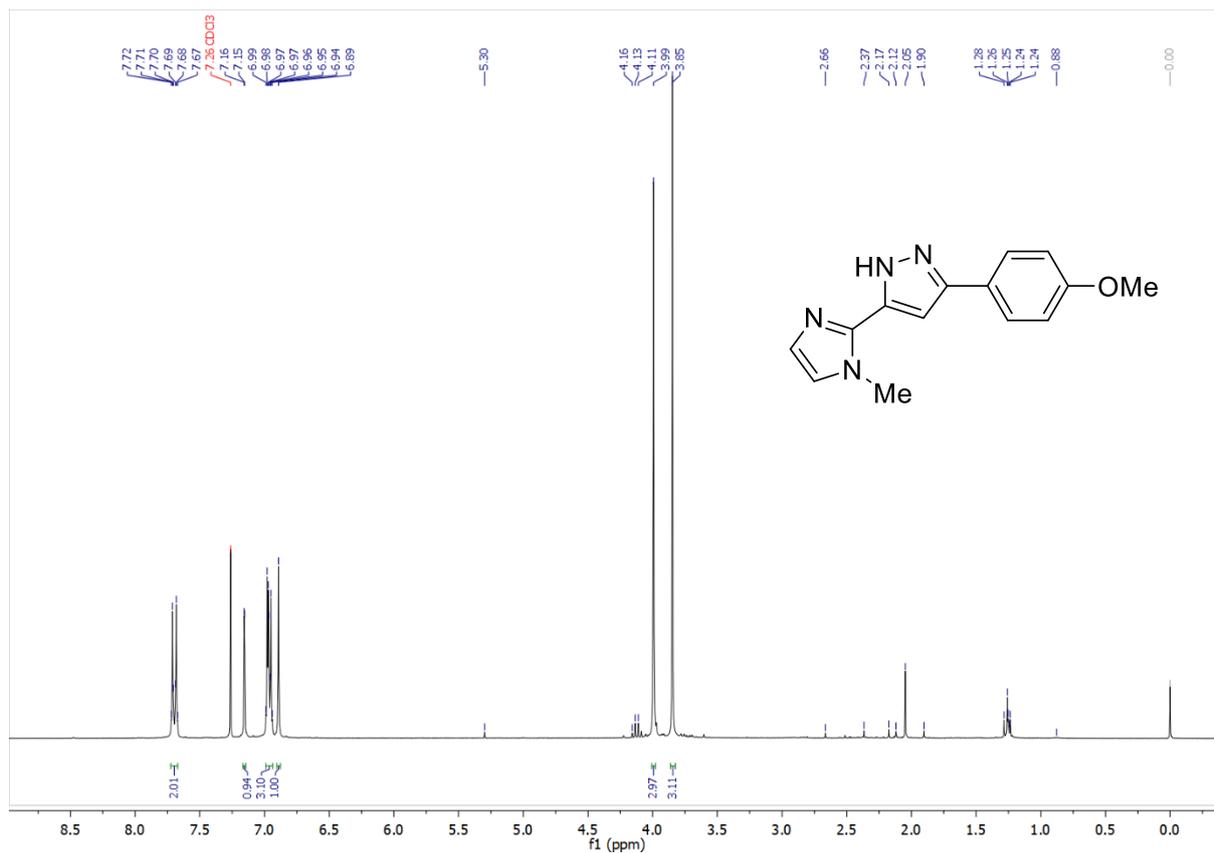
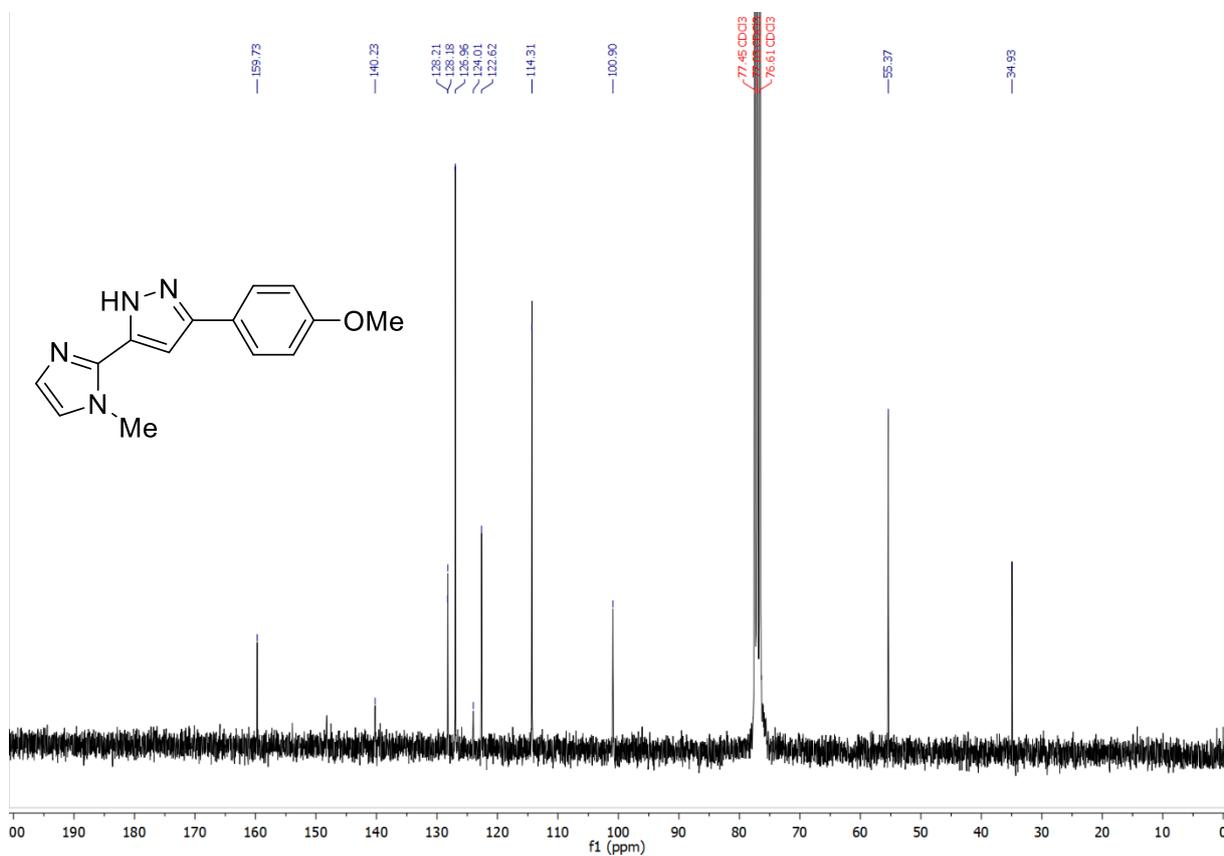
Spectre RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3) du composé 32Spectre RMN ^{13}C (62.9 MHz, CDCl_3) du composé 32

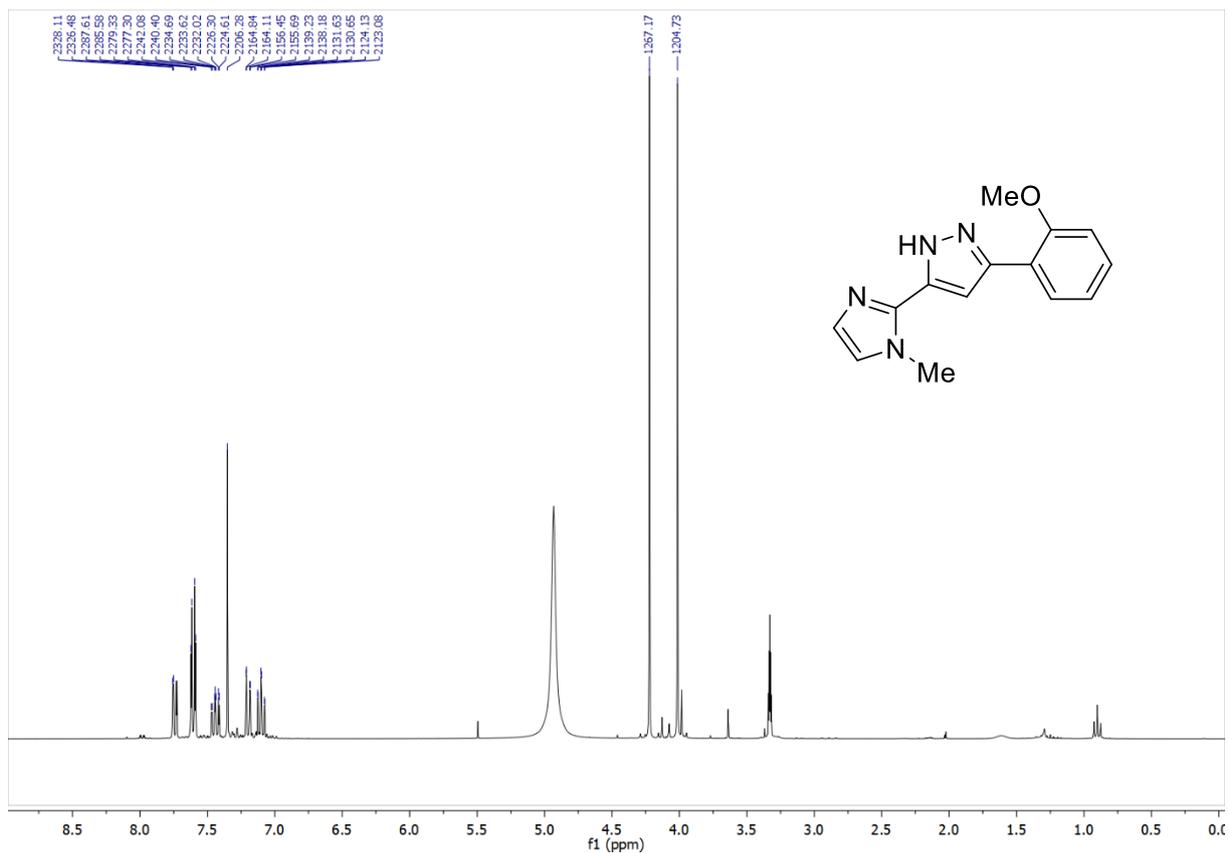


Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé 41

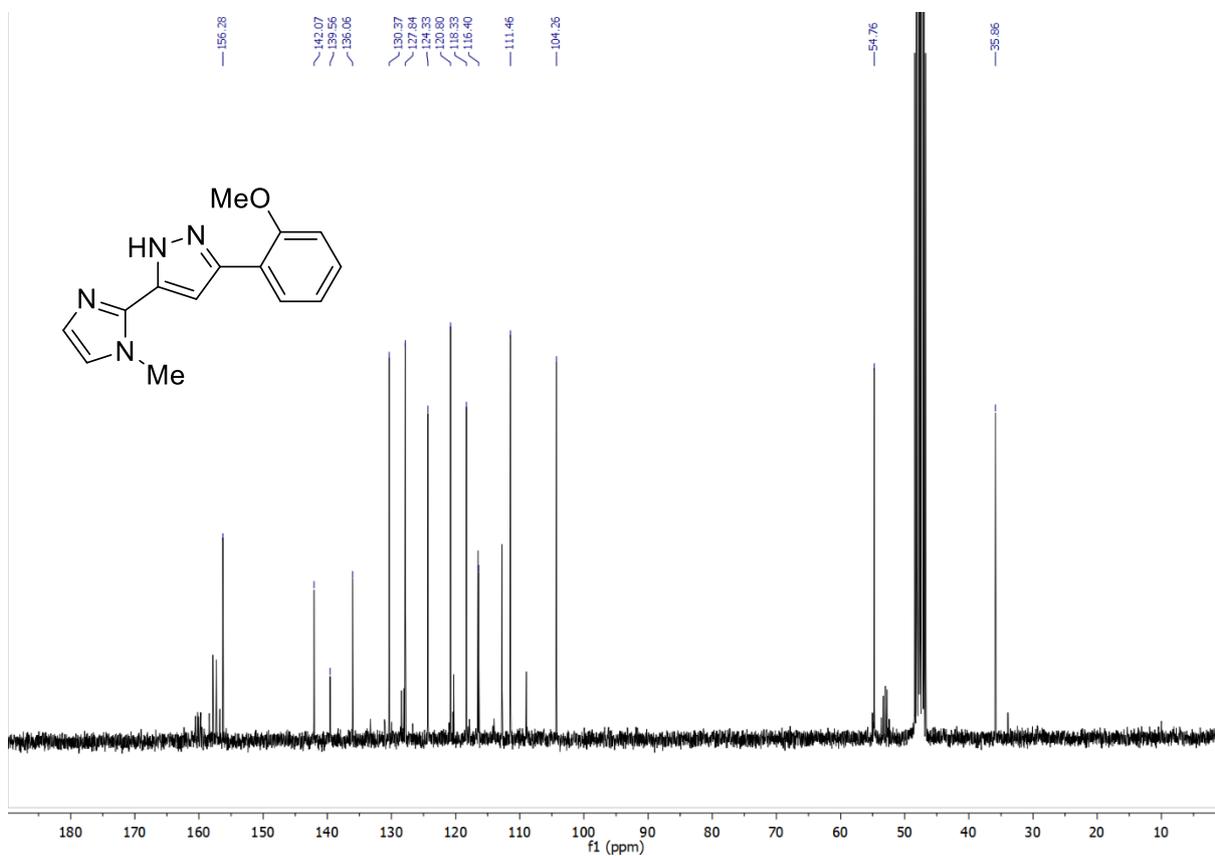


Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé 42

Spectre RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) du composé 43Spectre RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) du composé 43

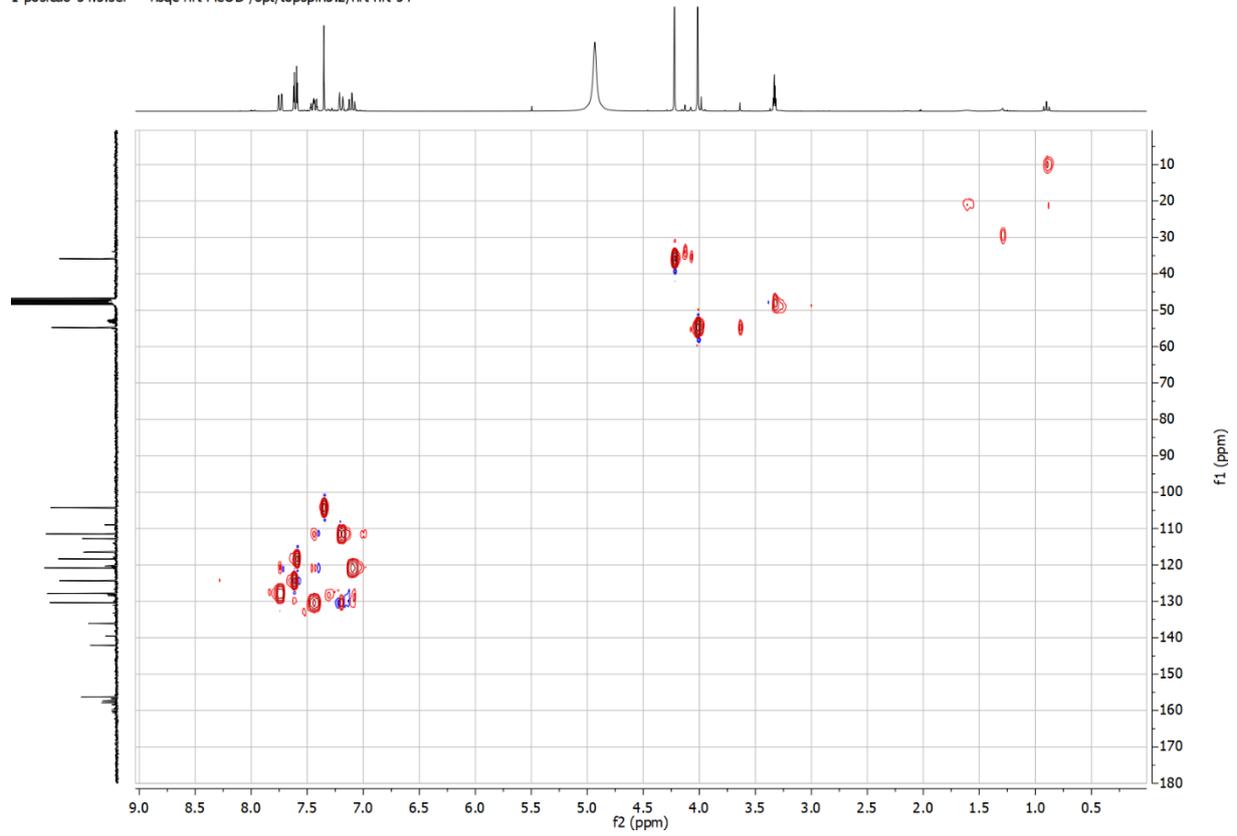


Spectre RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) du composé 47



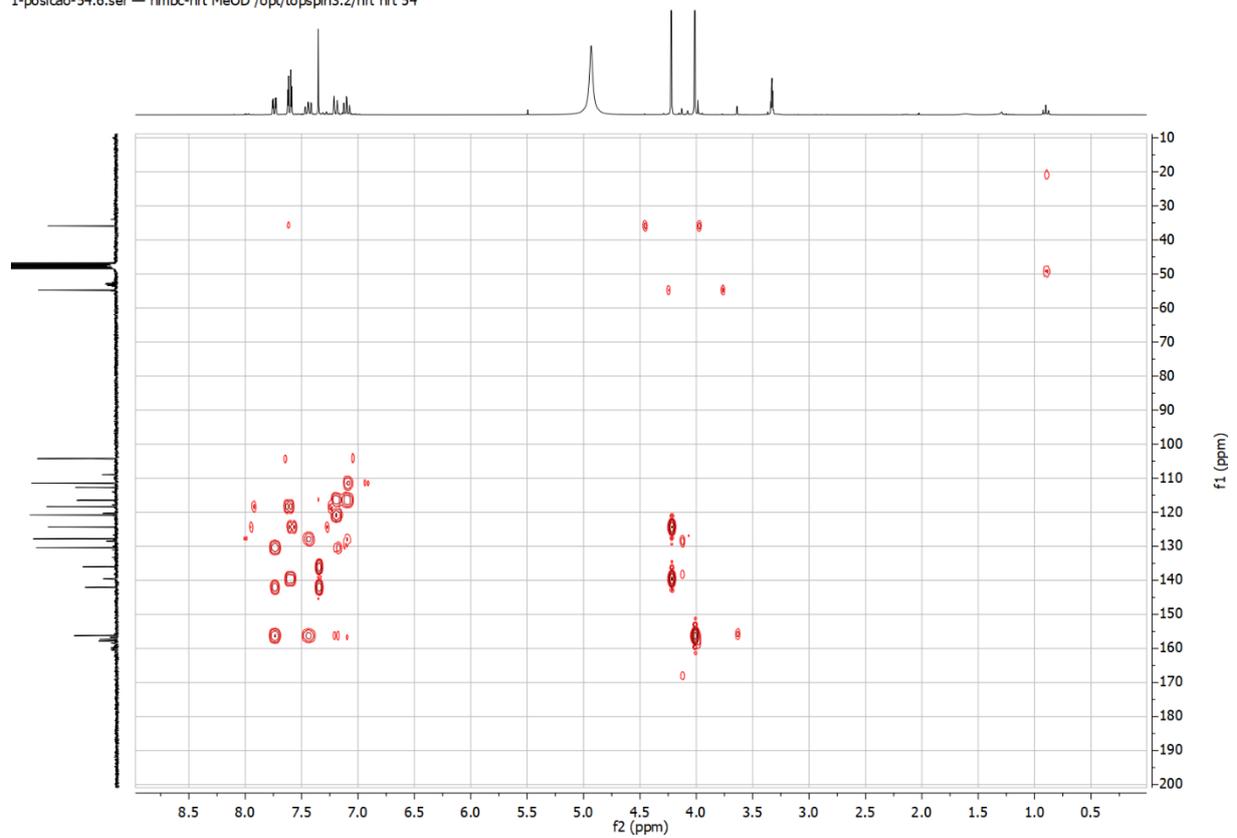
Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) du composé 47

1-posicao-54.5.ser — hsqc-hrt MeOD /opt/topspin3.2/hrt hrt 54



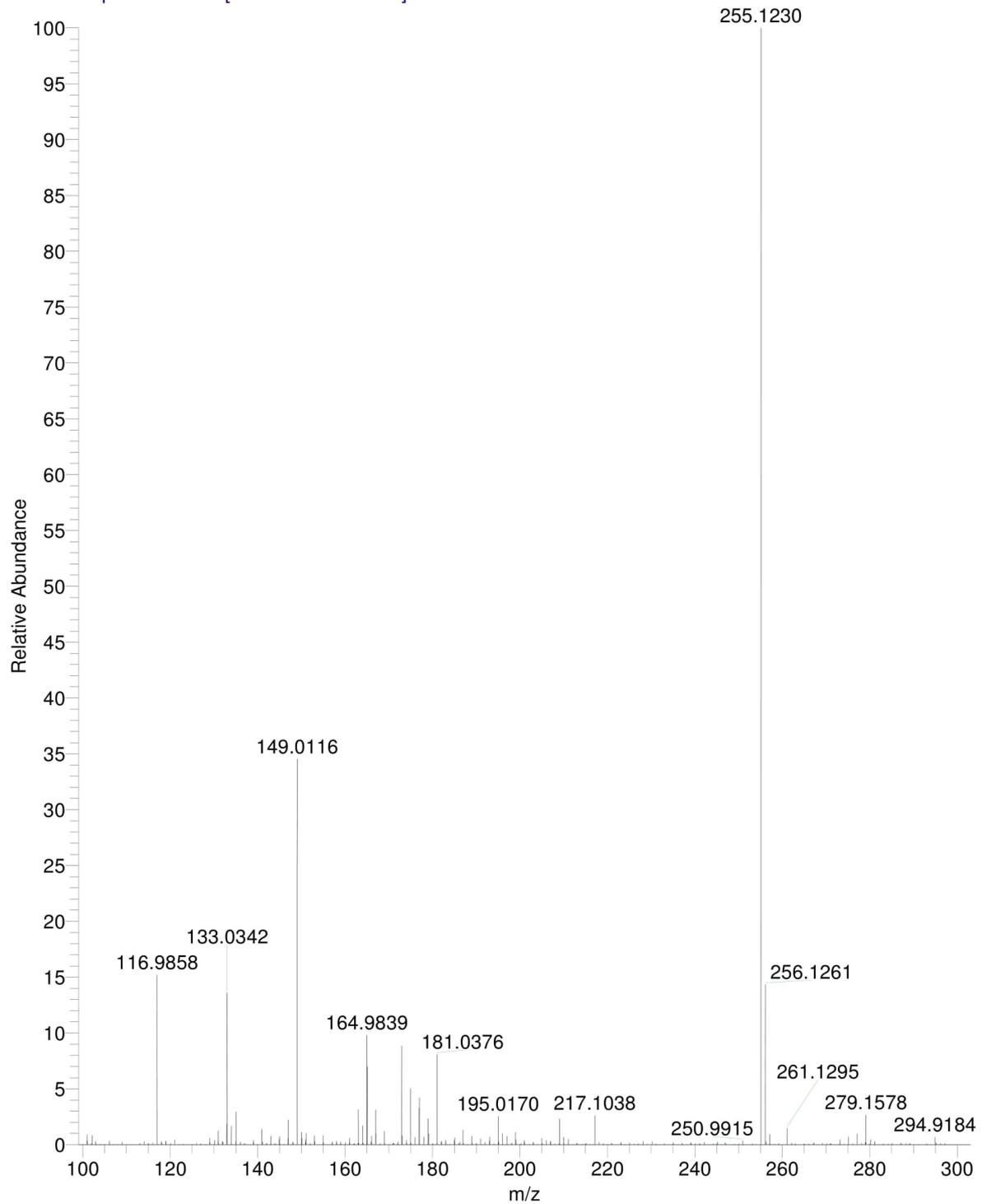
Spectre HSQC (CDCl₃) du composé 47

1-posicao-54.6.ser — hmbc-hrt MeOD /opt/topspin3.2/hrt hrt 54



Spectre HMBC (CDCl₃) du composé 47

ASIC-41 #29-49 RT: 0.45-0.75 AV: 21 NL: 3.76E8
T: FTMS + p ESI Full ms [100.0000-300.0000]



Spectre ESI(+)-HRMS du composé 43

Résumé :

Un certain nombre de dérivés tricycliques (benz)imidazole-hétérocycle-aryle où l'hétérocycle est une 2-pyrazoline ou un pyrazole ont été préparés par une réaction d'addition-cyclisation de dérivés de l'hydrazine aux chalcones correspondantes possédant un motif (benz)imidazole dans leur structure.

Ainsi, l'addition de dérivés de l'hydrazine tels que : le semicarbazide, le thiosemicarbazide, $N_2H_4.H_2O/AcOH$ et ArN_2H_3 , aux chalcones (benz)imidazoliques nous a permis d'accéder aux 2-pyrazoline *N*-substitués, alors que l'addition de l'hydrazine monohydrate conduit aux 2-pyrazoline *N*-H. Les rendements sont bons voire excellents (50-92%).

Quelques dérivés hybrides imidazole-pyrazole-aryle ont été également synthétisés par une réaction one-pot en deux étapes : réaction du 2-acétyl-1-méthyl-1*H*-imidazole avec des dérivés de chlorure de benzoyle (ou le chlorure de naphtoyle) en présence de LiHMDS, suivie de l'addition d'hydrazine monohydrate. Les rendements sont relativement faibles (10-37%).

Un nombre de chalcones (9 composés) ont été soumis à un screening de l'activité antiproliférative contre deux lignées cellulaires cancéreuses humaines : AGS (cancer gastrique), A549 (cellules de poumon), et une lignée de cellules humaines non cancéreuses MRC-5 (poumon), dans des plages de concentration allant jusqu'à 100 μM . L'analyse (SAR) des composés testés montre l'importance de l'agencement des unités structurales dans l'activité antiproliférative. En effet les composés porteurs d'un cycle (benz)imidazole est en position β du groupe carbonyle (**Série 1**) ont montré une toxicité supérieure à celle où le cycle (benz)imidazole est directement lié au groupe carbonyle (**Série 2**). De même, certaines chalcones ont été évaluées pour leur activité antibactérienne contre 5 souches (une à Gram (+) et quatre à Gram (-)), l'analyse SAR montre que seuls les composés de la **Série 1** présentaient un pouvoir inhibiteur.

Quatre méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante différentes mais complémentaires DPPH \cdot , ABTS $^{+ \cdot}$, le superoxyde $O_2^{\cdot -}$, et CUPRAC ont été utilisés sur des dérivés de chalcone et sont révélées infructueuses (pas d'activité). En revanche quelques dérivés sélectionnés de 2-pyrazoline, répartis en deux séries : les 2-pyrazolines *N*-H (7 composés) et les 2-pyrazolines *N*-substituées (5 composés), utilisant les mêmes méthodes, ont montré une activité antioxydante. L'étude comparative des résultats du pouvoir antioxydant des deux séries a montré que les 2-pyrazoline *N*-H ont un pouvoir antioxydant remarquable et nettement supérieur à celui des 2-pyrazoline *N*-substituées.

De même quelques dérivés de 2-pyrazoline ont été évalués pour leur activité antiproliférative contre les lignées cellulaires cancéreuses AGS, A549, et leur sélectivité étudiée par rapport à des cellules non cancéreuses du poumon (MCR5) dans des plages de concentration allant jusqu'à 100 μM . Aucune activité n'a été observée pour tous les composés testés.

Tous les composés préparés ont été identifiés par les méthodes spectroscopiques usuelles (IR, RMN 1H et ^{13}C) et des analyses complémentaires ont été également réalisées (analyse élémentaire et/ou spectrométrie de masse).

Mots clé : (Benz)imidazole, Chalcones, Réaction d'addition-hétéro-cyclisation, 2-Pyrazoline, Pyrazole, Activité biologique, Activité anticancéreuse, Pouvoir antioxydant.

Abstract:

A number of new chalcones containing in their structure a (benz)imidazole nucleus were prepared using a simple aldol-condensation reaction. Addition of hydrazine derivatives to the prepared chalcones led to the formation of a series of new hybrid heterocyclic compounds: imidazole-2-pyrazoline-aryl and imidazole-pyrazole-aryl, *via* an addition-cyclization reaction.

Thus, the addition of hydrazine derivatives such as: semicarbazide, thiosemicarbazide, $N_2H_4.H_2O/AcOH$) and ArN_2H_3 to (benz)imidazolic chalcones allowed us to access (*N*-substituted) 2-pyrazolines, while the addition of hydrazine monohydrate led to (*NH*) 2-pyrazolines. The yields are good or excellent in most cases (50-92%).

Some imidazole-pyrazole-aryl derivatives (9 compounds) were also synthesized in relatively low yields (10-37%), they were obtained following a two steps one-pot reaction: The reaction of 2-acetyl-1-methyl-1*H*-imidazole with benzoyl chloride derivatives (or naphthoyle chloride) in the presence of LiHMDS, followed by the addition of hydrazine monohydrate

Several chalcones (9 compounds) were screened for their anti-proliferative activity against two human cancer cell lines: AGS gastric cancer, A549 lung cells, and a non-cancerous human cell line MRC- 5 (lung), in concentration ranges up to 100 μ M. The analysis of the (SAR) of the tested compounds shows the importance of the structural arrangement in the anti-proliferative activity. In fact, compounds carrying a (benz)imidazole ring in the β position of the carbonyl group (**Series 1**) have greater toxicity than where the (benz)imidazole ring is directly linked to the carbonyl group (**Series 2**). Likewise, some chalcones were evaluated for their antibacterial activity against 5 strains (one Gram (+) and four Gram (-)), and the SAR analysis shows that only the compounds of **Series 1** exhibited an inhibitory power.

Some chalcone were tested for their antioxidant activity using Four complementary methods: DPPH \cdot , ABTS \cdot^{+} , superoxide $O_2^{\cdot-}$, and CUPRAC, but no antioxidant activity was observed for the tested chalcones. On the other hand, some derivatives of 2-pyrazoline, divided into two series: (*NH*) 2-pyrazolines (7 compounds) and (*N*-substituted) 2-pyrazolines (5 compounds), and using the same assessment methods, displayed antioxidant activity. The comparative study of the antioxidant power of the two series showed that the (*NH*) 2-pyrazoline had remarkable antioxidant power clearly higher than that of the (*N*-substituted) 2-pyrazolines.

Likewise, some 2-pyrazoline derivatives have been evaluated for their anti-proliferative activity against the cancer cell lines AGS, A549, and their studied selectivity compared to non-cancerous lung cells (MCR5) in concentration ranges up to 100 μ M. No activity was observed for all the compounds tested.

All the compounds prepared were identified by the usual spectroscopic methods (IR, 1H and ^{13}C NMR) and additional analyses were also carried out (elemental analysis and / or mass spectrometry).

Keywords: (benz)imidazole, chalcone, addition-cyclization reaction, 2-pyrazoline, pyrazole, biological activity, anticancer activity, antioxidant power.

الملخص

تم تحضير عدد من المشتقات ثلاثية الحلقة (بنز)ايميدازول - حلقة غير متجانسة - أريل بحيث تكون الحلقة غير المتجانسة عبارة عن 2- بيرازولين أو بيرازول بواسطة تفاعل إضافة-تحلق الهيدرازين إلى الشالكونات المناسبة التي تحتوي على نواة (بنز)ايميدازول في بنيتها.

أمكنتنا إضافة مشتقات الهيدرازين مثل (الشبه كربازيد، الثيوشبه كربازيد، $N_2H_4.H_2O/AcOH$ و ArN_2H_3) إلى الشالكونات (بنز)ايميدازولية بتحضير مشتقات 2- بيرازولين-N- مستبدلة ، إضافة الهيدرازين أحادية هيدرات (monohydrate) تؤدي إلى تشكيل مشتقات 2- بيرازولين-N-H. بمرود جيد إلى ممتاز (50-92%). تم اصطناع بعض المشتقات الهجينة ايميدازول- بيرازول- أريل (9 مركبات) عن طريق تفاعل « One pot » في وعاء واحد على مرحلتين : تفاعل ال-2- أسيتيل -1-مethyl-1H-ايميدازول مع مشتقات كلوريد البنزويل (أو كلوريد 1-نافتويل) في وجود LiHMDS، متبوع بإضافة الهيدرازين (monohydrate) أحادية هيدرات بمرود ضعيف نسبيا (10-37%).

خضعت بعض مركبات الشالكون (9) إلى دراسة النشاط المضاد للتكاثر ضد سلالتين من الخلايا السرطانية البشرية : سرطان المعدة AGS ، وخلايا الرئة A549 ، و سلالة الخلايا البشرية غير السرطانية MRC-5 (الرئة) في مجال تراكيز يصل إلى $100 \mu M$ ، تحليل نتائج (SAR) للمركبات التي تم فحصها يوضح أهمية ترتيب الوحدات الهيكلية الموجودة و تأثيرها على النشاط المضاد للتكاثر. أظهرت المركبات التي تحمل حلقة (بنز)ايميدازول في الوضعية بيتا (β) بالنسبة لمجموعة الكاربونيل (السلسلة 1) سمية أكبر من تلك التي تكون فيها حلقة (بنز)ايميدازول مرتبطة مباشرة بمجموعة الكاربونيل. (السلسلة 2). تم أيضا تقييم بعض مشتقات الشالكون لشاؤها المضاد للبكتيريا مقابل 5 سلالات (واحدة جرام (+) وأربعة جرام (-)). يوضح تحليل (SAR) أن مركبات السلسلة 1 فقط أظهرت قوة مثبطة.

تم استخدام أربع طرق مختلفة تكاملية لتقييم نشاط مضادات الأكسدة $DPPH^*$ ، $ABTS^{*+}$ ، $superoxyde O_2^-$ و CUPRAC على مشتقات الشالكون وتبين أنها غير فعالة (لا يوجد نشاط). من ناحية أخرى، و باستعمال نفس الطرق أظهرت بعض المشتقات المختارة من 2- بيرازولين، المنقسمة إلى سلسلتين : 2- بيرازولين N-H (7مركبات) و 2- بيرازولين-N-مستبدلة (5مركبات) نشاطا مضادا للأكسدة. أوضحت دراسة المقارنة لنتائج قوة مضادات الأكسدة للسلسلتين أن ال-2- بيرازولين N-H لها نشاط مضاد للأكسدة قوي وجدير بالملاحظة يفوق بكثير نشاط ال-2-بيرازولين-N- مستبدلة في نفس السياق، تم تقييم بعض مشتقات 2- بيرازولين بالنسبة لنشاطها المضاد للتكاثر ضد سلالات الخلايا السرطانية AGS ، A549 ، ولانتقائيتها المدروسة مقارنة بخلايا الرئة غير السرطانية (MCR5) في مجال تراكيز يصل إلى $100 \mu M$. لم يلاحظ أي نشاط لجميع المركبات المدروسة.

جميع المركبات المحضرة تم تحديد بنيتها باستعمال الطرق الطيفية المعتادة (IR ، RMN^1H et ^{13}C) كما تم إجراء تحليلات إضافية (التحليل الأولي و / أو قياس الطيف الكتلي) وعلى اتفاق تام مع البنب.

مفاتيح اللفظ: (بنز) إيميدازول، شالكون، تفاعل إضافة - تحلق غير متجانس، 2-بيرازولين، بيرازول، نشاط بيولوجي ، نشاط مضاد للسرطان ، مضادات الأكسدة.