

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

UNIVERSITÉ ECHAHID HAMMA LAKHDAR  
EL OUED



جامعة الشهيد حمزة لخضر-الوادي

Faculté des Sciences Exactes

Année 2023

Département de Chimie

## THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de **DOCTORAT 3<sup>ème</sup> Cycle (LMD)**

*Synthèse de Nouveaux Composés Hétérocycliques  
à visée Thérapeutique : Etude de Leurs Activités  
Antibactérienne et Anti-oxydante*

FILIERE : CHIMIE

SPECIALITE : CHIMIE ORGANIQUE

Par

Ichrak BOUGUessa

Soutenue publiquement le 21/02/2023

Devant le jury :

Pr	Naima BENCHIKHA	Présidente	U. El Oued
Pr	Mohamed DEHAMCHIA	Directeur de thèse	U. El Oued
Pr	Abdelkrim GOUASMIA	Co-Directeur de thèse	U. Tébessa
Pr	Mohamed R. Ouahrani	Examinateur	U. El Oued
MCA	Nawel BAYOU-KHIER	Examinatrice	U. Boumerdès
Pr	Fouad FERKOUS	Examinateur	U. Annaba
Pr	Zine REGAINIA	Invité	U. Souk Ahras

*Dédicaces . . . . . ✍*

À

*Mon Très cher père,*

*Ma très chère maman,*

*Qui ont fait beaucoup de sacrifices et ont fait preuve de beaucoup d'abnégations pour que je puisse réaliser leur rêve de pouvoir terminer mes études. Pour leur encouragement, leur tendresse, leur amour et leur soutien durant mes études ; vous trouverez là le fruit de vos sacrifices.*

## ***Remerciements***

Ces travaux de thèse ont été effectués au sein du laboratoire de département de chimie

Un grand merci à mon encadreur Monsieur **Mohamed DEHAMCHIA**, professeur à l'université d'El oued. Les mots seuls ne pourront exprimer à quel point je lui suis reconnaissant, mais je tenais ici à lui exprimer toute ma gratitude pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse et de m'avoir accueilli dans ses équipes de recherche. Je tiens tout particulièrement à le remercier pour sa patience, sa disponibilité, sa confiance, sa générosité et ses encouragements au long de la réalisation de ce travail.

Je tiens également à adresser tous mes remerciements à mon Co-encadreur Monsieur **Abdelkrim GOUASMIA**, Professeur à l'Université de Tébessa, d'avoir accepté de siéger dans ce jury de thèse.

Je remercie tout particulièrement Monsieur **Zine REGAINIA**, Professeur à l'université de Souk Ahras pour l'intérêt qu'il a porté à ce sujet. Je le remercie également pour avoir bien voulu apporter d'aide, conseils et observations utiles et constructives lors de la réalisation de ce manuscrit.

Je tiens à remercier Mme. **Naima BENCHIKHA**, Professeur à l'université d'El oued, pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail en tant que présidente du jury.

Monsieur le professeur **Fouad FERKOUS**, de l'Université Badji Mokhtar- Annaba. Je tiens à lui exprimer mes sincères reconnaissances pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail et d'avoir aimablement accepté d'examiner et de juger l'exposé oral de ce travail.

Ma grande reconnaissance s'adresse à Monsieur **Mohamed R. OUAHRANI**, Professeur à l'Université d'El oued pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de juger ce travail.

M'honore grandement, parmi les membres du jury, la présence du Mme. **Nawel BAYOU-KHIER**, Maitre de conférence A à l'Université de Boumerdès, Qu'elle soit assuré de ma profonde gratitude et mes sincères remerciements.

Mes remerciements s'adressent aussi au laboratoire d'El-Medjed de m'avoir accueilli et ma donné l'opportunité de mener l'activité antibactérienne.

Le laboratoire de synthèse organique est un lieu de travail et aussi un endroit où les contacts humains et les échanges sont nombreux. Dans ce contexte, j'aimerais remercier toutes les thésards et les personnes que j'ai côtoyées durant mes années de recherche Kenza, Samia, Chaima, Hela, Afef, Nardjess, Sihem, Abir, Rabiaa, Fathi, Okba, Mouna, Hafidha et Karima.

Je remercie de tout cœur ma famille et mes amies (Kaouther, Meriem, Nabila, Ghania, Saadia, Dounia, Sofia) pour leur soutien indéfectible tout au long de ces années.

## *Table des Matières*

Liste des abbreviations.....	11
Liste des figures.....	14
Liste des schémas.....	18
Liste des tableaux.....	20
Résumé.....	23
Abstract.....	24
ملخص.....	25
INTRODUCTION GENERALE.....	26
Références bibliographiques.....	34

### CHAPITRE I

#### **RAPPEL SUR LES INTERETS BIOLOGIQUES DES PYRIMIDINES, PYRIDAZINES, PURINES ET LEURS DERIVES FUSIONNES (PYRIMIDO-PYRIMIDINES, PYRIMIDO-PURINES ET PYRIDAZINO-PURINES)**

Introduction.....	36
I. Propriétés biologique et thérapeutique des pyrimidines, pyridazines et purines.....	36
I.1.I.1. Intérêts biologiques et thérapeutiques des Pyrimidines.....	36
I.1.1. Activités antivirales .....	36
I.1.2. Pyrimidines comme agents anticancéreux.....	37
I.1.3. Activités anti-inflammatoires.....	38
I.1.4. Propriétés antibactériennes .....	39
I.2. Intérêts biologique et thérapeutique des purines.....	39
I.2.1. Activités anti-cancéreuses.....	39
I.2.2. Propriétés antivirales.....	40
I.2.3. Propriétés anti-tumorales.....	41
I.2.4. Comme agents antituberculeux.....	41
I.2.5. Activités antiparasitaires.....	42
I.3. Propriétés biologiques et pharmacologiques des pyridazines.....	42
I.3.1. Activités anti-cancéreuses.....	43
I.3.2. Activités anti-inflammatoires.....	43
I.3.3. Pyridazines comme agents herbicides.....	44
I.3.4. Modulateurs de gamma-sécrétase.....	44
I.3.5. Pyridazines comme inhibiteurs de $\alpha$ -glycosidase.....	44

II. Propriétés biologiques des dérivés fusionnés de Pyrimidine, pyridazines et purine : (pyrimido-pyrimidines, pyrimido-pyridazines et pyrimido-purines).....	45
II.1. Pyrimido-pyrimidines.....	45
II.1.1. Pyrimido[5,4-d]pyrimidines comme agents antituberculeux.....	45
II.1.2. Inhibiteurs de tyrosine kinase de Bruton.....	45
II.1.3. Activités antivirales.....	46
II.1.4. Activités anticancéreuses.....	46
II.2. Activités biologiques des pyrimido-pyridazines.....	47
II.2.1. Activités antifongiques.....	47
II.2.2. Comme antihypertenseurs.....	47
II.2.3. Comme antagonistes des récepteurs de l'adénosine A1.....	48
II.3. Potentiels biologiques des pyrimido-purines.....	48
II.3.1. Activités anti-inflammatoires.....	48
II.3.2. Comme inhibiteurs des monoamines oxydases (MAO).....	49
II.3.3. Propriétés anticancéreuses.....	49
Conclusion.....	50
Références bibliographiques.....	51

## CHAPITRE II

### SYNTHÈSE DE NOUVEAUX DÉRIVÉS HÉTÉROCYCLIQUES À VISEE THÉRAPEUTIQUE: PYRIMIDINES, PYRIDAZINES, PURINES ET PYRIDAZINO- PURINES

#### Partie I (Rappel Bibliographique)

II. Principales méthodes de synthèse des pyrimidines, pyridazines, Purines et leurs dérivés fusionnés : (Pyrimido-pyrimidines, Pyrimido-purines, Pyrimido-pyridazines et Pyridazino-purines).....	60
II.1. Synthèse du motif pyrimidine simple.....	60
II.1.1. Réaction multi-composant de Biginelli.....	61
II.1.2. Synthèse de pyrimidines par condensation des carbonyles et l'amidine.....	61
II.1.3. Synthèse des pyrimidines à partir des énamines.....	62
II.1.4. Synthèse des pyrimidines par condensation des amides sur les nitriles.....	62
II.2. Synthèse du motif pyridazine.....	63
II.2.1. Synthèse de pyridazine C-nucléosides.....	63

II.2.2. Synthèse des thienylpyridazines par la réaction de couplage de Suzuki-Miyaura.....	63
II.2.3. Synthèse des pyridazines à partir des acides 4-oxo-carboxyliques.....	64
II.2.4. Synthèse de Pyridazin-3-one.....	64
II.3. Synthèse des purines.....	64
II.3.1. Biosynthèse de purines.....	65
II.3.2. Synthèse de purines à partir des formamides.....	66
II.3.3. Synthèse de purines à partir des imidazoles.....	66
II.3.4. Synthèse des purines tri-substitués en utilisant <i>N,N</i> -diméthylamides, alcool primaire et 4- alkylamino-5-amino-6-chloropyrimidines.....	67
II.4. Méthodes générales de synthèse des pyrimido-pyrimidines.....	67
II.4.1. Synthèse multicomposants de 4 <i>H</i> -pyrimido[1,6- <i>a</i> ]pyrimidines.....	67
II.4.2. Synthèse de pyrimido[4,5- <i>d</i> ]pyrimidones à partir d'énamino-uracil.....	68
II.4.3. Préparation de pyrimido[5,4- <i>d</i> ]pyrimidines par réarrangement de 6-cyano-purines.....	68
II.4.4. Synthèse de 9-hydroxy-4 <i>H</i> -pyrimido[1,6- <i>a</i> ]pyrimidin-4-one.....	69
II.4.5. Synthèse de 5-( <i>N</i> -alkylamino)Pyrimido[4,5- <i>d</i> ]uracil catalysée par le Ni(II).....	69
II.5. Méthodes générales de synthèse des pyrimido-pyridazines.....	70
II.5.1. Préparation des pyrimido[4,5- <i>d</i> ]pyridazines.....	70
II.5.2. Synthèse des pyrimido[4,5- <i>c</i> ]pyridazine-5,7(1 <i>H</i> ,6 <i>H</i> )-diones.....	70
II.5.3. Synthèse de pyrimido[4,5- <i>c</i> ]pyridazines.....	71
II.5.4. Synthèse de pyrimido[4,5- <i>c</i> ]pyridazines comme inhibiteurs de dihydro-ptéroate synthase.....	71
II.6. Principales voies de synthèse des pyrimido-purines.....	72
II.6.1. Synthèse de 1,3-dialkyl-tétrahydropyrimido[1,2- <i>f</i> ]purine-2,4-diones.....	72
II.6.2. Synthèse de pyrimido[1,2- <i>α</i> ]purine-10(3 <i>H</i> )-one.....	72
II.6.3. Synthèse de 1-deazapyrimido[1,2,3- <i>cd</i> ]purines.....	73
II.7. Synthèse des pyridazino-purines.....	74
II.7.1. Synthèse de pyridazino[6,1- <i>f</i> ]purine et pyridazino[6,1- <i>e</i> ]purine par condensation des aminoadénines sur le 2,4-pentandione.....	74
Conclusion.....	74

## **Partie II (Résultats et discussion)**

Introduction.....	76
I.1. Préparation des précurseurs di-éthyl 6-aryl-2-oxo-pyrimidine-4,5-dicarboxylates.....	76
I.1.1. Synthèse.....	76
I.1.2. Caractérisation.....	78

I.2. Synthèse et caractérisation de nouveaux Pyrimido-pyrimidines et pyrimido-purines dérivés de nucléobases.....	79
I.2.1. Synthèse.....	80
I.2.2. Caractérisation.....	82
I.2.2.1. Caractérisation des pyrimido[1,6-a]pyrimidine-3,4-dicarboxylate <a href="#">139-141</a> .....	82
I.2.2.2. Caractérisation pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylate <a href="#">142-143</a> .....	84
I.2.2.3. Caractérisation des pyrimido[2,1-e]purine-8,9-dicarboxylates <a href="#">144-146</a> .....	85
I.3. Synthèse de Pyrazole-3,4-dicarboxylates et Isoxazole-3,4-dicarboxylates.....	87
I.3.1. Synthèse .....	88
I.3.2. Caractérisation.....	89
I.3.2.1. Caractérisation des Pyrazole-3,4-di-carboxylates <a href="#">150-155</a> .....	89
I.3.2.2. Caractérisation des Isoxazole-3,4-dicarboxylates <a href="#">156-158</a> .....	91
II. Synthèse de nouveaux dérivés poly-hétérocycliques (pyrimido[4,5-d]pyridazines, pyrimido-pyrimido-pyridazines et pyrimido-pyridazino-purines).....	93
II.1. Synthèse et caractérisation du motif 5,8-dihydroxy-4-arylpyrimido[4,5-d]pyridazin- 2( <i>IH</i> )-one à partir de diéthyl pyrimidin-2( <i>H</i> )-one-4,5-dicarboxylique.....	93
II.1.1. Synthèse.....	93
II.1.2. Caractérisation.....	93
II.2. Synthèse du motif pyrimido[1',6':1,2]pyrimido[5,4-d]pyridazin-1( <i>IH</i> )-one à partir de pyrimido[1,2-g]pyrimidine-7,8-dicarboxylate.....	95
II.2.1. Synthèse .....	95
II.2.2. Caractérisation.....	95
II.3. Synthèse de pyridazino[4',5':5,6]pyrimido[1,2-g]purine-1,4-diol à partir de pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylates.....	97
II.3.1. Synthèse.....	97
II.3.2. Caractérisation.....	97
II.4. Synthèse de pyridazino[4',5':5,6]pyrimido[2,1-e]purine-1( <i>IH</i> )-one à partir de pyrimido[2,1-e]purine-8,9-dicarboxylate.....	98
II.4.1. Synthèse .....	98
II.4.2. Caractérisation.....	99
II.5. Synthèse des dérivés pyrazolo[3,4-d]pyridazine-4,7-diol et isoxazolo[4,5- d]pyridazine-4,7-diol.....	101
II.5.1. Synthèse.....	101
II.5.2. Caractérisation.....	102

II.6.Synthèse de 4,6-diphényl-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -pyrrolo[3,4-d]pyrimidine-2,5,7(6 <i>H</i> )-trione	105
II.6.1. Synthèse.....	105
II.6.2. Caractérisation.....	106
III. Synthèse des motifs pyrimido[1,6-a]pyrimidine, pyrimido[1,2-g]purine et Pyrimido[2,1-e]purine.....	108
III.1.les chalcones.....	108
III.2. Préparation de dibenzalacétone par la condensation de Claisen-Schmidt.....	109
III.3. Synthèse de styrylpyrimidine-2(1 <i>H</i> )-one et styryl-1,2,6-thiadiazine 1,1-dioxyde.....	109
III.3.1. Synthèse.....	109
III.3.2. Caractérisation.....	110
III.4. Synthèse de Pyrimido[1,6-a]pyrimidine, Pyrimido[1,2-g]purine et Pyrimido-[2,1-e]purine dérivés de Nucléobases.....	111
III.4.1. Synthèse.....	111
III.4.2. Caractérisation.....	113
III.4.2.1. Caractérisation du motif pyrimido[1,6-a]pyrimidin-6-one <a href="#">181</a> dérivé de la cytosine.....	114
III.4.2.2. Caractérisation du 3,7-dihydro-7-phényl-9-styrylpyrimido[1,2-g]purine <a href="#">182</a> dérivé de l'adénine.....	115
III.4.2.3. Caractérisation de 9-phényl-7-styrylpyrimido[2,1-e]purine-4-one dérivé de la guanine <a href="#">183</a> .....	115
Conclusion.....	117
Références.....	118

### Chapitre III : Essais Biologiques

#### Evaluations des propriétés antibactériennes et anti-oxydantes

Introduction.....	127
I. Evaluation biologique de nos composés synthétisés.....	127
I.1. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	127
I.1.1. Micro-organismes utilisés.....	127
I.1.1.1. <i>Escherichia coli</i> .....	127
I.1.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	128
I.1.1.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	128
I.1.1.4. <i>Salamonella typhimuruim</i> .....	128

I.1.2. Méthodologie utilisée pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	128
I.1.2.1. Stérilisation du matériel.....	128
I.1.2.2. Conservation des souches.....	128
I.1.2.3. Préparation du milieu de culture.....	128
I.1.2.4. Ensemencement des boites.....	129
I.1.2.5. Méthode de diffusion sur disque.....	129
I.1.2.6. Détermination de la zone d'inhibition.....	129
I.2 Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité anti-oxydante.....	130
I.2.1. Oxydation.....	130
I.2.2. Stress oxydatif.....	130
I.2.3. Radicaux libres.....	131
I.2.4. Antioxydant.....	131
I.2.4.1. Mode d'action.....	131
I.2.4.2. Types d'antioxydants.....	131
I.2.4.2.1. Antioxydants primaires ou radicalaires ou vrais.....	131
I.2.4.2.2. Antioxydants secondaires ou préventifs.....	132
I.2.5. Méthodologie utilisée pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante.....	132
I.2.5.1. La méthode du radical DPPH.....	133
I.2.5.2. Le radical ABTS.....	134
II. Résultats et discussion.....	135
II.1. Activité antibactérienne.....	135
II.1.1. Effet antibactérien de la série 1 (Pyrimidines, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines et pyridazino-purines).....	136
II.1.2. Effet antibactérien de la série 2 (pyrazoles, isoxazoles, pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyrdazines).....	138
II.1.3. Effet antibactérien de la série 3 (Pyrimido[1,6-a]pyrimidine, Pyrimido [1,2-g]purine et Pyrimido[2,1-e]purine).....	140
II.2. Activité anti-oxydante.....	142
II.2.1. Effet antioxydant de la série 1.....	142
II.2.2. Effet antioxydant de la série 2.....	146
II.2.2. Effet antioxydant de la série 3.....	150
Conclusion.....	152
Références bibliographiques.....	153
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	157

## CHAPITRE IV

### PARTIE EXPERIMENTALE

Partie Expérimentale du Chapitre II.....	160
--	-----

#### ANNEXE I

ANNEXE I : Les spectres RMN.....	188
----------------------------------	-----

#### ANNEXE II

ANNEXE II : Les publications.....	207
-----------------------------------	-----

## Abréviations & Symboles utilisés

### A

**ABCG2** : Protéine  
**ABTS**: 2,2-azinobis-(3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate)  
**ADN**: Acide déoxyribonucléique.  
**AMP**: Adénosine monophosphate cyclique  
**Ara-C**: Arabinoside cytosine  
**ARV**: Agent antirétroviral  
**ARN**: Acide ribonucléique  
**Ar**: Aryle.  
**Arom**: Aromatique.  
**Asc**: acide ascorbique.  
**ATP**: Adénosine triphosphate.  
**AZT**: Azidothymidine

### B

**Bn**: Benzyl  
**Bu**: Butyl  
**n.BuLi** : *n*.Butyllithium.

### C

**°C**: Degré Celsius  
**CCM**: Chromatographie sur couche mince.  
**CMI (MIC)**: Concentration minimale inhibitrice.  
**CMV**: Virus de la mosaïque du concombre  
**coll**: Collaborateurs  
**Conc.**: Concentré.  
**COX-1** : Cyclooxygénase-1.  
**COX-2** : Cyclooxygénase-2.

### D

**DBA**: Dibenzylidèneacétone.  
**DBU**: 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène  
**DCI**: Dénomination commune internationale  
**DCM**: Dichlorométhane.  
**DHPMs**: Dihydropyrimidinones

**DME**: 1,2-diméthoxyéthane (glyme).  
**DMF**: *N,N*-diméthylformamide.  
**DMPD** : Balayage du radical cation *N,N* diméthyl-*p*-phénylènediamine.  
**DMSO** : Diméthyl sulfoxyde.  
**DMSO-d<sub>6</sub>** : Diméthyl sulfoxy de deutéré  
**d**: Doublet  
**dd**: Doublet dédoublé  
**ddd** : Doublet dédoublé dédoublé  
**dt** : Doublet de triplet  
**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.  
**DRO**: Radicaux dérivés de l'oxygène.

### E

***E. coli*** : *Escherichia coli*  
**EC50** : Concentration efficace médiane.  
**ESI** : Ionisation par électro nébuliseur (Electro spray Ionization)  
**ERO** : Espèces réactives oxygénées.  
**éq.** : Équivalent.  
**Et** : Ethyle.  
**EWG (GEA)**: Groupement électroattracteur (electron-withdrawing group).

### F

**5-FU**: 5-fluorouracile  
**FRAP**: Capacités réductrices ferriques d'antioxydants.  
**FT-IR**: Infra-rouge à transformée de Fourier.

### J

**J**: Constante de couplage exprimée en Hz

### H

**H**: Heure  
**HPDs**: Hydropyrimidines  
**HCT-11**: Lignées cellulaires (cancer du côlon)  
**HSV-1** : Virus de l'herpès de type 2

**HTAP** : Hypertension artérielle pulmonaire.

**Hz** : Hertz.

## I

**I %** : Le pourcentage d'inhibition

**IC50** : Concentration inhibitrice médiane.

**IMP** : Inosine Mono Phosphate

**IUPAC** : Union internationale de chimie pure et appliquée

## G

**GMP** : Guanosine Mono Phosphate

**GTP** : Guanosine triphosphate

## L

**LDA** : Lithium *di*.isopropylamidure.

## M

**m** : Multiplet

**m/z** : Masse/ charge d'un ion

**MAO** : Monoamines oxydases

**MAO-B** : Monoamines de type

B.**McF** : McFarland

**MCF-7** : Cancer du sein

**MCRs** : Réaction à multi-composants.

**Me** : Méthyle.

**MHA** : Mueller-Hinton-Agar.

**M** : Masse Molaire

**mm** : Millimètre

**mL** : Millilitre

**mol** : Mole

**MP** : Maladie de Parkinson

**MTB** : Mycobacterium tuberculosis.

**MTS** : Bromure de 3-(4,5-diméthyl-2-thiazolyl)-5-(3-carboxyméthoxyphényl)-2-

**MS** : Spectrométrie de masse

(4-sulfophényl)-2H-tétrazolium.

## N

**NADP** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

**NaHMDS** : Hexaméthylidisilazoture de sodium

**NNRTIs** : Inhibiteurs non nucléosides de la transcriptase inverse (Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor).

## O

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**ORAC** : Capacité d'absorbance du radicaloxygène.

## P

**PCL** : photochimiluminescence

**Ph** : Phényle

**PH** : Potentiel hydrogène (mesure de l'acidité).

**ppm** : Partie par million.

**PRPP** : PhosphoribosylPyrophosphate.

**PVY** : Virus Y de la pomme de terre

## Q

**q** : Quadruplet

## R

**Rdt** : Rendement.

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire

**RMN<sup>1H</sup>** : Résonance magnétique nucléaire du proton

**RMN<sup>13C</sup>** : Résonance magnétique nucléaire du carbone 13

**Rf** : Rapport frontal.

## S

**s** : Singulet

**SAM** : S-adénosylméthionine ou coenzyme A

**SIDA** : Syndrome

d'Immunodéficience Acquis

**S.aureus** : *Staphylococcus aureus*

**S.typhi** : *Salamonellatyphimurium*

**SSA** : acide sulfurique de silice

## T

**t** : Triplet

**T.A ou T.amb** : Température ambiante.  
***t*-BuOK** : *Tert*-butylate de potassium.  
**TEAC** : Capacité anti-oxydante équivalente de Trolox  
**TEMPO** : Radical (2,2,6,6-tétraméthylpipéridin-1-yl) oxyl.  
**Tf<sub>2</sub>O, 2-Clpyr** :trifluorométhane sulfonique anhydride  
**T<sub>f</sub>** : Température de fusion.  
**THF** : Tétrahydrofurane.  
**TI** : la transcriptase inverse  
**TLC** : Thin layer chromatography (Chromatographie sur couche mince)  
**TMS** : Tétraméthylsilane (Me<sub>4</sub>Si).  
**TMV** : Virus de la mosaïque du tabac.  
**TKB** : tyrosine kinase de Bruton.  
**TOSC** : Capacité du piégeage des oxyradicaux totaux.  
**TRAP** : Paramètre du piégeage du radical total.  
**TsOH** : acide *p*-toluènesulfonique

## U

**UMP** : Uridine-5-monophosphate  
**UV-vis** : Ultraviolet-visible

## V

**VHC** : Virus de l'hépatite C  
**VIH-1** : Virus d'immunodéficience humaine de type 1

## X

**σ** : Déplacement chimique.  
**Δ** : Chauffage.

## Y

**YPG** : Yeast-Peptone-Glucose.

## Z

**ZDV** : la zidovudine  
**ZnCl<sub>2</sub>** : Chlorure de zinc

## LISTE DES FIGURES

1. Structure de pyrimidine, purine et pyridazine.....	27
2. Structure d'azidothymidine (AZT) ou (zidovudine, ZDV) .....	27
3. Structure des purines ( <i>Imidazo-pyrimidines</i> ).....	28
4. Structure de l'ATP et GTP.....	28
5. Pyridazines commercialisés.....	29
6. <i>Pyrimidines comme inhibiteurs de la TI du VIH-1</i> .....	36
7. Nucléoside modifié à base de pyrimidine comme anti-VHC.....	37
8. Structure de cytarabine (pyrimidine nucléosidique).....	37
9. Structure d'amino-pyrimidines comme agent anti-cancéreux.....	38
10. Structure chimique du fluorouracile (5-FU).....	38
11. <i>Structures des pyrimidine-2-thiones comme inhibiteurs de COX-1 et COX-2</i> .....	38
12. Structures de pyrimidines antibactériennes.....	39
13. Structures de Fludarabine et Phosphate de Fludarabine.....	40
14. <i>Structure de tioguanine</i> .....	40
15. <i>Purine-sulfonamides comme agents antiviraux</i> .....	40
16. <i>Purines comme inhibiteurs non-nucléosidiques de la protéase de VIH-1</i> .....	41
17. <i>Pyrrolo-benzothiadiazépines inhibiteurs de TI</i> .....	41
18. <i>Purines antituberculeux</i> .....	42
19. Structure des purines anti-malariques.....	42
20. Pyridazine anti-cancéreux.....	43
21. Pyridazine-3-ones comme inhibiteurs de COX-1 et COX-2.....	43
22. <i>Structure de Pyridafol</i> .....	44
23. Structures d'un pyridazine modulateur de $\gamma$ -sécrétase.....	44
24. Structures de <i>N-alkyl-4-hydroxyquinolon-3-yl-benzothiadiazine</i> .....	45
25. Pyrimido[5,4-d]pyrimidines comme agent antituberculeux.....	45
26. Pyrimido[4,5-d]pyrimidine-2,4( <i>1H,3H</i> )-dione inhibiteurs de TKB.....	46
27. 4-méthoxyamino-8-( $\beta$ -D-ribofuranosylamino)pyrimido[5,4-d]pyrimidine comme agent antiviraux .....	46
28. 2-méthyl- <i>N</i> <sup>7</sup> -diphénylpyrimido[4,5-d]pyrimidin-4-amine.....	47
29. Pyrimido[4,5-d]pyridazine comme agent antifongique.....	47
30. Pyrimido[4,5-d]pyridazine comme agent antihypertenseurs.....	48
31. Structure de pyrazolo[1',5':1,6]pyrimido[4,5-d]pyridazin-4(3H)-ones comme antagonistes des récepteurs de l'adénosine A1 .....	48

32. Pyrimido[2,1-f]purine-4,8(1 <i>H</i> ,9 <i>H</i> )-dione comme agent anti-inflammatoire.....	49
33. Structure de 9-(3,4-dichlorobenzyl)-1,3-diméthyl-6,7,8,9-tétrahydropyrimido[1,2-f]purine-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> )-dione.....	49
34. Structures des 1,3-diméthylpyrimido[1,2-a]purine-2,4,8(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,9 <i>H</i> )-triones.....	50
35. Structure de purine (Imidazo[4,5- d]pyrimidine).....	64
36. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">138</a> (400 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	79
37. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">139</a> (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	83
38. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">143</a> (400 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	85
39. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">144</a> (400 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	86
40. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">154</a> (300 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	90
41. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">158</a> (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ ppm).....	92
42. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">159</a> (300 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	94
43. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">161</a> (300 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	96
44. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">163</a> (300 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	98
45. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">166</a> (400 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	100
46. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">170</a> (300 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	103
47. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">170</a> (600 MHz ; CDCl <sub>3</sub> , δ ppm).....	104
48. Pyrrolo[2,3-d]pyrimidines provenant de sources naturelles.....	105
49. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">175</a> (400 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	107
50. Spectre RMN <sup>13</sup> C du composé <a href="#">175</a> (101 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	107
51. Structure chimique de la chalcone.....	108
52. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">181</a> (400 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	114
53. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">182</a> (400 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	115
54. Spectre RMN <sup>1</sup> H du composé <a href="#">183</a> (400 MHz ; DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ ppm).....	116
55. Ensemencement bactérien.....	129
56. L'incubation des boîtes de Pétri à l'étuve pendant 24 heures à 37°C.....	129
57. Evaluation de l'activité antibactérienne du composé <a href="#">144</a> contre <i>Pseudomonas aerogenosa</i> (A), <i>Staphylococcus aureus</i> (B), <i>Salmonella typhimurium</i> (C).....	137
58. Evaluation de l'activité antibactérienne du composé <a href="#">157</a> contre <i>Pseudomonas aerogenosa</i> (A), <i>Staphylococcus aureus</i> (B), <i>Salmonella typhimurium</i> (C).....	139
59. Evaluation de l'activité antibactérienne du composé <a href="#">167</a> contre <i>Pseudomonas aerogenosa</i> ) .....	140

60. Evaluation de l'activité antibactérienne du composé <a href="#">183</a> contre <i>Escherichia coli</i> (A), <i>Staphylococcus aureus</i> (B).....	142
61. Pouvoir d'inhibition du DPPH• (A) et ABTS <sup>+</sup> • (B) en fonction des différentes concentrations des Pyrimidines, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines.....	144
62. Histogramme comparative des IC50 de la série 1 dans les deux méthodes.....	145
63. Pouvoir d'inhibition du DPPH• (A) et ABTS <sup>+</sup> •(B) en fonction des différentes concentrations des composés <a href="#">144-145</a> et <a href="#">164-165</a> .....	145
64. Pouvoir d'inhibition du DPPH• (A) et ABTS <sup>+</sup> •(B) en fonction des différentes concentrations des pyrazoles et isoxazoles.....	147
65. Pouvoir d'inhibition du DPPH• (A) et ABTS <sup>+</sup> • (B) en fonction des différentes concentrations des pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines.....	149
66. Histogramme comparative des IC50 de la série 2 dans les deux méthodes.....	150
67. Pouvoir d'inhibition du DPPH•(A) et ABTS <sup>+</sup> •(B) en fonction des différentes concentrations des Pyrimido-[1,6-a]pyrimidine <a href="#">181</a> , Pyrimido [1,2-g]purine <a href="#">182</a> et Pyrimido-[2,1-e]purine <a href="#">183</a> .....	151
68. Histogramme comparative des IC50 de la série 3 dans les deux méthodes.....	152

## LISTE DES SCHEMAS

Schéma synoptique 1.....	31
Schéma synoptique 2.....	32
Schéma synoptique 3.....	33
1. Réaction de Biginelli.....	61
2. Synthèse de 2,6-diphénylpyrimidine par condensation des carbonyles et l'amidine.....	62
3. Synthèse des pyrimidines à partir des énamines.....	62
4. Synthèse des pyrimidines par condensation des amides sur les nitriles.....	62
5. Synthèse de pyridazine C-nucléosides.....	63
6. Synthèse des thienylpyridazines.....	63
7. Synthèse de 6-phénylpyridazin-3(2H)-one à partir des acides 4-oxo-carboxyliques.....	64
8. Synthèse de 2-arylpyridazin-3-ones.....	64
9. Synthèse de purine (Imidazo[4,5- d]pyrimidine).....	65
10. Biosynthèse des purines.....	66
11. Synthèse de 9H-purine à partir de formamide.....	66
12. Synthèse de 9-alkyl-9H-purin-6-amine à partir des imidazoles.....	66
13. Synthèse des purines poly-substitués.....	67
14. Synthèse multicomposants du motif 4H-pyrimido[1,6-a]pyrimidine.....	68
15. Synthèse de pyrimido[4,5-d]pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione.....	68
16. Synthèse de pyrimido[5,4-d]pyrimidines.....	69
17. Synthèse de 8-hydroxy-4H-pyrimido[1,6-a]pyrimidin-4-one.....	69
18. Synthèse de 5-(N-alkylamino)Pyrimido[4,5-d]uracil.....	70
19. Synthèse de pyrimido[4,5-d]pyridazines.....	70
20. Synthèse des pyrimido[4,5-c]pyridazine-5,7(1H,6H)-diones.....	70
21. Synthèse de pyrimido[4,5-c]pyridazines.....	71
22. Synthèse de 7-aminopyrimido[4,5-c]pyridazine-4,5(1H,6H)-dione.....	71
23. Synthèse de 1,3-dialkyl-tétrahydropyrimido[1,2-f]purine-2,4-diones.....	72
24. Synthèse de pyrimido[1,2- $\alpha$ ]purine-10(3H)-one.....	73
25. Synthèse de 1-deazapyrimido[1,2,3-cd]purines.....	73
26. Synthèse des pyridazino-purines.....	74
27. Synthèse de diéthyl-6-aryl-2-oxo-pyrimidine-4,5-dicarboxylates.....	76
28. Synthèse de dérivés fusionnés de pyrimido-purines à l'aide de nucléobases.....	80

29. Mécanisme proposé pour la synthèse de Pyrimido-pyrimidines et pyrimido-purines dérivés de nucléobases.....	87
30. Synthèse des pyrazoles et isoxazoles.....	88
31. Mécanisme proposé pour la synthèse de Pyrazole-3,4-dicarboxylates .....	91
32. Mécanisme proposé pour la synthèse de Isoxazole-3,4-dicarboxylates.....	92
33. Synthèse de pyrimido-pyridazine.....	93
34. Synthèse de pyrimido[1',6':1,2]pyrimido[5,4-d]pyridazin-1( <i>IH</i> )-one .....	95
35. Synthèse de pyridazino[4',5':5,6]pyrimido[1,2-g]purine-1,4-diol.....	97
36. Synthèse de pyridazino[4',5':5,6]pyrimido[2,1-e]purine-1( <i>IH</i> )-one .....	99
37. Synthèse de pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines.....	101
38. Synthèse du motif pyrrolo[3,4-d]pyrimidine.....	106
39. Préparation de dibenzalacetone.....	109
40. Synthèse de styrylpyrimidine-2( <i>IH</i> )-one et styryl-1,2,6-thiadiazine 1,1-dioxide <a href="#">178-180</a> .....	109
41. Synthèse de Pyrimido[1,6-a]pyrimidine <a href="#">181</a> , Pyrimido[1,2-g]purine <a href="#">182</a> et Pyrimido-[2,1-e]purine <a href="#">183</a> .....	112
42. Mécanisme proposé pour la synthèse de pyrimido[1,6-a]pyrimidin-6-one <a href="#">181</a> , pyrimido[1,2-g]purine <a href="#">182</a> , and pyrimido[2,1-e]purin-4-one <a href="#">183</a> .....	116
43. Structure du radical DPPH et produit de réduction DPPH <sub>2</sub> .....	133
44. Structure du radical ABTS <sup>•+</sup> .....	134

## LISTE DES TABLEAUX

1. Caractéristiques physico-chimiques et structurales des diéthyl-6-aryl-2-oxo-pyrimidine-4,5-dicarboxylates <a href="#">136-138</a> .....	77
2. Conditions et caractéristiques physico-chimiques .....	81
3. Caractéristiques structurales en IR.....	82
4. Caractérisation RMN <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) des dérivés de cytosine <a href="#">139-141</a> .....	83
5. Caractérisation RMN <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) des dérivés de l'adénine <a href="#">142-143</a> .....	84
6. Caractérisation RMN <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) des dérivés de guanine <a href="#">144-146</a> .....	85
7. Caractéristiques physico-chimiques et structurales des Pyrazole-3,4-di-carboxylates <a href="#">150-155</a> et Isoxazole-3,4-dicarboxylates <a href="#">156-158</a> .....	89
8. Données spectrale en RMN <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de Pyrazole-3,4-di-carboxylates <a href="#">150-155</a> .....	90
9. Données spectrale en RMN <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) des Isoxazole-3,4-dicarboxylates <a href="#">156-158</a> .....	91
10. Données spectrale en IR et RMN <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de 5,8-dihydroxy-pyrimido[4,5-d]pyridazine <a href="#">159</a> .....	94
11. Données spectrale en RMN <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de pyrimido-pyrimido-pyridazines.....	96
12. Caractéristiques physico-chimiques et données spectrale en IR et MS-ESI des pyrimido-pyridazino-purines <a href="#">162</a> et <a href="#">163</a> .....	97
13. Données spectrale en IR et RMN <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de pyrimido-pyridazino-purines <a href="#">162</a> et <a href="#">163</a> .....	98
14. Caractéristiques physico-chimiques des pyrimido-pyridazino-purines <a href="#">164-166</a> .....	99
15. Données spectrale en IR et RMN <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de pyrimido-pyridazino-purines <a href="#">164-166</a> .....	100
16. Caractéristiques physico-chimiques et structurales des pyrazolo-pyridazines <a href="#">167-170</a> et isoxazolo-pyridazines <a href="#">171-172</a> .....	102
17. Données spectrale en RMN <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) des pyrazolo[3,4-d]pyridazine-4,7-diol <a href="#">167-170</a> .....	103
18. Données spectrale en RMN <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) des isoxazolo[5,4-d]pyridazine-4,7-diols <a href="#">171-172</a> .....	104
19. Caractéristiques physico-chimiques et structurales de pyrrolo[3,4-d]-pyrimidine <a href="#">175</a> .....	106
20. Caractéristiques physico-chimiques et conditions réactionnelles.....	110

21. Données spectrales en RMN <sup>1</sup> H et FT-IR.....	111
22. Conditions réactionnelles et caractéristiques physico-chimiques des produits synthétisés.....	113
23. Données spectrales en RMN <sup>1</sup> H, FT-IR et spectrométrie de masse <a href="#">181</a> .....	114
24. Données spectrales en RMN <sup>1</sup> H, FT-IR et spectrométrie de masse du <a href="#">182</a> .....	115
25. Données spectrales en RMN <sup>1</sup> H, FT-IR et spectrométrie de masse du <a href="#">183</a> .....	115
26. Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition.....	130
27. Evaluation de l'activité antibactérienne des composés de la première série.....	136
28. Evaluation de l'activité antibactérienne des pyrazoles et isoxazoles.....	138
29. Evaluation de l'activité antibactérienne des pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazine.....	140
30. Evaluation de l'activité antibactérienne des composés de la troisième série.....	141
31. L'activité anti-oxydante <i>in vitro</i> de la première série vis-à-vis du DPPH.....	142
32. L'activité anti-oxydante <i>in vitro</i> de la première série vis-à-vis de l'ABTS.....	143
33. L'activité anti-oxydante <i>in vitro</i> de la deuxième série vis-à-vis du DPPH.....	146
34. L'activité anti-oxydante <i>in vitro</i> de la deuxième série vis-à-vis de l'ABTS.....	146
35. L'activité anti-oxydante <i>in vitro</i> des pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines vis-à-vis du DPPH.....	148
<b>36.</b> L'activité anti-oxydante <i>in vitro</i> des pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines vis-à-vis de l'ABTS.....	148
<b>37.</b> L'activité anti-oxydante <i>in vitro</i> de la troisième série vis-à-vis du DPPH.....	150
<b>38.</b> L'activité anti-oxydante <i>in vitro</i> de la troisième série vis-à-vis de l'ABTS.....	150

## Résumé

### « Synthèse de Nouveaux Composés Hétérocycliques à Visée Thérapeutique: Etude de Leur Activités Antibactérienne et Anti-oxydante »

Les motifs hétérocycliques azotés (pyrimidine, purine et pyridazine) sont présents dans de nombreux produits naturels et synthétiques possédant des activités biologiques multiples. Ces composés représentent des cibles stratégiques pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques. L'objectif de notre projet consiste à synthétiser de nouveaux composés hétérocycliques et l'étude de leurs activités anti-oxydante et antibactérienne.

Dans une première partie, la stratégie de synthèse est d'utiliser la réaction multi-composants de Biginelli pour obtenir en une seule étape de nouveaux systèmes hétérocycliques pyrimidines, pyrimido-pyrimidines et pyrimido-purines. Ces dérivés sont utilisés comme précurseurs pour générer différents motifs poly-hétérocycliques comme les pyrimido-pyrimidines, pyrimido-pyridazines et pyridazino-purines.

Dans la deuxième partie, Nous avons étudié les potentiels antioxydants et antibactériens des produits synthétisés. Le pouvoir antioxydant a été réalisé par la méthode de réduction du radical DPPH et ABTS. Ces composés ont montré une activité anti-oxydante. L'estimation de l'effet antibactérien a été déterminé par la technique de confrontation directe en boîte de pétri, sur milieu solide. Les résultats obtenus varient d'une souche à l'autre.

Les structures de tous les composés synthétisés, ont été vérifiées par les différentes méthodes d'analyses IR, RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C et spectrométrie de masse.

**Mots-clés :** Pyrimidine, Purine, Pyridazine, Réaction de Biginelli, Activité antioxydante, Activité antibactérienne.

## ***Abstract***

### ***« Synthesis of New Heterocyclic Compounds for Therapeutic Purposes: Study of their Antibacterial and Antioxidant Activity »***

Nitrogenous heterocyclic motifs (pyrimidine, purine and pyridazine) are present in many natural and synthetic products with multiple biological activities. These compounds represent strategic targets for the development of new therapeutic agents. The objective of our project was to synthesize new heterocyclic compounds and study their antioxidant and antibacterial activities.

In a first part, the synthesis strategy was to use the multi-component Biginelli reaction to obtain in a single step new heterocyclic pyrimidine, pyrimido-pyrimidine and pyrimido-purine systems. These derivatives are used as precursors to generate different poly-heterocyclic units such as pyrimido-pyrimidines, pyrimido-pyridazines and pyridazino-purines.

In the second part, we studied the antioxidant and antibacterial potentials of the synthesized products. The antioxidant potential was realized by the DPPH and ABTS radical reduction method. These compounds showed antioxidant activity. The estimation of the antibacterial effect was determined by the direct confrontation technique in petri dish, on solid medium. The results obtained varied from one strain to another.

The structures of all the synthesized compounds were verified by the different methods of IR,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR and mass spectrometry analysis.

**Keywords:** Pyrimidine, Purine, Pyridazine, Biginelli reaction, Antioxidant activity, Antibacterial activity.

## ملخص

### « تخليق مركبات حلقية غير متجانسة جديدة للأغراض العلاجية: دراسة نشاطها المضاد للبكتيريا ومضادات الأوكسدة»

توجد الأشكال النيتروجينية الحلقية غير المتجانسة (بيريميدين وبيورين وبيريدين) في العديد من المنتجات الطبيعية والاصطناعية ذات الأنشطة البيولوجية المتعددة. تمثل هذه المركبات أهدافاً إستراتيجية لتطوير عوامل علاجية جديدة. كان الهدف من مشروعنا هو تصنيع مركبات حلقية غير متجانسة جديدة ودراسة أنشطتها المضادة للأوكسدة والبكتيريا.

في الجزء الأول، تكمن استراتيجية التخليق في استخدام تفاعل بيجيني متعدد المكونات للحصول في خطوة واحدة على أنظمة بيريميدين جديدة غير متجانسة، بيريميدين، بيريميدين وبيريدين-بيورين. تُستخدم هذه المشتقات كسلائف لإنشاء وحدات متعددة غير متجانسة مثل البيريبيدو-بيريبيدين، البيريبيدو-بيريدين، و البيريدين-بيورين-بيورين.

في الجزء الثاني، قمنا بدراسة القوة المضادة للأوكسدة والبكتيريا للمنتجات المركبة. تم تحقيق إمكانات مضادات الأوكسدة من خلال طريقة الاختزال الجذري DPPH و ABTS. أظهرت هذه المركبات نشاطاً مضاداً للأوكسدة. تم تحديد التأثير المضاد للبكتيريا بواسطة تقنية المواجهة المباشرة في طبق بتري، على وسط صلب. النتائج المتحصل عليها تختلف من سلالة إلى أخرى.

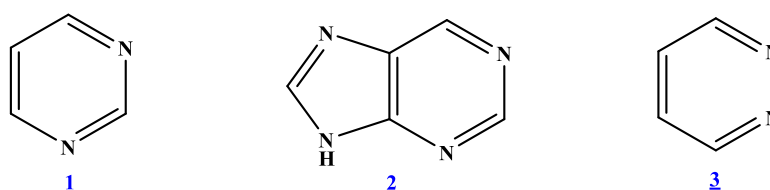
تم التحقق من الخصائص الهيكلية لجميع المركبات المحضرة بطرق تحليل مختلفة كالأشعة تحت الحمراء، الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الكربون و مطياف الكتلة.

**الكلمات المفتاحية:** بيريميدين ، بيورين ، بيريدازين ، تفاعل بيجيني ، نشاط مضاد للأوكسدة ، نشاط مضاد للبكتيريا.

***INTRODUCTION***  
***G*ENERALE**

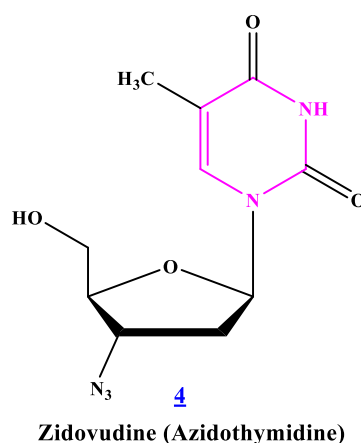
Ces dernières années, une attention particulière a été portée à la synthèse et l'étude biologique des composés hétérocycliques azotés (pyrimidines **1**, purines **2** et pyridazines **3**) (**Fig. 1**) en raison de leurs grande diversités structurales et leurs nombreuses applications en pharmacologie et en biologie moléculaire.

Ces motifs hétérocycliques forment une famille de produits possédant des propriétés biologiques multiples. A titre d'exemples, on peut citer leur action comme inhibiteurs d'enzymes virales et leurs potentiels anticancéreux [**1-3**].



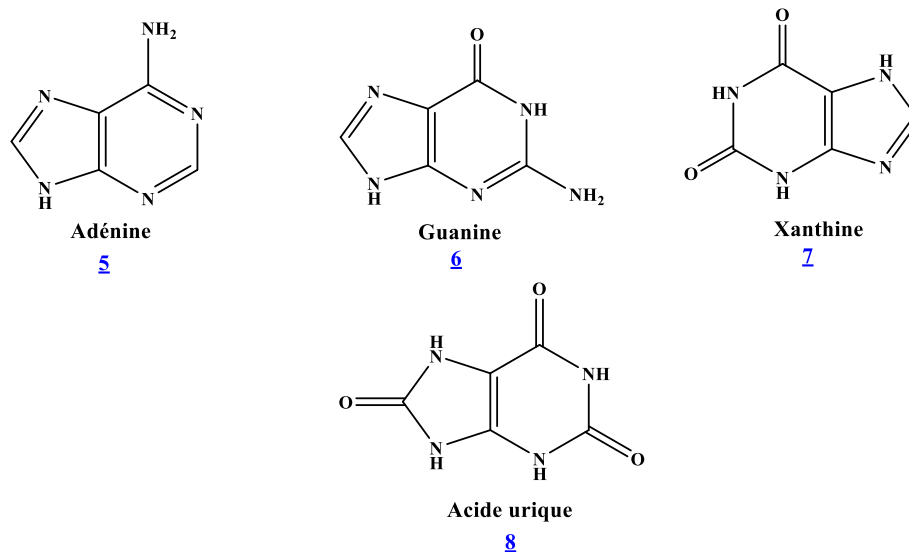
**Figure 1.** Structure de pyrimidine, purine et pyridazine

Synthétisé en 1964 par Jerome P. Horwitz [**4-5**], la zidovudine (ZDV) (azidothymidine : AZT) **4** [**6-7**] (**Fig. 2**) est le premier agent antirétroviral (ARV) utilisés dans le traitement de l'infection virale par le virus d'immunodéficience humaine (VIH-1) [**8**]. Cet analogue nucléosidique de la thymidine occupe une place particulière parmi les dérivés de la famille des hydroypyrimidines (HPDs) [**9**]. C'est le premier dérivé nucléosidique approuvé dans l'inhibition de la transcriptase inverse (INTI) du VIH-1 [**8**], qui est le principal agent du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) [**10-11**]. Ce médicament empêche la multiplication du VIH-1 dans l'organisme [**12**].



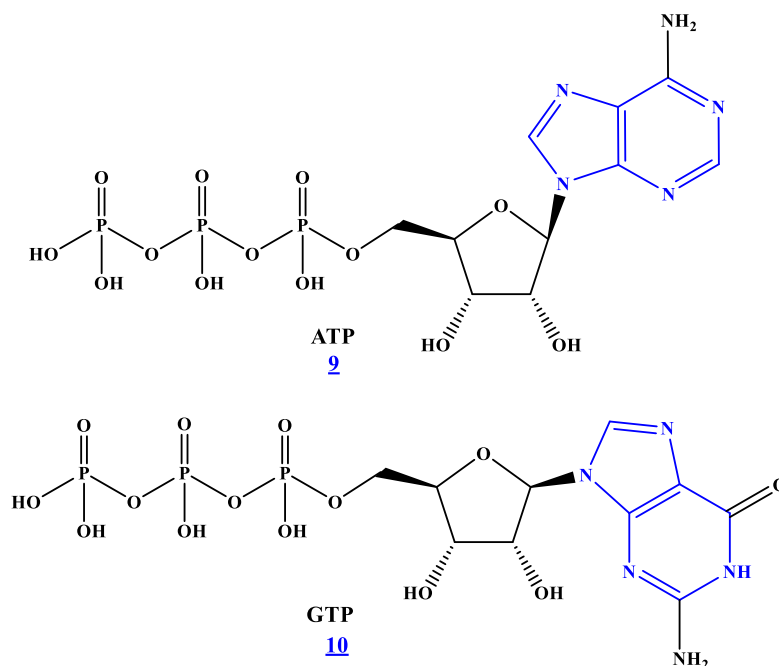
**Figure 2.** Structure de azidothymidine (AZT) ou (zidovudine, ZDV)

Ainsi, les purines, et plus particulièrement l'adénine **5** et la guanine **6** (**Fig. 3**) sont des hétérocycles azotés constitués d'un motif pyrimidine fusionné à un cycle imidazole (Imidazo[4,5-d]pyrimidine).



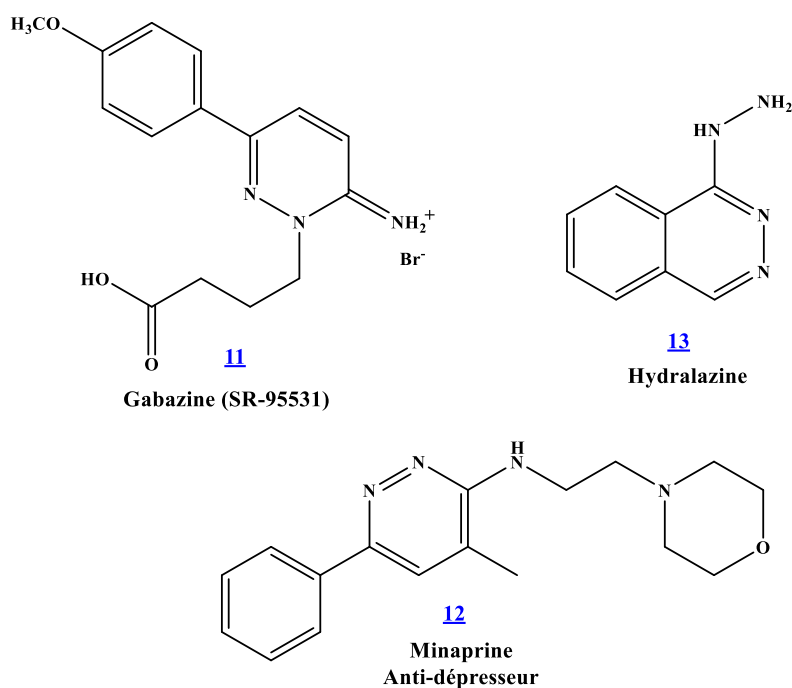
**Figure 3.** Structure des purines (*Imidazo-pyrimidines*)

Ces noyaux se trouvent dans les structures principales de très nombreux biomolécules naturelles telles que l'ADN, l'ARN, l'adénosine triphosphate (ATP) (**Fig. 4**), le guanosine triphosphate (GTP) (**Fig. 4**), l'adénosine monophosphate cyclique (AMP cyclique), le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP) et la S-adénosylméthionine (SAM) ou coenzyme A [13-18].



**Figure 4.** Structure de l'ATP et GTP.

Parmi les motifs hétérocycliques qui ont attiré notre attention, nous pouvons également citer le pyridazine (1,2-diazine) **3** (Fig. 1). Cet isomère de position de la pyrimidine (1,3-diazine) **1** (Fig. 1) se trouve dans la structure de nombreux composés synthétiques présentant des activités biologiques et agrochimiques très diverses [19-20]. A titre d'exemple, nous pouvons citer le Gabazine (SR-95531) **11**, le Minaprine (antidépresseur) **12** et le Hydralazine (antihypertenseur) **13** (Fig. 5).



**Figure 5.** Pyridazines commercialisés.

Ainsi, plusieurs travaux de recherche en chimie médicinale ont montré que les composés poly-hétérocycliques (dérivés fusionnés) à base de pyrimidine, purine et pyridazine présentent diverses propriétés biologiques et certains d'entre eux sont utilisés comme agents antiviraux, anticancéreux, anti-inflammatoires, antifongiques et antibactériens [21-22]. Nous pouvons citer les pyrimido-pyridazine [23] les pyrimido-purines [24] les pyridazino-purines, les pyrazolo-pyridazines [25] et les isoxazolo-pyridazines [26].

Dans la recherche de nouveaux composés hétérocycliques et poly-hétérocycliques d'intérêt biologique, nous proposons dans ce travail la synthèse et l'étude de l'activité biologique des dérivés hétérocycliques à base de pyrimidine, purine et pyridazine; avec un double objectif: l'élaboration de nouveaux composés hétérocycliques et poly-hétérocycliques azotés d'intérêt biologique par développement de nouvelles méthodes

de synthèse, ainsi que l'évaluation et l'amélioration de leurs profils biologiques en tant qu'agents antibactériens et antioxydants.

Ce mémoire se divisera donc en quatre chapitres distincts.

Dans le premier chapitre, nous présenterons une mise au point bibliographique sur les propriétés biologiques et les applications pharmacologiques des motifs hétérocycliques pyrimidines, purines et pyridazines, ainsi que leurs analogues fusionnés comme les pyrimido-pyrimidines, les pyrimido-purines, les pyrimido-pyridazines et les pyridazino-purines.

Le deuxième chapitre sera consacré à la synthèse, la caractérisation structurale et physico-chimiques des composés hétérocycliques synthétisés (pyrimidine, purine et pyridazine) et leurs dérivés fusionnés (pyrimido-pyrimidine, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines et pyridazino-purines). Après un aperçu point bibliographique sur les différentes voies de synthèse existantes, l'ensemble des résultats obtenus, les discussions qui en découlent seront présentées, ainsi que les stratégies que nous avons adoptées.

Dans le troisième chapitre nous exposerons les résultats des études de l'activité antibactérienne et anti-oxydante de nos dérivés synthétisés.

Les protocoles expérimentaux et les caractéristiques structurales (IR, RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  et spectrométrie de masse et analyse élémentaire) des produits obtenus sont rassemblés dans le quatrième chapitre.

## Stratégies de Synthèse

Les stratégies de synthèse envisagées pour atteindre les motifs hétérocycliques étudiés sont présentées de façons synoptiques dans les trois schémas suivants. Une première stratégie nous a permis de préparer les pyrimidines, les pyrimido-pyrimidines et les pyrimido-purines par modification de la réaction multicomposant de Biginielli (condensation d'un aldéhyde, oxalacétate de sodium et une nucléophile azotée (urée, sulfamide, thiourée, amine primaire, arylamine, hydrazine, phénylhydrazine, hydroxylamine, cytosine, adénine et guanine).

La deuxième stratégie consistera à traiter les produits obtenus par différents agents nucléophiles (hydrazine, phénylhydrazine et amines).

### Schéma synoptique 1

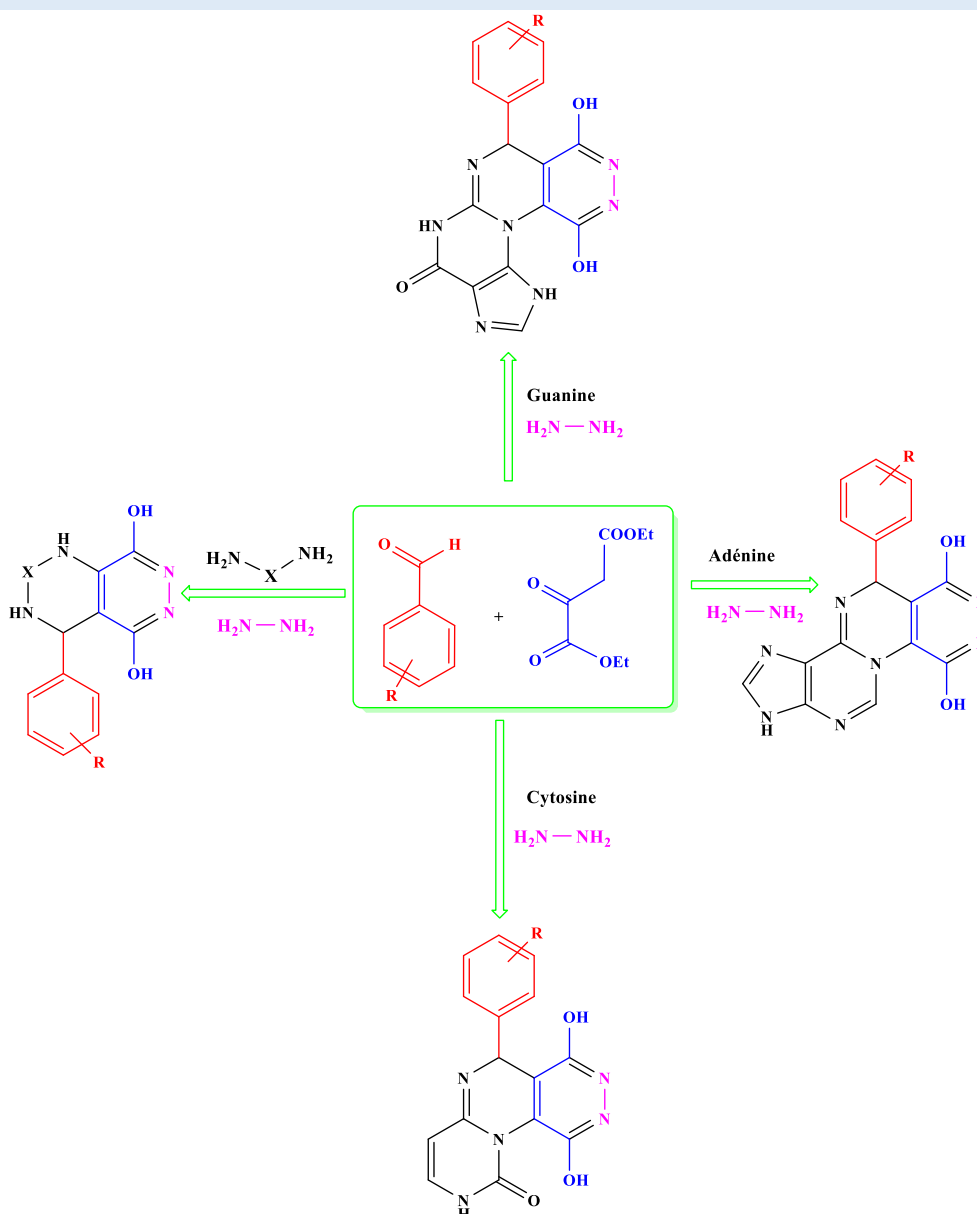


Schéma synoptique 2

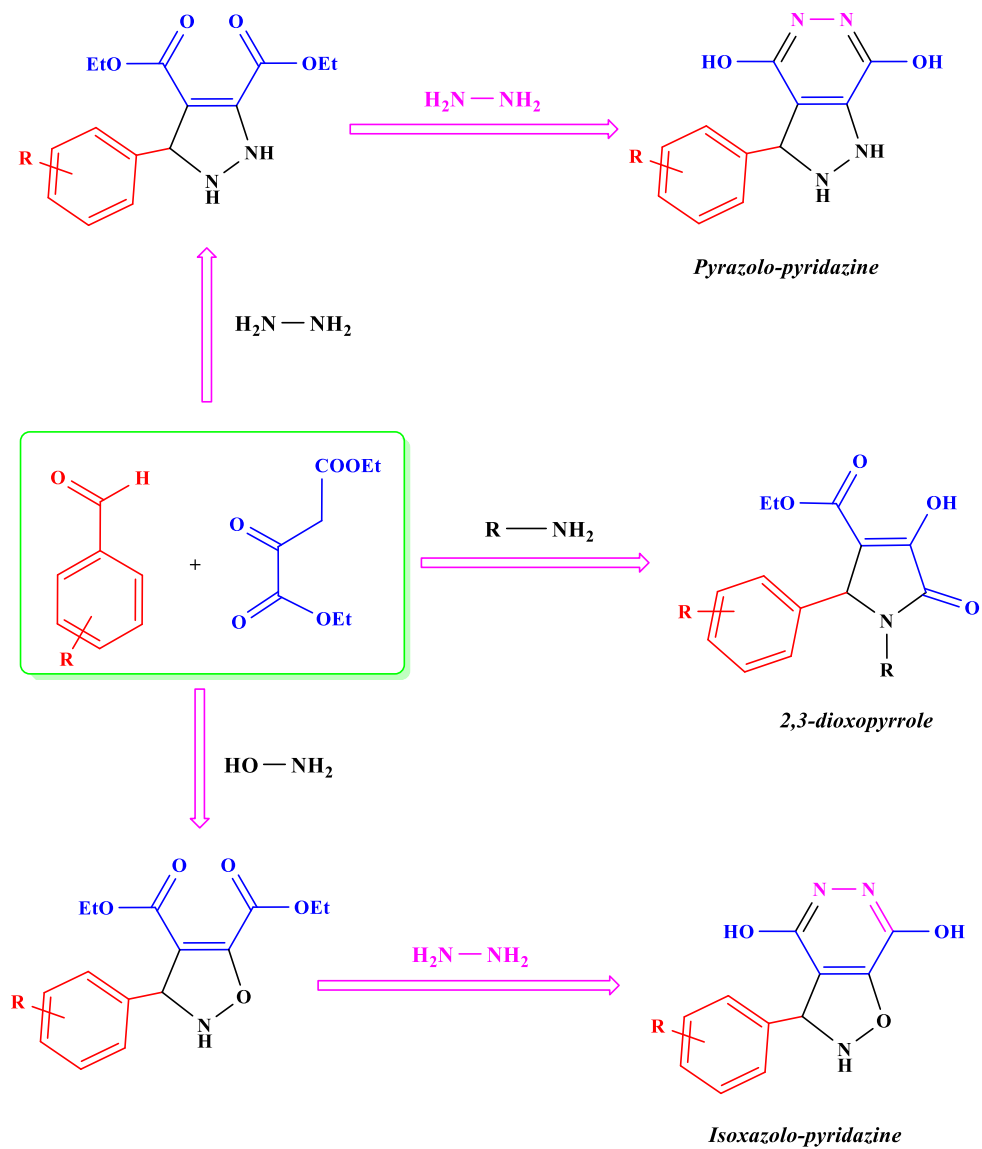
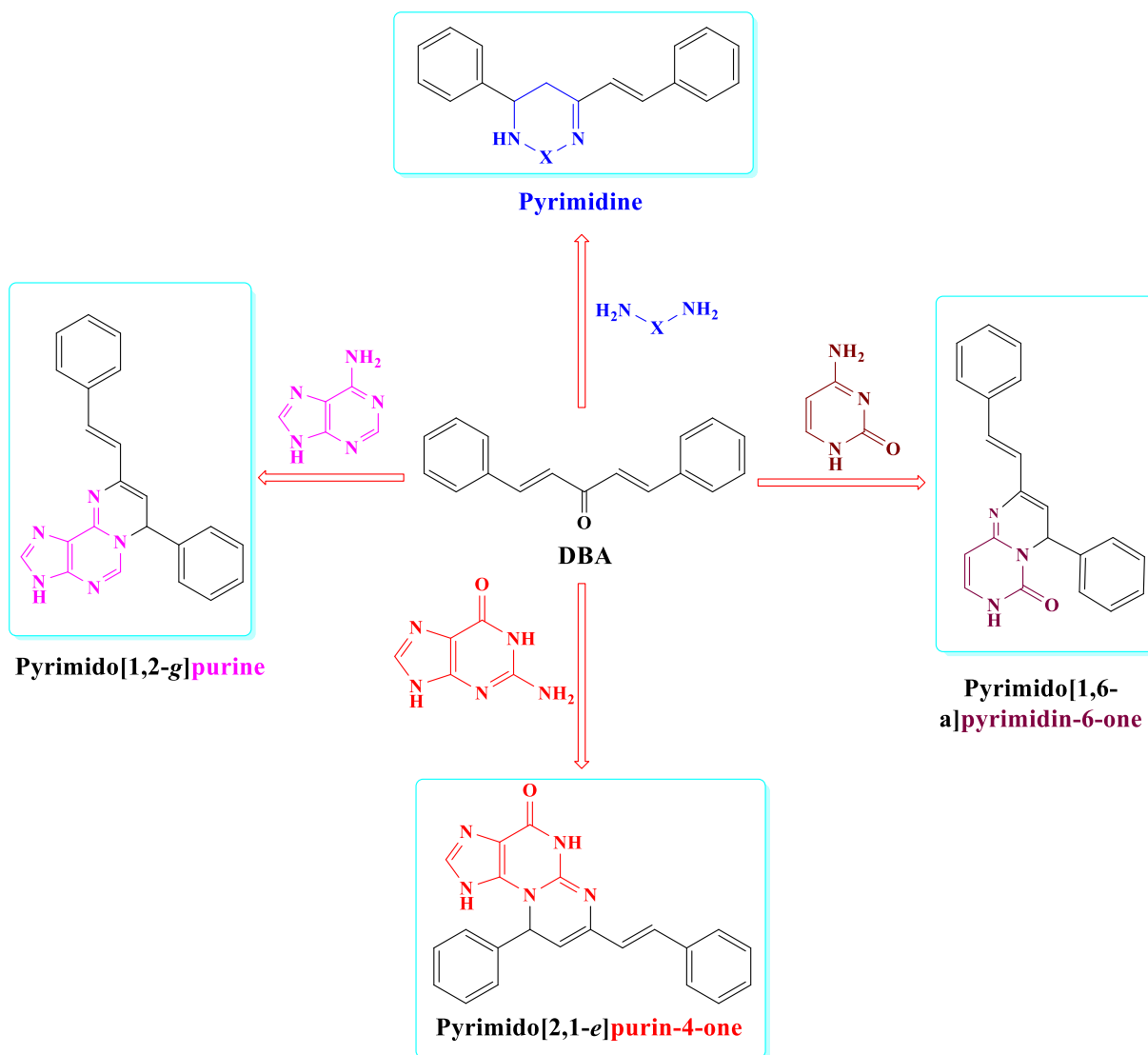


Schéma synoptique 3



## Références bibliographiques

- [1]. Nadar S., Khan T. “Pyrimidine: An elite heterocyclic leitmotif in drug discovery synthesis and biological activity”. *Chem. Biol. Drug. Des.*, **2021** (a head of print). Doi: [10.1111/cbdd.14001](https://doi.org/10.1111/cbdd.14001). PMID: [34914188](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34914188/).
- [2]. He F, Shi J., Wang Y., Wang S., Chen J., Gan X., Song B., Hu D. “Synthesis, Antiviral Activity, and Mechanisms of Purine Nucleoside Derivatives Containing a Sulfonamide Moiety”. *J. Agric. Food. Chem.*, **2019**, 67(31), pp. 8459-8467. Doi: [10.1021/acs.jafc.9b02681](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b02681). PMID: [31339701](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31339701/).
- [3]. He Z.X., Gong Y.P., Zhang X., Ma L.Y., Zhao W. “Pyridazine as a privileged structure: An updated review on anticancer activity of pyridazine containing bioactive molecules”. *Eur. J. Med. Chem.*, **2021**, 209, 112946. Doi: [10.1016/j.ejmech.2020.112946](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112946). PMID: [33129590](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33129590/).
- [4]. Horwitz, J. P.; Chua, J.; Noel, M. “Nucleosides. V. The Monomesylates of 1-(2'-Deoxy- $\beta$ -D-lyxofuranosyl)thymine”. *J. Org. Chem.* **1964**, 29, pp. 2076-2078. <https://doi.org/10.1021/jo01030a546>.
- [5]. Aggarwal S.K., Gogu S.R., Rangan S.R., Agrawal K.C. “Synthesis and biological evaluation of prodrugs of zidovudine”. *J Med Chem.*, **1990**, 33(5), pp. 1505-1510. Doi: [10.1021/jm00167a034](https://doi.org/10.1021/jm00167a034). PMID: [2329572](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2329572/).
- [6]. Fischl M.A., Richman D.D., Grieco M.H., Gottlieb M.S., Volberding P.A., Laskin O.L., Leedom J.M., Groopman J.E., Mildvan D., Schooley R.T. “The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial”. *N. Engl. J. Med.*, **1987**, 317(4), pp. 185-191. DOI: [10.1056/NEJM198707233170401](https://doi.org/10.1056/NEJM198707233170401), PMID: [3299089](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3299089/).
- [7]. Paul A Volberding, Stephen W Lagakos, Matthew A Koch, *et al.* «Zidovudine in asymptomatic human immunodeficiency virus infection: a controlled trial in persons with fewer than 500 CD4-positive cells per cubic millimeter». *N. Engl. J. Med.*, **1990**; 322, pp. 941-949. DOI: [10.1056/NEJM199004053221401](https://doi.org/10.1056/NEJM199004053221401).
- [8]. Barré-Sinoussi, F., Chermann, J. C., Rey, F., Nugeyre, M.T., Chamaret, S., Gruest, J., Dauguet, C., Axler-Blin, C., Brun-Vezinet, F., Rouzioux, C., Rozenbaum, W.; Montagnier, L. “Isolation of a Tlymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS)”, *Science*, **1983**, 220(4599), pp. 868-871. Doi: [10.1126/science.6189183](https://doi.org/10.1126/science.6189183). PMID: [6189183](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6189183/).

- [9]. Geraghty R.J., Aliota M.T., Bonnac L.F. “*Broad-Spectrum Antiviral Strategies and Nucleoside Analogues*”. *Viruses*, **2021**, *13*(4), p. 667. Doi: [10.3390/v13040667](https://doi.org/10.3390/v13040667). PMID: [33924302](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33924302/); PMCID: [PMC8069527](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC8069527/).
- [10]. Bale M.J., Kearney M.F. Review: “*HIV-1 phylogeny during suppressive antiretroviral therapy*”. *Curr. Opin. HIV. AIDS*. **2019**, *14*(3), pp. 188-193. Doi: [10.1097/COH.0000000000000535](https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000535). PMID: [30882485](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30882485/); PMCID: [PMC6482946](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC6482946/).
- [11]. Gallo R.C., Montagnier L. “*AIDS in 1988*”. *Sci. Am.* **1988**, *259*(4), pp. 41-48. PMID: [3072672](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3072672/).
- [12]. Yarchoan R., Klecker R.W., Weinhold K.J., Markham P.D., Lyerly H.K., Durack D.T., Gelmann E., Lehrman S.N., Blum R.M., Barry D.W., et al. “*Administration of 3'-azido-3'-deoxythymidine, an inhibitor of HTLV-III/LAV replication, to patients with AIDS or AIDS-related complex*”. *Lancet*, **1986**, *1*(8481), pp. 575-580. Doi: [10.1016/s0140-6736\(86\)92808-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(86)92808-4). PMID: [2869302](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2869302/).
- [13]. Bryant D.E., Marriott K.E., Macgregor S.A., Kilner C, Pasek M.A., Kee T.P. “*On the prebiotic potential of reduced oxidation state phosphorus: the H-phosphinate-pyruvate system*”. *Chem. Commun (Camb)*., **2010**, *46*(21), pp. 3726-3728. Doi: [10.1039/c002689a](https://doi.org/10.1039/c002689a). PMID: [20386792](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20386792/).
- [14]. Sepuri N.B., Schülke N., Pain D. “*GTP hydrolysis is essential for protein import into the mitochondrial matrix*”. *J. Biol. Chem.*, **1998**, *273*(3), pp. 1420-1424. Doi: [10.1074/jbc.273.3.1420](https://doi.org/10.1074/jbc.273.3.1420). PMID: [9430677](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9430677/).
- [15]. Lipski S. “*Rola cyklicznego kwasu adenozymonofosforowego (cAMP) w żywym ustroju [Role of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) in living organisms]*”. *Wiad Lek.*, **1972**, *25*(1), pp. 39-43. PMID: [4334206](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4334206/).
- [16]. Spaans S.K., Weusthuis R.A., Van der Oost J, Kengen S.W. “*NADPH-generating systems in bacteria and archaea*”. *Front. Microbiol.*, **2015**, *6*, pp. 742. Doi: [10.3389/fmicb.2015.00742](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00742). PMID: [26284036](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26284036/); PMCID: [PMC4518329](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC4518329/).
- [17]. Cantoni GL. “*S-Adenosylmethionine; a new intermediate formed enzymatically from L-methionine and adenosinetriphosphate*”. *J. Biol. Chem.*, **1953**, *204*(1), pp. 403-416. PMID: [13084611](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13084611/).
- [18]. Lipmann F., Kaplan N.O., et al. “*Coenzyme for acetylation, a pantothenic acid derivative*”. *J. Biol. Chem.*, **1947**, *167*(3), p. 869. PMID: [20287921](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20287921/).
- [19]. Jaballah M.Y., Serya R.T., Abouzid K. “*Pyridazine Based Scaffolds as Privileged Structures in anti-Cancer Therapy*”. *Drug. Res (Stuttg)*. **2017**; *67*(3), pp. 138-148. Doi: [10.1055/s-0042-119992](https://doi.org/10.1055/s-0042-119992). PMID: [28073115](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28073115/).

- [20]. Buysse AM, Yap MC, Hunter R, Babcock J, Huang X. “*Synthesis and biological activity of pyridazine amides, hydrazones and hydrazides*”. *Pest. Manag. Sci.*, **2017**, 73(4), pp. 782-795. Doi: [10.1002/ps.4465](https://doi.org/10.1002/ps.4465). PMID: [27766752](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27766752/).
- [21]. Cruz J.S., de Aguiar A.P. “*Overview of the Biological Activities of Pyrimido[4,5-d]pyrimidines*”. *Mini. Rev. Med. Chem.*, **2021**, 21(15), pp. 2138-2168. Doi: [10.2174/1389557521666210219160115](https://doi.org/10.2174/1389557521666210219160115). PMID : [33605856](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33605856/).
- [22]. Sabat M., Van-Rens J.C., Todd A. Brugel., Jennifer Maier., Matthew J. Laufersweiler.,Adam Golebiowski., Biswanath De., Vijayasurian Easwaran., Lily C. Hsieh., Jeff Rosegen., Steve Berberich., Eric Suchanek., Michael J. Janusz. “*The development of novel 1,2-dihydro-pyrimido[4,5-c]pyridazine based inhibitors of lymphocyte specific kinase (LCK)*”. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16(16), pp. 4257-4261. Doi: [10.1016/j.bmcl.2006.05.072](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.05.072).
- [23]. Rozada A.M.F., Rodrigues-Vendramini F.A.V., Gonçalves D.S., Rosa F.A., Basso E.A., Seixas F.A.V., Kioshima É.S., Gauze G.F. “*Synthesis and antifungal activity of new hybrids pyrimido[4,5-d]pyridazinone-N-acylhydrazones*”. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2020**, 30(14), pp. 127244. Doi: [10.1016/j.bmcl.2020.127244](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127244). PMID: [32527546](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32527546/).
- [24]. Koch P., Akkari R., Brunschweiger A., Borrmann T., Schlenk M., Küppers P., Köse M., Radjainia H., Hockemeyer J., Drabczyńska A., Kieć-Kononowicz K., Müller C.E. “*1,3-Dialkyl-substituted tetrahydropyrimido[1,2-f]purine-2,4-diones as multiple target drugs for the potential treatment of neurodegenerative diseases*”. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21(23), pp. 7435-7452. doi: [10.1016/j.bmc.2013.09.044](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.09.044). PMID: [24139167](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24139167/).
- [25]. Mohamed M.S., Abdelhamid A.O., Almutairi F.M., Ali A.G., Bishr M.K. “*Induction of apoptosis by pyrazolo[3,4-d]pyridazine derivative in lung cancer cells via disruption of Bcl-2/Bax expression balance*”. *Bioorg. Med. Chem.*, **2018**, 26(3), pp. 623-629. Doi: [10.1016/j.bmc.2017.12.026](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.12.026). PMID : [29290491](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29290491/).
- [26]. Özadalı K., Özkanlı F., Jain S., Rao P.P., Velázquez-Martínez C.A. “*Synthesis and biological evaluation of isoxazolo[4,5-d]pyridazin-4-(5H)-one analogues as potent anti-inflammatory agents*”. *Bioorg. Med. Chem.*, **2012**, 20(9), pp. 2912-2922. Doi: [10.1016/j.bmc.2012.03.021](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.03.021). PMID: [22475926](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22475926/).

## *CHAPITRE I*

*RAPPEL SUR LES INTERETS BIOLOGIQUES  
DES PYRIMIDINES, PYRIDAZINES, PURINES  
ET LEURS DERIVES FUSIONNES (PYRIMIDO-  
PYRIMIDINES, PYRIMIDO-PURINES ET  
PYRIDAZINO-PURINES)*

## Introduction

Les composés hétérocycliques azotés notamment les pyrimidines, les pyridazines et les purines possèdent des activités pharmacologiques multiples. Ces noyaux hétérocycliques ont suscité beaucoup d'intérêts dans la recherche de nouveaux dérivés hétérocycliques et poly-hétérocycliques utilisés dans les domaines biologique, médical et agronomie [1-3]. Elles sont principalement considérées comme des inhibiteurs nucléosidiques et non-nucléosidiques des enzymes du virus d'immuno-déficience humaine (VIH-1) responsable du syndrome d'immuno-déficience acquise (SIDA) [4-6]. Parmi les vertus thérapeutiques attribuées aux pyrimidines, purines et pyridazines on peut citer leurs activités potentielles comme agents anticancéreux, anti-inflammatoires et antibactériens [7-9].

Dans ce chapitre, nous présenterons une mise au point bibliographique sur les intérêts biologiques et pharmacologiques de quelques hétérocycles azotés. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux pyrimidines, purines et pyridazines ainsi que leurs analogues fusionnés pyrimido-pyrimidines, pyrimido-pyridazines, pyrimido-purines et pyridazino-purines.

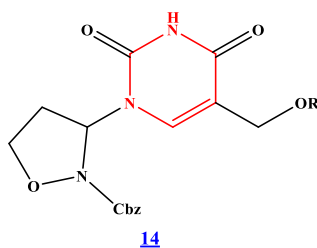
## I. Propriétés biologique et thérapeutique des pyrimidines, pyridazines et purines.

### I.1. Intérêts biologiques et thérapeutiques des Pyrimidines

#### I.1.1. Activités antivirales

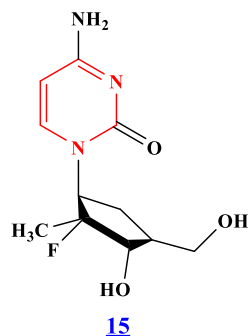
Depuis la découverte du VIH-1 en 1983 [10], la synthèse de nouveaux composés antiviraux reste un défi majeur. Dans ce cadre, la littérature a montré qu'un nombre de pyrimidine analogues, ont été utilisé comme inhibiteurs de la transcriptase inverse (TI) de VIH-1[11]. Cette enzyme s'avère une cible importante dans le traitement du SIDA. C'est la première enzyme du cycle de multiplication du VIH-1. Son rôle est de convertir (rétrotranscription) l'ARN viral en ADN viral [12].

Les pyrimidine-2,4-diones **14** (Fig. 6) ont été décrits par Romeo. R et *al.* [13] comme des inhibiteurs potentiels de la transcriptase inverse du VIH-1.



**Figure 6.** Pyrimidines comme inhibiteurs de la TI du VIH-1

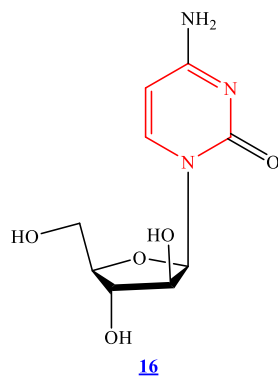
En 2005, Clark, J. L. et *al.* [14-15] ont évalué l'activité antivirale d'une famille de nucléosides modifiés. Le composé 4-amino-1-((1*S*,2*R*,3*R*,4*S*)-2-fluoro-3-hydroxy-4-(hydroxyméthyl)-2-méthylcyclopentyl)pyrimidin-2(1*H*)-one **15** (Fig. 7) dérivé nucléosidique de la cytosine a montré une activité antivirale très intéressante contre le virus de l'hépatite C (VHC).



**Figure 7.** Nucléoside modifié à base de pyrimidine comme anti-VHC

### I.1.2. Pyrimidines comme agents anticancéreux

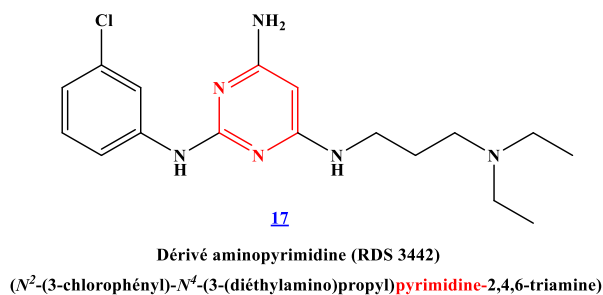
La cytarabine **16** (Fig. 8) a été synthétisée par Walwick, W Roberts et C. Dekker [16]. C'est un analogue nucléosidique de la cytosine (également appelée cytosine arabinoside ou Ara-C) indiqué dans le traitement des cancers hématologiques en inhibant la synthèse de l'ADN [17].



Cytarabine (Cytosine arabinoside)  
(4-amino--3,4-dihydroxy-5-(hydroxyméthyl)furan-2-yl)pyrimidin-2(1*H*)-one)

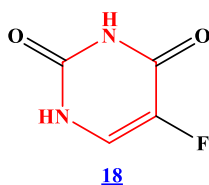
**Figure 8.** Structure de cytarabine (pyrimidine nucléosidique)

Récemment, Taglieri, L. et *al.* [18] avaient synthétisé et évalué l'activité anticancéreuse d'une nouvelle série d'amino-pyrimidines. Le dérivé *N*<sup>2</sup>-(3-chlorophényl)-*N*<sup>4</sup>-(3-(diéthylamino)propyl)pyrimidine-2,4,6-triamine **17** (Fig. 9) a présenté une activité inhibitrice très intéressante contre trois types de cancer (Le glioblastome multiforme, cancer du sein triple négatif et l'adénocarcinome du côlon).



**Figure 9.** Structure d'amino-pyrimidines comme agent anti-cancéreux

Le fluorouracile **18** (Fig. 10) ou, selon la DCI, fluorouracil, ou encore 5-fluorouracile (abréviation : 5-FU), est un anti-métabolite dérivé de la pyrimidine utilisé dans le traitement de certains cancers [19]. Il fait partie de la liste des médicaments essentiels de l'organisation mondiale de la santé (Liste mise à jour en avril 2013) [20].

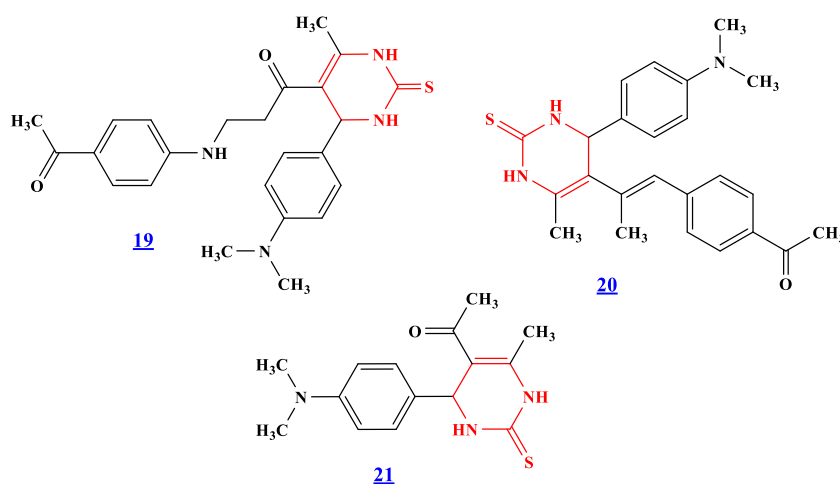


**Figure 10.** Structure chimique du fluorouracile (5-FU)

### I.1.3. Activités anti-inflammatoires

Actuellement, une considérable attention a été accordée aux dérivés pyrimidiniques et plusieurs dérivés ont été introduits dans les essais cliniques comme des agents anti-inflammatoires potentiels [21-22].

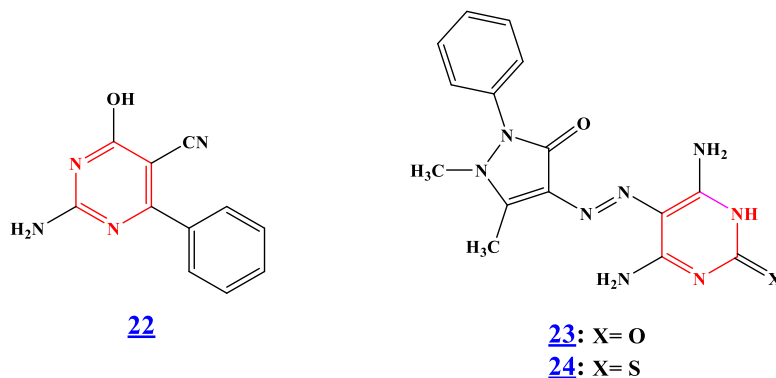
Récemment, Ahmed, N. M et *al.* [23] avaient montré que les dérivés pyrimidine-2-thiones **19**, **20**, et **21** (Fig. 11) sont aussi des agents anti-inflammatoire non stéroïdiens en inhibant les cyclooxygénases COX-1 et COX-2.



**Figure 11.** Structures des pyrimidine-2-thiones comme inhibiteurs de COX-1 et COX-2

### I.1.4. Propriétés antibactériennes

Deshmukh et *al.* [24] ont préparé et évalué l'activité antibactérienne *in vitro* d'une nouvelle série de 2-amino-5-cyano-6-hydroxy-4-aryl pyrimidine. Le dérivé cyanopyrimidine **22** (Fig. 12) a montré une bonne activité bactéricide et fongicide contre plusieurs types de bactéries et champignons.



**Figure 12.** Structures de pyrimidines antibactériennes

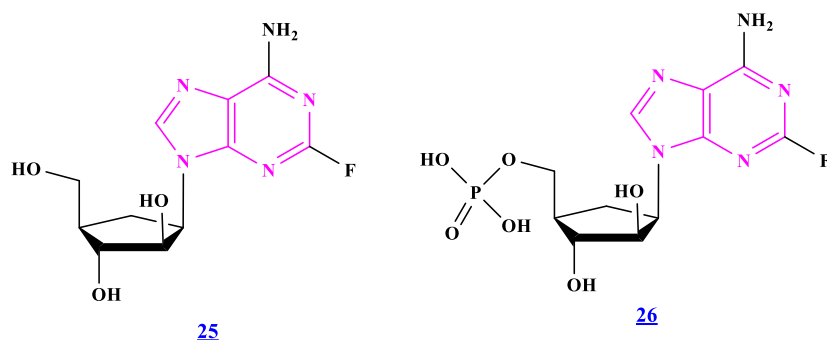
En 2017, Fadda et *al.* [25] ont mis au point une méthode de synthèse de nouveaux composés diamino-pyrimidines avec un motif imidazole comme substituant et ont étudié leurs activités antibactérienne. Les deux dérivés **23** et **24** (Fig. 12) ont présenté une bonne activité antibactérienne contre *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* et *E. coli* comparable à celle de l'ampicillin utilisé comme référence.

## I.2. Intérêts biologique et thérapeutique des purines.

Les purines, des molécules hétérocycliques fusionnées (Imidazo[4,5-d]pyrimidine) sont très étudiés en raison de leurs diverses propriétés pharmacologiques remarquables [26]. Ces dérivés sont très répandus dans la nature et ont montré de multiples applications thérapeutiques en chimie médicinale et en biologie moléculaire comme anticancéreux, antiviraux et anti-inflammatoires. L'intérêt croissant pour cette famille de molécules résulte aussi de leurs fortes activités comme agents, antimicrobiens, antidépresseurs et inhibiteurs d'enzymes [27].

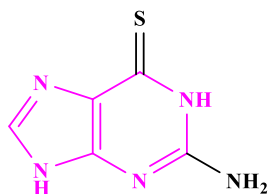
### I.2.1. Activités anti-cancéreuses.

Synthétisé en 1960 par B. R. Baker et *al.* [28] et commercialisé sous le nom de *Fludara*®, la fludarabine (ou 9 $\beta$ -D-arabinofuranosyl-2-fluoroadénine) **25** (Fig. 13) est un analogue nucléosidique de l'adénine utilisé sous sa forme phosphorylée dans le traitement de la leucémie lymphoïde chronique [29].



**Figure 13.** Structures de Fludarabine et Phosphate de Fludarabine

Le dérivés 6-thioguanine **27** (la tioguanine selon la dénomination commune internationale (DCI)) (**Fig. 14**) appartenant à la famille des mercaptopurine; est un analogue non-nucleosidique de la guanine prescrit comme anti-métabolite dans le traitement de la leucémie aiguë lymphoblastique [30-31].

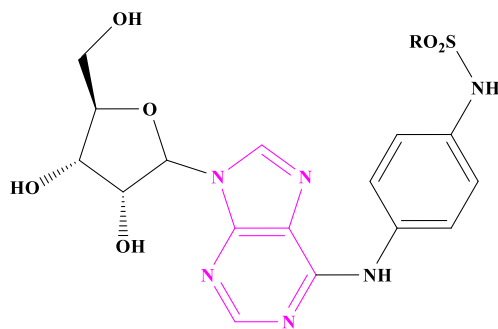


**27**

**Figure 14.** Structure de tioguanine

### I.2.2. Propriétés antivirales

Plusieurs dérivés de purine ont fait l'objet de tests antiviraux. Parmi les nombreux composés étudiés, nous pouvons citer le purine-sulfonamide **28** (**Fig. 15**) préparé par He. Fangcheng et *al.* [32]. Cette molécules a présenté des activités antivirales remarquables contre trois phytovirus : le PVY (virus Y de la pomme de terre), le CMV (virus de la mosaïque du concombre) et le TMV (virus de la mosaïque du tabac).

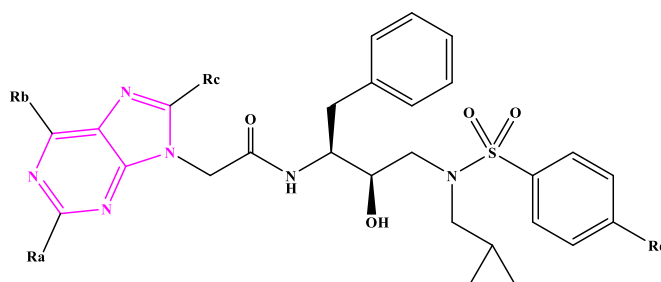


**28:** R= 2-Cl-Ph

**Figure 15.** Purine-sulfonamides comme agents antiviraux.

La protéase du VIH-1 est la troisième enzyme du cycle virale du virus. Son rôle primordial dans l'assemblage et la maturation du virus est de réaliser le clivage protéolytique de différents précurseurs peptidiques [33]. Ce qui permet la synthèse des protéines structurales et fonctionnelles nécessaire dans la formation de nouveaux virus [34].

Récemment, trois purine-acétamides substitués par 4-méthoxyphenylsulfonamide **29** (Fig. 16) ont fait preuve d'une puissante activité inhibitrice *in vitro* de la protéase du VIH-1 [35].

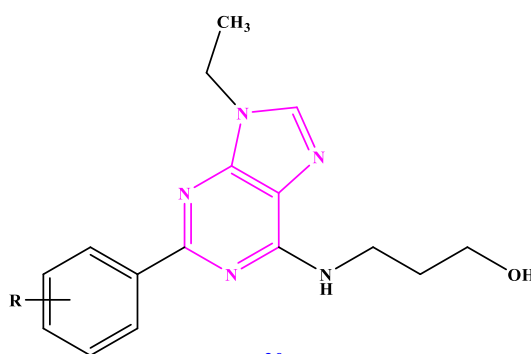


29

**Figure 16.** Purines comme inhibiteurs non-nucléosidiques de la protéase de VIH-1.

### I.2.3. Propriétés anti-tumorales

Les dérivés 3-(9-ethyl-2-phenyl-9H-purin-6-ylamino)propan-1-ols **30** (Fig. 17) ont été synthétisés par Ningegowda R et *al.* [36]. Ces dérivés puriques ont fait preuve d'une puissante activité anti-tumorale *in vitro* contre les tumeurs cancéreuse cérébrale et les cellules osseuses tumorales de l'ostéosarcome.



30

3-(9-ethyl-2-phenyl-9H-purin-6-ylamino)propan-1-ol

**Figure 17.** Pyrrolo-benzothiadiazépines inhibiteurs de TI.

### I.2.4. Comme agents antituberculeux.

Selon le rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) sorti en 2015, la tuberculose (maladie infectieuse causée par *mycobacterium tuberculosis*) arrive en tête des causes de mortalité d'origine infectieuse à l'échelle mondiale [37]. Des études

biologiques ont montré que certains dérivés puriques agissent comme agents anti-*mycobacterium tuberculosis* (antituberculeux). Parmi eux, les trois dérivés de l'adénine **31**, **32** et l'agélasine F **33** (Fig. 18) [38-42].

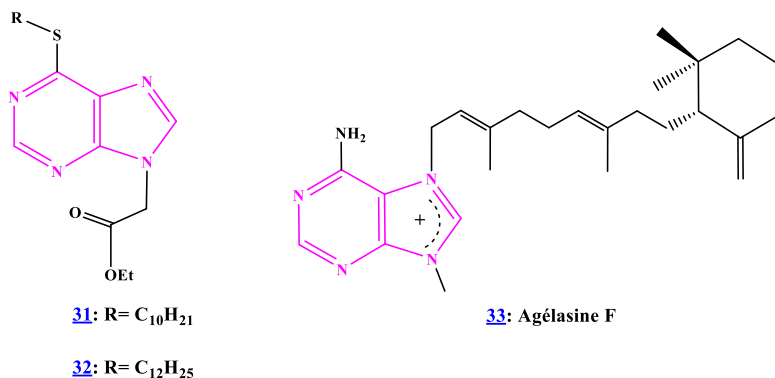


Figure 18. Purines antituberculeux.

### I.2.5. Activités antiparasitaires

La malaria (ou paludisme) est une infection parasitaire responsable d'environ 409000 morts en 2019 sur 229 millions de personnes malades [43]. Plusieurs dérivés puriques ont été étudiés pour leurs activités anti-malariques. C'est le cas des purines oximes **34** et les 2-amino-6-hydrazinyl-9H-purines **35** et **36** (Fig. 19) qui sont considérés comme des agents anti-malariques puissants [44].

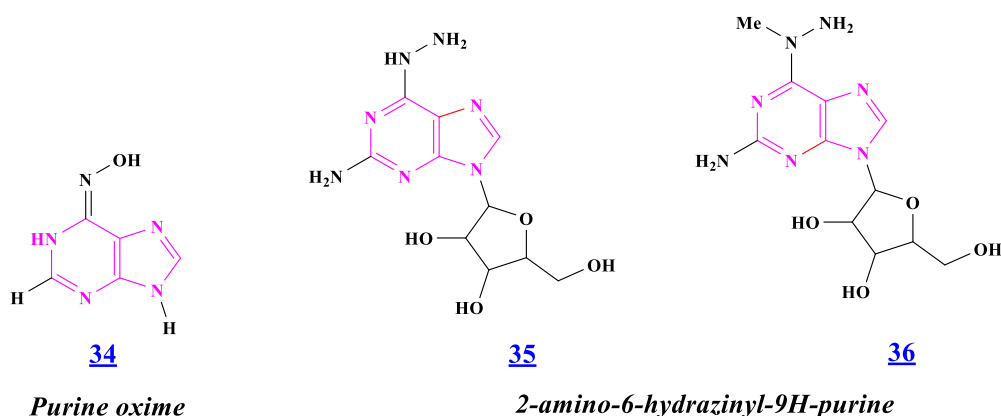


Figure 19. Structure des purines anti-malariques

### I.3. Propriétés biologiques et pharmacologiques des pyridazines.

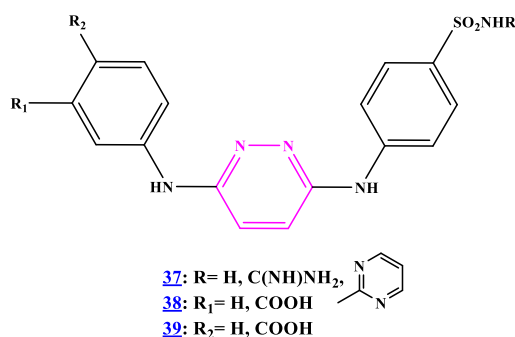
Les pyridazines, forment une famille de composés hétérocycliques, présentant des propriétés biologiques et pharmacologiques multiples [45-46]. Ils ont suscité beaucoup d'intérêts dans la recherche de nouveaux agents antibactériens, antifongiques, hypoglycémiques et anti-tumorales. De même, ils ont montré des propriétés antivirales et anticancéreuses intéressantes, conduisant les chercheurs à valoriser des recherches

dans ce domaine.

Nous présentons dans cette mise au point bibliographique les propriétés pharmacologiques des pyridazines et leurs dérivés.

### I.3.1. Activités anti-cancéreuses.

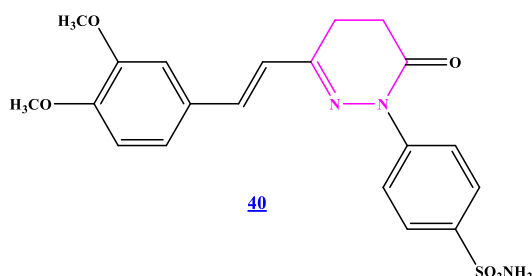
De nombreuses études biologiques ont montré le pouvoir anti-cancéreux des dérivés pyridaziniques [47]. Elmeligie S et *al.* [48] ont montré que les  $N^3$ ,  $N^6$ -diphénylpyridazine-3,6-diamine **37**, **38** et **39** (Fig. 20) présentent des propriétés anticancéreuses *in vitro* et *in vivo* très intéressantes sur les lignées cellulaires HCT-11 (cancer du côlon) et MCF-7 (cancer du sein).



**Figure 20.** Pyridazine anti-cancéreux

### I.3.2. Activités anti-inflammatoires.

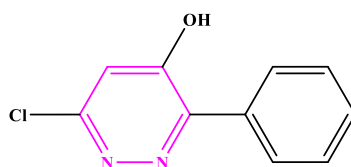
De nombreux dérivés pyridaziniques présentent une puissante activité anti-inflammatoire. Ahmed EM et *al.* [49] ont évalué l'activité anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo* des 4-styryl- $N^2$ -benzenesulfonamide-pyridazin-3-ones. Ils ont montré que le dérivé **40** (Fig. 21) présente une activité anti-inflammatoires en agissant comme inhibiteur potentiel de COX-1 et COX-2.



**Figure 21.** Pyridazine-3-ones comme inhibiteurs de COX-1 et COX-2

### I.3.3. Pyridazines comme agents herbicides.

Le 3-Chloro-5-hydroxy-6-phénylpyridazine **41** (Fig. 22) est un herbicide commercialisé sous le nom Pyridafol [50]. Ce dérivé est parmi le plus puissant herbicide utilisé dans le domaine agrochimique.



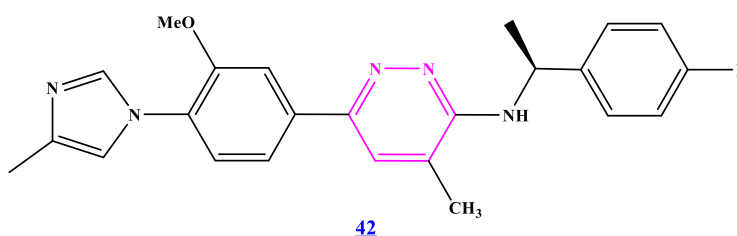
6-chloro-3-phenylpyridazin-4-ol

**41**

Figure 22. Structure de Pyridafol.

### I.3.4. Modulateurs de gamma-sécrétase.

Le gamma-sécrétase est une enzyme essentielle de la maladie d'Alzheimer [51]. La synthèse de nouveaux modulateurs de la gamma-sécrétase a fait l'objet de nombreuses études. Parmi les dérivés pyridaziniques actifs on peut citer le *N*-((S)-1-(4-fluorophenyl)ethyl)-6-(3-methoxy-4-(4-méthyl-1*H*-imidazol-1-yl)phényl)-4-méthylpyridazin-3-amine **42** (Fig. 23) [52].

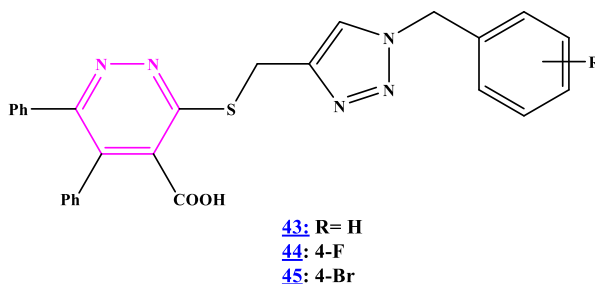


**42**

Figure 23. Structures d'un pyridazine modulateur de  $\gamma$ -sécrétase.

### I.3.5. Pyridazines comme inhibiteurs de $\alpha$ -glycosidase.

Les glycosidases (glycosides hydrolases) sont des enzymes responsables de l'hydrolyse sélective des liaisons glycosidiques pour libérer une molécule osidique [53]. Les acide 3-((1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)méthylthio)-5,6-diphénylpyridazine-4-carboxyliques (Fig. 24) ont été préparé et évalué par Moghimi, S et *al.* [54]. Les dérivés **43**, **44** et **45** (Fig. 24) ont montré une activité inhibitrice intéressante sur l' $\alpha$ -glycosidase.



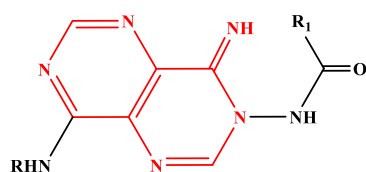
**Figure 24.** Structures de *N*-alkyl-4-hydroxyquinolon-3-yl-benzothiadiazine.

## II. Propriétés biologiques des dérivés fusionnés de Pyrimidine, pyridazines et purine : (pyrimido-pyrimidines, pyrimido-pyridazines et pyrimido-purines).

### II.1. Pyrimido-pyrimidines

#### II.1.1. Pyrimido[5,4-d]pyrimidines comme agents antituberculeux

En 2010, Bacelar A.H et *al.* [55] ont étudié l'activité *anti*-antituberculeuse des pyrimido[5,4-d]pyrimidines substitués. Les composés [46](#), [47](#), [48](#) et [49](#) (**Fig. 25**) ont montré une importante activité *in vitro* contre la bactérie *micobacterium tuberculosis*.



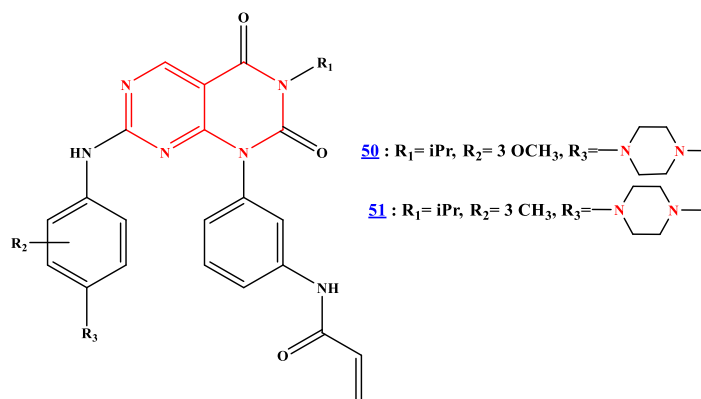
Pyrimido[5,4-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-imine

- [46](#): R= 4-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, R<sub>1</sub>= 4'-pyridinyl  
[47](#): R= 4-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, R<sub>1</sub>= 2'-furyl  
[48](#): R= 4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, R<sub>1</sub>= 4'-pyridinyl  
[49](#): R=4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, R<sub>1</sub>=Ph

**Figure 25.** Pyrimido[5,4-d]pyrimidines comme agent antituberculeux

#### II.1.2. Inhibiteurs de tyrosine kinase de Bruton

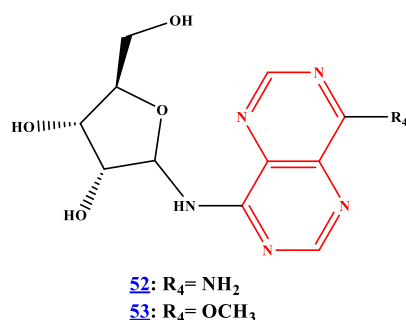
Actuellement, les pyrimido[4,5-d]pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-diones est en développement clinique comme inhibiteurs de tyrosine kinase de Bruton (TKB). La TKB est une enzyme responsable pour le développement des cellules lymphocytes B [56]. Yanyan Diao et *al.* [57] ont réalisé une étude biologique *in vitro* sur les pyrimido[4,5-d]pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-diones. Les deux dérivés [50](#) et [51](#) (**Fig. 26**) ont montré des activités inhibitrices intéressantes sur la TKB.



**Figure 26.** Pyrimido[4,5-d]pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione inhibiteurs de TKB.

### II.1.3. Activités antivirales

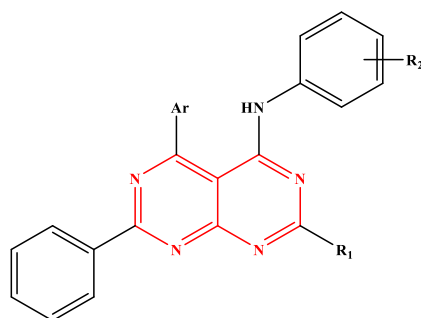
Une série de dérivés 4-méthoxy/amino-8-(beta-D-ribofuranosylamino)pyrimido[5,4-d]pyrimidines a été préparé par Sanghvi Y.S et *al.* [58]. Tous les produits ont été étudiés pour leurs propriétés antivirales contre trois types de virus (virus de l'herpès de type 2 (HSV-1), l'adénovirus-2 et le rhino-1 A). Parmi les composés étudiés, les deux dérivés **52** et **53** (Fig. 27) sont ceux qui ont présenté les meilleurs résultats.



**Figure 27.** 4-méthoxy/amino-8-(beta-D-ribofuranosylamino)pyrimido[5,4-d]pyrimidine comme agent antiviraux

### II.1.4. Activités anticancéreuses

Les diphenylpyrimido[4,5-d]pyrimidin-4-amines, de structure générale présenté dans la Figure 28, préparés par Dakhlaoui I et *al.* [59] ont été testés pour leurs pouvoirs anticancéreux. Le composé **54** (Fig. 28) a présenté une activité inhibitrice très intéressante contre la protéine ABCG2 de résistance du cancer du sein.



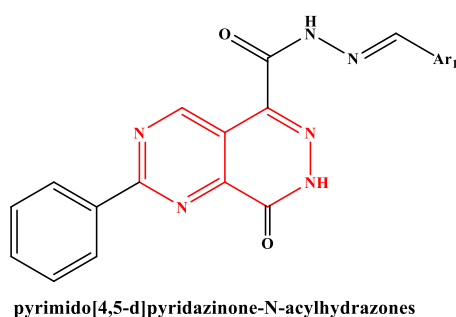
54 : R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = 3,5-OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = 4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>

**Figure 28.** 2-méthyl-*N*,7-diphénylpyrimido[4,5-d]pyrimidin-4-amine

## II.2. Activités biologiques des pyrimido-pyridazines

### II.2.1. Activités antifongiques

Rozada A.M.F et *al.* [60] ont synthétisés et évalués l'activité antifongique des pyrimido[4,5-d]pyridazinone-*N*-acylhydrazones. Le dérivé (11*E*)-*N'*-benzylidene-7,8-dihydro-8-oxo-2-phenylpyrimido[4,5-d]pyridazine-5-carbohydrazone **55** (Ar<sub>1</sub> = Ph) (**Fig. 29**) a montré une activité *in vitro* contre le champignon dimorphe *Paracoccidioides brasiliensis* (*P. brasiliensis*) supérieur à celles des mphotericin B et itraconazole utilisés comme références.

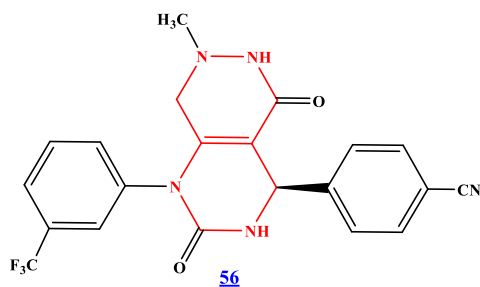


55: Ar<sub>1</sub> = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>

**Figure 29.** Pyrimido[4,5-d]pyridazine comme agent antifongique

### II.2.2. Comme antihypertenseurs

Le 4-((*R*)-1-(3-(trifluorométhyl)phényl)-7-méthyl-2,5-dioxypyrimido[4,5-d]pyridazin-4-yl)benzotrile (BAY 8040) **56** (**Fig. 30**) a été synthétisé par Franz Von Nussbaum et *al.* [61]. Ce dérivé de pyrimido[4,5-d]pyridazine présente une puissante activité contre l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP).



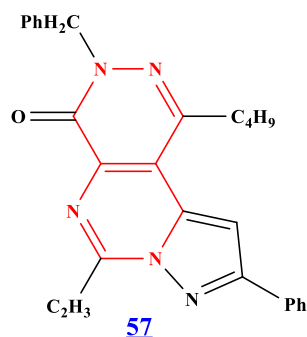
4-((R)-1-(3-(trifluorométhyl)phényl)-7-méthyl-2,5-dioxo-pyrimido[4,5-d]pyridazin-4-yl)benzonitrile  
(BAY 8040)

**Figure 30.** Pyrimido[4,5-d]pyridazine comme agent antihypertenseurs

### II.2.3. Comme antagonistes des récepteurs de l'adénosine A1

L'adénosine est impliquée dans de nombreuses maladies comme la maladie de Parkinson (MP), l'ischémie et l'inflammation [62].

De nombreuses études sur les récepteurs de l'adénosine ont été réalisées. Les analogues non-nucléosidiques tricycliques fusionnés pyrazolo[1',5':1,6]pyrimido[4,5-d]pyridazin-4(3H)-ones (**Fig. 31**) ont été décrit par Giovannoni M.P et *al.* [63]. Ils ont également montré que le dérivé **57** est considéré comme un puissant antagoniste de récepteurs de l'adénosine [63].

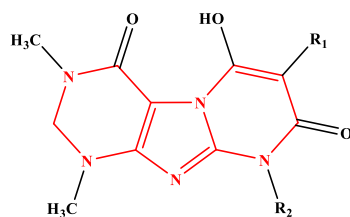


**Figure 31.** Structure de pyrazolo [1',5':1,6]pyrimido[4,5-d]pyridazin-4(3H)-ones  
comme antagonistes des récepteurs de l'adénosine A1

### II.3. Potentiels biologiques des pyrimido-purines

#### II.3.1. Activités anti-inflammatoires

Les dérivés fusionnés pyrimido[2,1-f]purine-4,8(1H,9H)-diones ayant un groupement hydroxy ont été évalué par Kaminski J.J et *al.* [64] pour leurs potentiels anti-inflammatoires. Le composé **58** (**Fig. 32**) a montré une activité inhibitrice puissante contre les cyclooxygénases (COX-1 et COX-2).

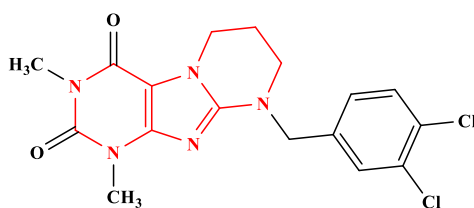


**58:**  $R_1 = \text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ,  $R_2 = \text{PhCH}_2$   
2,3-dihydro-6-hydroxypyrimido[2,1-f]purine-4,8(1*H*,9*H*)-diones

**Figure 32.** Pyrimido[2,1-f]purine-4,8(1*H*,9*H*)-dione comme agent anti-inflammatoire

### II.3.2. Comme inhibiteurs des monoamines oxydases (MAO)

Les monoamines oxydases (MAO) sont des enzymes (oxydoréductases) responsable de la dégradation des monoamines comme la sérotonine, et les catécholamines [65-66]. Lors d'une étude de relations structure-activité réalisée sur l'inhibition des MAO, Koch P et *al.* [67] ont décrit la synthèse des tétrahydropyrimido[2,1-f]purinediones. Parmi les dérivés étudiés, le 9-(3,4-dichlorobenzyl)-1,3-diméthyl-6,7,8,9-tétrahydropyrimido[1,2-f]purine-2,4(1*H*,3*H*)-dione **59** (Fig. 33) a présenté une activité inhibitrice puissante contre les monoamines de type B (MAO-B).

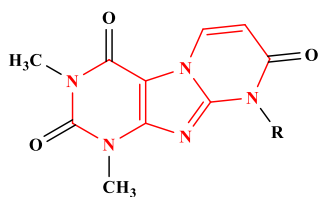


**59**

**Figure 33.** Structure de 9-(3,4-dichlorobenzyl)-1,3-diméthyl-6,7,8,9-tétrahydropyrimido[1,2-f]purine-2,4(1*H*,3*H*)-dione

### II.3.3. Propriétés anticancéreuses

La thymidine phosphorylase est une enzyme de la famille des glycosyltransférases qui catalyse la réaction de conversion de la thymidine en thymine [68]. Cette enzyme est une cible importante dans le traitement du cancer de la vessie. En 2020, Zagórska, A et *al.* [69] ont montrés que les deux dérivés 1,3-diméthylpyrimido[1,2-a]purine-2,4,8(1*H*,3*H*,9*H*)-triones **60** et **61** (Fig. 34) présentent des activités inhibitrices intéressantes contre la thymidine phosphorylase.



**60:** R = acétylphényl

**61:** R = Pipérazin-1-yl-alkyl

**Figure 34.** Structures des 1,3-diméthylpyrimido[1,2-a]purine-2,4,8(1*H*,3*H*,9*H*)-triones

## Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons exposé les différentes propriétés biologiques et pharmacologiques des pyrimidines, purines, pyridazines et leurs dérivés fusionnés (pyrimido-pyrimidines, pyrimido-pyridazines, pyrimido-purines et pyridazino-purines). Ces quelques exemples montrent l'importance biologique et la riche implication pharmacologique présentées par ces motifs hétérocycliques.

## Références Bibliographiques

- [1]. Kumar, S., Narasimhan, B. *Therapeutic potential of heterocyclic pyrimidine scaffolds*. *Chem. Cent. J.*, **2018**, 12, 38. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0406-5>.
- [2]. Mohd Imran, Mohammad Asif. *Study of Various Pyridazine and Phthalazine Drugs with Diverse Therapeutical and Agrochemical Activities*. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, **2020**, 46, 745–767. <https://doi.org/10.1134/S1068162020050167>.
- [3]. Díaz-Muñoz, M., Hernández-Muñoz, R. & Butanda-Ochoa, A. *Structure–activity features of purines and their receptors: implications in cell physiopathology*. *Mol Biomed* 3, 5 (2022). <https://doi.org/10.1186/s43556-022-00068-1>.
- [4]. Claessens, Yann-Erick; Chiche, Jean-Daniel; Mira, Jean-Paul; Cariou, Alain. "Bench-to-bedside review: Severe lactic acidosis in HIV patients treated with nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors". *Critical Care*, **2003**, 7(3): 226–232. Doi: [10.1186/cc2162](https://doi.org/10.1186/cc2162). PMID [12793872](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12793872/).
- [5]. De Clercq, E. "The role of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) in the therapy of HIV-1 infection". *Antiviral Research*, **1998**, 38(3), pp. 153–79. Doi: [10.1016/S0166-3542\(98\)00025-4](https://doi.org/10.1016/S0166-3542(98)00025-4). PMID: [9754886](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9754886/).
- [6]. De Clercq, E. "Perspectives of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) in the therapy of HIV-1 infection (review)". *Il Farmaco*, vol. 54, pp. 26–45, **1999**.
- [7]. Jaballah, M.Y.; Serya, R.T.; Abouzid, K. *Pyridazine Based Scaffolds as Privileged Structures in anti-Cancer Therapy*. *Drug. Res (Stuttg)*, **2017**, 67(3), 138-148. Doi: [10.1055/s-0042-119992](https://doi.org/10.1055/s-0042-119992). PMID: [28073115](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28073115/).
- [8]. Sharma, V., Chitranshi, N., & Agarwal, A. K. (2014). *Significance and biological importance of pyrimidine in the microbial world*. *Int. J. Med. Chem.*, **2014**, 202784. <https://doi.org/10.1155/2014/202784>
- [9]. Heba, E. Hashem, David S. A. Haneen, Khaled F. Saied & Ahmed S. A. Youssef *Synthesis of new annulated pyridazine derivatives and studying their antioxidant and antimicrobial activities*. *Synth. Commun.*, **2019**, 49(22), 3169-3180, Doi: [10.1080/00397911.2019.1658786](https://doi.org/10.1080/00397911.2019.1658786)
- [10]. Barré-Sinoussi, F., Chermann, J. C., Rey, F., Nugeyre, M.T., Chamaret, S., Gruest, J., Dautet, C., Axler-Blin, C., Brun-Vezinet, F., Rouzioux, C., Rozenbaum, W. ; Montagnier, L. "Isolation of a Tlymphotropic retrovirus from a

- patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS)*”, *Science*, **1983**, 220, pp. 868-871.
- [11]. Horwitz, J.P.; Chua, J.; Noel, M. *J. Org. Chem.*, **1964**, 29(7): 2076-2078. Doi: [10.1021/jo01030a546](https://doi.org/10.1021/jo01030a546)
- [12]. Howard M. Temin et Satoshi Mizutani, « *Viral RNA-dependent DNA Polymerase: RNA-dependent DNA Polymerase in Virions of Rous Sarcoma Virus* », *Nature*, vol. 226, n° 5252, **1970**, p. 1211–1213. Doi: [10.1038/2261211a0](https://doi.org/10.1038/2261211a0)
- [13]. Romeo R, Iannazzo D, Veltri L, Gabriele B, Macchi B, Frezza C, Marino-Merlo F, Giofrè SV. *Pyrimidine 2,4-Diones in the Design of New HIV RT Inhibitors. Molecules*. **2019**; 24(9):1718. <https://doi.org/10.3390/molecules24091718>.
- [14]. Eldrup, A. B.; Prhac, M.; Brooks, J.; Bhat, B.; Prakash, T. P.; Song, Q.; Bera, S.; Bhat, N.; Dande, P.; Cook, P. D.; Bennett, F.; Carroll, S.; Ball, R. G.; Bosserman, M.; Burlein, C.; Colwell, L. F.; Fay, J. F.; Flores, O. A.; Getty, K.; LaFemina, R. L.; Leone, J.; MacCoss, M.; McMasters, D. R.; Tomassini, J. E.; Langen, D. V.; Wolanski, B.; Olsen, D. B. Structure–Activity Relationship of Heterobase-Modified 2′-C-Methyl Ribonucleosides as Inhibitors of Hepatitis C Virus RNA Replication. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47(21), 5284–5297. <https://doi.org/10.1021/jm040068f>
- [15]. Clark, J. L.; Hollecker, L.; Mason, J. C.; Stuyver, L. J.; Tharnish, P. M.; Lostia, S.; McBrayer, T. R.; Schinazi, R. F.; Watanabe, K. A.; Otto, M. J.; Furman, P. A.; Stec, W. J.; Patterson, S. E.; Pankiewicz, K. W. *Design, Synthesis, and Antiviral Activity of 2′-Deoxy-2′-fluoro-2′-C-methylcytidine, a Potent Inhibitor of Hepatitis C Virus Replication. J. Med. Chem.*, **2005**, 48(17), 5504–5508. <https://doi.org/10.1021/jm0502788>.
- [16]. Walwick ER, Decker CA, Roberts WK. Cyclization during phosphorylation of uridine and cytidine — A new route to the O<sup>2</sup>,2′-cyclonucleosides. *Proc. Chem. Soc.*, **1959**, 53, p. 2198.
- [17]. Rose M. S., Bateman D. N. « *Pyrexia with cytosine arabinoside* », *British Medical Journal*, vol. 4, n° 5832, **1972**, p. 115. PMID : 4507267.

- [18]. Taglieri, L.; Saccoliti, F.; Nicolai, A.; Peruzzi, G.; Madia, V.N.; Tudino, V.; Messore, A.; Di Santo, R.; Artico, M.; Taurone, S.; et al. *Discovery of a pyrimidine compound endowed with antitumor activity. Invest. New Drugs*, **2020**, 38, 39–49.
- [19]. Charles G. Moertel. « Levamisole and Fluorouracil for Adjuvant Therapy of Resected Colon Carcinoma », *New england journal of medicine*, **1990**.
- [20]. WHO (World Health Organisation: *Model List of Essential Medicines*, 18th list, avril **2013**.
- [21]. M. Amir, S. A. Javed and H. Kumar, *Indian J. Pharm. Sci.*, **2007**, 68, 337–343.
- [22]. M. J. Alam, O. Alam, N. Shrivastava, M. J. Naim and P. Alam, *Int. J. Pharmacol.*, **2015**, 2, 55–69.
- [23]. Ahmed, N. M., Nofal, S. and Awad, S. M. (2020) “Synthesis, Molecular Modelling and Biological Evaluation of Novel Pyrimidine Derivatives as Anti-inflammatory Agents”, *Journal of Pharmaceutical Research International*, 32(22), pp. 49-67. Doi: [10.9734/jpri/2020/v32i2230771](https://doi.org/10.9734/jpri/2020/v32i2230771).
- [24]. M. B. Deshmukh, S. M. Salunkhe, D. R. Patil, P. V. Anbhule, *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, 44(6), 2651-2654.
- [25]. A. A. Fadda, R. Rabie, S. Bondock, H. A. Etman, *J. Heterocyclic Chem.*, **2017**, 54(2), 1304-1310.
- [26]. Legraverend M., Grierson DS. *The purines: potent and versatile small molecule inhibitors and modulators of key biological targets. Bioorg, Med, Chem.*, **2006**, 14(12), pp. 3987-4006. Doi: [10.1016/j.bmc.2005.12.060](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.12.060). PMID: [16503144](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16503144/).
- [27]. Sharma S, Mehndiratta S, Kumar S, Singh J, Bedi PM, Nepali K. *Purine Analogues as Kinase Inhibitors: A Review. Recent Pat Anticancer Drug Discov.* **2015**, 10(3), pp. 308-41. Doi: [10.2174/1574892810666150617112230](https://doi.org/10.2174/1574892810666150617112230). PMID: [26081925](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26081925/).
- [28]. Lee WW, Benitez A, Goodman L, Baker BR. "Agents anticancéreux potentiels. I SL. Synthèse de l'a-anomère de 9-(d-arabinofuranosyl)-adénine". *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82(10), 2648-9. Doi: [10.1021/ja01495a070](https://doi.org/10.1021/ja01495a070).
- [29]. Walter Sneader, *Drug Discovery: A History*, Chichester, Wiley, **2005**, p: 468.
- [30]. Zaza, G., Cheok, M., Krynetskaia, N., Thorn, C., Stocco, G., Hebert, J.M., McLeod, H., Weinshilboum, R.M., Relling, M.V., Evans, W.E., Klein, T.E., Altman, R.B. "Thiopurine pathway". *Pharmacogenet Genomics*, **2010**, 20(9), pp. 573–574. Doi:[10.1097/FPC.0b013e328334338f](https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328334338f).

- [31]. Relling MV, Gardner EE, Sandborn WJ, Schmiegelow K, Pui CH, Yee SW, Stein CM, Carrillo, M., Evans, W.E., Klein, T.E. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (March 2011). "Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for thiopurine methyltransferase genotype and thiopurine dosing". *Clin. Pharmacol. Ther.*, **2011**, 89(3), 387–391. Doi: [10.1038/clpt.2010.320](https://doi.org/10.1038/clpt.2010.320).
- [32]. Fangcheng He.; Jing Shi.; Yanju Wang.; Shaobo Wang.; Jixiang Chen.; Xiuhai Gan.; Baoan Song.; Deyu Hu. *Synthesis, Antiviral Activity, and Mechanisms of Purine Nucleoside Derivatives Containing a Sulfonamide Moiety*. *J. Agric. Food Chem.* **2019**, 67, 31, 8459–8467. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b02681>
- [33]. LAFEMINA, Robert L. *Antiviral research: strategies in antiviral drug discovery*, ASM press, **2009**, p.128.
- [34]. Pierre Marie GIRARD et al. VIH, *Éditions Doin*, **2007**, p.352.
- [35]. Zhu M, Dong B, Zhang GN, Wang JX, Cen S, Wang YC. "Synthesis and biological evaluation of new HIV-1 protease inhibitors with purine bases as P2-ligands". *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2019**, 29(12), pp. 1541-1545. Doi: [10.1016/j.bmcl.2019.03.049](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.03.049).
- [36]. Ningegowda R., Grover A., Basappa, Ranjith S., Rangappa K.S., Priya B.S., Nanjunda Swamy S. *Synthesis, characterization and in vitro anti-tumor activities of novel 9-ethyl-9H-purine derivatives*. *Invest New Drugs*, **2010**, 28(6), pp. 754-765. Doi: [10.1007/s10637-009-9309-6](https://doi.org/10.1007/s10637-009-9309-6). PMID: [19756377](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19756377/).
- [37]. OMS, « Tuberculose: principaux faits », sur who.int, Organisation mondiale de la santé (consulté le 1<sup>er</sup> mars **2021**).
- [38]. Bakkestuen A.K, Gundersen L.L., Langli G., Liu F., Nolsøe J.M. *9-Benzylpurines with inhibitory activity against Mycobacterium tuberculosis*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2000**, 10(11), pp. 1207-1210. Doi: [10.1016/s0960-894x\(00\)00188-8](https://doi.org/10.1016/s0960-894x(00)00188-8). PMID: [10866382](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10866382/).
- [39]. Gundersen L.L., Nissen-Meyer J., Spilsberg B. *Synthesis and antimycobacterial activity of 6-arylpurines: the requirements for the N-9 substituent in active antimycobacterial purines*. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45(6), pp. 1383-1386. Doi: [10.1021/jm0110284](https://doi.org/10.1021/jm0110284). PMID: [11882008](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11882008/).
- [40]. (c) Pathak A. K., Pathak V., Seitz L. E., Suling W. J., Reynolds R. C. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 273-276.

- [41]. Bakkestuen A.K., Gundersen L.L., Utenova B.T. Synthesis, biological activity, and SAR of antimycobacterial 9-aryl-, 9-arylsulfonyl-, and 9-benzyl-6-(2-furyl)purines. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48(7), pp. 2710-2723. Doi: [10.1021/jm0408924](https://doi.org/10.1021/jm0408924). PMID: [15801862](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15801862/).
- [42]. Bakkestuen A.K., Gundersen L.L., Petersen D., Utenova B.T., Vik A. *Synthesis and antimycobacterial activity of agelasine E and analogs*. *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, 3(6), pp. 1025-1033. Doi: [10.1039/b417471b](https://doi.org/10.1039/b417471b). PMID : [15750645](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15750645/).
- [43]. Organisation mondiale de la santé, *World malaria report 2020*, Genève, World Health Organization, 2020, 300 p, (ISBN 978-92-4-001580-7).
- [44]. Too K., Brown D.M., Bongard E., Yardley V., Vivas L., Loakes D. *Anti-malarial activity of N6-modified purine analogues*. *Bioorg, Med, Chem.*, **2007**, 15(16), pp.5551-62. Doi: [10.1016/j.bmc.2007.05.038](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.05.038). PMID: [17548196](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17548196/).
- [45]. Akhtar W., Shaquiquzzaman M., Akhter M., Verma G., Khan M.F., Alam M.M. *The therapeutic journey of pyridazinone*. *Eur. J. Med. Chem.*, **2016**, 123, pp. 256-281. Doi: [10.1016/j.ejmech.2016.07.061](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.07.061). PMID: [27484513](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27484513/).
- [46]. Akhtar W., Shaquiquzzaman M., Akhter M., Verma G., Khan M.F., Alam M.M. *The therapeutic journey of pyridazinone*. *Eur. J. Med. Chem.*, **2016**, 123, pp. 256-281. Doi: [10.1016/j.ejmech.2016.07.061](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.07.061). PMID : [27484513](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27484513/).
- [47]. Jaballah M.Y, Serya R.T, Abouzid K. “*Pyridazine Based Scaffolds as Privileged Structures in anti-Cancer Therapy*”. *Drug. Res (Stuttg)*. **2017**, 67(3), pp. 138-148. Doi: [10.1055/s-0042-119992](https://doi.org/10.1055/s-0042-119992). PMID: [28073115](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28073115/).
- [48]. Elmeligie S, Ahmed E.M, Abuel-Maaty S.M, Zaitone S.A, Mikhail D.S. *Design and Synthesis of Pyridazine Containing Compounds with Promising Anticancer Activity*. *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)*, **2017**, 65(3), pp. 236-247. Doi: [10.1248/cpb.c16-00532](https://doi.org/10.1248/cpb.c16-00532). PMID: [28250345](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28250345/).
- [49]. Ahmed E.M., Hassan M.S.A., El-Malah A.A., Kassab A.E. “*New pyridazine derivatives as selective COX-2 inhibitors and potential anti-inflammatory agents; design, synthesis and biological evaluation*”. *Bioorg. Chem.* **2020**, 95, 103497. Doi: [10.1016/j.bioorg.2019.103497](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103497). PMID: [31838289](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31838289/).
- [50]. Clemens Lamberth. *Pyridazine Chemistry in Crop Protection*. *J. Hetero. Chem*, **2017**, 54(6), pp. 2974-2984.
- [51]. Ogura T, Mio K, Hayashi I, Miyashita H, Fukuda R, Kopan R, Kodama T, Hamakubo T, Iwatsubo T, Tomita T, Sato C. *Three-dimensional structure of the gamma-secretase complex*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2006**, 343(2), pp.

- 525-34. Doi: [10.1016/j.bbrc.2006.02.158](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.02.158). PMID: 16546128.
- [52]. Wan Z., Hall A., Jin Y., Xiang J.N., Yang E., Eatherton A., Smith B., Yang G., Yu H., Wang J., Ye L., Lau L.F., Yang T., Mitchell W., Cai W., Zhang X., Sang Y., Wang Y., Tong Z., Cheng Z., Hussain I., Elliott J.D., Matsuoka Y. *Pyridazine-derived  $\gamma$ -secretase modulators*. *Bioorg Med Chem Lett.*, **2011**, 21(13), 4016-4019. Doi: [10.1016/j.bmcl.2011.04.143](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.04.143). PMID: 21636276.
- [53]. Henrissat B., Callebaut I., Fabrega S., Lehn P., Mornon J.P., Davies G. *Conserved catalytic machinery and the prediction of a common fold for several families of glycosyl hydrolases*. *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.*, **1995**, 92(15), 7090-7094. Doi: [10.1073/pnas.92.15.7090](https://doi.org/10.1073/pnas.92.15.7090). PMID: 7624375.
- [54]. Moghimi S., Salarinejad S., Toolabi M., Firoozpour L., Esmaeil Sadat Ebrahimi S., Safari F., Madani-Qamsari F., Mojtavavi S., Faramarzi M.A., Karima S., Pakrad R., Foroumadi A. *Synthesis, in-vitro evaluation, molecular docking, and kinetic studies of pyridazine-triazole hybrid system as novel  $\alpha$ -glucosidase inhibitors*. *Bioorg. Chem.*, **2021** 109, 104670. Doi: [10.1016/j.bioorg.2021.104670](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.104670). PMID: 33588241.
- [55]. Bacelar A.H., Carvalho M.A., Proença M.F. *Synthesis and in vitro evaluation of substituted pyrimido[5,4-d]pyrimidines as a novel class of anti-Mycobacterium tuberculosis agents*. *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, 45(7), pp. 3234-9. Doi: [10.1016/j.ejmech.2010.03.047](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.03.047). PMID: 20416983.
- [56]. Pal Singh S, Dammeijer F, Hendriks RW. *Role of Bruton's tyrosine kinase in B cells and malignancies*. *Mol Cancer*, **2018**, 17(1), p. 57. Doi: [10.1186/s12943-018-0779-z](https://doi.org/10.1186/s12943-018-0779-z). Erratum in: *Mol Cancer*, **2019**, 18(1), pp. 79. PMID: 29455639.
- [57]. Diao Y., Fang X., Song P., Lai M., Tong L., Hao Y., Dou D., Liu Y., Ding J., Zhao Z., Xie H., Li H. *Discovery and Biological evaluation of pyrimido[4,5-d]pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione derivatives as potent Bruton's tyrosine kinase inhibitors*. *Bioorg. Med. Chem.*, **2019**, 27(15), pp. 3390-3395. Doi: [10.1016/j.bmc.2019.06.023](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.06.023). PMID: 31221612.
- [58]. Sanghvi Y.S., Larson S.B., Matsumoto S.S., Nord L.D., Smee D.F., Willis R.C., Avery T.L., Robins R.K., Revankar G.R. *Antitumor and antiviral activity of synthetic  $\alpha$ - and  $\beta$ -ribonucleosides of certain substituted pyrimido[5,4-d]pyrimidines: a new synthetic strategy for exocyclic aminonucleosides*. *J. Med. Chem.*, **1989**, 32(3), pp. 629-637. Doi: [10.1021/jm00123a022](https://doi.org/10.1021/jm00123a022). PMID : 2918511.
- [59]. Dakhlaoui I, Vahdati S, Maalej E, Chabchoub F, Wiese M, Marco-Contelles J,

- Ismaili L. *Synthesis and biological assessment of new pyrimidopyrimidines as inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2)*. *Bioorg. Chem.*, **2021**, 116, pp. 105326. Doi: [10.1016/j.bioorg.2021.105326](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105326). PMID: 34536930.
- [60]. Rozada A.M.F., Rodrigues-Vendramini F.A.V., Gonçalves D.S., Rosa F.A., Basso E.A., Seixas F.A.V., Kioshima É.S., Gauze G.F. *Synthesis and antifungal activity of new hybrids pyrimido[4,5-d]pyridazinone-N-acylhydrazones*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, 30(14), pp. 127244. Doi: [10.1016/j.bmcl.2020.127244](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127244). PMID: 32527546.
- [61]. Von Nussbaum F, Li V.M, Meibom D, Anlauf S, Bechem M, Delbeck M, Gerisch M, Harrenga A, Karthaus D, Lang D, Lustig K, Mittendorf J, Schäfer M, Schäfer S, Schamberger J. *Potent and Selective Human Neutrophil Elastase Inhibitors with Novel Equatorial Ring Topology: in vivo Efficacy of the Polar Pyrimidopyridazine BAY-8040 in a Pulmonary Arterial Hypertension Rat Model*. *Chem. Med. Chem.*, **2016**, 11(2), pp. 199-206. Doi: [10.1002/cmdc.201500269](https://doi.org/10.1002/cmdc.201500269). PMID: 26333652.
- [62]. Chen J.F., Eltzschig H.K., Fredholm B.B. *Adenosine receptors as drug targets--what are the challenges*. *Nat. Rev. Drug. Discov.*, **2013**, 12(4), pp. 265-86. Doi: [10.1038/nrd3955](https://doi.org/10.1038/nrd3955). PMID: 23535933.
- [63]. Giovannoni M.P., Ciciani G., Cilibrizzi A., Crocetti L., Daniele S., Di Cesare Mannelli L., Ghelardini C., Giacomelli C., Guerrini G., Martini C., Trincavelli M.L., Vergelli C. *Further studies on pyrazolo[1',5':1,6]pyrimido[4,5-d]pyridazin-4(3H)-ones as potent and selective human A1 adenosine receptor antagonists*. *Eur. J. Med. Chem.*, **2015**, 89, pp. 32-41. Doi: [10.1016/j.ejmech.2014.10.020](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.10.020). PMID : 25462223.
- [64]. Kaminski J.J., Solomon D.M., Conn D.J., Wong S.C., Chiu P.J., Massa T., Siegel M.I., Watnick A.S. *Antiinflammatory activity of a series of substituted 2,3-dihydro-6-hydroxypyrimido[2,1-f]purine-4,8(1H,9H)-diones*. *J. Med. Chem.*, **1989**, 32(5), pp.1118-27. Doi: [10.1021/jm00125a029](https://doi.org/10.1021/jm00125a029). PMID : 2496230.
- [65]. Tipton K.F., Boyce S, O'Sullivan J., Davey G.P., Healy J. *Monoamine oxidases: certainties and uncertainties*. *Curr. Med. Chem.*, **2004**, 11(15), pp. 1965-82. Doi: [10.2174/0929867043364810](https://doi.org/10.2174/0929867043364810). PMID: 15279561.
- [66]. Edmondson D.E., Mattevi A., Binda C., Li M., Hubálek F. *Structure and mechanism of monoamine oxidase*. *Curr. Med. Chem.*, **2004**, 11(15), pp. 1983-93. Doi: [10.2174/0929867043364784](https://doi.org/10.2174/0929867043364784). PMID: 15279562.

- [67]. Koch P, Akkari R, Brunschweiger A, Borrmann T, Schlenk M, Küppers P, Köse M, Radjainia H, Hockemeyer J, Drabczyńska A, Kieć-Kononowicz K, Müller CE. *1,3-Dialkyl-substituted tetrahydropyrimido[1,2-f]purine-2,4-diones as multiple target drugs for the potential treatment of neurodegenerative diseases. Bioorg. Med. Chem.*, **2013**, 21(23), pp. 7435-52. Doi: [10.1016/j.bmc.2013.09.044](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.09.044). PMID : [24139167](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24139167/).
- [68]. Norman RA, Barry ST, Bate M, Breed J, Colls JG, Ernill RJ, Luke RW, Minshull CA, McAlister MS, McCall EJ, McMiken HH, Paterson DS, Timms D, Tucker JA, Pauptit RA. *Crystal structure of human thymidine phosphorylase in complex with a small molecule inhibitor. Structure*, **2004**, 12(1), pp. 75-84. Doi: [10.1016/j.str.2003.11.018](https://doi.org/10.1016/j.str.2003.11.018). PMID: [14725767](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14725767/).
- [69]. Zagórska, A.; Czopek, A.; Mielczarek-Putna, M.; Struga, M.; Bajda, M. *Synthesis and biological evaluation of mono- and tri-heterocyclic azole derivatives as anticancer agents*, in Proceedings of the 6th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry, 1–30 November **2020**, MDPI: Basel, Switzerland. Doi: [10.3390/ECMC2020-07385](https://doi.org/10.3390/ECMC2020-07385).

## ***CHAPITRE II***

***SYNTHESE DE NOUVEAUX DERIVES  
HETEROCYCLIQUES A VISEES THERAPEUTIQUES :  
PYRIMIDINES, PYRIDAZINES, PURINES ET  
PYRIDAZINO-PURINES***

Les composés hétérocycliques qui intéressent notre étude sont les pyrimidines, les purines, les pyridazines et leurs dérivés fusionnés (pyrimido-pyrimidines, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines et pyridazino-purines). Ces hétérocycles ont connus une attention considérable au cours de ces dernières années pour leurs larges éventails d'applications biologiques et pharmacologiques en tant qu'agents antiviraux, anticancéreux et anti-inflammatoires [1-4].

En raison de l'intérêt biologique et pharmacologique des motifs hétérocycliques étudiés, nombreuses approches ont été citées dans la littérature.

Dans une première partie de ce chapitre, nous rappelons brièvement les principales méthodes de préparation des pyrimidines, purines, pyridazines et leurs dérivés fusionnés pyrimido-pyrimidines, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines et pyridazino-purines décrites dans la littérature.

Dans une deuxième partie, comme il a été mentionné précédemment, nous allons exposer nos résultats concernant la synthèse, la caractérisation et l'étude biologique de nouveaux composés hétérocycliques dérivés de pyrimidines, pyridazines et purines.

Ces trois motifs hétérocycliques se sont avérés être de bons précurseurs dans la formation de nombreux composés poly-hétérocycliques tels que les pyrimido-pyrimidines, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines et pyridazino-purines.

## **II. Les principales méthodes de synthèse des pyrimidines, pyridazines, purines et leurs dérivés fusionnés : (pyrimido-pyrimidines, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines et pyridazino-purines).**

### **II.1. Synthèse du motif pyrimidine simple.**

La plupart des organismes vivants peuvent synthétisées naturellement les pyrimidines par une voie de biosynthèse similaire constituée de 6 étapes catalysées par des complexes multienzymatiques, à partir de l'aspartate (acide aspartique : acide 2-aminosuccinique). Ce dernier est transformé par trois réactions consécutives en orotate (sels minéraux) de l'acide orotique (dérivé pyrimidinique). Ensuite, il se transforme en uridine-5-monophosphate (UMP) après deux réactions supplémentaires. L'UMP est considéré comme précurseur pour la synthèse de plusieurs nucléotides pyrimidiniques [5-8].

Différentes méthodes de synthèse des pyrimidines (1,3-diazines) ont été décrites dans

la littérature. Parmi celles-ci, la réaction multicomposants de Biginelli semble être la plus générale, classique et facile pour accéder aux dérivés dihydropyridin-2-(1*H*)-ones [9].

### II.1.1. La réaction multi-composant de Biginelli

En 1891, le chimiste italien P. Biginelli [9] a réalisé la synthèse des dihydropyrimidin-2-(1*H*)-ones **65** (Schéma 1) par une réaction multi-composants. Cette condensation consiste à faire réagir un dérivé 1,3-dicarbonylé ( $\beta$ -dicétone ou un  $\beta$ -cétoster) **62**, l'urée (ou la thio-urée) **63** et un aldéhyde, souvent aromatique **64** en présence d'un catalyseur acide (Schéma 1). Elle a beaucoup été étudiée soit pour son mécanisme soit pour l'importance biologique des produits obtenus **65** [10]. A ce jour, de très nombreux dérivés pyrimidiniques ont été synthétisés et évalués pour diverses activités biologiques (antivirales, anticancéreuses, anti-inflammatoires et antibactériennes [11-12]).

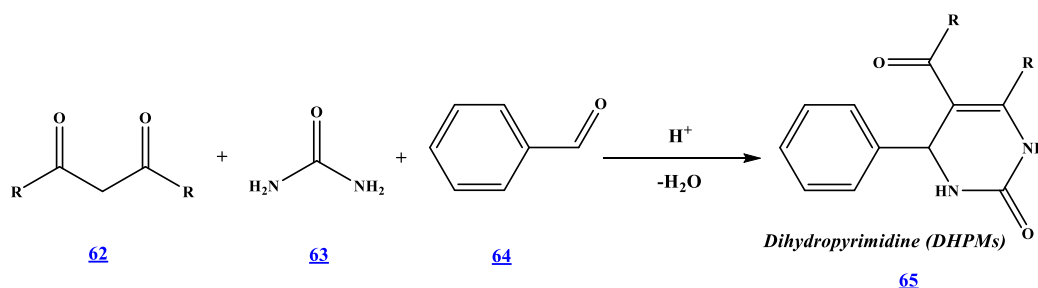
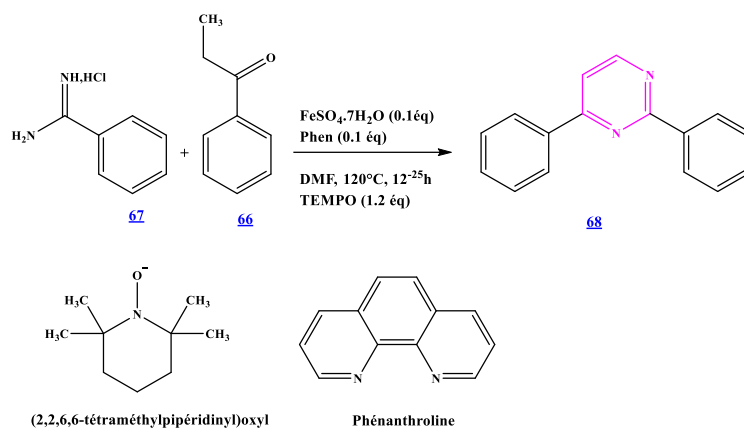


Schéma 1. Réaction de Biginelli

### II.1.2. Synthèse de pyrimidines par condensation des carbonyles et l'amidine.

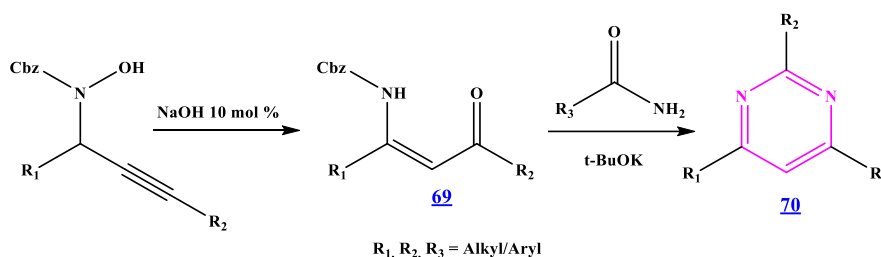
En 2017, Chu X. Q. et *al.* [13] ont montré qu'il est possible de synthétiser le 2,6-diphénylpyrimidine **68** par condensation des carbonyles **66** sur l'amidine **67**. La réaction est effectuée en présence de TEMPO (2,2,6,6-tétraméthylpiperidin-1-yl)oxyl et phénanthroline comme ligands (Schéma 2).



**Schéma 2.** Synthèse de 2,6-diphénylpyrimidine par condensation des carbonyles et l'amidine.

### II.1.3. Synthèse des pyrimidines à partir des énamines

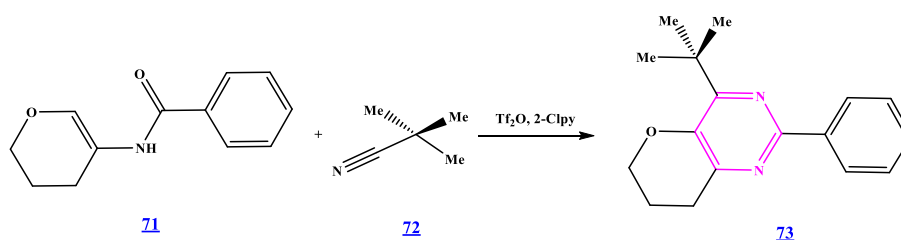
E. Gayon et *al* [14] ont développé une méthode efficace pour préparer le motif pyrimidine. La synthèse est réalisée par condensation des énamines **69** avec les amides en présence de *t*-BuOK (Schéma 3). Les pyrimidines **70** sont obtenus avec de bons voire d'excellents rendements.



**Schéma 3.** Synthèse des pyrimidines à partir des énamines

### II.1.4. Synthèse des pyrimidines par condensation des amides sur les nitriles

Movassaghi, M et *al*. [15] ont montré que la condensation des (*N*-aryl/vinyl) amides **71** sur les nitriles **72** (Schéma 4), en présence de trifluorométhane sulfonique anhydride  $\text{ Tf}_2\text{O}$ , 2-Clpyr comme catalyseur a permis la synthèse des pyrimidines **73** avec de bons rendements.



**Schéma 4.** Synthèse des pyrimidines par condensation des amides sur les nitriles

## II.2. Synthèse du motif pyridazine

### II.2.1. Synthèse de pyridazine C-nucléosides

Très récemment, Cermola, F et *al.* [16] ont montré que le traitement des furane C-nucléosides **74** par l'hydrazine dans le THF permet de synthétiser des pyridazines C-nucléosides **75** (Schéma 5).

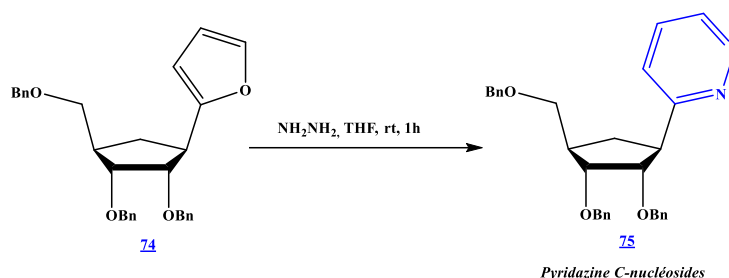


Schéma 5. Synthèse de pyridazine C-nucléosides

### II.2.2. Synthèse des thienylpyridazines par la réaction de couplage de Suzuki-Miyaura

Fernandes, S.S.M et *al.* [17] ont décrit la synthèse des pyridazines substitués en utilisant la réaction de couplage de Suzuki-Miyaura [18]. Dans une première étape, les 6-(thiophène-2-yl)pyridazin-3-one **76** s'additionnent sur le bromure de phosphoryle pour donner l'intermédiaire 3-bromo-6-(thiophène-2-yl)pyridazine **77**. Ce dernier subit ensuite une condensation sur l'acide hétéroarylboronique dans les conditions de la réaction du couplage de *Suzuki-Miyaura* conduisant aux 6-(thiophène-2-yl)pyridazine substitués **78** (Schéma 6).

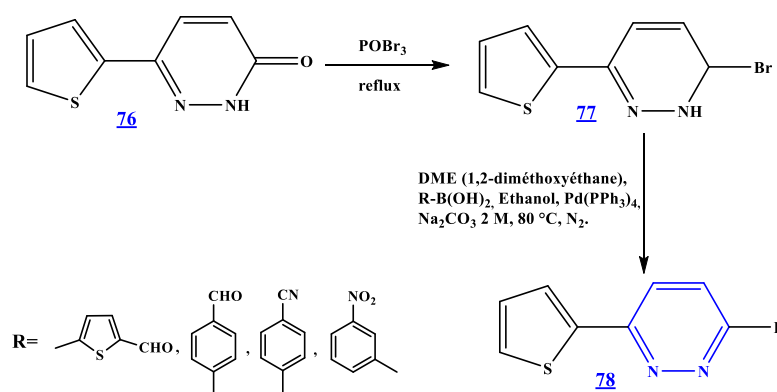


Schéma 6. Synthèse des thienylpyridazines

### II.2.3. Synthèse des pyridazines à partir des acides 4-oxo-carboxyliques

Khan, A. et *al.* [19-20] ont développé la synthèse des dérivés 6-phénylpyridazin-3(2H)-one **80** à partir des acides 4-oxo-carboxyliques en deux étapes **79** (Schéma 7).

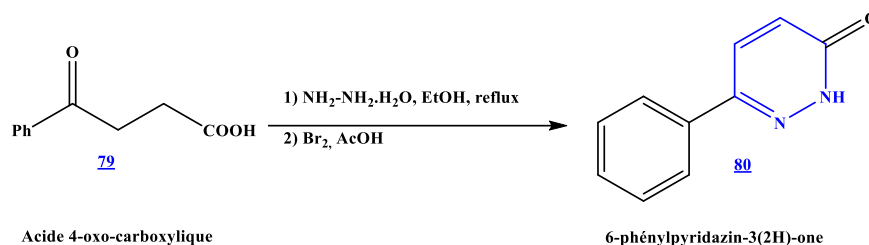


Schéma 7. Synthèse de 6-phénylpyridazin-3(2H)-one à partir des acides 4-oxo-carboxyliques

### II.2.4. Synthèse de Pyridazin-3-one

Ibrahim, H.M et *al.* [21] ont décrit la synthèse des 2-arylpuridazin-3-ones **83** par réaction entre des 2-(2-phénylhydrazono)-3-oxobutanal **81** et des acide 2-(4-nitro-phényl) acétiques **82** (Schéma 8).

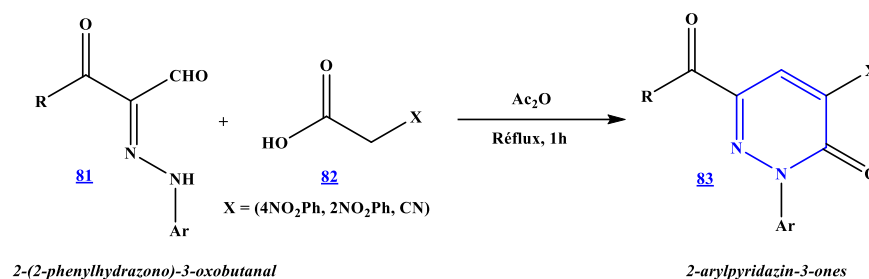


Schéma 8. Synthèse de 2-arylpuridazin-3-ones

### II.3. Synthèse des purines

C'est à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle que le lauréat du Prix Nobel de Chimie (1902) Emil Fischer (Fig. 35) décrit, pour la première fois, la synthèse du bicyclic fusionné imidazo[4,5-*d*]pyrimidine [22-23]; il donne à ce composé le nom de purine (*purum uricum*) en 1884, terme adopté officiellement à la fin du XX<sup>ème</sup> siècle (IUPAC, 1991).

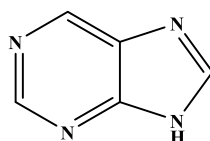
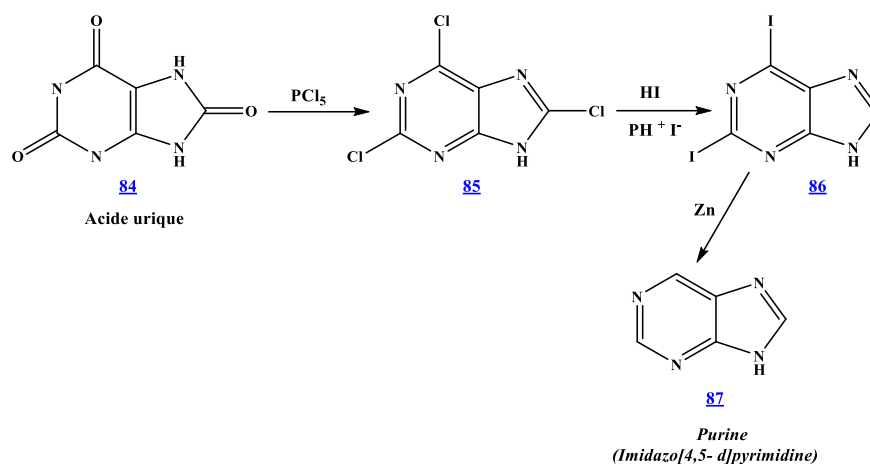


Figure 35. Structure de purine (Imidazo[4,5-*d*]pyrimidine)

Emil Fischer décrit la synthèse de cet hétérocycle, le plus répandu des hétérocycles azotés dans la nature, à partir de l'acide urique [24] (**Schéma 9**).



**Schéma 9.** Synthèse de purine (Imidazo[4,5-d]pyrimidine)

Leur structure correspond à la juxtaposition d'un noyau pyrimidine et d'un noyau imidazole. Plusieurs auteurs ont étudié la synthèse et la réactivité des purines, et ont prouvé que ces derniers, ainsi que leurs analogues fusionnés ont une activité pharmacologique reconnue à la famille des pyrimidines [25].

### II.3.1. La biosynthèse de purines

Les purines sont synthétisées dans la cellule par la voie de biosynthèse des purines dont les principales étapes décrites sont représentées en **schéma 10**. Elle se divise en deux parties : la voie de novo et la voie de recyclage [26]. La voie de novo est entièrement conservée au sein de l'évolution et permet la synthèse d'Inosine MonoPhosphate (IMP) en dix étapes enzymatiques, à partir du Phosphoribosyl Pyrophosphate (PRPP). La voie de recyclage permet une inter-conversion entre les différentes bases, nucléosides et nucléotides puriques, principalement issus de la dégradation des acides nucléiques mais aussi de l'alimentation, du milieu extracellulaire ou de la voie de novo (IMP). Ce recyclage aboutit à la formation d'Adénosine MonoPhosphate (AMP) et de Guanosine MonoPhosphate (GMP). Malgré l'existence de quelques réactions espèce-spécifiques, la quasi-totalité de la voie de recyclage est également conservée de la bactérie à l'Homme.

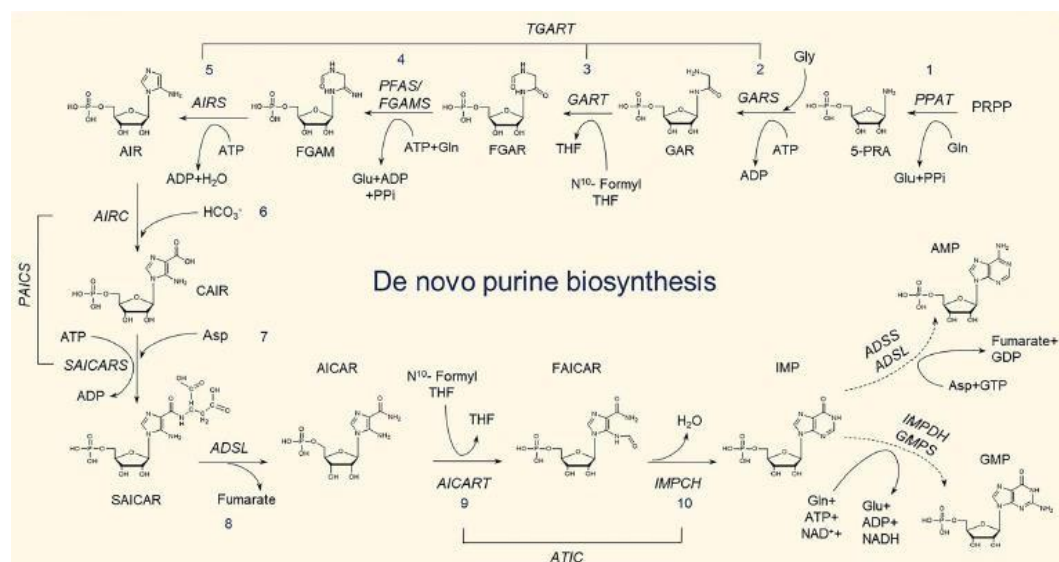
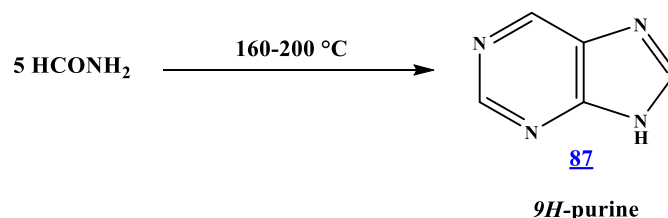


Schéma 10. Biosynthèse des purines [27]

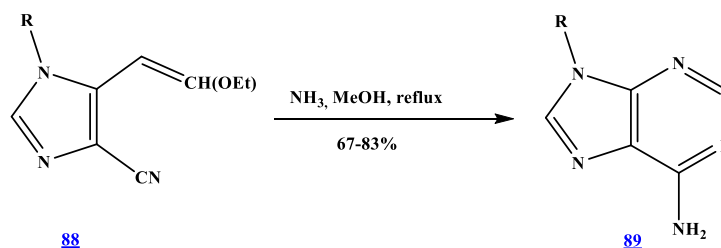
### II.3.2. Synthèse de purines à partir des formamides

En 1972, Yamada, H et Okamoto, T ont publiés la synthèse du motif purine **87** à partir de formamide [28] (Schéma 11). La réaction a été réalisée par condensation de cinq équivalents de formamide à une température de 160-200 °C.

Schéma 11. Synthèse de *9H*-purine à partir de formamide

### II.3.3. Synthèse de purines à partir des imidazoles

En 2010, le groupe de Conejo-García, A. [29] a rapporté la synthèse de 9-alkyl-*9H*-purin-6-amine **89** à partir des imidazoles **88** par une condensation intermoléculaire sur le NH<sub>3</sub> (Schéma 12).

Schéma 12. Synthèse de 9-alkyl-*9H*-purin-6-amine à partir des imidazoles

### II.3.4. Synthèse des purines tri-substitués en utilisant *N,N*-diméthylamides, alcool primaire et 4- alkylamino-5-amino-6-chloropyrimidines.

Pineda de las Infantas y Villatoro M. J et *al.* [30] ont rapporté la synthèse de nouvelles séries de purines substitués, et évalué leurs activités anti-protozoaires. Dans cette méthode, le 4-alkylamino-5-amino-6- chloropyrimidine **92** réagit avec le *N,N*-diméthylamide **91** et l'alcool primaire **90** pour former les purines substitués **93** et **94** (Schéma 13).

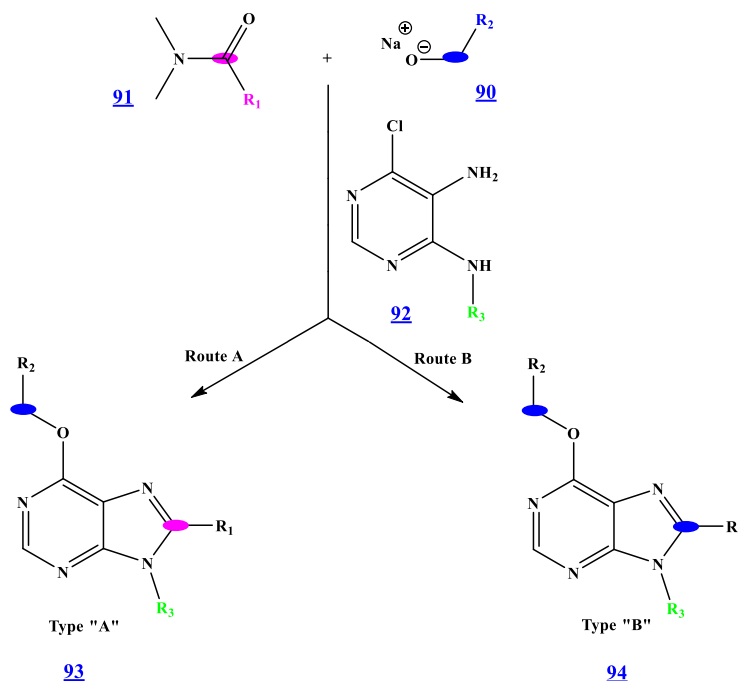
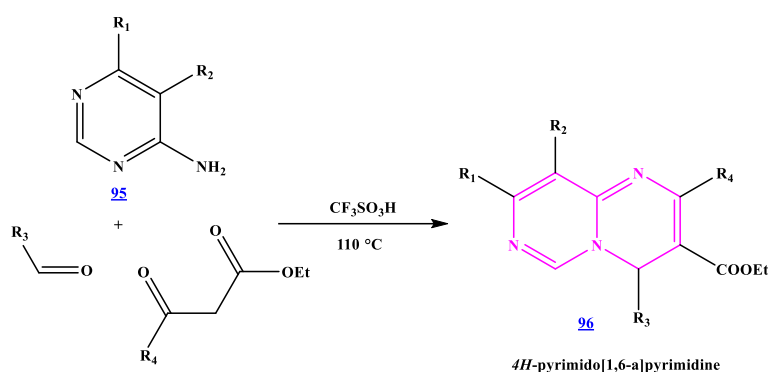


Schéma 13. Synthèse des purines poly-substitués

## II.4. Méthodes générales de synthèse des pyrimido-pyrimidines

### II.4.1. Synthèse multicomposants de 4*H* -pyrimido[1,6-*a*]pyrimidines

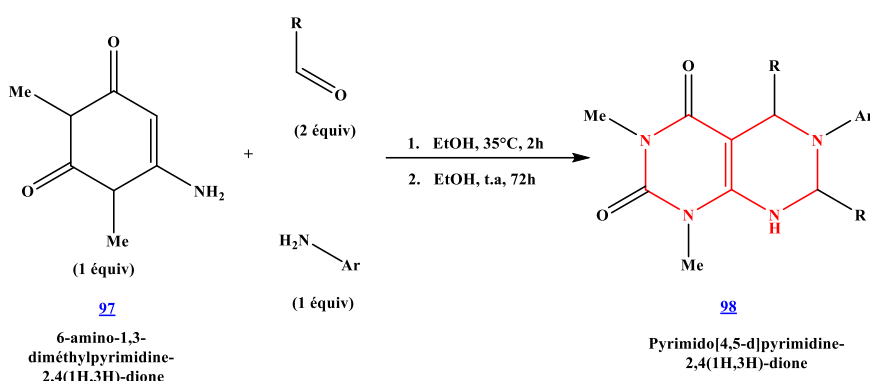
Xiang, J et *al.* [31] ont décrit la synthèse des dérivés 4*H* -pyrimido[1,6-*a*]pyrimidines **96** (Schéma 14) inspiré par la synthèse multi-composants de Biginelli des dihydropyrimidines [32]. Dans cette réaction l'urée a été remplacée par le pyrimidin-4-amine **95** (Schéma 14).



**Schéma 14.** Synthèse multicomposants du motif 4*H*-pyrimido[1,6-*a*]pyrimidine

#### II.4.2. Synthèse de pyrimido[4,5-*d*]pyrimidones à partir d'énamino-uracil

Hamama, W. S et *al.* [33] ont étudié la condensation multicomposante de l'énamino-uracil **97** (1 équiv.), l'amine aromatique (1 équiv.) et un aldéhyde (2 équiv.) dans l'EtOH. Ils ont pu isoler les pyrimido[4,5-*d*]pyrimidones **98** avec des rendements moyens (**Schéma 15**).



**Schéma 15.** Synthèse de pyrimido[4,5-*d*]pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione.

#### II.4.3. Préparation de pyrimido[5,4-*d*]pyrimidines par réarrangement de 6-cyano-purines

Bacelar A.H et *al.* [34] ont réalisé la synthèse des pyrimido[5,4-*d*]pyrimidines **100** et **101** en traitant les 6-cyanopurines **99** par les amines en présence de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU) comme catalyseur dans le DMSO (**Schéma 16**).

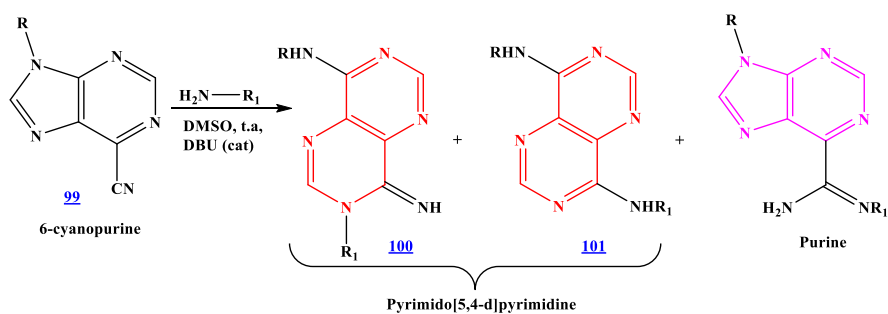
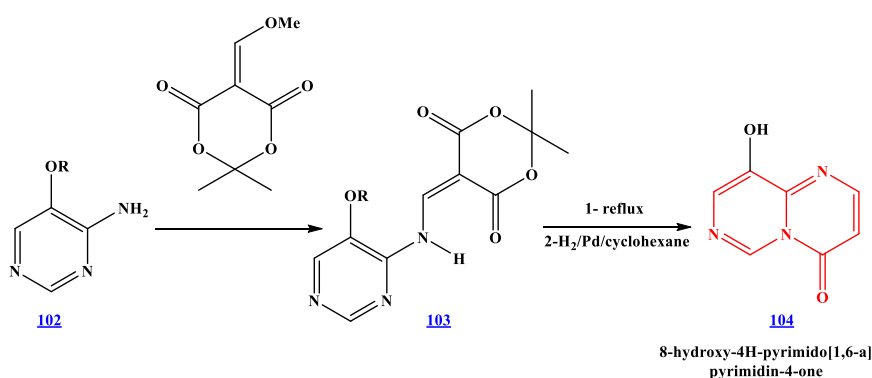


Schéma 16. Synthèse de pyrimido[5,4-d]pyrimidines

#### II.4.4. Synthèse de 9-hydroxy-4*H*-pyrimido[1,6-*a*]pyrimidin-4-one

La synthèse de 9-hydroxy-4*H*-pyrimido[1,6-*a*]pyrimidin-4-one [104](#) a été décrite par F. Dennin et *al.* [35] (Schéma 17). La réaction de l'alkoxy-5-amino-4-pyrimidines [102](#) avec 5-(méthoxyméthylène)-2,2-diméthyl-1,3-dioxane-4,6-dione conduit au 5-((5-méthoxypyrimidin-4-ylamino) méthylène)-2,2-diméthyl-1,3-dioxane-4,6-dione [103](#). Après une cyclisation intramoléculaire thermique suivie d'une réduction catalytique, le 9-hydroxy-4*H*-pyrimido[1,6-*a*]pyrimidine-4-one [104](#) est obtenu avec de bon rendement.

Schéma 17. Synthèse de 8-hydroxy-4*H*-pyrimido[1,6-*a*]pyrimidin-4-one.

#### II.4.5. Synthèse de 5-(*N*-alkylamino)Pyrimido[4,5-*d*]uracil catalysée par le Ni(II).

En 2020, Jurriën et *al.* [36] ont rapporté une voie de synthèse permettant l'accès aux dérivés 5-(*N*-alkylamino)Pyrimido[4,5-*d*]uracils [107](#) en deux étapes (Schéma 18). La condensation de *N1,N3*-dialkyl-6-chlorouracil [105](#) avec l'amidine conduit aux dérivés *N*-uracil-amidines [106](#). L'oxydation par l'oxygène de l'air catalysée par le Ni(OAc)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O permet l'obtention des 5-(*N*-alkylamino)Pyrimido[4,5-*d*]pyrimidine (*Pyrimido-uracil*) [107](#).

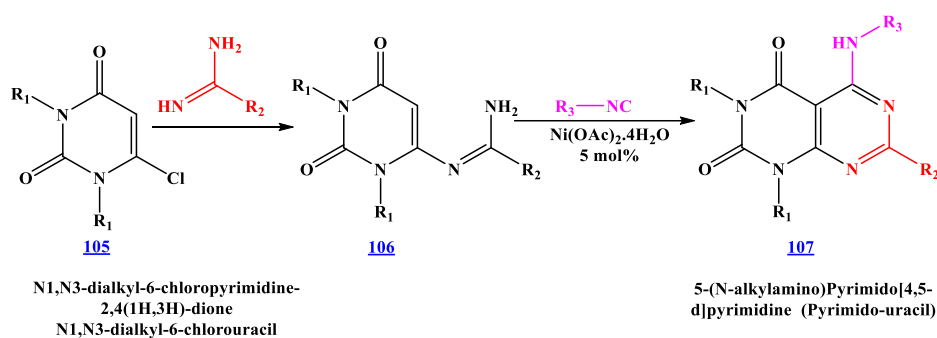


Schéma 18. Synthèse de 5-(N-alkylamino)Pyrimido[4,5-d]uracil

## II.5. Méthodes générales de synthèse des pyrimido-pyridazines

### II.5.1. Préparation des pyrimido[4,5-d]pyridazines

Galeta J et *al.* [37] ont pu préparer une nouvelle série de pyrimido[4,5-d]pyridazines **110** en une seule étape (Schéma 19). La réaction est effectuée par condensation des halo-pyrimidines **108** avec les tétrazines **109** en présence d'un catalyseur basique tel que BuLi, *s*-BuLi, *t*-BuLi, LDA, PhMgBr, *i*-PrMgCl·LiCl, KHMDS, NaHMDS, LiHMDS et NaNH<sub>2</sub>.

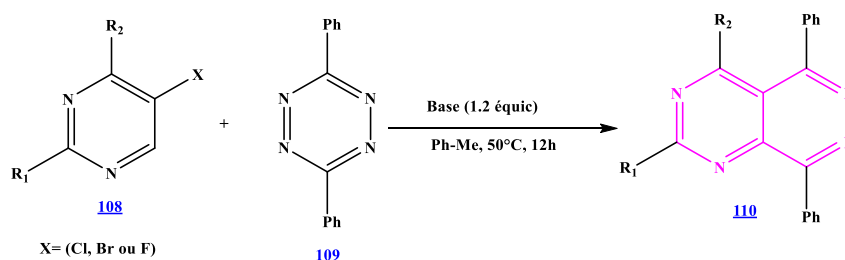


Schéma 19. Synthèse de pyrimido[4,5-d]pyridazines

### II.5.2. Synthèse des pyrimido[4,5-c]pyridazine-5,7(1H,6H)-diones

Turbiak A.J et *al.* [38], en 2010, ont rapporté la synthèse de pyrimido[4,5-c]pyridazine-5,7(1H,6H)-diones **113** par condensation de 6-(hydrazinyl)uracil **111** avec les alkyl(ou aryl)- glyoxals **112** (Schéma 20).

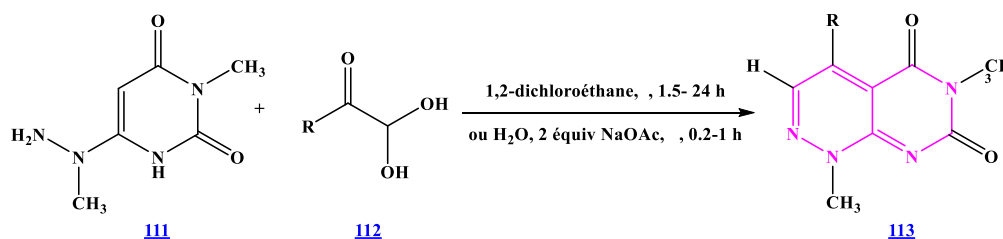


Schéma 20. Synthèse des pyrimido[4,5-c]pyridazine-5,7(1H,6H)-diones

### II.5.3. Synthèse de pyrimido[4,5-c]pyridazines

En 2015, Elagamey, A.G et *al.* [39] ont synthétisé les pyrimido[4,5-c]pyridazines **116** par condensation de 3-(2-méthylhydrazono)pentane-2,4-dione **114** sur le dérivé d'urée **115** (Schéma 21). L'intermédiaire pyridazinique a réagi de manière intramoléculaire pour donner, après une élimination de NH<sub>3</sub>, les pyrimido[4,5-c]pyridazines **116**.

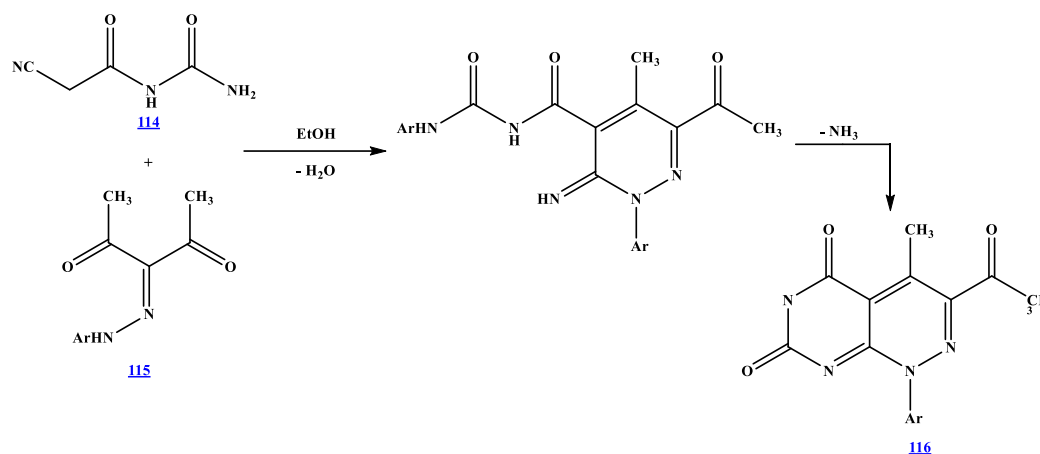


Schéma 21. Synthèse de pyrimido[4,5-c]pyridazines

### II.5.4. Synthèse de pyrimido[4,5-c]pyridazines comme inhibiteurs de dihydroptéroate synthase

Une méthode de synthèse des 7-aminopyrimido[4,5-c]pyridazine-4,5(1*H*,6*H*)-dione **119** a été rapportée par les groupes de Zhao, Y en 2012 (Schéma 22) [40]. L'obtention des pyrimido-pyridazines a été réalisée en deux étapes en utilisant le 2-amino-6-chloropyrimidin-4(3*H*)-one **117** comme produit de départ. Ce dernier a été mis en présence d'un dérivé d'hydrazine dans l'eau à reflux. L'intermédiaire formé **118** s'additionne sur les 2-oxocarboxylates conduisant aux 7-aminopyrimido[4,5-c]pyridazine-4,5(1*H*,6*H*)-dione.

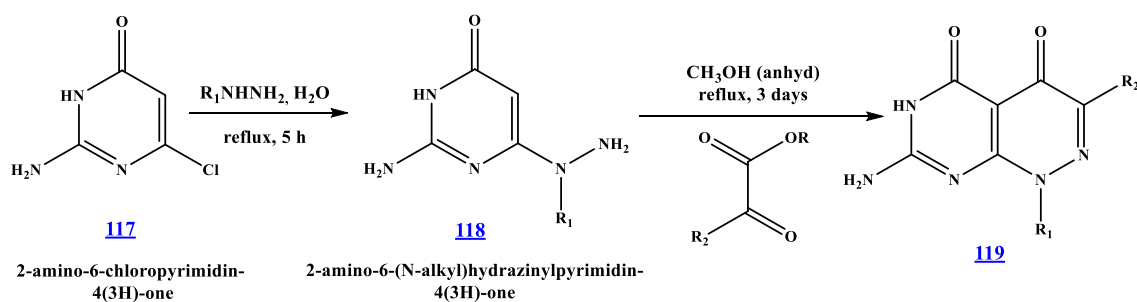


Schéma 22. Synthèse de 7-aminopyrimido[4,5-c]pyridazine-4,5(1*H*,6*H*)-dione

## II.6. Principales voies de synthèse des pyrimido-purines

### II.6.1. Synthèse de 1,3-dialkyl-tétrahydropyrimido[1,2-f]purine-2,4-diones

Koch, P et *al.* [41] ont synthétisé 1,3-dialkyl-tétrahydropyrimido[1,2-f]purine-2,4-diones [123](#) en utilisant le 8-bromo-3-méthyl-1*H*-purine-2,6(3*H*,7*H*)-dione [120](#) (Schéma 23). Cette synthèse comporte les trois étapes suivantes.

1- Condensation sur le 1-bromo-3-chloropropane pour donner le 8-bromo-7-(3-chloropropyl)-3-méthyl-1*H*-purine-2,6(3*H*,7*H*)-dione [121](#).

2- Réaction avec le propargyl bromide en milieu basique conduisant à la formation de l'intermédiaire 8-bromo-7-(3-chloropropyl)-3-méthyl-1-(prop-2-ynyl)-1*H*-purine-2,6(3*H*,7*H*)-dione [122](#).

3- Cyclisation par une amine primaire.

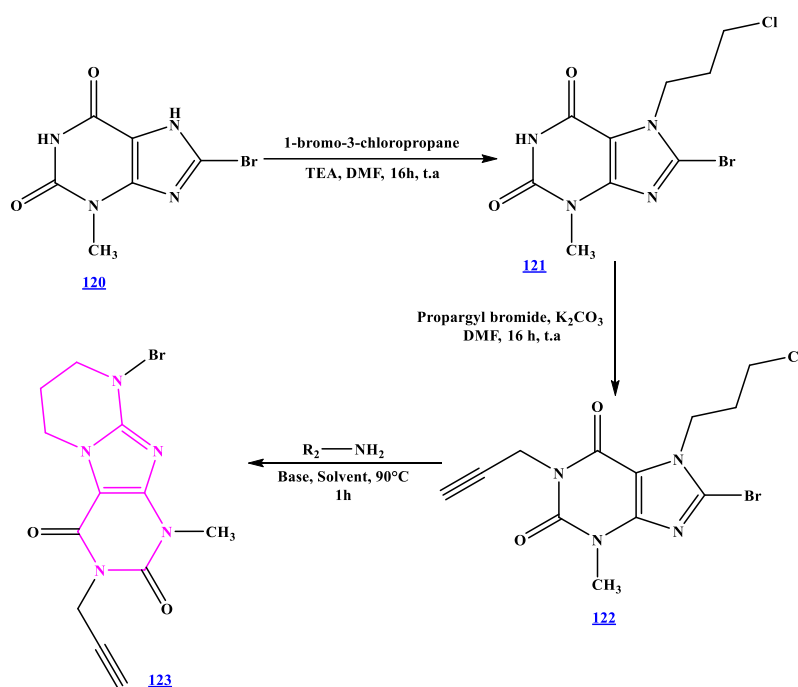
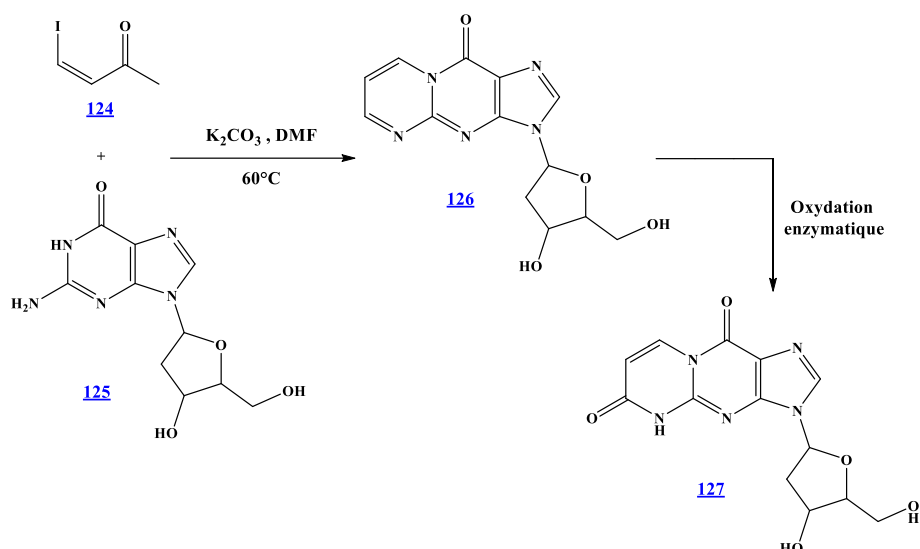


Schéma 23. Synthèse de 1,3-dialkyl-tétrahydropyrimido[1,2-f]purine-2,4-diones

### II.6.2. Synthèse de pyrimido[1,2- $\alpha$ ]purine-10(3*H*)-one

En 2007, une méthode de synthèse efficace de dérivés pyrimido[1,2- $\alpha$ ]purine-10(3*H*)-ones [127](#) a été mise au point par Knutson, C.G et *al.* [42]. Cette réaction est réalisée par addition de 4-iodobut-3-én-2-one [124](#) sur le 2-amino-9-(tétrahydro-4-hydroxy-5-(hydroxyméthyl)furan-2-yl)-1*H*-purin-6(9*H*)-one [125](#) (Schéma 24) suivie d'une oxydation enzymatique.

Schéma 24. Synthèse de pyrimido[1,2- $\alpha$ ]purine-10(3H)-one

### II.6.3. Synthèse de 1-deazapyrimido[1,2,3-cd]purines

En 2017, l'équipe de Muzychkaa, L.V [43] a réalisé la synthèse de 1-deazapyrimido[1,2,3-cd]purines **131** à partir de son précurseur l'acide 7-allyl-4-(dialkylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylique **128** en trois étapes.

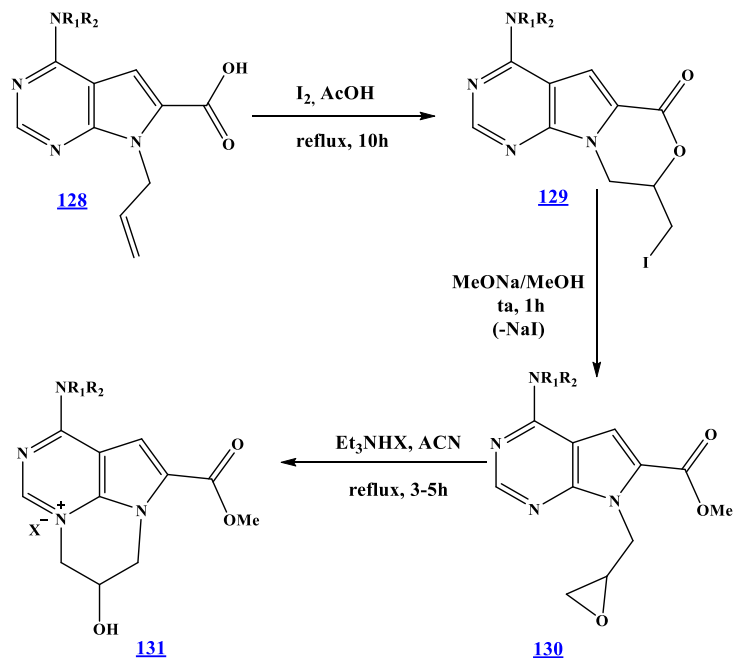


Schéma 25. Synthèse de 1-deazapyrimido[1,2,3-cd]purines

## II.7. Synthèse des pyridazino-purines

### II.7.1. Synthèse de pyridazino[6,1-f]purine et pyridazino[6,1-e]purine par condensation des aminoadénines sur le 2,4-pentandione.

En 1998, Kaiya T et *al* [44] ont montré que la condensation intermoléculaire de 7-aminoadénine [132](#) sur le 2,4-pentandione permet d'accéder aux dérivés pyridazino[6,1-f]purines [133](#). La réaction similaire en utilisant le 9-amino-N6-méthyladénine [134](#) a permis d'obtenir les pyridazino[6,1-e]purines [135](#) (Schéma 26).

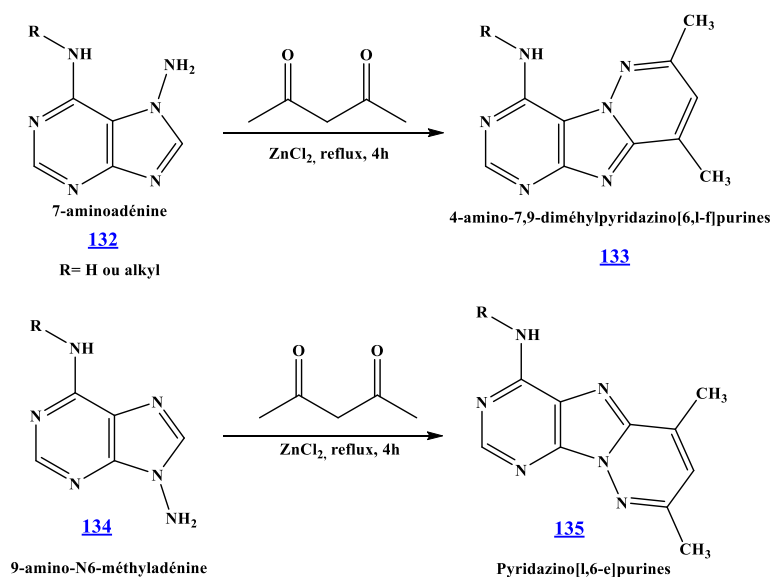


Schéma 26. Synthèse des pyridazino-purines

## Conclusion

Dans cette partie, nous avons exposé un aperçu bibliographique sur les différentes méthodes de synthèse des pyrimidines, purines, pyridazines, pyrimido-pyrimidines, pyrimido-pyridazines, pyrimido-purines et pyridazino-purines. Ces quelques exemples sont nombreux et n'ont cessé de permettre un accès aux différents motifs hétérocycliques.

***PARTIE II***  
***RESULTATS ET DISCUSSION***

## Introduction

Dans cette partie de chapitre, nous allons décrire les différentes voies de synthèse des dérivés hétérocycliques pyrimido-pyrimidines, pyrimido-pyridazines, pyrimido-purines, pyridazino-purines, pyrazolo-pyridazines et isoxasolo-pyridazines.

Deux stratégies de synthèse envisagées pour atteindre ces motifs hétérocycliques. Dans une première stratégie nous allons procéder à la préparation des précurseurs hétérocycliques par condensation d'un aldéhyde aromatique, oxalacétate de sodium et une nucléophile azotée comme l'urée, sulfamide, thiourée, amine primaire, arylamine, hydrazine, phénylhydrazine, hydroxylamine, cytosine, adénine et guanine dans les conditions de la réaction multi-composants de Biginelli [9].

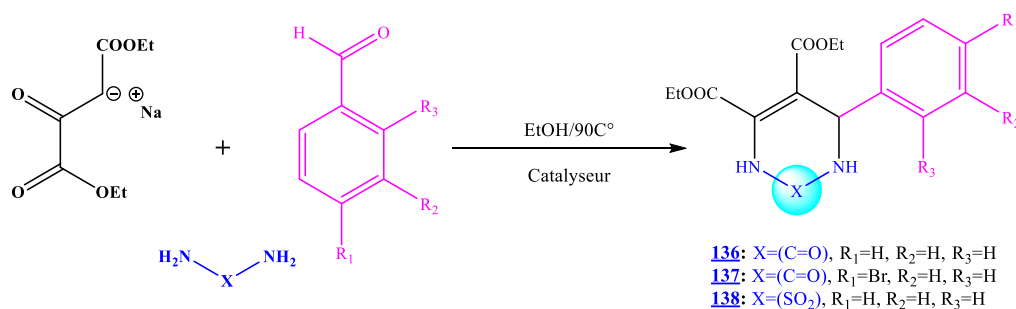
La deuxième stratégie consistera à traiter les produits obtenus par différents agents nucléophiles (arylamine, hydroxylamine, hydrazine et phénylhydrazine).

## I. Synthèse des précurseurs pyrimidiniques issus de la réaction multi-composants de Biginelli

### I.1. Pyrimidine-4,5-dicarboxylates dérivés de l'urée, thiourée et sulfamides

#### I.1.1. Synthèse

L'obtention de diéthyl-6-aryl-2-oxo-pyrimidine-4,5-dicarboxylates est décrite en 2014, par M. A. Kolosovet *al* [46]. La synthèse est réalisée selon la réaction classique de Biginelli par une condensation multi-composants de diéthyl oxalacétate de sodium, l'urée et un aldéhyde aromatique dans l'éthanol (EtOH) en présence d'un catalyseur acide comme l'acide chlorhydrique (HCl). La réaction est maintenue à reflux sous agitation magnétique pendant 3 à 4 heures. La synthèse est représentée dans le schéma réactionnel suivant (**Schéma 27**).



**Schéma 27.** Synthèse de diéthyl-6-aryl-2-oxo-pyrimidine-4,5-dicarboxylates.

L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM). Les diéthyl-6-aryl-2-oxo-pyrimidine-4,5-dicarboxylates [136-138](#) sont recueillis avec des rendements moyens sous forme de solides blancs après purification par recristallisation dans EtOH/H<sub>2</sub>O (50:50) ou par chromatographie sur colonne de gel de silice éluée au (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 95:5). Les résultats obtenus et les caractéristiques physico-chimiques sont consignés dans le tableau 1 ci-dessous.

**Tableau 1.** Caractéristiques physico-chimiques et structurales des diéthyl-6-aryl-2-oxo-pyrimidine-4,5-dicarboxylates [136-138](#)

Réf	1,3-diamine	Aldéhyde	Catalys Temps (h)	Rdt %	IR (Cm <sup>-1</sup> )		RMN <sup>1</sup> H (δ : ppm)		MS ESI (m/z)
					C=O	NH	NH	CHPh	
<a href="#">136</a>	Urée	Benzaldéhyde	HCl/3h	27*	1714	3263	7.94	5.18	319
			SSA/3h	55*	1747		9.92		
<a href="#">137</a>	Urée	4-Br-benzaldéhyde	HCl/8h	56*	1699	3245	7.93	5.14	397
			SSA/3h	58*	1745		9.94		
<a href="#">138</a>	Sulfamide	Benzaldéhyde	HCl/3.5	48*	1695 1721	3107	10.03 12.85	4.89	356
			SSA/3.5	54*	SO <sub>2</sub> 1165 1312				

\*: Rendement en produit pur

Le choix d'un catalyseur acide pour la réaction de Biginelli est très important pour améliorer la réaction. Dans cet objectif et afin d'optimiser les rendements de la réaction, la condensation est effectuée en présence de l'acide *p*-toluènesulfonique ou l'acide silica-sulfurique (SSA) comme catalyseur acide solide.

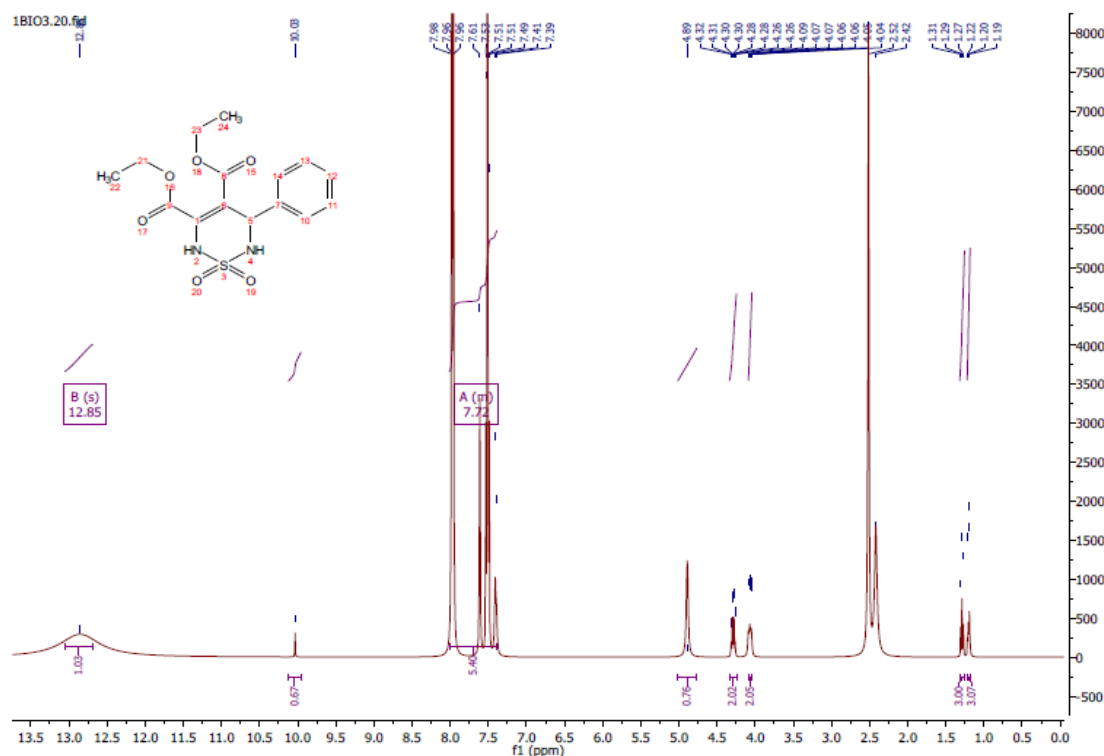
L'analyse des résultats obtenus (**Tableau 1**) montre que les diéthyl-6-aryl-2-oxo-pyrimidine-4,5-dicarboxylates [136-138](#) sont obtenus avec des rendements relativement supérieurs l'or de l'utilisation du SSA comme catalyseur. En effet on observe une amélioration des rendements.

### I.1.2. Caractérisation

Les structures des diéthyl-6-aryl-2-oxo-pyrimidine-4,5-dicarboxylates [136-138](#) obtenus ont été établies par les méthodes spectroscopiques usuelles (IR, RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$ ). Les spectres FT-IR des di(*H*)-pyrimidinones montrent la présence des deux bandes d'absorptions correspondant à la vibration d'élongation des deux fonctions amines NH sur le noyau à 3107 et 3263  $\text{cm}^{-1}$ . Ainsi, les spectres FT-IR sont caractérisés par la présence des bandes d'absorptions vers 1700  $\text{cm}^{-1}$ , caractéristique des groupements (C=O) de la fonction ester et du groupement C=O de la fonction amide en position C2. La présence du noyau aromatique dans les produits obtenus (aldéhydes aromatiques) est clairement mise en évidence par l'apparition des bandes caractéristiques du noyau aromatiques vers 1550-1600  $\text{cm}^{-1}$  et vers 700 et 800  $\text{cm}^{-1}$ . De plus, le spectre IR du composé [138](#) indique la présence de deux bandes caractéristiques du groupement sulfonyle ( $\text{SO}_2$ ) vers 1165 et 1312  $\text{cm}^{-1}$ .

Ainsi, les structures des produits [136-138](#) ont été caractérisées par RMN $^1\text{H}$ , en effet le spectre du diéthyl-6-phényl-2-oxo-pyrimidine-4,5-dicarboxylate [138](#) illustré sur la figure [36](#) montre :

1. Deux protons des deux hétéroatomes N $^1\text{H}$  et N $^3\text{H}$  du cycle pyrimidine résonnent respectivement sous forme de deux singulets à 10.03 ppm et 12.85 ppm.
2. Le signal de CHPh est aussi caractéristique. Ce proton résonne sous forme d'un singulet à 4.89 ppm.
3. Les signaux des protons du groupement ester sont également détectés. Les deux protons des groupements méthylène ( $\text{CH}_2$ ) à 4.09 et à 4.26 ppm sous forme d'un quadruplet avec une constante de couplage  $J = 7.0$  Hz, tandis que les protons des groupements  $\text{CH}_3$  apparaissent sous forme d'un triplet à 1.17 et à 1.22 et ppm.
4. Les protons aromatiques résonnent entre 7.22 et 8.11 ppm sous forme d'un multiplet avec une intégration 5H.



**Figure 36.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **138** (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$  ppm)

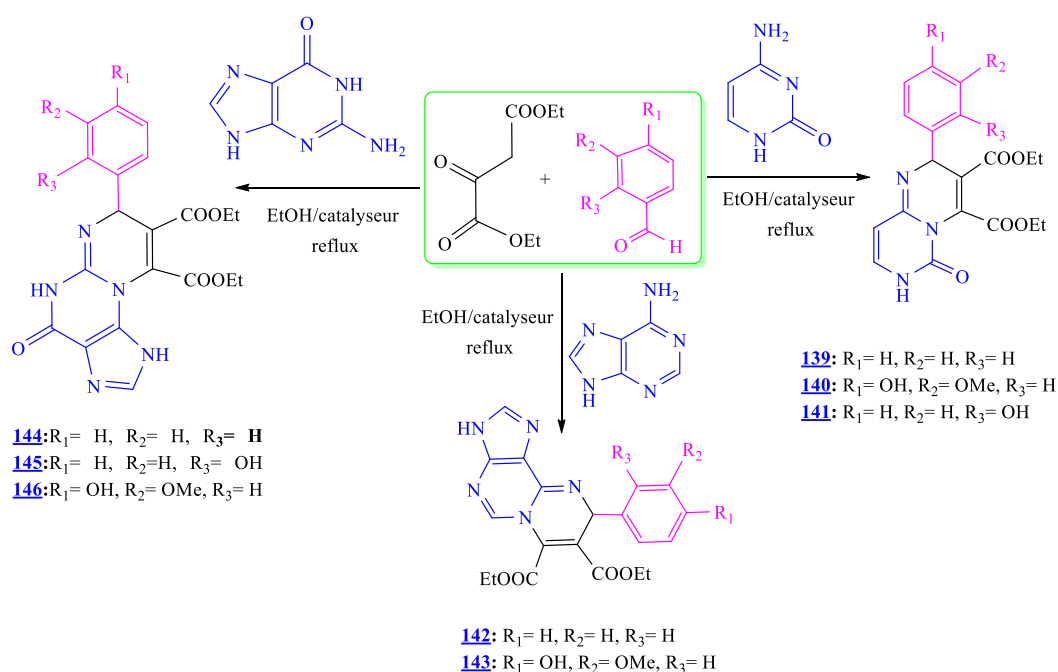
L'analyse RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **138**, confirme sa structure. Dans ce cas, le spectre révèle la présence de tous les signaux caractéristiques. En effet, la présence des deux fonctions esters est confirmée par les deux signaux à 167.66 et 167.76 ppm assignés aux carbones ( $\text{C}=\text{O}$ ) des deux fonctions ester. On note également la présence des signaux vers 14.32 ppm correspondant aux deux groupements méthyle. Ainsi, on observe la présence des signaux des deux groupements méthylènes ( $\text{CH}_2$ ) vers 61.72 et 61.74 ppm.

## I.2. Synthèse et caractérisation de nouveaux Pyrimido-pyrimidines et pyrimido-purines dérivés de nucléobases :

Dans le but de synthétiser de nouveaux composés hétérocycliques et poly-hétérocycliques à visée thérapeutique, nous avons tenté d'élargir la réaction de Biginelli en utilisant d'autres nucléophiles azotés. Pour ce faire, nous avons choisi les nucléobases (l'adénine, la guanine et la cytosine) caractérisées par un groupement amino ( $\text{NH}_2$ ). Ces trois motifs hétérocycliques n'ont jamais été utilisé comme dérivés 1,3-diamines dans la réaction multi-composants de Biginelli.

### I.2.1.Synthèse

L'accès aux nouveaux dérivés pyrimido-pyrimidines et pyrimido-purines a eu lieu dans les mêmes conditions expérimentales utilisées dans la réaction de Biginelli. La stratégie proposée s'articule autour de séquences réactionnelles représentées dans le schéma 28 ci-dessous. La réaction est réalisée par condensation multi-composants d'oxalacétate de sodium, un aldéhyde aromatique et une nucléobase (adénine, guanine ou cytosine) aux reflux dans l'éthanol pendant 3 heures en présence d'un catalyseur acide (2 gouttes de HCl *conc.*, ou acide *p*-toluènesulfonique ou 10 mol% d'acide Silica sulfurique (SSA) comme catalyseur hétérogène).



**Schéma 28.** Pyrimido-pyrimidines et pyrimido-purines dérivés des nucléobases

Lorsque les produits de départ sont totalement consommés (réactions suivies par CCM), le mélange réactionnel est versé sur de l'eau glacée tout en agitant. Ensuite, le mélange est acidifié par H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> jusqu'à pH=2. Les nouveaux dérivés poly-hétérocycliques sont obtenus sous forme de solides blancs avec des rendements moyens soit par recristallisation dans l'éthanol ou par purification sur une colonne de gel de silice avec comme éluant le mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (99:1).

La cytosine a permis d'obtenir les pyrimido[1,6-a]pyrimidine-3,4-dicarboxylates **139-141** avec des rendements entre 41% et 55%. Pour l'adénine, la condensation a permis

d'obtenir les pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylates [142-143](#). L'utilisation de la guanine comme 1,3-diamines a donné également les pyrimido[2,1-e]purine-8,9-dicarboxylates [144-146](#).

Les rendements et les caractéristiques physico-chimiques des composés finaux obtenus après purification sont répertoriés dans le tableau suivant.

**Tableau 2.** Conditions et caractéristiques physico-chimiques

Comp	1,3-diamine	Aldéhyde	Catalyseur	Temps (h)	Rdt %	Tf (°C)	MS ESI (m/z)	
<a href="#">139</a>	Cytosine	Benzaldéhyde	HCl <i>conc.</i>	3	48	135–137	370	
			SSA	3	53			
<a href="#">140</a>		Vaniline	Salicylaldéhyde	TsOH	3	48	160	416
				SSA	3	52		
<a href="#">141</a>		Salicylaldéhyde	Benzaldéhyde	HCl <i>conc.</i>	3	41	203	387
				SSA	3	55		
<a href="#">142</a>	Adénine	Benzaldéhyde	HCl <i>conc.</i>	3	51	105–107	394	
			SSA	3	54			
<a href="#">143</a>		Vaniline	Benzaldéhyde	HCl <i>conc.</i>	3	43	78–80	440
				SSA	3	57		
<a href="#">144</a>		Guanine	Benzaldéhyde	TsOH	5	33	384	410
				SSA	5	41		
<a href="#">145</a>	Vaniline		Salicylaldéhyde	HCl <i>conc.</i>	5	46	378	455
				SSA	5	50		
<a href="#">146</a>	Salicylaldéhyde		Benzaldéhyde	HCl <i>conc.</i>	5	39	346	426
				SSA	5	45		

**Tableau 3.** Caractéristiques structurales en IR.

IR(Cm <sup>-1</sup> )	Réf	<a href="#">139</a>	<a href="#">140</a>	<a href="#">141</a>	<a href="#">142</a>	<a href="#">143</a>	<a href="#">144</a>	<a href="#">145</a>	<a href="#">146</a>
	C=O	1742	1660	1712	1742	1704	1693	1665	1692
		1710	1740	1684	1710	1691	1693	1692	1692
	C=N	1671	1587	1602	1668	1664	1660	1558	1663
NH	3253	3163	3424	3208	3163	3193	3101	3286	

Sur la base de ces résultats, nous pouvons dire que la condensation de Biginelli est étroitement liée au catalyseur acide utilisé, et que le rendement de cette réaction varie selon la nature du catalyseur (HCl *conc.*, *p*-TsOH ou SSA). Dans ce cas, l'utilisation d'acide solide (SSA) comme catalyseur hétérogène reste une alternative privilégiée par ses conditions opératoires, la sélectivité et la simplicité de mise en œuvre de ce catalyseur, ainsi que la facilité de séparation des produits.

L'analyse des résultats obtenus (**Tableau 2**) montre également que les rendements des pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylates [142-143](#) dérivés de l'adénine sont supérieurs que ceux des dérivés de la cytosine [139-141](#) et de la guanine [144-146](#). Cela peut être dû à l'absence du groupement carbonyle dans la structure de l'adénine.

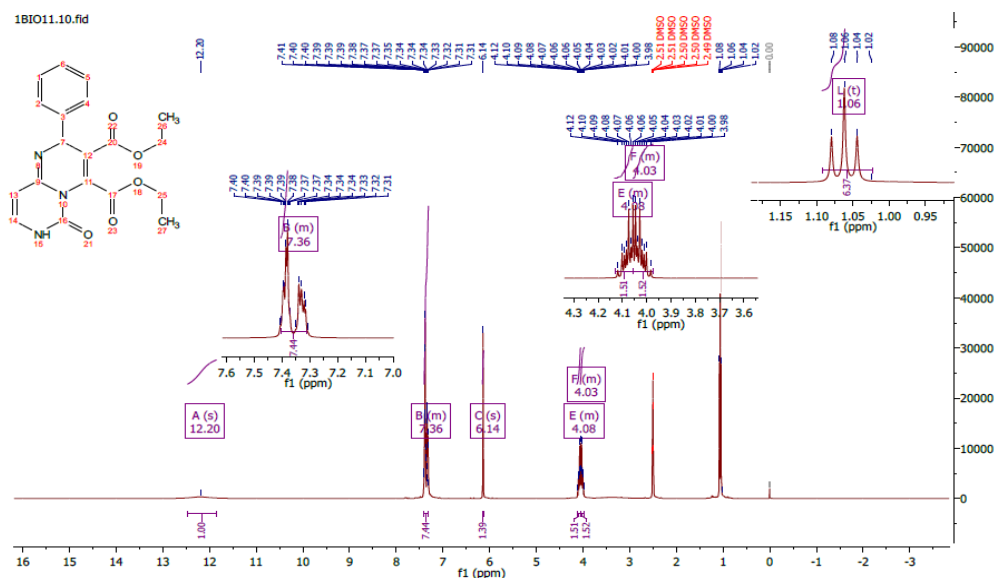
### I.2.2. Caractérisation

Les structures des pyrimido[1,6-a]pyrimidine-3,4-dicarboxylate [139-141](#), pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylate [142-143](#), et pyrimido[2,1-e]purine-8,9-dicarboxylate [144-146](#) ont été déterminées à l'aide des méthodes spectroscopiques usuelles (IR, RMN<sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C, IR et spectrométrie de masse).

#### I.2.2.1. Caractérisation des pyrimido[1,6-a]pyrimidine-3,4-dicarboxylate [139-141](#)

L'analyse des spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN <sup>1</sup>H) des dérivés de la cytosine [139-141](#) (**Tableau 4**) montre en particulier la présence d'un signal singulet dans l'intervalle 3.18-6.14 ppm d'intégration 1H attribué au groupement CH lié à un groupement phényle.

Pour les deux fonctions esters, les protons des deux groupements méthylène (CH<sub>2</sub>) apparaissent vers 4.03-4.31 ppm sous forme de deux quadruplets, et ceux des groupements méthyle (CH<sub>3</sub>) sous forme de deux triplets dans l'intervalle 1.01-1.29 ppm. Un signal sous forme d'un singulet entre 8.89 et 12.2 ppm assigné au groupement NH amide du cycle pyrimidine. En effet, les deux protons éthyléniques (CH=CH) résonnent comme deux doublets vers 7.30 ppm.



**Figure 37.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **139** (400 MHz ; DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)

**Tableau 4 :** Caractérisation RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ) des dérivés de cytosine **139-141**

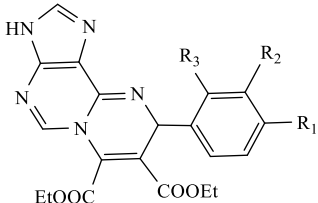
		RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)				
		NH (s)	Ar	CH-Ph	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>139</b>	R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> = H	12.2	7.31-7.41	6.14	4.03 4.08	1.01 1.06
<b>140</b>	R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = OMe, R <sub>3</sub> = H	8.92	7.20-7.81	5.87	4.03 4.05	1.10 1.15
<b>141</b>	R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> = OH	8.89	7.47-8.02	3.18	4.03 4.31	1.18 1.29

Pour les deux composés **140** et **141**, on révèle en particulier la présence de deux signaux caractéristiques vers 10.05 et 11.48 ppm assignés aux protons des groupements hydroxy (OH) phénolique. En RMN $^{13}\text{C}$ , tous les signaux attendus des carbones sont détectés. On observe en particulier les signaux attribués aux carbonyles (C=O) des esters vers 160 ppm. Concernant les spectres infrarouges des dérivés **139-141** (**Tableau 3**) nous pouvons citer, la présence des bandes d'absorptions correspondant à la vibration d'élongation des fonctions C=O à 1700  $\text{cm}^{-1}$ . Ainsi, condensation se traduit par la présence d'une bande vers 3300  $\text{cm}^{-1}$ , absorption caractéristique de la fonction (NH).

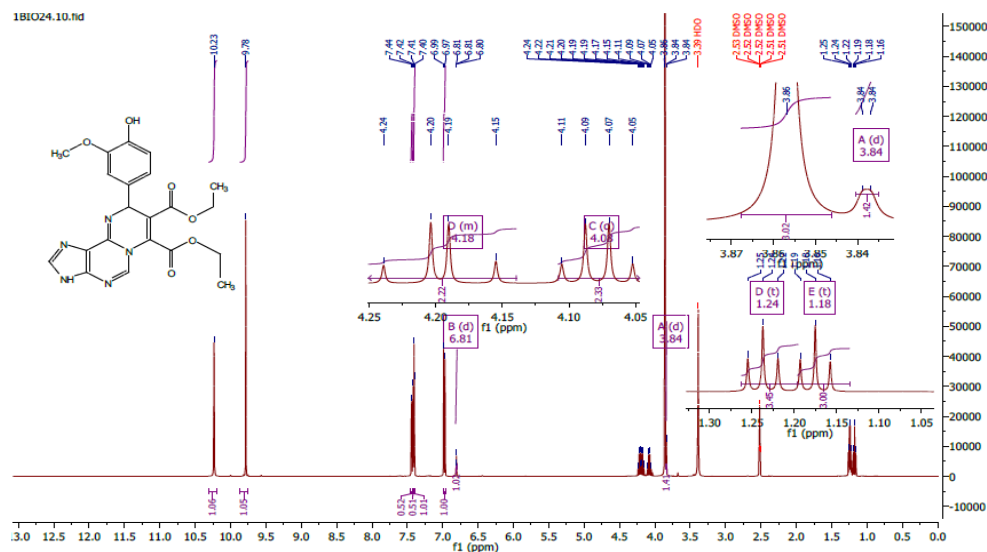
### I.2.2.2. Caractérisation pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylate [142-143](#)

Les structures des pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylate [142-143](#) ont été confirmés sans difficulté par leurs spectres en RMN  $^1\text{H}$  et les résultats spectroscopiques sont rassemblés dans le tableau 5 suivant.

**Tableau 5 :** Caractérisation RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ) des dérivés de l'adénine [142-143](#)

		RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)				
		NH	Ar	CHPh	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
<a href="#">142</a>	R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> = H	12.19	7.30-7.44	6.14	4.08 4.16	1.16 1.24
<a href="#">143</a>	R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = OMe, R <sub>3</sub> = H	10.23	6.98-7.44	6.81	4.08 4.20	1.22 1.23

Dans la structure des pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylate [142-143](#), les deux protons éthyléniques des noyaux imidazole et pyrimidine apparaissent sous forme de deux singulets à 8.12 ppm et 7.65 ppm (*cf.* **Tableau 5**). Les deux méthylènes des deux fonctions esters résonnent sous forme de quadruplets vers 4 ppm. Les deux méthyles des esters sortent vers 1.20 ppm. Les deux signaux des protons amine NH et CHPh sont aussi significatifs. Le signal du CHPh est un singulet vers 6 ppm, ceux des NH apparaissent à 10.23 et 12.19 ppm. Les spectres IR des pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylate [142-143](#) obtenus présentent tous les bandes caractéristiques des fonctions esters vers 1700  $\text{cm}^{-1}$ . On observe également deux bandes intenses caractéristiques, noyau aromatique vers 1550-1600  $\text{cm}^{-1}$  et vers 700 et 800  $\text{cm}^{-1}$ . La présence du groupement NH dans les deux dérivés [142-143](#) est caractérisée par une bande d'absorption NH vers 3208 et 3163  $\text{cm}^{-1}$  (*cf.* **Tableau 3**).



**Figure 38.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **143** (400 MHz ;  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$  ppm)

### I.2.2.3. Caractérisation des pyrimido[2,1-e]purine-8,9-dicarboxylates **144-146**

La structure de ces dérivés de la guanine a été élucidée par les méthodes spectroscopiques usuelles (RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , IR et spectrométrie de masse).

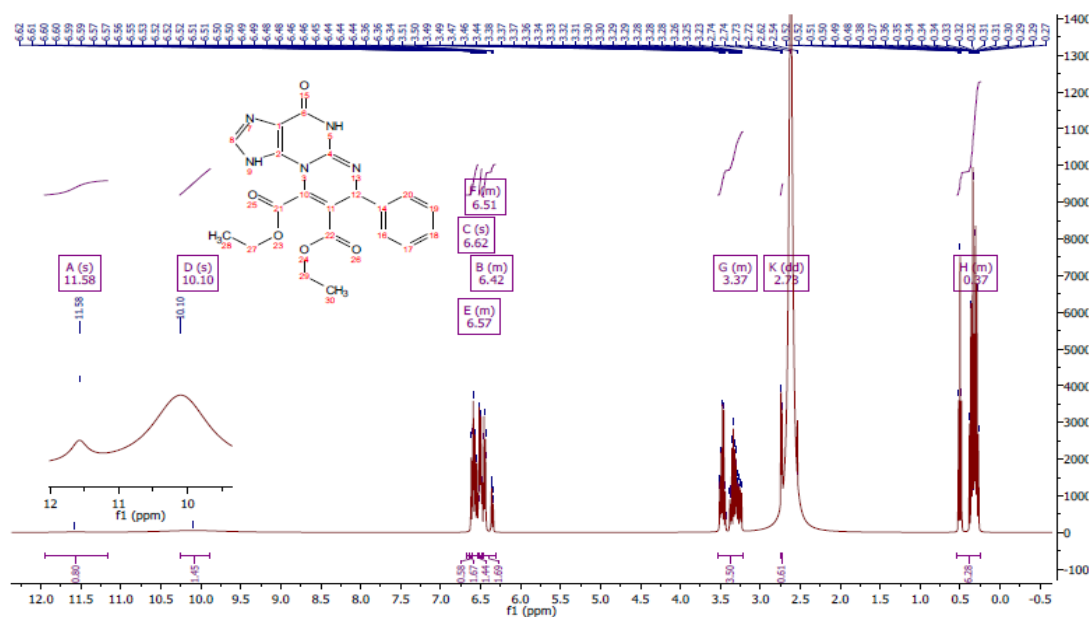
**Tableau 6 :** Caractérisation RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) des dérivés de guanine **144-146**

		RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)				
		NH	HAr	CHPh	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>144</b>	$\text{R}_1 = \text{H}, \text{R}_2 = \text{H}, \text{R}_3 = \text{H}$	10.10 11.58	6.32-6.62	2.73	3.31 3.48	0.22 0.57
<b>146</b>	$\text{R}_1 = \text{H}, \text{R}_2 = \text{H}, \text{R}_3 = \text{OH}$	10.53 11.38	7.09-7.76	4.39	4.02 4.20	1.14 1.20

Les spectres RMN du proton des pyrimido[2,1-e]purine-8,9-dicarboxylates **144-146**, enregistrés en solution dans le  $\text{DMSO-}d_6$  avec le TMS comme référence interne (cf. **Tableau 6**), sont caractérisé par :

1. La présence d'un singulet vers 8.76 ppm attribué au proton éthylénique du noyau imidazole, c'est-à-dire celui du groupement  $\text{CH}=\text{N}$ .
2. La présence d'un quadruplet à 4.02 et un système AB à 4.20 ppm intégrant 2H que l'on peut attribuer aux groupements méthylènes liés à l'oxygène ( $\text{OCH}_2$ ) des fonctions

esters. Ainsi, la présence de deux groupements  $\text{CH}_3$  apparaissent sous forme de deux triplets vers à 1.14 et 1.20ppm.



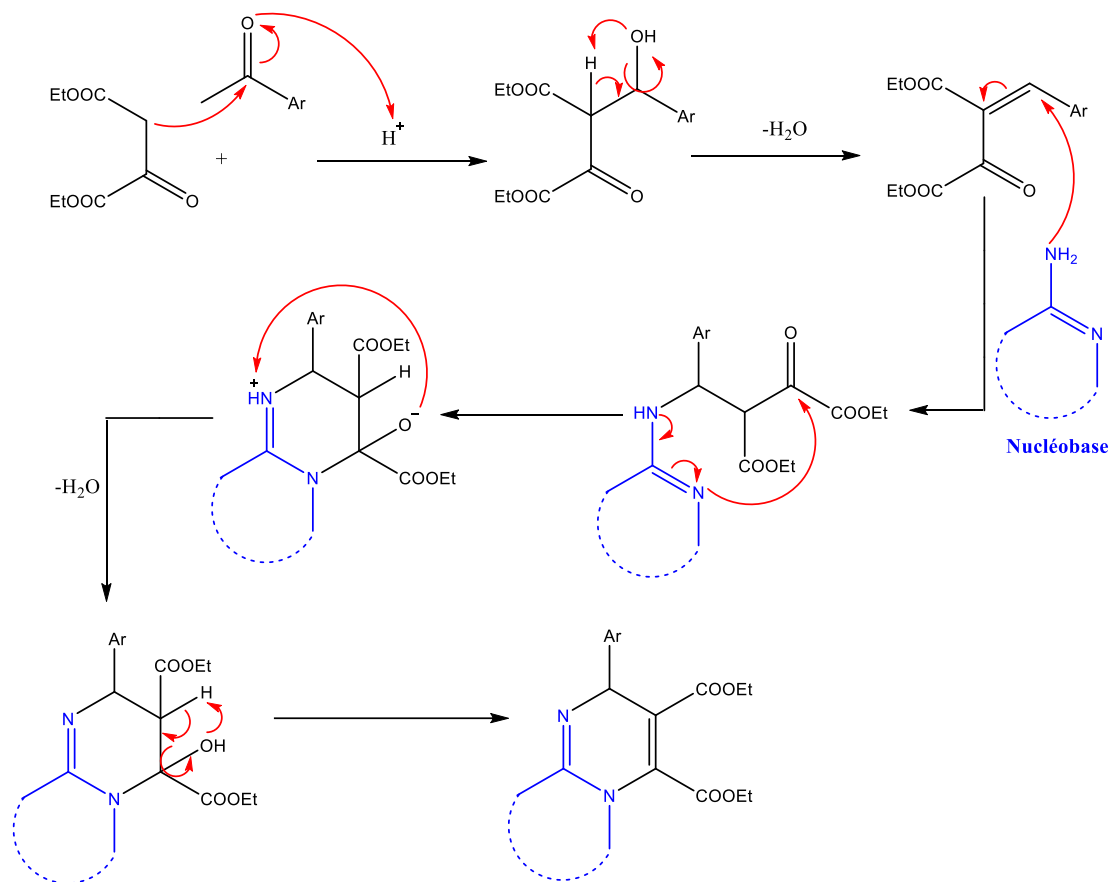
**Figure 39.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé [144](#) (400 MHz ;  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$  ppm)

De plus, l'analyse des spectres RMN  $^{13}\text{C}$  enregistrés dans le  $\text{DMSO-}d_6$  de ces dérivés hétérocycliques montrent tous les signaux attendus pour les motifs pyrimido[2,1-e]purine-8,9-dicarboxylates. La présence de deux signaux caractéristiques à 162.37 ppm et 166.45 ppm correspondant aux deux groupements carbonyles ( $\text{C}=\text{O}$ ) de deux fonctions esters et un signal à 160.24 ppm assigné au carbonyle ( $\text{C}=\text{O}$ ) de la fonction amide. Outre ces trois signaux des carbonyles, tous les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  présentent les signaux des carbones aromatiques du groupement phényle et aliphatiques des groupements  $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$ .

La spectrométrie de masse, réalisée en mode d'ionisation électro-spray, confirme les structures des produits pyrimido[2,1-e]purine-8,9-dicarboxylates [144-146](#) souhaités par la présence des signaux de deux formes cationiques à  $m/z=[\text{M}+\text{H}]^+$  et  $m/z=[\text{M}+\text{Na}]^+$  (**Tableau 2**). En supplément, la spectroscopie infrarouge permet de prouver la présence des groupements esters ( $\text{COOEt}$ ) dans ces produits. Tous les spectres présentent, à côté des absorptions spécifiques du cycle aromatique, des absorptions très intenses dues à la vibration du groupement  $\text{C}=\text{O}$  vers  $1700\text{ cm}^{-1}$ . Pour les dérivés de la vanilline et la salycialdéhyde [145](#) et [146](#), on observe des signaux vers  $3471\text{-}3314\text{ cm}^{-1}$  qui peuvent être attribués aux groupements  $\text{OH}$  phénoliques de la fonction aryl. Tous les spectres

IR sont caractérisés aussi par deux bandes successives correspondantes à l'élongation de la liaison N-H des noyaux pyrimidine et imidazole qui apparaissent vers  $3100\text{ cm}^{-1}$ .

Le mécanisme prévu pour la condensation des nucléobases avec l'oxalacétate de sodium et un aldéhyde aromatique est illustré dans le schéma 29.



**Schéma 29.** Mécanisme proposé pour la synthèse de Pyrimido-pyrimidines et pyrimido-purines dérivés de nucléobases.

### I.3. Synthèse de Pyrazole-3,4-dicarboxylates et Isoxazole-3,4-dicarboxylates

Les pyrazoles et les isoxazoles sont des pharmacophores largement étudiés en chimie médicinale et ont fait l'objet de nombreuses études ces dix dernières années [47-48]. Ces noyaux sont présents dans la structure de nombreux dérivés hétérocycliques et poly-hétérocycliques biologiquement actifs [49-50].

Dans l'objectif de synthétiser des composés hétérocycliques à visées thérapeutiques, nous nous sommes intéressés dans cette partie de travail à étendre notre méthodologie basée sur la réaction multicomposants de Biginelli à la synthèse de nouveaux motifs

hétérocycliques. En effet, l'utilisation des conditions décrites précédemment pour la synthèse des pyrimidines permet l'accès aux dérivés de pyrazole et isoxazole.

La méthodologie que nous avons choisie consiste à remplacer l'urée par l'hydrazine, le phénylhydrazine ou l'hydroxylamine dans la réaction multi-composants de Biginelli [9].

### I.3.1. Synthèse

Nous avons appliqué la même stratégie précédente pour la synthèse de nouveaux dérivés de pyrazole et isoxazole. La condensation de diéthylmalonate de sodium avec un aldéhyde aromatique et une nucléophile azoté tel que l'hydrazine ou hydroxylamine conduit respectivement aux pyrazole-3,4-dicarboxylates [150-155](#) et isoxazole-3,4-dicarboxylates [156-158](#) (Schéma 30).

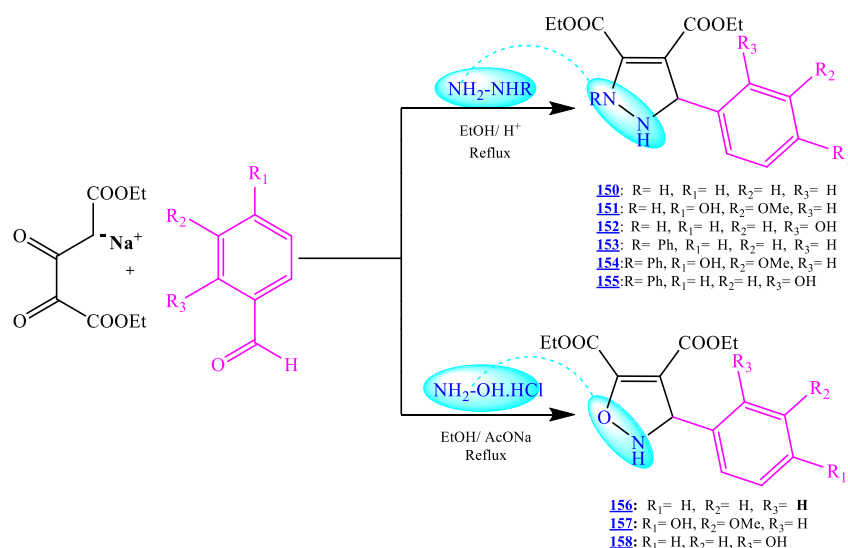


Schéma 30. Synthèse des pyrazoles et isoxazoles.

La réaction est effectuée à reflux sous agitation magnétique dans l'éthanol ou l'acide acétique en présence d'un catalyseur acide ou basique. Toutes les réactions ont été suivies par CCM. Au bout de trois heures d'agitation, la CCM révèle la formation d'un nouveau produit. Le solvant est évaporé sous vide et le résidu est repris par le dichlorométhane comme solvant d'extraction. La phase organique est séparée puis lavée à l'eau jusqu'à pH neutre, elle est ensuite séchée par MgSO<sub>4</sub> ou CaCl<sub>2</sub> puis évaporée sous vide. Les dérivés sont recueillis après purification sur colonne de gel de silice éluée avec le mélange acétate d'éthyle-n-hexane (80:20) sous forme de poudre ou huile avec des bons rendements (Tableau 7).

**Tableau 7.** Caractéristiques physico-chimiques et structurales des Pyrazole-3,4-dicarboxylates [150-155](#) et Isoxazole-3,4-dicarboxylates [156-158](#).

Réf	R, R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> , R <sub>3</sub>	Solvent /Catlys	Temps	T <sub>r</sub> °C	Rdt%	IR (Cm <sup>-1</sup> )		
						NH	C=O	C=C
<a href="#">150</a>	R= H, R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> =H	AcOH	30 min	140	43	3651 3749	1717 1623	1505
<a href="#">151</a>	R= H, R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = OMe, R <sub>3</sub> = H	AcOH	30 min	102	78	3589 3568	1715 1699	1558
<a href="#">152</a>	R= H, R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> = OH	AcOH	30 min	114	50	3570 3652	1618 1570	1483
<a href="#">153</a>	R= Ph, R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> =H	EtOH/H <sup>+</sup>	3h	192	41	3312	1602 1591	1441
<a href="#">154</a>	R= Ph, R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = OMe, R <sub>3</sub> = H	EtOH/H <sup>+</sup>	3h	203	57	3222	1651 1596	1499
<a href="#">155</a>	R= Ph, R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> = OH	EtOH/H <sup>+</sup>	3h	189	44	3317	1600 1565	1487
<a href="#">156</a>	R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> =H	EtOH/AcO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup>	3h	Huile	49	3310	1796 1691	1448
<a href="#">157</a>	R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = OMe, R <sub>3</sub> = H	EtOH/AcO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup>	3h	128	63	3476	1720 1566	1508
<a href="#">158</a>	R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> = OH	EtOH/AcO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup>	3h	85-87	55	3273	1709 1631	1451

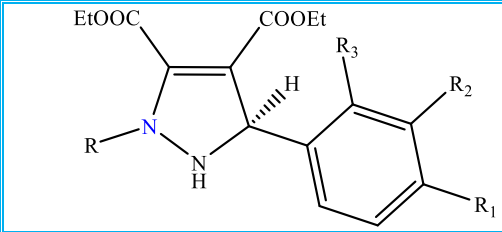
### I.3.2. Caractérisation

Les structures des composés obtenus, ont été établies sur la base des données spectrales : RMN<sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C, FT-IR et spectrométrie de masse.

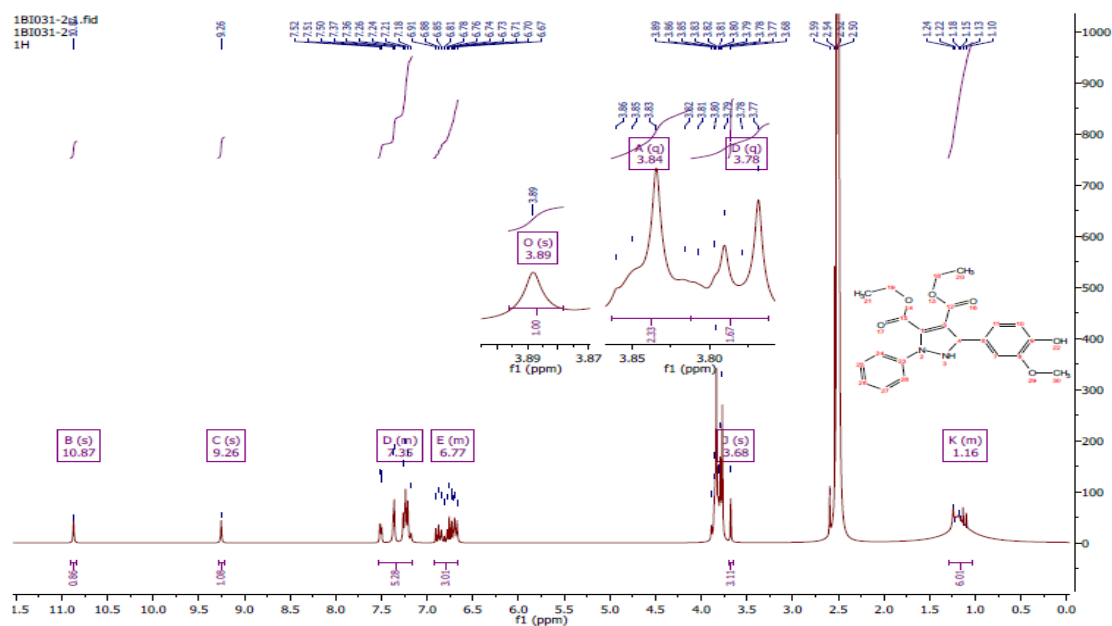
#### I.3.2.1. Caractérisation des Pyrazole-3,4-dicarboxylates [150-155](#)

La spectroscopie Infrarouge montre que tous les composés synthétisés présentent plusieurs bandes d'absorption caractéristiques. La bande qui sort vers 3222-3652 cm<sup>-1</sup> est caractéristique à la liaison (NH). La présence de deux bandes successives attribuées aux deux groupements carbonyles (C=O) qui apparaissent respectivement vers 1600-1796 cm<sup>-1</sup> et 1565-1699 cm<sup>-1</sup>. Une autre bande caractéristique au groupement (C=C) a été observée vers 1441-1558 cm<sup>-1</sup>. Pour les dérivés synthétisés par le salicylaldéhyde et vaniline, leurs spectres montrent la présence d'une autre bande intense vers 3580-3749 cm<sup>-1</sup>, caractéristique du groupement hydroxy (OH).

**Tableau 8 :** Données spectrale en RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ) de Pyrazole-3,4-di-carboxylates [150-155](#)

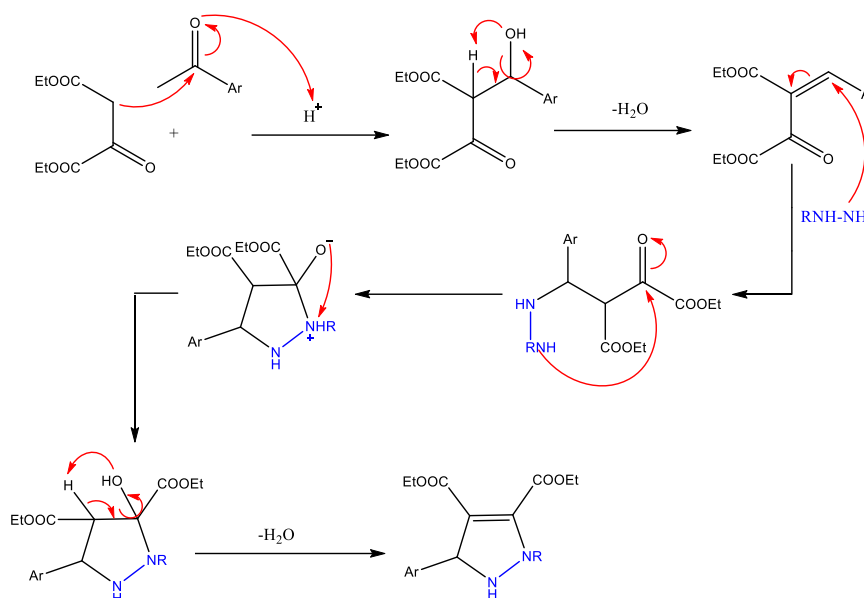
		RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)				
		NH	Ar	CHPh	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
<a href="#">150</a>	R= H, R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> =H	8.73 5.52	7.17- 7.52	4.89	4.20 4.30	1.17 1.28
<a href="#">151</a>	R= H, R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = OMe, R <sub>3</sub> = H	8.58 6.43	6.87- 7.46	5.76	4.08 4.23	1.20 1.29
<a href="#">152</a>	R= H, R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> = OH	9.01 5.17	6.96- 7.70	4.29	3.90 4.13	1.15
<a href="#">154</a>	R= Ph, R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = OMe, R <sub>3</sub> = H	9.26	6.73- 7.51	3.89	3.78 3.84	1.15 1.21

L'analyse de différents produits obtenus, en RMN du proton (**Tableau 8**) enregistrés dans le DMSO- $d_6$  à températures ambiante, montre que nous avons obtenus les dérivés cycliques Pyrazole-3,4-di-carboxylates. La formation de ces dérivés est caractérisée par la présence des signaux caractéristiques des deux fonctions esters. Deux groupements méthylènes CH<sub>2</sub> sous forme de deux quadruplets vers 4.08-4.23 ppm et deux groupements méthyles CH<sub>3</sub> sous forme de deux triplets vers 1.10-1.24 ppm. On remarque aussi que le proton lié au groupement phényle CHPh apparaît vers 3.89 ppm. Le signal du proton amine (NH) résonne vers 9.26 ppm.



**Figure 40.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé [154](#) (300 MHz ; DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)

Le mécanisme prévu pour la synthèse de pyrazole-3,4-dicarboxylates est illustré dans le schéma 31.



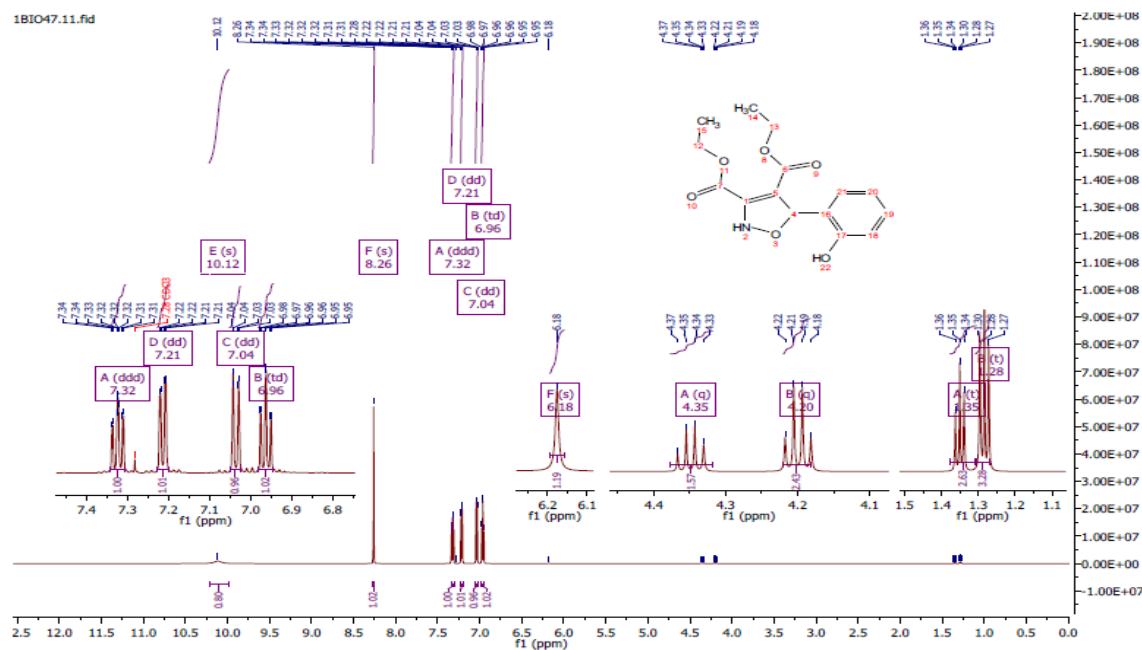
**Schéma 31.** Mécanisme proposé pour la synthèse de Pyrazole-3,4-dicarboxylates

### I.3.2.2. Caractérisation des Isoxazole-3,4-dicarboxylates [156-158](#)

En RMN du proton (**Tableau 9**), on observe la présence d'un singulet déblindé et intégrant pour un proton échangeable vers 8.26 ppm montre bien la présence du groupement NH. De plus, un singulet pour le proton du cycle isoxazole (**CHPh**) qui résonne à 6.18 ppm. Nous avons remarqué aussi en RMN du proton la présence de deux fonctions esters caractérisés par la présence de deux groupements méthylène (**CH<sub>2</sub>**) vers 4.20-4.35 ppm sous formes de quadruplets et deux groupements méthyle (**CH<sub>3</sub>**) vers 1.28-1.35 ppm sous formes de triplets.

**Tableau 9 :** Données spectrale en RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) des Isoxazole-3,4-dicarboxylates [156-158](#)

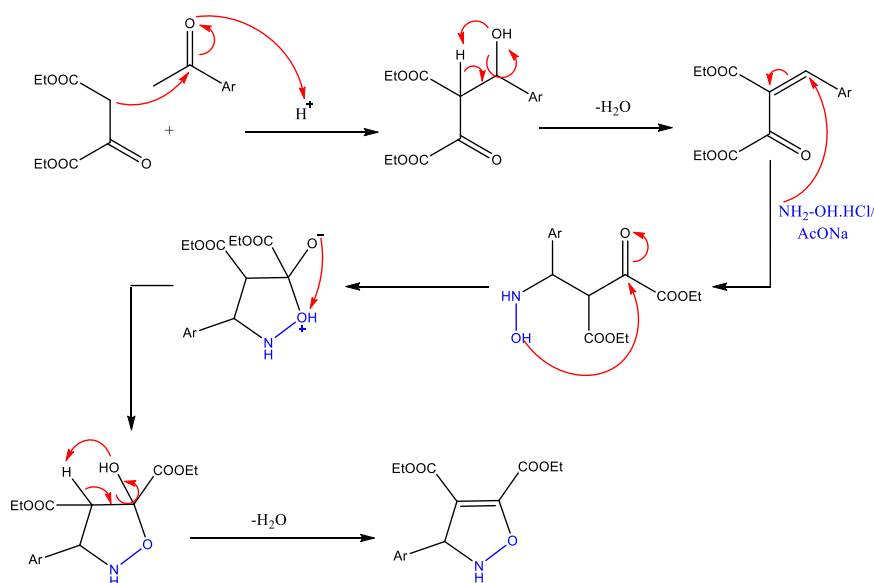
	Structure	RMN <sup>1</sup> H (δ : ppm)				
		NH	Ar	CHPh	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
<a href="#">156</a>	R= H, R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> =H	8.76	7.47 -8.10	6.02	4.23-4.36	1.20-1.26
<a href="#">157</a>	R= H, R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = OMe, R <sub>3</sub> = H	8.56	7.04 -7.62	6.11	4.48	1.44 -1.48
<a href="#">158</a>	R= H, R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> = OH	8.26	6.96-7.32	6.18	4.20-4.35	1.28-1.35



**Figure 41.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **158** (600 MHz ;  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm)

Outre l'analyse spectroscopique de RMN $^1\text{H}$ , les données spectrales en IR des produits synthétisés confirment les structures attribuées aux composés Isoxazole-3,4-dicarboxylates par la présence des deux bandes d'absorption vers  $1700\text{ cm}^{-1}$  attribuables aux groupements  $\text{C}=\text{O}$  des esters. De plus, tous les spectres sont caractérisés par une bande correspondante à la fonction amine (NH) apparaissant vers  $3310\text{-}3476\text{ cm}^{-1}$ .

Le mécanisme prévu pour la synthèse de isoxazole -3,4-dicarboxylates est illustré dans le schéma **32**.



**Schéma 32.** Mécanisme proposé pour la synthèse de Isoxazole-3,4-dicarboxylates

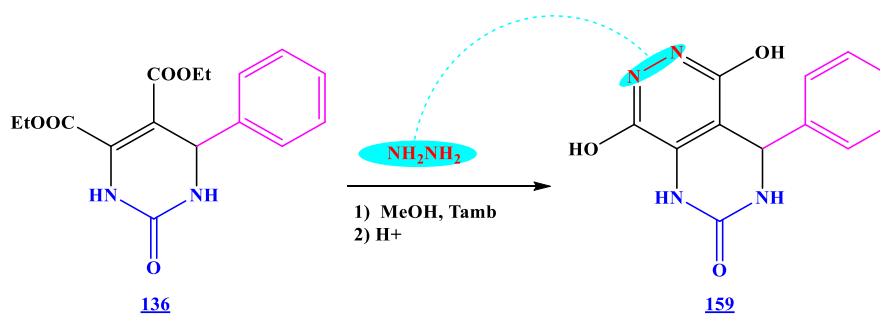
## II. Synthèse de nouveaux dérivés poly-hétérocycliques (pyrimido[4,5-d]pyridazines, pyrimido-pyrimido-pyridazines et pyrimido-pyridazino-purines).

Les précurseurs issus de la réaction multi-composants de Biginelli de type pyrimidine-dicarboxylates [139-158](#), laissent entre voir la possibilité de plusieurs transformations ultérieures pouvant conduire à la formation de nouveaux composés poly-hétérocycliques mais aussi s'avérer être un atout sur les plans chimique et biologique. En effet, la présence des deux fonctions esters (COOEt) vicinaux dans la structure des dérivés synthétisés permet d'effectuer plusieurs transformations chimiques par condensation avec les nucléophiles.

### II.1. Synthèse et caractérisation du motif 5,8-dihydroxy-4-arylpymido[4,5-d]pyridazin-2(1H)-one à partir de diéthyl pyrimidin-2(H)-one-4,5-dicarboxylique.

#### II.1.1. Synthèse

Le traitement de diéthylpyrimidin-2(H)-one-4,5-dicarboxylate [136](#) avec un excès d'hydrazine hydratée (20 équiv) dans le MeOH à température ambiante conduit à la formation de 5,8-dihydroxypyrimido[4,5-d]pyridazine [159](#). La réaction implique la double condensation de l'hydrazine sur les deux groupements esters de diéthylpyrimidin-2(H)-one-4,5-dicarboxylate avec élimination de deux molécules d'EtOH (**Schéma 33**).



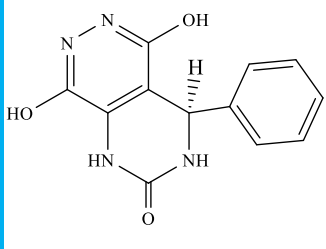
**Schéma 33.** Synthèse de pyrimido-pyridazine.

Après acidification par l'acide phosphorique (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), le composé [159](#) est isolé pure par filtration avec un rendement de 90%.

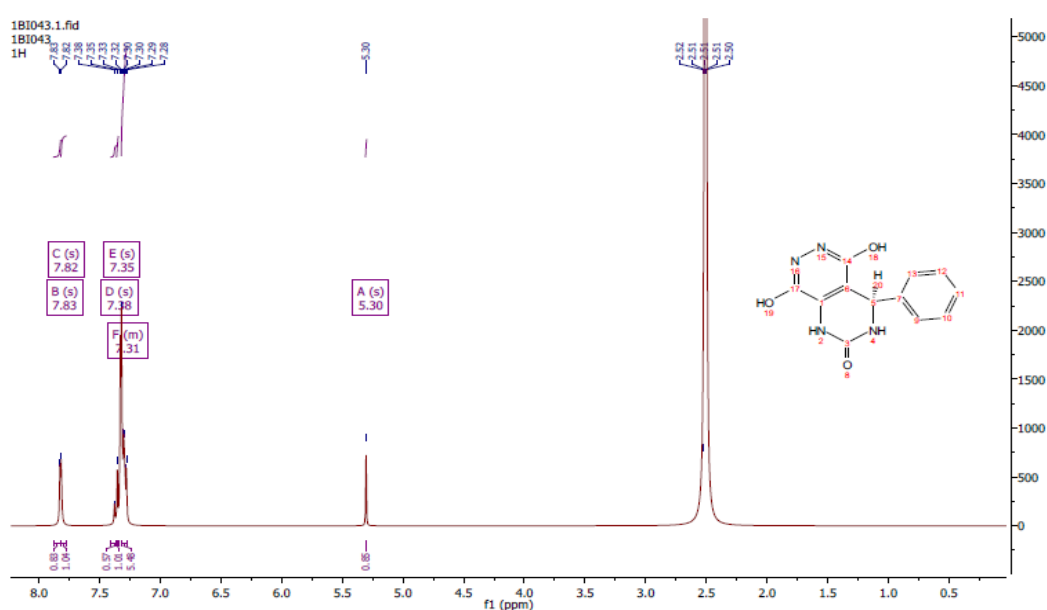
#### II.1.2. Caractérisation

La caractérisation des 5,8-dihydroxypyrimido[4,5-d]pyridazine [159](#) a été effectuée par les méthodes spectroscopiques usuelles (FT-IR, RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C, spectrométrie de masse et l'analyse élémentaire CHN).

**Tableau 10.** Données spectrale en IR et RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) de 5,8-dihydroxy-pyrimido[4,5-d]pyridazine **159**

<b>159</b>		IR ( $\text{cm}^{-1}$ )		RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)				
		OH	C=N	NH	Ar	CHPh	OH	OH
		2677 - 3344	1507 - 1601	7.35 7.38	7.31	5.30	7.82	7.83

L'analyse du spectre RMN du proton, dans le  $\text{DMSO-}d_6$ , montre la disparition des signaux caractéristiques des groupements  $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$  des deux fonctions esters et l'apparition de deux singulets à 7.82 et 7.83 ppm caractéristiques des groupements OH. De plus la spectroscopie infrarouge permet de prouver la présence du groupement hydroxy (OH) dans ce produit. Le spectre présente, à côté de l'absorption spécifique du groupement  $\text{C=O}$  vers  $1692 \text{ cm}^{-1}$ , deux absorptions très intenses dues à la vibration du groupement OH entre  $\nu = 2677 \text{ cm}^{-1}$  et  $\nu = 3344 \text{ cm}^{-1}$ . On observe également deux bandes intenses, caractéristiques des groupes amine (NH): l'une à  $3186 \text{ cm}^{-1}$ , l'autre à  $3341 \text{ cm}^{-1}$ . Ainsi la condensation se traduit par la présence de la bande caractéristique de la fonction  $\text{C=N}$  vers  $1601 \text{ cm}^{-1}$ . L'analyse en spectrométrie de masse en mode électrospray (MS-ESI) du produit obtenu révèle la présence des deux ions à  $m/z = [\text{M}+\text{H}]^+$  et  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

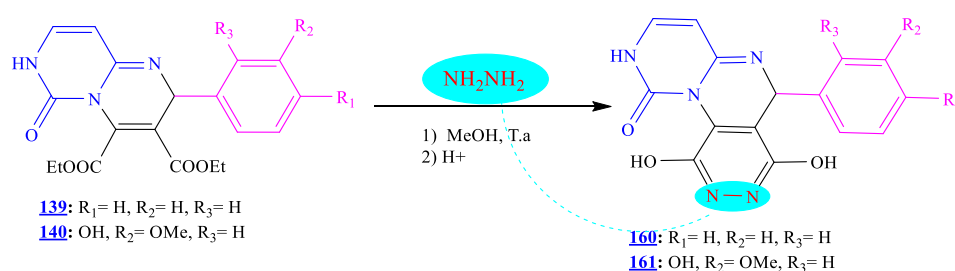


**Figure 42.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **159** (300 MHz ;  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$  ppm)

## II.2. Synthèse du motif pyrimido[1',6':1,2]pyrimido[5,4-d]pyridazin-1(IH)-one à partir de pyrimido[1,2-g]pyrimidine-7,8-dicarboxylate

### II.2.1. Synthèse

Pour réaliser la synthèse de motif fusionné pyrimido-pyrimido-pyridazine, nous avons utilisé les conditions similaires à celles utilisées dans la synthèse du motif pyrimido[1',6':1,2]pyrimido[5,4-d]pyridazin-1(IH)-one. Dans ces conditions, le traitement de pyrimido[1,2-g]pyrimidine-7,8-dicarboxylique [139-140](#) avec 20 équivalents de  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  dans le MeOH à température ambiante fournit les composés tricycliques pyrimido-pyrimido-pyridazine [160-161](#).

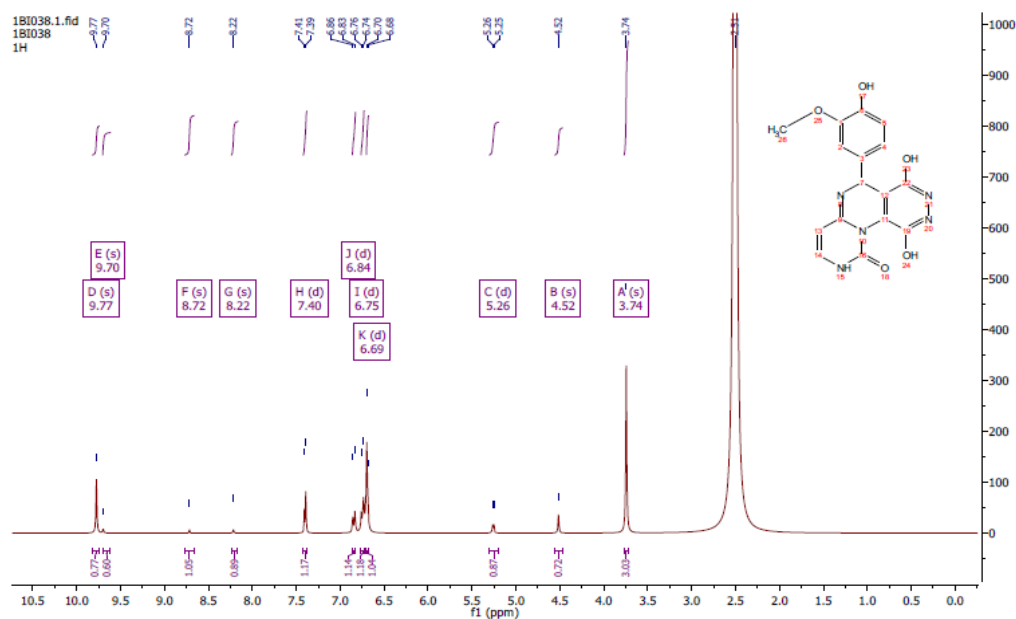


### Schéma 34. Synthèse de pyrimido[1',6':1,2]pyrimido[5,4-d]pyridazin-1(IH)-one

Grâce à l'insolubilité des produits [160](#) et [161](#) dans la plupart des solvants organiques, à l'exception du DMSO, nous l'avons isolé par une simple filtration et un simple lavage à l'eau et à l'acétone avec des rendements de 83% et 85% respectivement.

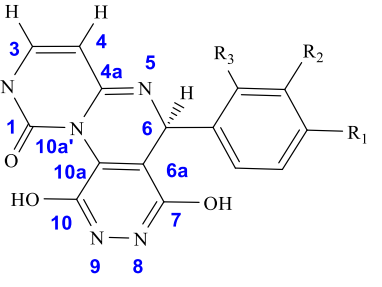
### II.2.2. Caractérisation

Les structures des nouveaux produits synthétisés [160-161](#) ont été établies sur la base des données spectrales en RMN  $^1\text{H}$  (**Tableau 11**). En effet, sur les spectres de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) des deux dérivés [160](#) et [161](#), on remarque la disparition des signaux des groupements  $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$  des deux fonctions esters. Les deux nouveaux protons des deux groupements OH dans les dérivés pyridaziniques résonnent sous forme de deux singulets larges vers 9.77 ppm et 9.70 ppm. Les deux protons éthyléniques ( $\text{CH}=\text{CH}$ ) dans le cycle imidazole sont deux singulets situés à 5.26 ppm et 7.40 ppm.



**Figure 43.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **161** (300 MHz ;  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$  ppm)

**Tableau 11.** Données spectrale en RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) de pyrimido-pyrimido-pyridazines.

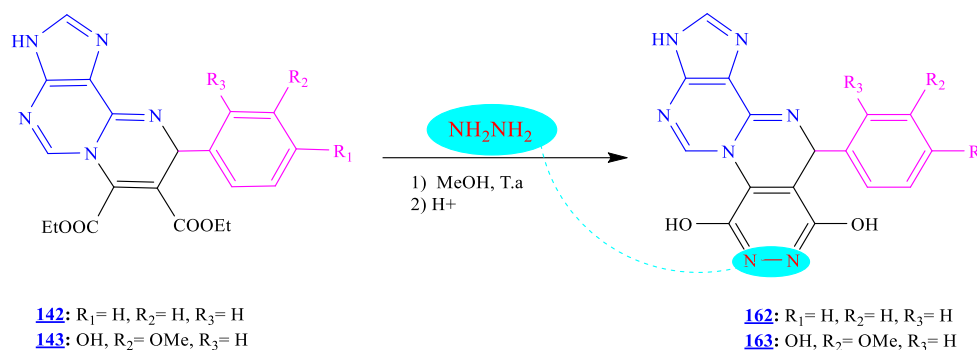
		RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)						
		NH (2)	Ar	CHPh (6)	OH (7)	OH (10)	CH (3)	CH (4)
<b>160</b>	$\text{R}_1 = \text{H}, \text{R}_2 = \text{H}, \text{R}_3 = \text{H}$	9.92	7.55 – 7.35 7.35 – 7.27	4.15	11.80	11.55	7.70	6.04
<b>161</b>	$\text{R}_1 = \text{OH}, \text{R}_2 = \text{OMe}, \text{R}_3 = \text{H}$	8.22	6.69-6.84	4.52	9.70	9.77	7.40	5.26

En IR, les deux dérivés fusionnés **160-161** sont caractérisés par deux bandes correspondantes aux fonctions hydroxy (OH) apparaissant vers  $3341\text{ cm}^{-1}$  et par deux autres bandes caractéristiques vers  $1700\text{ cm}^{-1}$  du groupement  $\text{C}=\text{O}$  et vers  $3469\text{ cm}^{-1}$  du groupement  $\text{NH}$  amide. Enfin, la formation des dérivés fusionnés peut s'expliquer en spectrométrie de masse (ESI) par la présence des pics des ions  $[\text{M}+\text{H}]^+$  et  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  dans les deux spectres.

### II.3. Synthèse de pyridazino[4',5':5,6]pyrimido[1,2-g]purine-1,4-diol à partir de pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylates.

#### II.3.1. Synthèse

Les pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylates [142-143](#) dérivés de l'adénine et 20 équivalents de l'hydrazine hydratée sont soumis aux conditions établies précédemment (Schéma 35).



**Schéma 35.** Synthèse de pyridazino[4',5':5,6]pyrimido[1,2-g]purine-1,4-diol

La réaction se déroule à température ambiante, et permet d'obtenir les dérivés polyhétérocycliques [162](#) et [163](#) avec des rendements quantitatifs après un traitement acide et une simple filtration. Les résultats obtenus et les caractéristiques physico-chimiques des produits synthétisés sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 12.** Caractéristiques physico-chimiques et données spectrale en IR et MS-ESI des pyrimido-pyridazino-purines [162](#) et [163](#)

Réf	Entrée	Temps	Rdt%	MS ESI	T <sub>f</sub> °C	IR (Cm <sup>-1</sup> )		
						NH	OH	C=N
<a href="#">162</a>	<a href="#">142</a>	24	89	334	189	3505	3330-3418	1655-1579
<a href="#">163</a>	<a href="#">143</a>	24	94	380	153-155	3480	2640-3433	1595-1505

#### II.3.2. Caractérisation

Les structures des composés préparés [162](#) et [163](#) ont été confirmées par les méthodes spectroscopiques usuelles (IR, RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C), et elles sont conformes à celles proposées. L'analyse par RMN du proton montre l'apparition de deux singulets larges à 11.15 et 11.18 ppm, correspondant aux protons des deux groupements OH. Ils sont caractérisés aussi par la disparition des signaux des deux méthylènes et des deux groupements méthyles des deux fonctions esters dans les produits de départ.

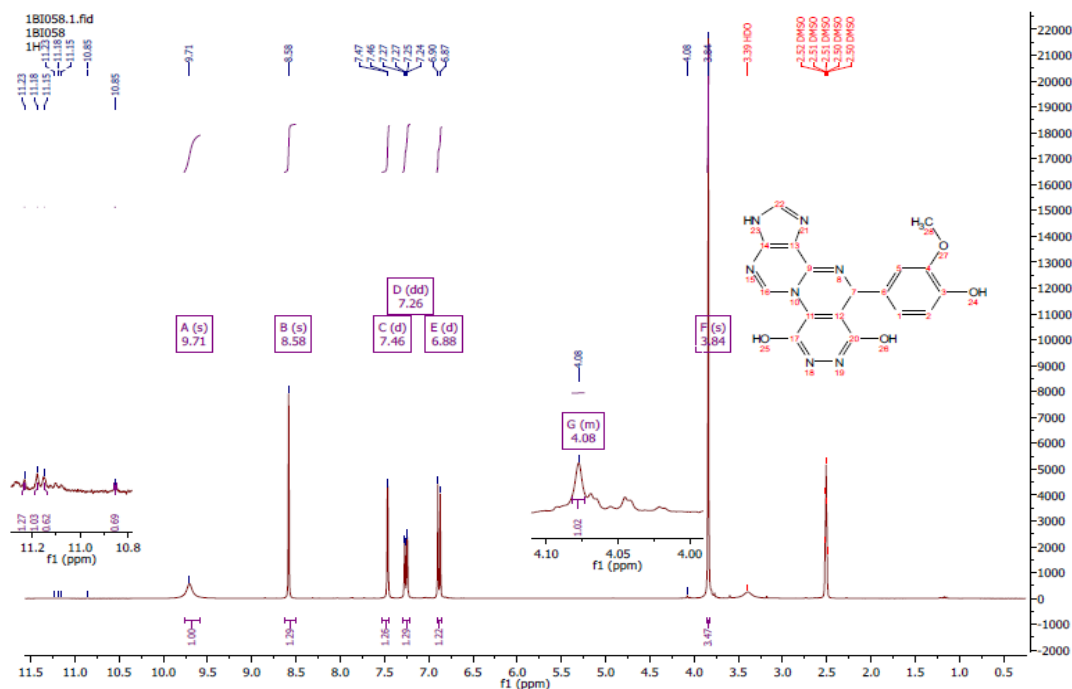


Figure 44. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **163** (300 MHz ;  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$  ppm)

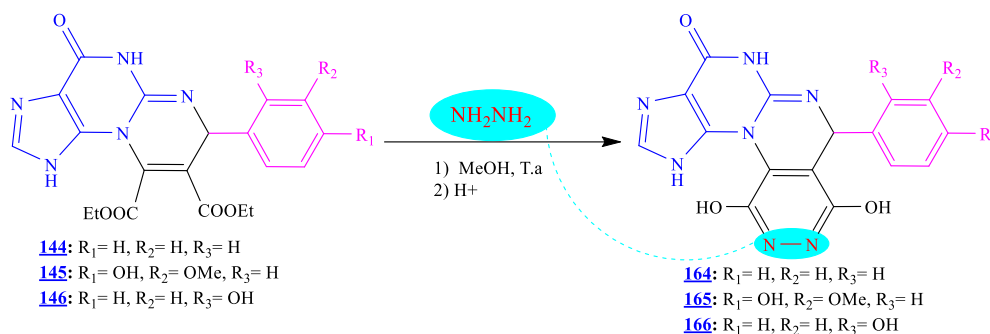
Tableau 13. Données spectrale en IR et RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) de pyrimido-pyridazino-purines **162** et **163**

		RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)				
		NH	Ar	CHPh	OH	OH
<b>162</b>	$\text{R}_1 = \text{H}, \text{R}_2 = \text{H}, \text{R}_3 = \text{H}$	12.48	7.71-7.37	6.05	11.56	11.69
<b>163</b>	$\text{R}_1 = \text{OH}, \text{R}_2 = \text{OMe}, \text{R}_3 = \text{H}$	11.23	6.88-7.46	4.08	11.18	11.15

#### II.4. Synthèse de pyridazino[4',5':5,6]pyrimido[2,1-e]purine-1(1H)-one à partir de pyrimido[2,1-e]purine-8,9-dicarboxylate.

##### II.4.1. Synthèse

Cette synthèse est réalisée à température ambiante, par action d'un excès d'hydrazine hydratée (20 équivalents) sur les dérivés pyrimido[2,1-e]purine-8,9-dicarboxylates **144-146** dans le méthanol (**Schéma 36**).



**Schéma 36.** Synthèse de pyridazino[4',5':5,6]pyrimido[2,1-e]purine-1(1H)-one

Après 24 heures de réaction, la CCM montre la formation d'un seul produit. Le mélange réactionnel est traité par l'acide phosphorique H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> puis filtré sous vide. Les trois nouveaux produits **164-166** ont été isolés purs avec des rendements de 80, 91 et 82% respectivement.

**Tableau 14.** Caractéristiques physico-chimiques des pyrimido-pyridazino-purines **164-166**.

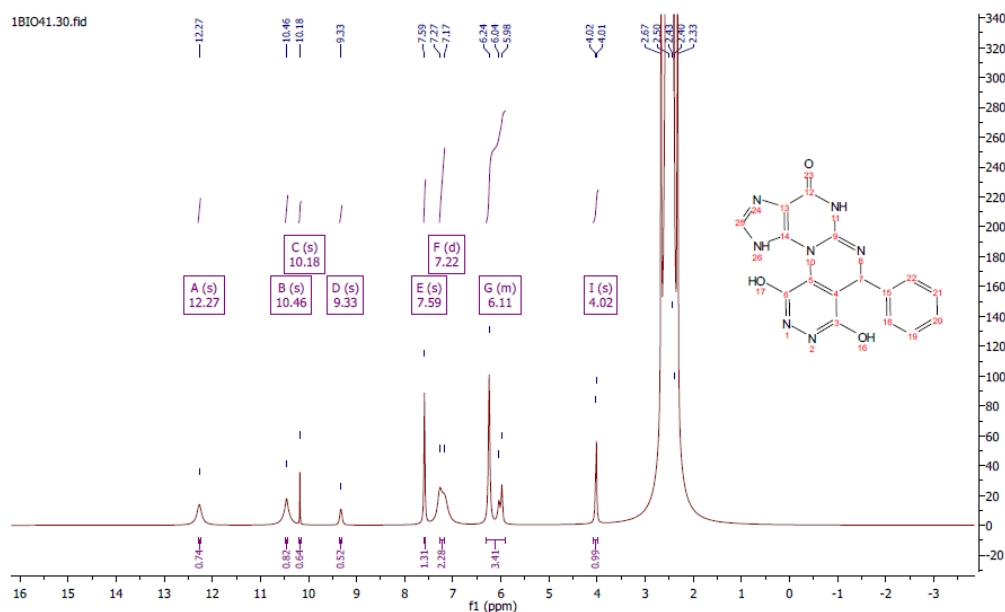
Réf	Entrée	Rdt%	MS ESI	T <sub>f</sub> °C	IR (Cm <sup>-1</sup> )		
					C=O	OH	C=N
<b>164</b>	<b>144</b>	80	350	252-254	1665	3099 3064	1555 1540
<b>165</b>	<b>145</b>	91	396	307-309	1667	2565 3398	1598 1522
<b>166</b>	<b>146</b>	82	366	319-321	1665	3099	1553 1540

#### II.4.2. Caractérisation

Les structures chimiques des dérivés poly-hétérocycliques pyrimido-pyridazino-purines **164-166** ont été identifiées grâce aux données spectrales de la RMN <sup>1</sup>H et RMN <sup>13</sup>C, FT-IR et la spectrométrie de masse.

En comparant les spectres RMN <sup>1</sup>H des produits **164-166** (**Tableau 15**) avec ceux des composés de départ **144-146**, on peut observer une nette différence désigné par :

L'apparition de deux singulets larges vers 10.18 et 10.46 ppm dans les produits obtenus correspond aux deux protons des groupements OH. Ainsi, la disparition des signaux vers 4.02 et 4.20 ppm des deux groupements méthylènes et les signaux des deux groupements méthyles vers 1.14 et 1.20 ppm.



**Figure 45.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **166** (400 MHz ;  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$  ppm)

**Tableau 15.** Données spectrale en IR et RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) de pyrimido-pyridazino-purines **164-166**.

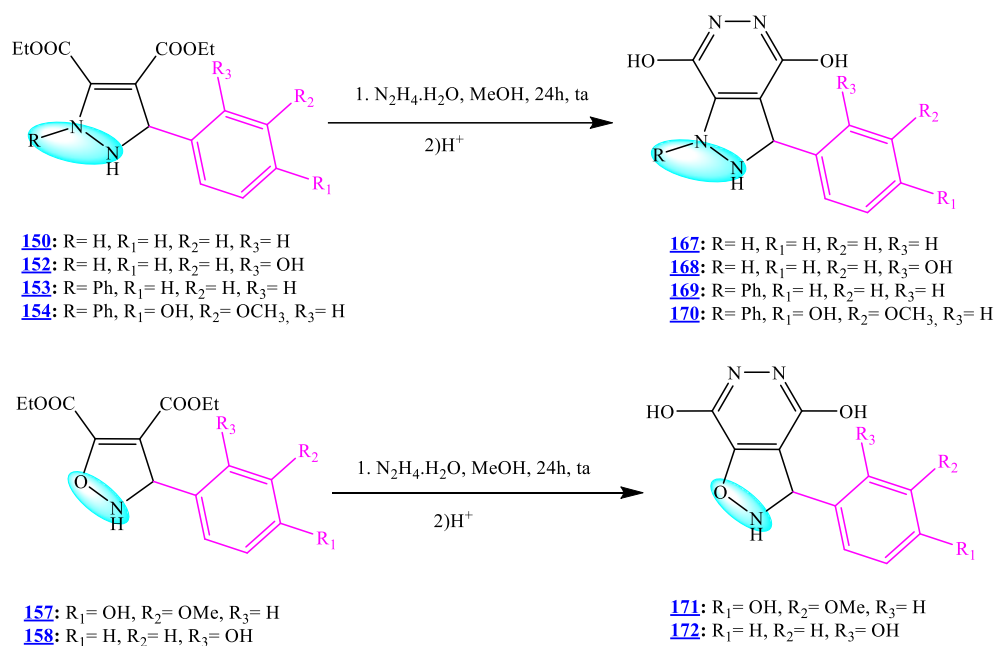
	Structure	RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)			
		NH	Ar	CHPh	OH
<b>164</b>	$\text{R} = \text{H}, \text{R}_1 = \text{H}, \text{R}_2 = \text{H}, \text{R}_3 = \text{H}$	12.27 9.33	7.22-5.91	4.02	10.46 10.18
<b>166</b>	$\text{R}_1 = \text{H}, \text{R}_2 = \text{H}, \text{R}_3 = \text{OH}$	8.63 10.17	6.94-6.02	4.00	7.87 9.03 9.37

Les spectres IR viennent aussi confirmés les structures des produits synthétisés par la présence des principales bandes d'absorptions caractéristiques des groupements OH vers  $3314\text{ cm}^{-1}$  ce qui confirme la formation du cycle dihydroxypyridazine par condensation de l'hydrazine sur les deux fonctions esters. De plus, tous les spectres IR des produits synthétisés notent la présence d'une bande vers  $1598\text{ cm}^{-1}$  caractéristique du groupement  $\text{C}=\text{N}$ , et une bande vers  $1667\text{ cm}^{-1}$  correspondant à la vibration du carbonyle ( $\text{C}=\text{O}$ ) de la guanine.

## II.5. Synthèse des dérivés pyrazolo[3,4-d]pyridazine-4,7-diol et isoxazolo[4,5-d]pyridazine-4,7-diol.

### II.5.1. Synthèse

Dans cette étude, la synthèse des pyrazolo[3,4-d]pyridazine-4,7-diol [167-170](#) et isoxazolo[4,5-d]pyridazine-4,7-diol [171-172](#) a été réalisée par le traitement des précurseurs pyrazole-3,4-di-carboxylates [150-155](#) et isoxazole-3,4-dicarboxylates [156-158](#) avec 20 équivalents d'hydrazine hydratée dans le méthanol (**Schéma 37**).



**Schéma 37.** Synthèse de pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines.

Au bout de 24 heures d'agitation du milieu réactionnel à température ambiante et après, les pyrazolo-pyridazines [167-170](#) et isoxazolo-pyridazines [171-172](#) sont recueillis avec de bons rendements sous forme de solides blancs et jaunes pâle. Les rendements et les caractéristiques physico-chimiques des produits synthétisés sont répertoriés dans le tableau 16.

**Tableau 16.** Caractéristiques physico-chimiques et structurales des pyrazolo-pyridazines [167-170](#) et isoxazolo-pyridazines [171-172](#).

Réf	Entrée	Rdt%	IR(cm <sup>-1</sup> )		
			NH	OH	C=N
<a href="#">167</a>	<a href="#">150</a>	66	3201	3635-3322	1633 1603
<a href="#">168</a>	<a href="#">152</a>	72	3378	3749 3675-3652	1618 1573
<a href="#">169</a>	<a href="#">153</a>	54	3308	3750 3652	1597 1565
<a href="#">170</a>	<a href="#">154</a>	59	3314	3747 3675-3651	1617-1602
<a href="#">171</a>	<a href="#">157</a>	83	3206	3749 3510	1655 1595
<a href="#">172</a>	<a href="#">158</a>	62	3243	3748 3675-3652	1618 1572

### II.5.2. Caractérisation

Les structures des pyrazolo-pyridazines [167-170](#) et isoxazolo-pyridazines [171-172](#) ont été confirmées par les données spectrales de résonance magnétique nucléaire (<sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C), FT-IR, spectrométrie de masse (ESI-MS) et analyse élémentaire.

Les spectres FT-IR montrent l'apparition des bandes d'absorptions correspondantes à la vibration d'élongation de la fonction C=N vers 1633-1603 cm<sup>-1</sup>. Ainsi, la condensation de l'hydrazine sur les groupements esters se traduit par l'apparition de deux bandes absorptions vers 3635 et 3322 cm<sup>-1</sup>, caractéristiques du groupement hydroxy (OH).

En RMN du proton (<sup>1</sup>H), les données spectrales des pyrazolo[3,4-d]pyridazine-4,7-diol [167-170](#) sont présentées dans le **Tableau 17** ci-dessous. On peut identifier deux singulets larges vers 10.54 et 10.54 ppm qui correspondent aux groupements OH. Un signal sous forme d'un singulet vers 4.76 ppm correspond au proton CHPh. Le proton du groupement NH est aussi détecté vers 9.01 ppm sous forme d'un singulet.

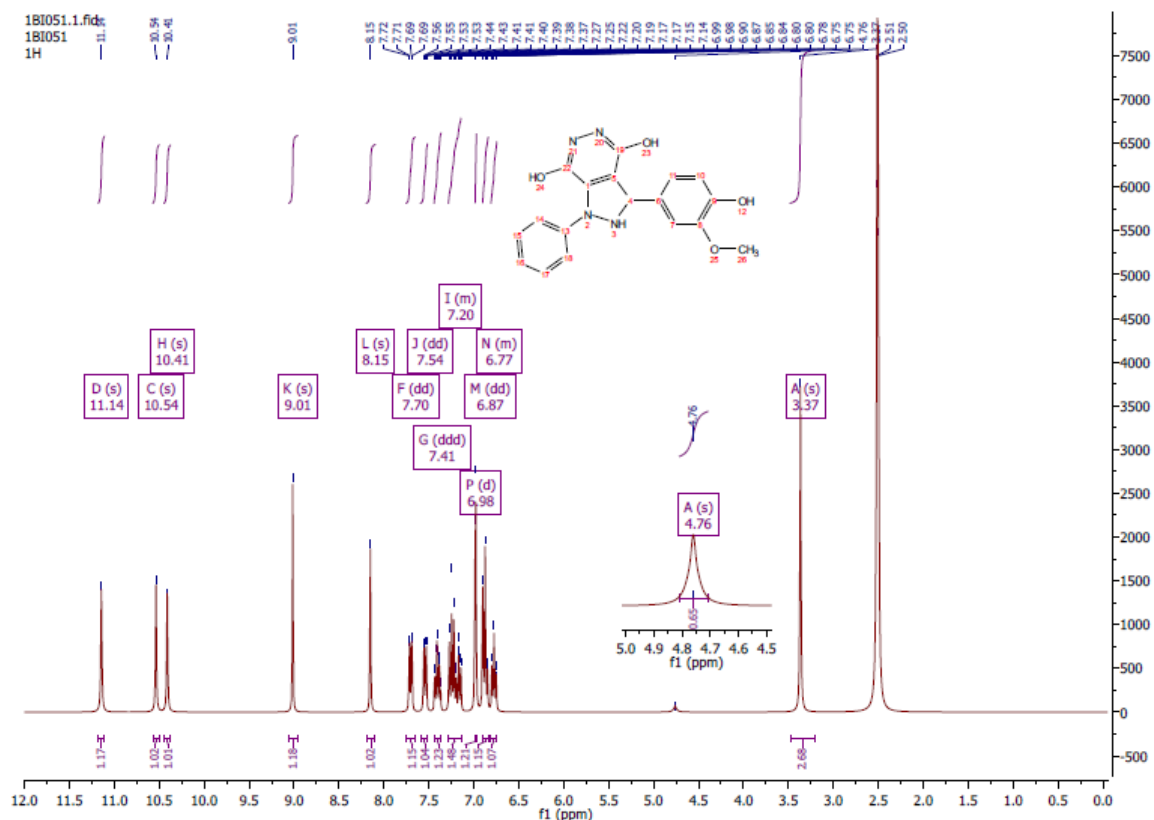
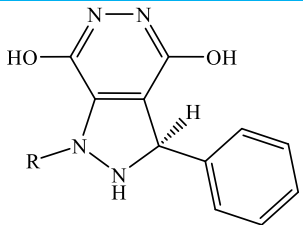


Figure 46. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé [170](#) (300 MHz ;  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$  ppm)

Tableau 17. Données spectrale en RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) des pyrazolo[3,4-d]pyridazine-4,7-diol [167-170](#).

		RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)			
		NH	Ar	CHPh	OH
<a href="#">167</a>	R= H, R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H, R <sub>3</sub> = H	8.73 5.48	7.06-7.52	4.88	12.56 10.28
<a href="#">170</a>	R= Ph, R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = OCH <sub>3</sub> , R <sub>3</sub> = H	9.01	6.77-8.15	4.76	10.41 10.54 11.14

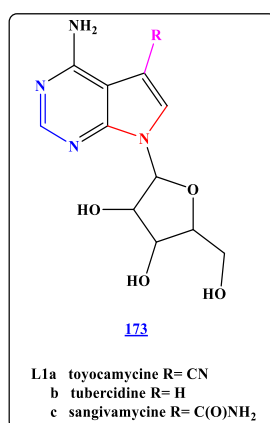
Pour les dérivés isoxazolo[5,4-d]pyridazine-4,7-diols [171-172](#), les données spectrales en RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) sont rassemblées dans le tableau 18.



## II.6.Synthèse de 4,6-diphényl-3,4-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-d]pyrimidine-2,5,7(6H)-trione

Les pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines, également connues sous le nom de 7-déazapurines et ce en raison de leur relation structurale avec les purines, font l'objet de recherche depuis la découverte de la toyocamycine en 1956 par l'équipe de Shimaoka, [51] comme un puissant antibiotique notamment vis-à-vis de *Candida albicans*. Sa structure fut ensuite confirmée par synthèse totale en 1968 par Townsend et coll. [52] révélant ainsi pour la première fois l'existence du squelette pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinique dans un produit naturel. Un an après la découverte de cette dernière, la tubercidine fut à son tour décrite par le groupe de Suzuki [53], comme un puissant antibiotique contre le bacille de Koch (ou *Mycobacterium tuberculosis*) responsable de la tuberculose. Enfin en 1963, la sangivamycine fut révélée en tant qu'agent antitumoral notamment sur la lignée de cellules cancéreuses du col de l'utérus (HeLa) [54].

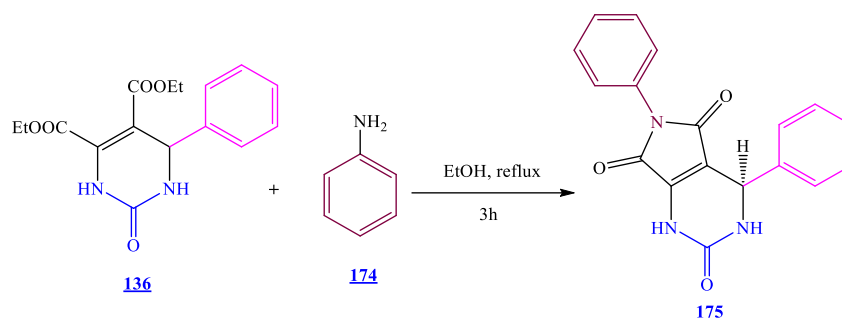
Chacun de ces composés comprennent un cœur pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinique et ne diffère que par le substituant fixé sur le carbone 5 de la base (**Fig.48**). En effet, la *toyocamycine* présente un groupement nitrile, la *sangivamycine* une fonction amide alors que la *tubercidine* ne possède pas de motif quelconque en cette position.



**Figure 48.** Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines provenant de sources naturelles.

### II.6.1. Synthèse

Dans la préparation du 4,6-diphényl-3,4-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-*d*]pyrimidine-2,5,7(6H)-trione **175**, nous nous sommes intéressés à la synthèse de Paal-Knorr [55-56]. Cette réaction met en jeu une arylamine (aniline) **174** comme un nucléophile azoté et le composé diéthyl-2-oxo-6-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyrimidine-4,5-dicarboxylate **136** comme un dérivés 1,4-dicarbonyle sous agitation dans EtOH et à reflux pendant 3h.



**Schéma 38.** Synthèse du motif pyrrolo[3,4-d]pyrimidine.

Une fois la réaction est terminée, le solvant est évaporé sous vide et le résidu est dissous dans le dichlorométhane comme solvant d'extraction. Le pyrrolo[3,4-d]pyrimidine **175** est obtenu après purification sur colonne de silice éluée par le mélange en-hexane/acétate d'éthyle (20:80) avec de bon rendement (75%). Les caractéristiques physico-chimiques et les données spectrale (RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , FT-IR et ESI-MS) du produit obtenu **175** sont rassemblées dans le tableau 19.

**Tableau 19.** Caractéristiques physico-chimiques et structurales de pyrrolo[3,4-d]pyrimidine **175**.

Réf	Temps (h)	Rdt %	T <sub>f</sub> °C	ESI MS	RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)			IR ( $\text{Cm}^{-1}$ )	
					NH	Ar (10H)	CHPh	NH	C=O
<b>175</b>	3h	75	68.76	320	8.99 7.53	7.09-7.74	6.22	3250-3110	1744 1704

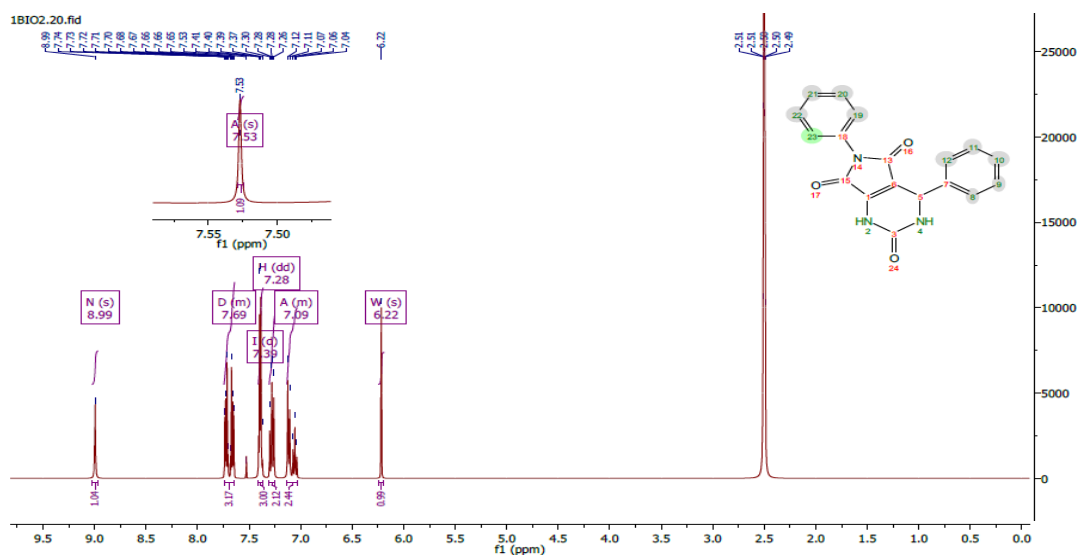
### II.6.2. Caractérisation

L'identification de la structure de pyrrolo[3,4-d]pyrimidine **175** a été réalisée au moyen de la spectroscopie IR, RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  et spectrométrie (**Tableau 19**).

En IR, le 3,4-dihydro-4,6-diphényl-*1H*-pyrrolo[3,4-d]pyrimidine-2,5,7(*6H*)-trione **175** est caractérisé par une bande d'absorption vers  $3250\text{-}3110\text{ cm}^{-1}$  caractéristique de la fonction amine (NH). Deux autres bandes caractéristiques des groupements carbonyle (C=O) vers  $1700$  et  $1740\text{ cm}^{-1}$ .

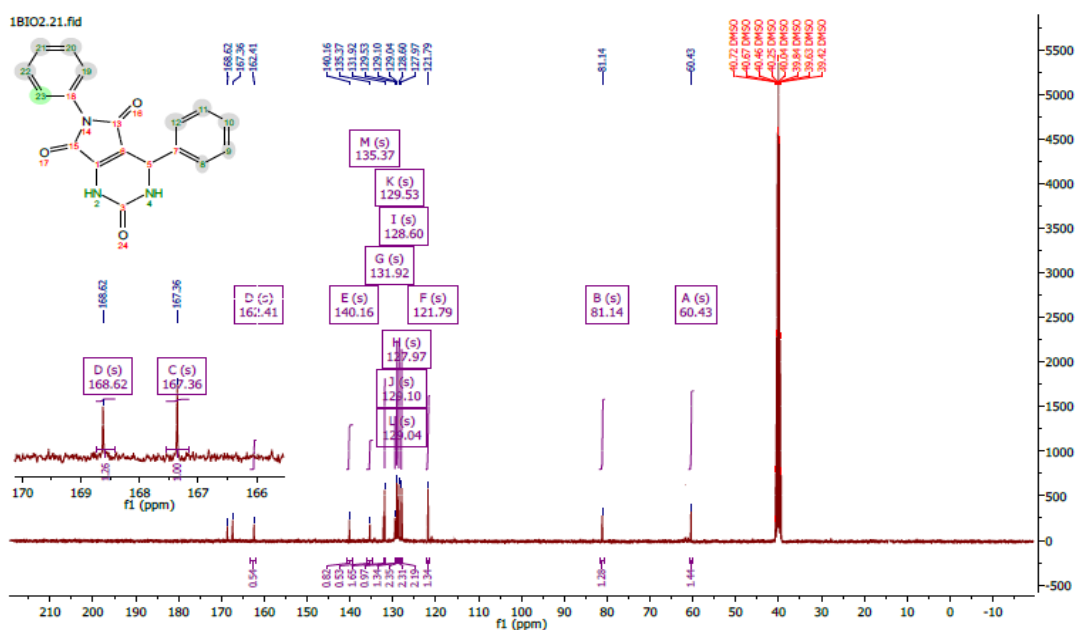
Sur le spectre RMN du proton (**Fig. 49**), on peut distinguer tous les protons attendus pour le composé 3,4-dihydro-4,6-diphényl-*1H*-pyrrolo[3,4-d]pyrimidine-2,5,7(*6H*)-trione **175**. Dans ce cas, la condensation est caractérisée par la disparition des signaux des deux fonctions esters (deux quadruplets vers 4 ppm et deux triplets vers 1.2 ppm).

Les deux protons des deux groupements  $\text{NH}^1$  et  $\text{NH}^3$  résonnent sous forme de deux singulets vers 8.99 ppm et 7.53 ppm. Les protons aromatiques (deux groupements phényles) sont observés dans l'intervalle de [7.09 -7.74] ppm. Le  $\text{CHPh}$  résonne sous forme de singulet à 6.22 ppm.



**Figure 49.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **175** (400 MHz ;  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm)

Le nouveau dérivés 3,4-dihydro-4,6-diphényl-*1H*-pyrrolo[3,4-*d*]pyrimidine-2,5,7(6*H*)-trione **175** a été caractérisé par leur spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (**Fig. 50**). Ce dernier présente tous les carbones de structure proposée.



**Figure 50.** Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **175** (101 MHz ;  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm)

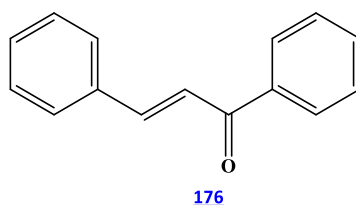
### III. Synthèse des motifs pyrimido[1,6-a]pyrimidine, pyrimido[1,2-g]purine et Pyrimido[2,1-e]purine

Dans le concept de chimie verte et environnementale, l'utilisation de l'eau comme milieu alternatif et propre dans la synthèse organique représente l'un des processus de synthèse bénins les plus puissants [57-58]. À cet égard, un grand nombre de méthodologies et de voies ont été rapportées [59]. Ainsi, le développement d'une méthodologie de synthèse efficace et pratique dans l'eau est un sujet important dans la chimie verte et durable [60].

Dans cette partie, nous rapportons nos résultats pour la synthèse de nouveaux dérivés de pyrimidine fusionnée à partir d'un chalcone et nucléobases (adénine, guanine et cytosine) à l'aide d'éthanol, mélange de solvants (eau-éthanol, 1:1) et l'eau comme milieu inoffensif pour l'environnement.

#### III.1. les chalcones

Le terme chalcones a été donné par les scientifiques Kostanecki et Tambor en 1899. Les chalcones et leurs analogues sont relativement facilement disponibles, non seulement par isolement des produits naturels mais aussi par les méthodes de synthèse classique et combinatoire [61].



**Figure 51.** Structure chimique de la chalcone.

Les chalcones[1,3-diary]prop-2-èn-1-ones], sont efficaces électrophiles bidentés et ont été employés pour la synthèse de divers hétérocycles bioactifs il existe très peu de rapports avec leur utilisation comme précurseurs pour la synthèse de pyrimidines [62].

Les chalcones présentent un groupe très intéressant parmi les produits naturels. Elles forment les intermédiaires essentiels dans la biosynthèse des autres flavonoïdes [63]. S'il n'y a qu'une seule voie de biosynthèse pour les chalcones, il y a en revanche une plus grande diversité quant à leur mode de synthèse chimique tels que, la condensation de Claisen-Schmidt [64], le couplage de Suzuki-Miyaura [65], et le couplage de Sonogashira [66].

### III.2. Préparation de dibenzalacétone par la condensation de Claisen-Schmidt

La condensation de Claisen-Schmidt est probablement la plus simple et la plus couramment utilisée des méthodes de synthèse des chalcones [64]. Il s'agit d'une réaction d'aldolisation-crotonisation, entre une acétone et un benzaldéhyde, qui être catalysée par une base (NaOH), dans un solvant polaire (EtOH). Le mélange a été secoué vigoureusement pendant environ 15 minutes [67].

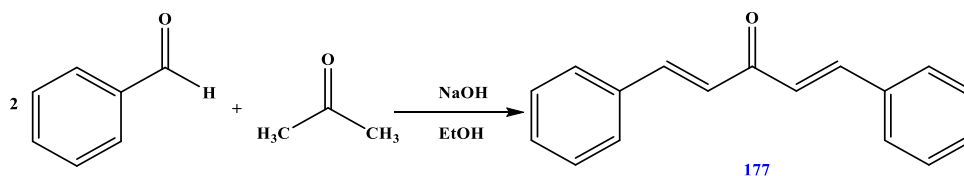


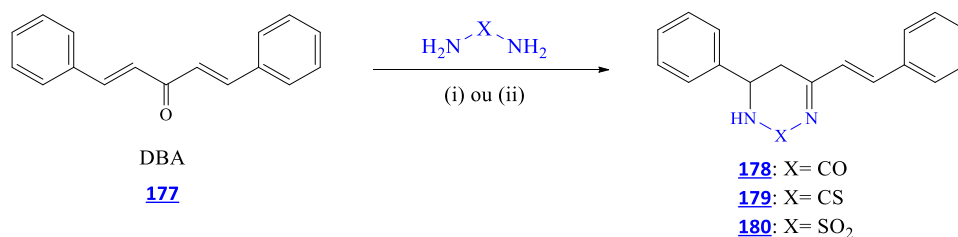
Schéma 39. Préparation de dibenzalacétone.

La dibenzalacétone **177** se sépare sous forme de cristaux jaune pâle et recristalliser dans l'éthanol, la pureté du produit a été vérifiée par CCM et son point de fusion était en accord avec la littérature (110–112 °C),  $T_f$  (109–111°C). Les rendements de ce type de réaction varient selon les substitutions présentes sur les réactifs de départ (65 %).

### III.3. Synthèse de styrylpyrimidine-2(1H)-one et styryl-1,2,6-thiadiazine 1,1-dioxide

#### III.3.1. Synthèse

Selon la méthodologie décrite dans la littérature [67], la synthèse des styrylpyrimidines **178-180** (Schéma 40) est réalisée par la condensation de dibenzalacétone (DBA) **177** avec des dérivés 1,3-diamines (urée, thiourée ou sulfamide) dans l'EtOH. Elle se fait en présence de NaOH comme catalyseur basique selon le schéma réactionnel suivant.



(i): NaOH, EtOH, reflux (ii): NaOH, EtOH/H<sub>2</sub>O(1/1), reflux

Schéma 40. Synthèse de styrylpyrimidine-2(1H)-one et styryl-1,2,6-thiadiazine 1,1-dioxide **178-180**.

Tous les produits ont été isolés avec des rendements variant de 56 % à 71 %. L'optimisation de cette réaction n'a pas présenté de difficulté particulière.

A 90 °C dans un mélange d'éthanol et d'eau (H<sub>2</sub>O-EtOH, 1:1), les mêmes condensations précédentes donnent les dérivés [178-180](#) en présence de NaOH avec des rendements de 64, 48 et 74% respectivement. Les résultats obtenus, les conditions réactionnelles et les caractéristiques physico-chimiques sont rassemblés dans le **Tableau 20**.

**Tableau 20.** Caractéristiques physico-chimiques et conditions réactionnelles.

Réf	1,3-diamine	Conditions réactionnelles			T <sub>f</sub> °C
		Solvant	Rdt (%)	Temps	
<a href="#">178</a>	Urée	EtOH	71 [67]	3	253
		EtOH-H <sub>2</sub> O (1/1)	64	3	
<a href="#">179</a>	Thiourée	EtOH	56 [67]	3	191
		EtOH-H <sub>2</sub> O (1/1)	48	3	
<a href="#">180</a>	Sulfamide	EtOH	62	3	172-
		EtOH-H <sub>2</sub> O (1/1)	58	3	174

### III.3.2. Caractérisation

Les structures des composés [178-180](#) ont été déterminées par les méthodes spectroscopiques usuelles en RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, infrarouge et spectrométrie de masse. Nous rapportons dans le **Tableau 20** les données spectroscopiques en RMN <sup>1</sup>H et FT-IR.

Les spectres de RMN <sup>1</sup>H, pris dans le DMSO, montrent, en particulier, les signaux relatifs aux groupements phényles (10 H) vers 7 ppm. De plus, tous les spectres RMN <sup>1</sup>H présentent les signaux relatifs aux protons éthyléniques (CH=CH) du groupement styryle vers 6 ppm et les deux protons du groupement méthylènes (CH<sub>2</sub>) du cycle pyrimidine vers 1.4 ppm. Le proton de la fonction amine (NH) résonne sous forme d'un singulet vers 8 ppm.

Les spectres IR sont caractérisés par des bandes correspondantes à l'élongation de la liaison N-H qui apparaissent respectivement vers 3300 cm<sup>-1</sup>. Une autre bande apparaît vers 1670 cm<sup>-1</sup> qui est caractéristique du groupement C=O de la fonction amide ou 1675 cm<sup>-1</sup> du groupement C=S dans le cas où nous utilisons la thio-urée [179](#), suivie par la bande du groupement imine C=N de la fonction amide du noyau pyrimidine

enregistrée vers  $1624\text{ cm}^{-1}$ . D'autres bandes apparaissent vers  $1497\text{ cm}^{-1}$  caractéristiques de la liaison C=C. L'apparition d'une absorbance à  $1333\text{ cm}^{-1}$  et  $1173\text{ cm}^{-1}$  dans [180](#), en raison de la présence du groupement ( $\text{SO}_2$ ).

**Tableau 21.** Données spectrales en RMN  $^1\text{H}$  et FT-IR.

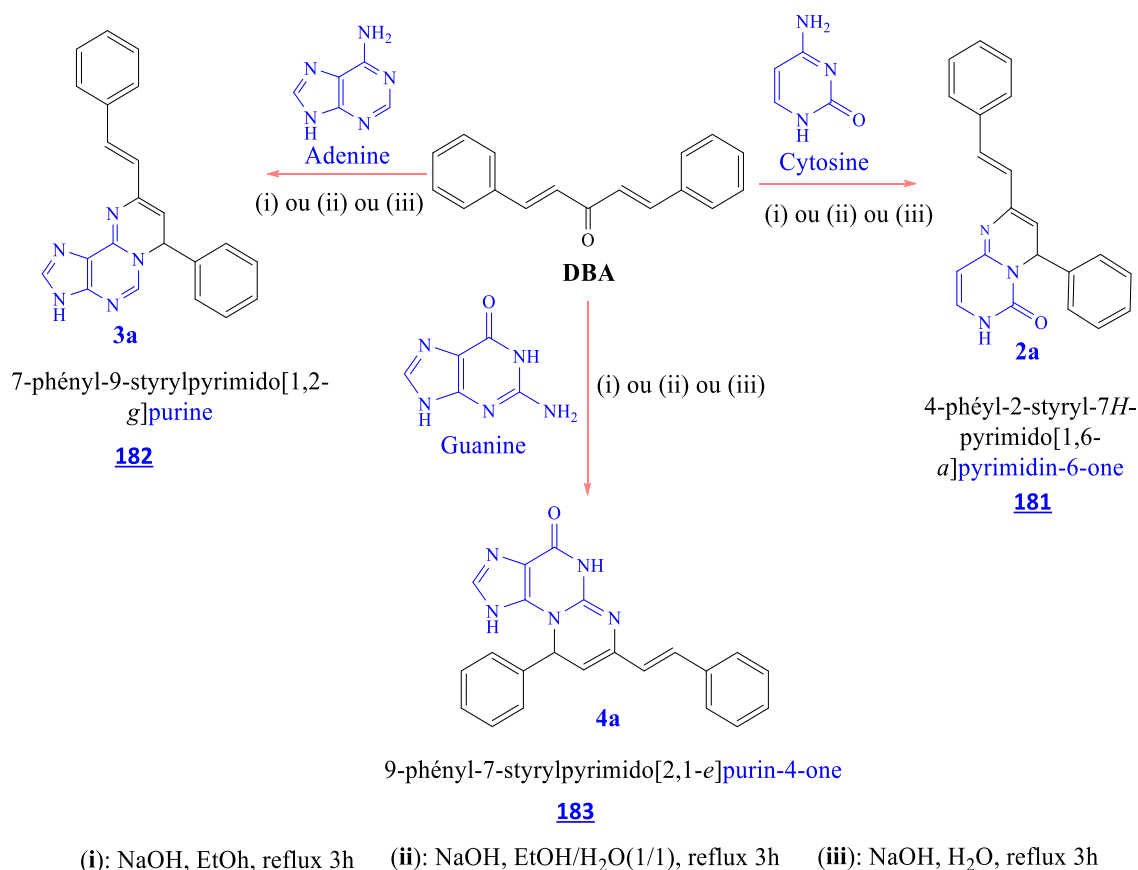
Réf	RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)				FT-IR ( $\text{cm}^{-1}$ )		ESI-MS [MH] $^+$
	CHPh	NH	CH <sub>2</sub>	Ar (10 H)	NH	X	
<a href="#">178</a>	3.8	8.0	1.4-1.7	7.1-7.5	3300	1710 (C=O)	277
<a href="#">179</a>	3.7	8.0	1.4-1.6	7.0-7.4	3340	1675 (C=S)	293
<a href="#">180</a>	3.9	2.0	1.8	7.12-7.30	3240	1173 1333	SO <sub>2</sub> 313

### III.4. Synthèse de Pyrimido[1,6-a]pyrimidine, Pyrimido[1,2-g]purine et Pyrimido[2,1-e]purine dérivés de Nucléobases.

#### III.4.1. Synthèse

Suite aux travaux élaborés par notre équipe de recherche dans ce domaine, nous nous sommes intéressés à poursuivre notre recherche sur la synthèse de nouveaux systèmes poly-hétérocycliques à visées thérapeutiques par l'utilisation des nucléobases caractérisées par un groupement amino ( $\text{NH}_2$ ) dans des réactions de cyclocondensation avec les composés dicarbonylés et les carbonyl- $\alpha,\beta$ -insaturés. Dans ce cas, nous avons essayé l'application de la méthode précédente pour la synthèse de nouveaux motifs poly-hétérocycliques dérivés de nucléobases (adénine, guanine et cytosine).

Comme illustré dans le **Schéma 41**, la synthèse a été effectuée par condensation d'une nucléobase (adénine, guanine ou cytosine) comme nucléophile azoté sur le dibenzalacétone (DBA) comme un dérivé carbonyl- $\alpha,\beta$ -insaturé dans l'éthanol en présence d'un catalyseur basique (NaOH).



**Schéma 41.** Synthèse de Pyrimido[1,6-a]pyrimidine **181**, Pyrimido[1,2-g]purine **182** et Pyrimido-[2,1-e]purine **183**.

La condensation est réalisée à reflux de l'éthanol en présence de deux équivalents de NaOH pendant 2 heures. Ensuite la réaction est menée à température ambiante avec de l'eau glacée pendant une heure. Après filtration sous vide et recristallisation dans l'éthanol, les produits sont recueillis sous forme de solides blancs avec des rendements moyens.

Trois nouveaux analogues pyrimidiniques substitués par un groupement styryle ont été obtenus. Ils diffèrent entre eux par la partie hétérocyclique. Le (4-phényl-2-styryl-4H-pyrimido[1,6-a]pyrimidin-6-one **181** est obtenu avec un rendement de 67% en utilisant la cytosine. Le 3,7-dihydro-7-phényl-9-styrylpyrimido[1,2-g]purine **182** a été préparé avec 67% de rendement en utilisant l'adénine. Ainsi, le composé 9-phényl-7-styrylpyrimido[2,1-e]purine-4-one **183** est obtenu avec un rendement de 52% en utilisant la guanine. Les produits ainsi obtenus, avec les rendements et les conditions réactionnelles sont regroupés dans le **Tableau 22**.

**Tableau 22.** Conditions réactionnelles et caractéristiques physico-chimiques des produits synthétisés.

Réf	1,3-diamine	Conditions réactionnelles			T <sub>f</sub> °C
		Solvant	Rdt (%)	Temps	
<a href="#">181</a>	Cytosine	EtOH/NaOH	67	3	196-198
		EtOH-H <sub>2</sub> O (1/1)	53	3.5	
		H <sub>2</sub> O	41	3	
<a href="#">182</a>	Adénine	EtOH	67	3	190-192
		EtOH-H <sub>2</sub> O (1/1)	57	3	
		H <sub>2</sub> O	45	3	
<a href="#">183</a>	Guanine	EtOH	52	3	258-260
		EtOH-H <sub>2</sub> O (1/1)	50	3	
		H <sub>2</sub> O	38	4	

Dans ces conditions, nous avons obtenu les dérivés [181-183](#) avec des rendements globaux relativement moyens (*cf.* **Tableau 22**).

A la suite de ces résultats, nous avons essayé d'améliorer cette condensation en diminuant le temps de réaction et augmentant les rendements par réalisation de cette réaction en utilisant le mélange H<sub>2</sub>O-EtOH (1:1) et H<sub>2</sub>O comme solvant [58].

Les mêmes réactions ont été reprises dans le mélange H<sub>2</sub>O-EtOH (1:1) ou H<sub>2</sub>O comme solvants. Après deux heures de chauffage à reflux (100 °C) puis 1 heure à température ambiante, tout en contrôlant le mélange réactionnel par CCM. Les pyrimidines fusionnées [178-180](#) et les dérivés fusionnés [181-183](#) ont été obtenues avec des rendements variant de 38% à 67% (*cf.* **Tableau 22**).

### III.4.2. Caractérisation

Les structures des dérivés fusionnées [181](#), [182](#) et [183](#) ont été élucidées grâce aux données spectrales en RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, IR et la spectroscopie de masse (ESI-MS) (*cf.* **Tableaux 23, 24** et **25**). D'après les données spectrales, les dérivés [181](#), [182](#) et [183](#) sont porteurs des mêmes substituants (phényl et styryl) mais ils diffèrent entre eux par le noyau hétérocyclique.

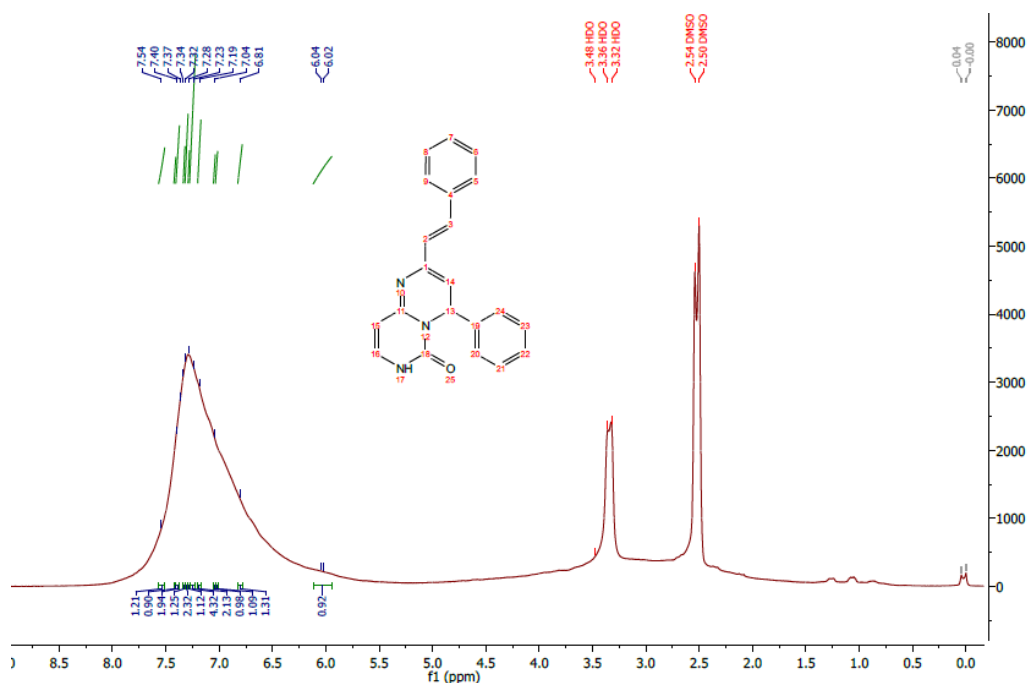
Les spectres de masse ont été réalisés en mode MS-ESI<sup>+</sup>. Tous les spectres présentent les deux formes cationiques [M+H]<sup>+</sup> et [M+Na]<sup>+</sup> qui sont en accord avec les formules brutes calculées pour chaque produit.

Les structures des produits obtenus sont caractérisées en RMN <sup>1</sup>H par les signaux communs. Le signal des dix protons aromatiques (deux groupements phényles) sous forme de multiplet est présent dans les trois dérivés. Le signal de CHPh est un doublet vers 4.50 ppm par couplage avec le proton éthylénique du cycle formé (*J*= 5.1 Hz). Les deux protons éthyléniques du groupement styryle apparaissent sous forme de doublets vers 6 ppm et 7.80 ppm.

### III.4.2.1. Caractérisation du motif pyrimido[1,6-a]pyrimidin-6-one **181** dérivé de la cytosine.

**Tableau 23.** Données spectrales en RMN <sup>1</sup>H, FT-IR et spectrométrie de masse **181**.

Comp	RMN <sup>1</sup> H (δ : ppm)			MS ESI( <i>m/z</i> )	IR (Cm <sup>-1</sup> )			
	NH	Ar	C-H		C=O	C=C	C=N	NH
<b>181</b>	6.00	7.06-7.30	4.50	328	1655	1492	1601	3158



**Figure 52.** Spectre RMN <sup>1</sup>H du composé **181** (400 MHz ; DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm)

### III.4.2.2. Caractérisation du 3,7-dihydro-7-phényl-9-styrylpyrimido[1,2-g]purine **182** dérivé de l'adénine.

Tableau 24. Données spectrales en RMN  $^1\text{H}$ , FT-IR et spectrométrie de masse du **182**.

Comp	RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)			MS ESI( $m/z$ )	IR ( $\text{Cm}^{-1}$ )		
	NH	Ar	C-H		C=C	C=N	NH
<b>182</b>	10.02	7.28–7.37	4.59	352	1497	1594	3159

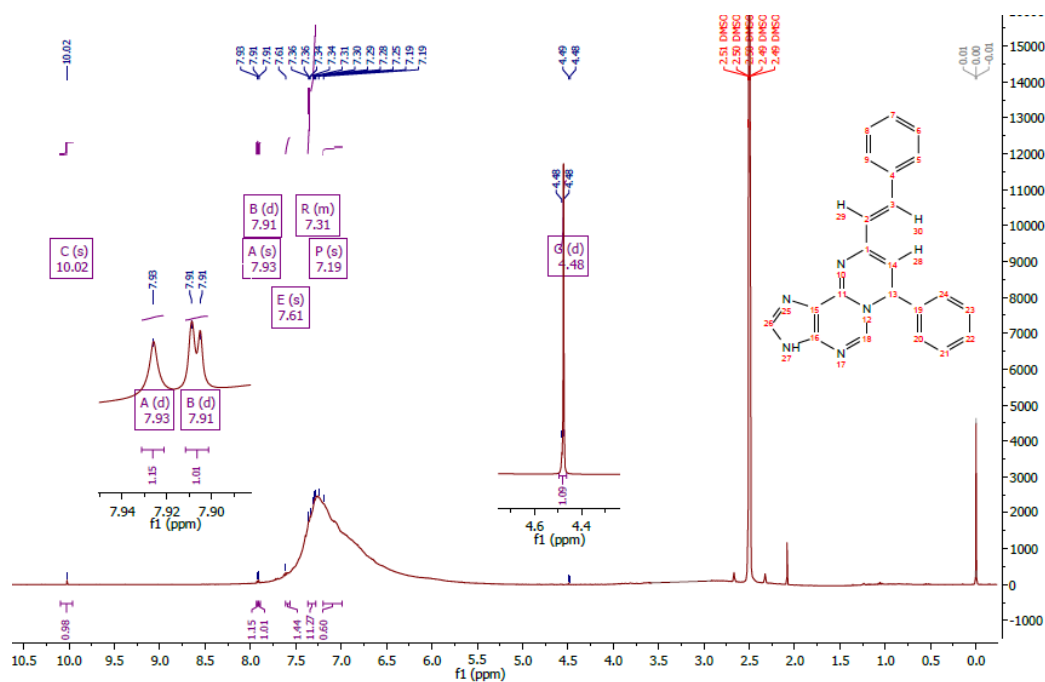
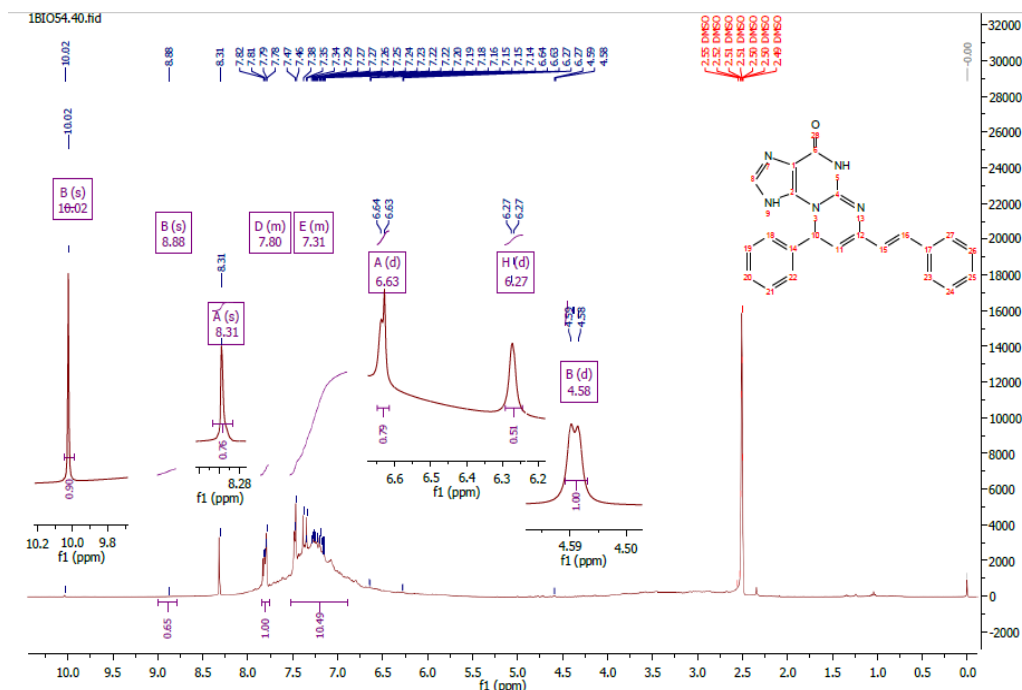


Figure 53. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **182** (400 MHz ; DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm)

### III.4.2.3. Caractérisation de 9-phényl-7-styrylpyrimido[2,1-e]purine-4-one dérivé de la guanine **183**

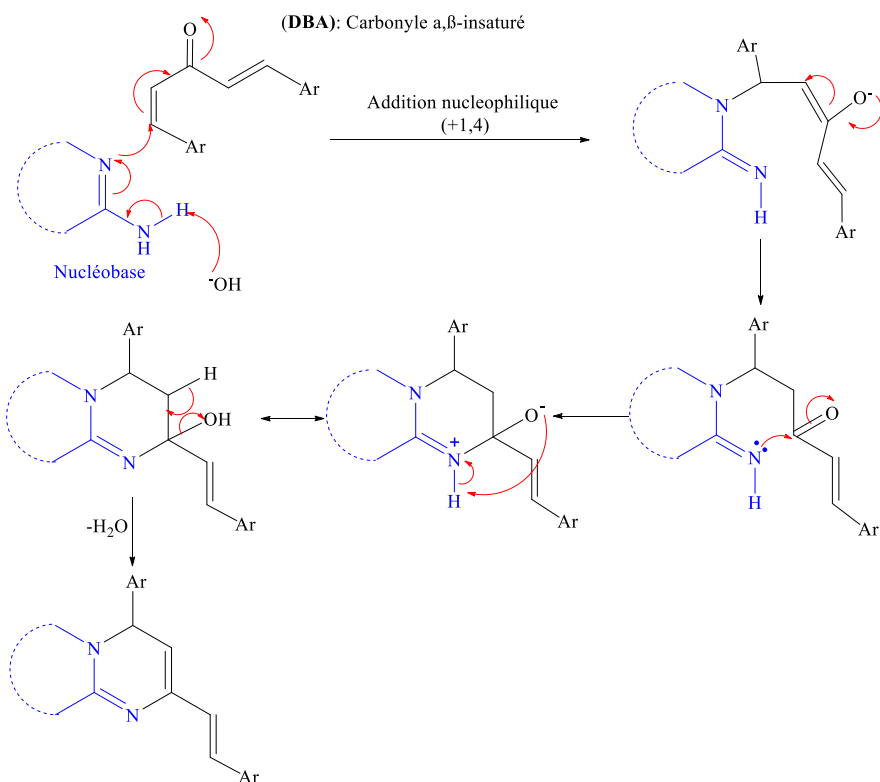
Tableau 25. Données spectrales en RMN  $^1\text{H}$ , FT-IR et spectrométrie de masse du **183**.

Comp	RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ : ppm)			MS ESI( $m/z$ )	IR ( $\text{Cm}^{-1}$ )			
	NH	Ar	C-H		C=O	C=C	C=N	NH
<b>183</b>	8.88 10.02	7.52 -6.89	4.58	368	1670	1475	1603	3322



**Figure 54.** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **183** (400 MHz ;  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm)

Le mécanisme prévu pour la condensation des nucléobases avec DBA est illustré dans le schéma 42.



**Schéma 42.** Mécanisme proposé pour la synthèse de pyrimido[1,6-a]pyrimidin-6-one **181**, pyrimido[1,2-g]purine **182**, and pyrimido[2,1-e]purin-4-one **183**.

## Conclusion

En résumé, dans ce chapitre nous avons obtenu plusieurs motifs hétérocycliques fusionnés tels que pyrimido-pyrimidines, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines et pyridazino-purines en utilisant les nucléobases (adénine, guanine et cytosine) comme nucléophiles azotés. Ces structures n'avaient jamais été décrites auparavant.

Ces composés ont été soumis à différents tests biologiques (antibactérien et antioxydant) *in vitro* dont les résultats seront présentés dans le troisième chapitre.

**Références :**

- [1]. Kumar, S., Narasimhan, B. *Therapeutic potential of heterocyclic pyrimidine scaffolds*. *Chem. Cent. J.*, **2018**, 12, p. 38. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0406-5>.
- [2]. Mohd Imran, Mohammad Asif. *Study of Various Pyridazine and Phthalazine Drugs with Diverse Therapeutical and Agrochemical Activities*. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, **2020**, 46, pp.745–767. Doi: <https://doi.org/10.1134/S1068162020050167>.
- [3]. Díaz-Muñoz, M., Hernández-Muñoz, R., Butanda-Ochoa, A. *Structure–activity features of purines and their receptors: implications in cell physiopathology*. *Mol. Biomed.*, **2022** 3, p. 5. Doi: <https://doi.org/10.1186/s43556-022-00068-1>.
- [4]. Claessens, Y-E., Chiche, J-D., Mira, J-P., Cariou, A. "Bench- to-bedside review: Severe lactic acidosis in HIV patients treated with nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors". *Critical Care*, **2003**, 7(3): pp. 226–232. Doi: [10.1186/cc2162](https://doi.org/10.1186/cc2162). PMID [12793872](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12793872/)
- [5]. Garavito, M.F., Narváez-Ortiz, H.Y., Zimmermann, B.H. "Pyrimidine Metabolism: Dynamic and Versatile Pathways in Pathogens and Cellular Development". *J. Genet. Genomics.*, **2015**, 42(5), pp. 195–205. Doi: [10.1016/j.jgg.2015.04.004](https://doi.org/10.1016/j.jgg.2015.04.004). PMID: [26059768](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26059768/).
- [6]. Jones, M.E. *Pyrimidine nucleotide biosynthesis in animals: genes, enzymes, and regulation of UMP biosynthesis*. *Annu. Rev. Biochem.*, **1980**, 49, pp. 253-279. Doi: [10.1146/annurev.bi.49.070180.001345](https://doi.org/10.1146/annurev.bi.49.070180.001345). PMID: [6105839](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6105839/).
- [7]. Zrenner, R., Stitt, M., Sonnewald, U., Boldt, R. *Pyrimidine and purine biosynthesis and degradation in plants*. *Annu. Rev. Plant. Biol.* **2006**, 57, pp. 805-836. Doi:[10.1146/annurev.arplant.57.032905.105421](https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105421). PMID: [16669783](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16669783/).
- [8]. Doremus, H.D. *Organization of the pathway of de novo pyrimidine nucleotide biosynthesis in pea (*Pisum sativum* L. cv Progress No. 9) leaves*. *Arch. Biochem. Biophys.*, **1986**, 250(1), pp. 112-119. Doi: [10.1016/0003-9861\(86\)90707-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(86)90707-1). PMID: [2876681](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2876681/).
- [9]. Biginelli, P. *Synthesis of 3,4-Dihydropyrimidin-2(1H)-Ones*. *Gazz. Chim. Ital.* **1893**, 23, pp. 360-416.

- [10]. Kappe, C. O. *100 years of the biginelli dihydropyrimidine synthesis. Tetrahedron*, **1993**, 49(32), pp. 6937-6963. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)87971-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)87971-0).
- [11]. Kappe, C.O. *Biologically active dihydropyrimidones of the Biginelli-type-a literature survey. Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35(12), pp. 1043-52. Doi: [10.1016/s0223-5234\(00\)01189-2](https://doi.org/10.1016/s0223-5234(00)01189-2). PMID: 11248403.
- [12]. Minu M., Thangadurai, A. Wakode, S. R., Agrawal, S. S. Narasimhan, B. *3,4-Disubstituted-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroquinazoline-2-thiones: Synthesis, Antimicrobial Evaluation and QSAR Investigations Using Hansch Analysis. Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2008**, 341(4), 231-239. <https://doi.org/10.1002/ardp.200700153>
- [13]. Chu, X. Q., Cao, W. B., Xu, X. P., Ji, S. J. *Iron Catalysis for Modular Pyrimidine Synthesis through  $\beta$ -Ammoniation/Cyclization of Saturated Carbonyl Compounds with Amidines. J. Org. Chem.*, **2017**, 82(2), 1145–1154. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.6b02767>.
- [14]. Gayon, E., Szymczyk, M., Gérard, H., Vrancken, E., Campagne, J. M. *Stereoselective and Catalytic Access to  $\beta$ -Enaminones: An Entry to Pyrimidines. J. Org. Chem.*, **2012**, 77(20), pp. 9205–9220. <https://doi.org/10.1021/jo301675g>.
- [15]. Movassaghi, M., Hill, M. *Synthesis of pyrimidines by direct condensation of amides and nitriles. Nat. Protoc.*, **2007**, 2(8), pp. 2018–2023. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.280>.
- [16]. Cermola, F., Vella S., DellaGreca, M., Tuzi, A., Iesce, MR. *A One-Pot Approach to Novel Pyridazine C-Nucleosides. Molecules*, **2021**, 26(8), pp. 2341-. Doi: [10.3390/molecules26082341](https://doi.org/10.3390/molecules26082341). PMID: 33920588.
- [17]. Fernandes, S.S.M., Aires-de-Sousa, J., Belsley, M., Raposo, M.M.M. *Synthesis of Pyridazine Derivatives by Suzuki-Miyaura Cross-Coupling Reaction and Evaluation of Their Optical and Electronic Properties through Experimental and Theoretical Studies. Molecules*, **2018**, 23(11), pp. 3014-. Doi: [10.3390/molecules23113014](https://doi.org/10.3390/molecules23113014). PMID: 30453681.
- [18]. Miyaura, N., Suzuki, A. *Stereoselective synthesis of arylated (E)-alkenes by the reaction of alk-1-enylboranes with aryl halides in the presence of palladium*

- catalyst. J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 19, **1979**, pp. 866-867. DOI: [10.1039/C39790000866](https://doi.org/10.1039/C39790000866).
- [19]. Khan, A., Diwan, A., Thabet, H.K., Imran, M. *Synthesis of novel N-substitutedphenyl- 6-oxo-3-phenylpyridazine derivatives as cyclooxygenase-2 inhibitors. Drug. Dev. Res.*, **2020**, 2020, pp. 1–12.
- [20]. Khan, A., Diwan, A., Thabet, HK., Imran, M., Bakht, MA. *Discovery of Novel Pyridazine- Based Cyclooxygenase-2 Inhibitors with a Promising Gastric Safety Profile. Molecules*, **2020**, 25(9), p. 2002. Doi: [10.3390/molecules25092002](https://doi.org/10.3390/molecules25092002). PMID: [32344801](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32344801/).
- [21]. Ibrahim, H.M., Behbehani, H. *Synthesis of a new class of Pyridazin-3-one and 2- amino-5-arylazopyridine derivatives and their utility in the synthesis of fused azines. Molecules*, **2014**, 19(2), pp. 2637-2654. Doi:[10.3390/molecules19022637](https://doi.org/10.3390/molecules19022637). PMID: [24566327](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24566327/).
- [22]. Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1898**, 31, p. 2551.
- [23]. Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1899**, 32, P. 2550.
- [24]. Rosemeyer, H. *The chemodiversity of purine as a constituent of natural products. Chem. Biodivers.*, **2004**, 1(3), pp. 361-401. Doi: [10.1002/cbdv.200490033](https://doi.org/10.1002/cbdv.200490033). PMID: [17191854](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17191854/).
- [25]. Legraverend, M., Grierson D. S. *The purines: Potent and versatile small molecule inhibitors and modulators of key biological targets. Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14(12), pp. 3987-4006. Doi: [10.1016/j.bmc.2005.12.060](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.12.060). PMID: [16503144](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16503144/).
- [26]. Balasubramaniam, S., Duley, J.A., Christodoulou, J. *Inborn errors of purine metabolism: clinical update and therapies. J. Inherit. Metab. Dis.*, **2014**, 37(5), pp. 669–686. Doi: [10.1007/s10545-014-9731-6](https://doi.org/10.1007/s10545-014-9731-6). PMID: [24972650](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24972650/).
- [27]. Pareek, V., Pedley, A.M., Benkovic, S.J. *Human de novo purine biosynthesis. Crit. Rev Biochem. Mol. Biol.* **2021**, 56(1), pp. 1-16. Doi: [10.1080/10409238.2020.1832438](https://doi.org/10.1080/10409238.2020.1832438). PMID : [33179964](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33179964/).
- [28]. Yamada, H.; Okamoto, T. *A One-step Synthesis of Purine Ring from Formamide. Chem. Pharm. Bull.*, **1972**, 20(3), pp. 623-624. Doi. <https://doi.org/10.1248/cpb.20.623>.

- [29]. Conejo-García, A., Cruz-López, O., Gómez-Pérez, V., Morales, F., García-Rubiño, M. E., Kimatrai, M., Núñez, M. C., Campos J. M. *Synthesis of Purine Derivatives as Scaffolds for a Diversity of Biological Activities*. *Curr. Org. Chem.*, **2010**, 14(20), pp. 2463-2482. Doi: [10.2174/138527210793358240](https://doi.org/10.2174/138527210793358240).
- [30]. Pineda de las Infantas y Villatoro M.J., Unciti-Broceta, J.D., Contreras-Montoya, R., Garcia-Salcedo, J.A., Gallo Mezo, M. A., Unciti-Broceta, A., Diaz-Mochon, J.J. *Amide-controlled, one-pot synthesis of tri-substituted purines generates structural diversity and analogues with trypanocidal activity*. *Sci. Rep.*, **2015**, 5, p. 9139. Doi: [10.1038/srep09139](https://doi.org/10.1038/srep09139). PMID: 25773920.
- [31]. Xiang, J., Li, H., Yang, K., Yi, L., Xu, Y., Dang, Q., & Bai, X. (2011). *Synthesis of novel 4H-pyrimido[1,6-a]pyrimidines via a one-pot three-component condensation*. *Molecular Diversity*, **2011**, 16(1), pp. 173–181. Doi: [10.1007/s11030-011-9345-y](https://doi.org/10.1007/s11030-011-9345-y).
- [32]. Biginelli, P. *Ueber Aldehyduramide des Acetessigäthers*. *Ber. Deut. Ges. chem*, **1891**, 24(1), pp. 1317-1319. Doi: [10.1002/cber.189102401228](https://doi.org/10.1002/cber.189102401228).
- [33]. Hamama, W. S., Ismail, M. A., Al-Saman, H. A., Zoorob, H. H. *Facile construction of substituted pyrimido[4,5-d]pyrimidones by transformation of enaminoouracil*. *J. Adv. Res.*, **2013**, 4(2), pp. 115–121. Doi: [10.1016/j.jare.2012.01.001](https://doi.org/10.1016/j.jare.2012.01.001).
- [34]. Bacelar A.H., Carvalho M.A., Proença M.F. *Synthesis and in vitro evaluation of substituted pyrimido[5,4-d]pyrimidines as a novel class of anti-Mycobacterium tuberculosis agents*. *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, 45(7), pp. 3234-3239. Doi: [10.1016/j.ejmech.2010.03.047](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.03.047). PMID: 20416983.
- [35]. Dennin, F., Blondeau, D., Sliwa, H. *Synthèse de l'hydroxy-9-pyrimido[1,6-a]pyrimidine one-4 et dérivés*. *J. Heterocyclic. Chem.*, **1990**, 27(7), pp. 1963-1967. Doi: [10.1002/jhet.5570270721](https://doi.org/10.1002/jhet.5570270721).
- [36]. Jurriën W., Collet, Bénédicte Morel, Hung-Chien Lin, Thomas R., Roose, Pieter Mampuy, Romano V. A., Orru, Eelco Ruijter, Bert U. W. Maes. *Synthesis of Densely Functionalized Pyrimidouracils by Nickel(II)-Catalyzed Isocyanide Insertion*. *Org. Lett.*, **2020**, 22, 3, pp. 914–919. Doi: [10.1021/acs.orglett.9b04387](https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b04387).

- [37]. Galeta J., Šála M., Dračinský M., Vrábel M., Havlas Z., Nencka R. *Single-Step Formation of Pyrimido[4,5-d]pyridazines by a Pyrimidine-Tetrazine Tandem Reaction.* *Org. Lett.*, **2016**, 18(15), pp. 3594-3597. Doi: [10.1021/acs.orglett.6b01601](https://doi.org/10.1021/acs.orglett.6b01601). PMID: 27391276.
- [38]. Turbiak A.J., Kampf J.W., Hollis Showalter H.D. *A novel synthesis of 3-(substituted)pyrimido[4,5-c]pyridazine-5,7(1H,6H)-diones.* *Tetrahedron. Lett.*, **2010**, 51(9), pp. 1326-1328. Doi: [10.1016/j.tetlet.2010.01.007](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2010.01.007). PMID : 21103016.
- [39]. Elagamey, A.G., Sattar, S.A., El-Taweel, F., Said, S. *An Efficient Synthesis and Antibacterial Activity of Pyrido[2,3-d]Pyrimidine, Chromeno[3,4-c]Pyridine, Pyridine, Pyrimido[2,3-c]Pyridazine, Enediamines, and Pyridazine Derivatives.* *J. Heter.Chem.*, **2015**, 53(6), pp. 1801–1806. Doi: [10.1002/jhet.2487](https://doi.org/10.1002/jhet.2487).
- [40]. Zhao, Y., Hammoudeh, D., Yun, M.K., Qi, J., White, S.W., Lee, R.E. *Structure-based design of novel pyrimido[4,5-c]pyridazine derivatives as dihydropteroate synthase inhibitors with increased affinity.* *Chem.Med.Chem.*, **2012**, 7(5), pp. 861-870. Doi: [10.1002/cmdc.201200049](https://doi.org/10.1002/cmdc.201200049). PMID: 22416048.
- [41]. Koch P., Akkari R., Brunschweiger A., Borrmann T., Schlenk M., Küppers P., Köse M., Radjainia H, Hockemeyer J., Drabczyńska A., Kieć-Kononowicz K., Müller C.E. *1,3-Dialkyl-substituted tetrahydro pyrimido[1,2-f]purine-2,4-diones as multiple target drugs for the potential treatment of neurodegenerative diseases.* *Bioorg. Med. Chem.*, **2013**, 21(23), pp. 7435-52. Doi: [10.1016/j.bmc.2013.09.044](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.09.044). PMID: 24139167.
- [42]. Knutson, C.G., Wang, H., Rizzo, C.J., Marnett, L.J. *Metabolism and elimination of the endogenous DNA adduct, 3-(2-deoxy-beta-D-erythropentofuranosyl)-pyrimido[1,2- $\alpha$ ]purine-10(3H)-one, in the rat.* *J. Biol. Chem.*, **2007**, 282(50), pp. 36257-36264. Doi: [10.1074/jbc.M706814200](https://doi.org/10.1074/jbc.M706814200). PMID: 17951255.
- [43]. Muzychkaa, L.V., Yaremchuka, I.O., Muzychkaa, O.V., Smoliia, O.B. *7-Substituted pyrrolo[2,3-d]pyrimidines for the synthesis of new 1-deazapyrimido[1,2,3-cd]purines.* *French-Ukrainian. J. Chem.*, **2017**, 5(2), pp. 15-23. <https://doi.org/10.17721/fujcV5I2P15-23>.
- [44]. Kaiya T., Saga T., Yamagata Y., Kohda K. *Reactions of 7- and 9-aminoadenines with 2,4-pentanedione. Formation of new ring systems, pyridazino[6,1-f]purine*

- and pyridazino[1,6-*e*]purine. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8(16), pp. 2197-202. Doi: [10.1016/s0960-894x\(98\)00392-8](https://doi.org/10.1016/s0960-894x(98)00392-8). PMID: 9873512.
- [45]. Aslam, M., Verma, S. *Int. J. ChemTech Res.* **2012**, 4, 109.
- [46]. Kolosov, M.A., Al-Ogaili, M.J.K., Parkhomenko, V.S., Orlov, V.D. Synthesis and N-alkylation of diethyl 4,7-dihydroazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5,6-dicarboxylates. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2014**, 49(10), pp. 1484-1489. Doi: [10.1007/s10593-014-1399-1](https://doi.org/10.1007/s10593-014-1399-1)
- [47]. Ríos, M.-C.;Portilla, J.“Recent Advances in Synthesis and Properties of Pyrazoles” . *Chemistry.* **2022**, 4, pp. 940–968. <https://doi.org/10.3390/chemistry4030065>
- [48]. DauXuanDuc, Vo Cong Dung. Recent Progress in the Synthesis of Isoxazoles. *Curr. Org. Chem.*, **2021**, 25(24), pp. 2938-2989. DOI: [10.2174/1385272825666211118104213](https://doi.org/10.2174/1385272825666211118104213)
- [49]. Agrawal, N., Mishra, P. The synthetic and therapeutic expedition of isoxazole and its analogs. *Med. Chem. Res.*, **2018**, 27(5), pp. 1309-1344. Doi: [10.1007/s00044-018-2152-6](https://doi.org/10.1007/s00044-018-2152-6). PMID: 32214770.
- [50]. Naim, M.J., Alam, O., Nawaz, F., Alam, M.J., Alam, P. Current status of pyrazole and its biological activities. *J. Pharm.Bioallied. Sci.*, **2016**, 8(1), pp. 2-17. Doi: [10.4103/0975-7406.171694](https://doi.org/10.4103/0975-7406.171694). PMID: 26957862.
- [51]. Nishimura, Haruo, KATAGIRI, Ken, SATŌ, Kōzaburō, *et al.* Toyocamycin, a new anti-candida antibiotics. *J. Antibiotics, Series A*, **1956**, 9, (2), pp. 60-62. [https://doi.org/10.11554/antibioticsa.9.2\\_60](https://doi.org/10.11554/antibioticsa.9.2_60)
- [52]. Tolman, Richard L., Robins, Roland K., et Townsend, Leroy B. Pyrrolo [2, 3-*d*] pyrimidine nucleoside antibiotics. Total synthesis and structure of toyocamycin, unamycin B, vengicide, antibiotic E-212, and Sangivamycin (BA-90912). *Journal of the American Chemical Society*, **1968**, 90 (2), pp. 524-526. <https://doi.org/10.1021/ja01004a076>
- [53]. Anzai, K., Nakamura, G., & Suzuki, S. A new antibiotic, tubercidin. *The Journal of Antibiotics, Series A*, **1957**, 10 (5) pp. 201-204. Doi: [10.11554/antibioticsa.10.5\\_201](https://doi.org/10.11554/antibioticsa.10.5_201)

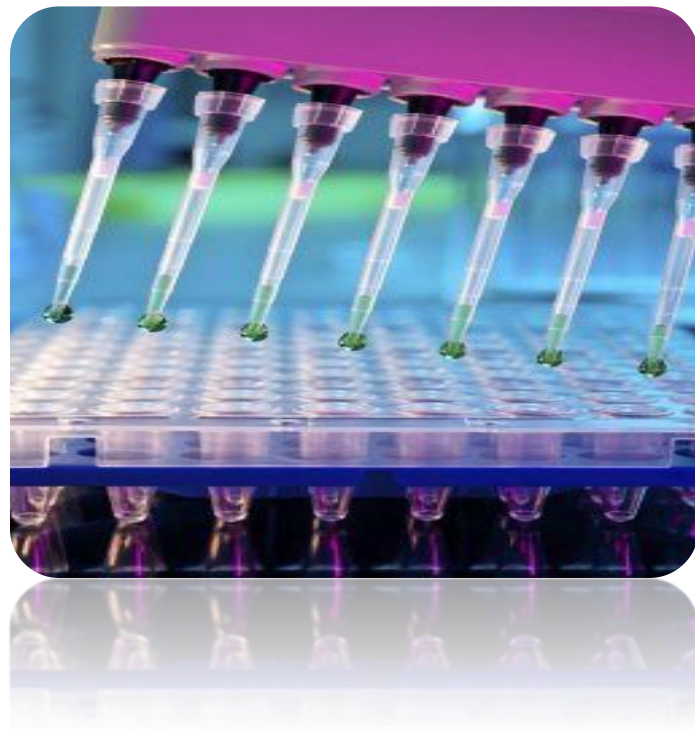
- [54]. Rao, K. V., Renn, D. W. BA-90912: an antitumor substance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **1963**, 161, pp. 77-79. PMID: [14275003](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14275003/)
- [55]. Knorr L. *Einwirkung des Diacetbernsteinsäureesters auf Ammoniak und primäre Aminbasen. Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, 18, p. 299. DOI: [10.1002/\(ISSN\)1099-0682](https://doi.org/10.1002/(ISSN)1099-0682).
- [56]. Paal C. *Synthese von Thiophen- und Pyrrolderivaten. Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, 18, p. 367. [https://doi.org/10.1002/\(ISSN\)1099-0682](https://doi.org/10.1002/(ISSN)1099-0682).
- [57]. Cortes-Clerget M., Yu J., Kincaid J. R., Walde P., Gallou F., Lipshutz B. H. *Water as the reaction medium in organic chemistry: from our worst enemy to our best friend. Chem. Sci.*, **2021**, 12 (12), pp. 4237-4266. <https://doi.org/10.1039/D0SC06000C>
- [58]. Faisal, M. *Water in Organic Synthesis as a Green Solvent. Industrial Applications of Green Solvents: Volume I*, **2019**, 50, pp. 61-106. <https://doi.org/10.21741/9781644900239-3>
- [59]. Laird, T. *Organic Synthesis in Water*. Edited by Paul A Grieco, Blackie/Thomson Science: London, UK, **1998**. 320 pp. ISBN 0 7514 0410 1. **1998**. <https://doi.org/10.1021/op9800358>
- [60]. Kandhasamy, K. et Gnanasambandam, V. *Multi-component reactions in water. Curr. Org. Chem.*, **2009**, 13, pp. 1820-11841. <http://dx.doi.org/10.2174/138527209789630514>
- [61]. Zhou, F., Hearne, Z., Li, C. J. *Water—the greenest solvent overall. Curr. Opin. Green Sustain. Chem.*, **2019**, 18, pp. 118-123. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.05.004>
- [62]. Dimmock, J.R., Elias, D.W., Beazely, M.A., Kandepu, N.M. *Bioactivities of chalcones. Curr. Med. Chem.* **1999**, 6(12), p. 1125. PMID: [10519918](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10519918/).
- [63]. Rudrapal, M., Khan, J., Dukhyil, A. A. B., et al. *Chalcone scaffolds, bioprecursors of flavonoids: Chem., bio., pharm. Molecules*, **2021**, 26(23), p. 7177. <https://doi.org/10.3390/molecules26237177>
- [64]. Bargujar, S., & Ratnani, S. *An Alternative Greener Synthesis of Dibenzalacetone. Org. Prep. Proc. Int.*, **2022**, 54 (6), pp. 563-565. <https://doi.org/10.1080/00304948.2022.2096383>

- [65]. Selepe, M. A., & Van Heerden, F. R. Application of the Suzuki-Miyaura reaction in the synthesis of flavonoids. *Molecules*, **2013**, 18 (4), p. 4739-4765. <https://doi.org/10.3390/molecules18044739>
- [66]. Schramm O.G., *Multicomponent Heterocycle Syntheses Based upon Sonogashira Coupling-Isomerization*. **2006**. Thèse de doctorat.
- [67]. Ibrahim, M. N., & Al-Difar, H. A. *Synthesis and biological activity study of some heterocycles derived from dibenzalacetone*. *Int. J. Eng. Sci. Math.*, **2013**, 2 (3), p. 57.



### **Chapitre III : Partie Biologique**

## **Evaluations des propriétés antibactériennes et anti- oxydantes**



## Introduction

Dans le cadre de notre programme de recherche, nous nous sommes concentrés sur la synthèse d'une variété de molécules hétérocycliques puis l'évaluation de leur potentiel biologique.

Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antibactérienne et anti-oxydante de ces produits synthétisés.

## I. Evaluation biologique de nos composés synthétisés :

### I.1. Evaluation de l'activité antibactérienne:

Les bactéries sont des micro-organismes indispensables à l'homme et à l'environnement, car ils accomplissent un rôle vital dans presque tous les écosystèmes, mais ils peuvent aussi être la cause de nombreuses maladies infectieuses [1]. Certains micro-organismes tels que les bactéries et les levures peuvent être pathogènes et causer des maladies chez l'homme, les plantes ou les animaux. Les bactéries pathogènes sont responsables de plusieurs maladies épidémiques et pandémiques, dès lors la quête de substance anti-infectieuse est devenue un problème de santé publique. A partir d'une succession d'observations et de travaux de nombreux chercheurs dont *Pasteur*, *Joubert*, *Duchesne* puis *Fleming*, cette quête a abouti à la découverte des antibiotiques [2].

Dans ce contexte, nous avons procédé à l'évaluation préliminaire de l'activité antibactérienne de composés originaux que nous avons préparés, vis-à-vis d'une variété de micro-organismes.

#### I.1.1. Micro-organismes utilisés

Afin de donner une vision large sur l'étendue du champ d'activité biologique de nos produits, une variété de micro-organismes a été sélectionnée de ce fait quatre (04) bactéries pathogènes sensibles ont été choisies au cours de cette étude, ceux sont donc :

**I.1.1.1. *Escherichia coli* (*E. coli*) [ATCC-8737]:** c'est une bactérie colibacille à Gram négatif de la famille des entérobactéries intestinales présente chez les mammifères et très commune chez l'être humain. Découverte en 1885 par *Théodore Escherich* dans des selles de nourrissons, c'est un coliforme fécal généralement commensal [3].

**I.1.1.2. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) [ATCC-6538]:** est un bacille à Gram positif appartenant à la famille des *Staphylococcus*. C'est l'espèce la plus pathogène, elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées, et dans certains cas extrêmes, de septicémie [4].

**I.1.1.3. *Pseudomonas aeruginosa* [ATCC-9027]:** est une bactérie à Gram négatif capable de produire des pigments qui appartient à la famille des *Pseudomonaceae*. Elle est souvent rencontrée dans les sols, les végétaux et surtout dans les eaux douces et marines. Cette bactérie pathogène peut causer des infections de l'œil et des poumons, des brûlures, etc. sa capacité à résister à de nombreux antibiotiques et antiseptiques explique sa présence de plus en plus fréquente en milieu hospitalier (infections nosocomiales) [5].

**I.1.1.4. *Salmonella typhimurium* (*S. typhi*) [ATCC-14028]:** est une entérobactérie du genre *Salmonella*. Ce bacille à Gram négatif, mobile et à forte contagiosité, est responsable de gastro-entérites, de toxi-infections alimentaires et des fièvres typhoïdes. *Salmonella typhimurium* est actuellement considérée comme le sérotype le plus important sur le plan épidémiologique dans les salmonelloses humaines [6].

## **I.1.2. Méthodologie utilisée pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne**

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur disque.

### **I.1.2.1. Stérilisation du matériel**

L'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés et autoclavés à 160°C pendant 1 heure [7].

### **I.1.2.2. Conservation des souches**

Les souches bactériennes sont conservées dans des tubes stériles contenant la gélose nutritive.

### **I.1.2.3. Préparation du milieu de culture**

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit : Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant

24h à 121°C, la gélose de Muller Hinton fondue est coulée dans des boîtes de Pétri de 9 cm de façon à obtenir une épaisseur de 4 mm.

#### I.1.2.4. Ensemencement des boites

Couler les boites de pétri stériles de 90 mm de diamètre par la gélose de Muller Hinton stérile prêt à l'usage. Laisser les boites entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification. Ensemencer des boites de pétri préalablement ont été ensemencées chaque bactérie.



**Figure 55.** Ensemencement bactérien.

#### I.1.2.5. Méthode de diffusion sur disque

Les disques imprégnés d'extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant des antibiotiques (témoin positif) appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des produits testés [8]. Finalement, les boites de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37° [9].



**Figure 56.** L'incubation des boites de Pétri à l'étuve pendant 24 heures à 37 °C.

#### I.1.2.6. Détermination de la zone d'inhibition

L'apparition d'une zone claire autour des discs indique l'action antibactérienne des produits vis-à-vis la souche bactérienne testée. Les diamètres de la zone claire sont

mesurés à l'aide d'une règle graduée, et les résultats obtenus sont exprimés en millimètre. Les bactéries seront classées selon le diamètre d'inhibition dans l'une des catégories suivantes: résistance, sensibilité limitée, sensibilité moyenne et très sensible [10] comme le montre le **Tableau 26**.

**Tableau 26.** Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition.

Diamètre du halo d'inhibition (X)	Degré de sensibilité des germes.	Résultats
$X \leq 8 \text{ mm}$	Résistante	-
$8\text{mm} < X < 14\text{mm}$	Sensibilité limitée	+
$14\text{mm} < X < 20\text{mm}$	Sensibilité moyenne	++
$X \geq 20 \text{ mm}$	Très sensible	+++

## I.2. Evaluation *in vitro* de l'activité anti-oxydante

### I.2.1. Oxydation

L'oxydation est le phénomène qui fait rouiller les métaux, rancir les graisses et flétrir les légumes et les fruits en modifiant leurs goût et couleurs [11]. Ce phénomène chimique génère des espèces réactives dont les radicaux libres, les espèces chimiques neutres et/ou chargées. Les espèces réactives générées sont instables et ne cherchent qu'à récupérer un électron dans leur environnement, pour retourner à leur état plus stable.

Dans le cas de l'enzyme l'oxydation entraîne une modification ou perte de l'activité biologique de la molécule, ce qui provoque des désorganisations cellulaires parfois irréversibles entraînant la mort de la cellule [11].

### I.2.2. Stress oxydatif

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé la compréhension des mécanismes biologiques [12]. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, car à dose bien précise, ils sont nécessaires pour l'organisme. Cependant, leur production peut devenir excessive, due à plusieurs phénomènes exogènes ou endogènes et de ce fait, l'organisme va devoir se protéger par différents systèmes antioxydants [12].

L'organisme doit alors confronter et contrôler la présence des antioxydants et des pro-oxydants continuellement. Le stress oxydant désigne le déséquilibre entre la génération des espèces réactives et celle des antioxydante, menant à des dommages oxydants. C'est une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des espèces radicalaire toxiques [13].

### I.2.3. Radicaux libres

Un Radical libre est une molécule, ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif [14]. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé : espèces réactives, comme celles de l'oxygène.

### I.2.4. Antioxydant

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats [15]. Ces molécules agissent par échange ou appariement d'électron célibataire.

#### I.2.4.1. Mode d'action

Les antioxydants agissent de différentes manières :

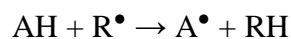
- Ils peuvent empêcher la formation directe des radicaux libres,
- Ils peuvent faire la liaison avec les radicaux libres et les détruire,
- Ils renforcent le système immunitaire de défense.
- Ils réparent les dommages résultants des radicaux libres.

#### I.2.4.2. Types d'antioxydants

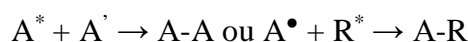
Deux types d'antioxydants sont distingués :

##### I.2.4.2.1. Antioxydants primaires ou radicalaires ou vrais

Ce type permet l'interruption de la chaîne auto-catalytique comme le montre l'équation ci-après :



La molécule AH est considérée comme antioxydante, si le radical formé  $A^{\bullet}$  est plus stable. La stabilité de ce dernier peut s'expliquer par sa conversion en composés non radicalaires comme dans l'équation suivante [12][16] :



#### I.2.4.2.2. Antioxydants secondaires ou préventifs

Ce type assure l'inhibition de la production des radicaux libres. Ce sont des substances qui décomposent les hydroperoxydes en alcool, les thiols (Glutathion, acides aminés soufrés) ou les disulfures. Elles sont des protecteurs vis-à-vis les UV comme les carotènes, des chélatants de métaux promoteurs d'oxydation (De type fer et cuivre) comme l'acide citrique et les lécithines, ou des séquestrants d'oxygène comme l'acide ascorbique [11].

Pour mesurer l'activité anti-oxydante d'une substance, plusieurs méthodes sont disponibles [17-18]. Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes: soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron [19]. Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation des lipides en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation [20]. Les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le balayage du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), de l'acide hypochloreux ( $HOCl$ ), de l'hydroxyle ( $\bullet OH$ ), des anions superoxyde ( $O_2^{\bullet -}$ ), du peroxyde ( $ROO^{\bullet}$ ) et de l'oxyde nitrique ( $NO^{\bullet}$ ) [21].

Parmi ces techniques, nous citerons :

La méthode TRAP (Paramètre du piégeage du radical total) [22].

La méthode photochimi-luminescence (PCL) [23].

La méthode d'ORAC (capacité d'absorbance du radical oxygène) [24].

La méthode d'ABTS (2,2-azinobis-(3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate) ou TEAC (capacité anti-oxydante équivalente de Trolox) [25].

La méthode DMPD (Balayage du radical cation *N, N*- diméthyl-*p*-phénylènediamine) [26].

La méthode du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) [27].

La méthode FRAP (capacités réductrices ferriques d'antioxydants) [28].

La méthode TOSC (capacité du piégeage des oxy-radicaux totaux) [29].

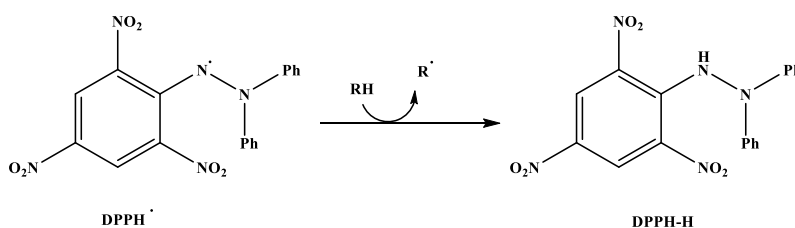
#### I.2.5. Méthodologie utilisée pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante

La plupart des tests antioxydants consistent à étudier la disparition ou la formation d'un produit spécifique dans un milieu soumis à un stress oxydant. Cependant, chaque

test permet d'étudier l'inhibition d'une seule espèce oxydante ou bien la protection d'une seule cible à la fois. Ainsi, l'évaluation de l'activité anti-oxydante par une technique donnée ne fournit que des informations partielles sur l'activité des composés. Il est donc nécessaire de réaliser différents tests antioxydants afin de percevoir la capacité réelle de protection d'un composé dans un milieu biologique complexe. Pour les composés synthétisés, nous avons donc réalisé deux tests différents avec des cibles et des espèces oxydantes variées. Pour chaque méthode utilisée, le principe du test sera indiqué avant de détailler et de discuter des résultats obtenus.

### I.2.5.1. La méthode du radical DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle noté DPPH fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant [27]. Ce composé est disponible commercialement sous forme d'un radical stable à l'état solide. Il possède un électron non apparié sur un atome d'azote, caractérisé par son spectre d'absorption UV-visible à une longueur d'onde d'absorption en solution alcoolique à 515nm-518nm. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration, due à une recombinaison des radicaux DPPH, mesurable par spectrophotométrie UV-vis à 515-518 nm. Il réagit par arrachement d'un H à un antioxydant pour donner le 2,2-diphénylhydrazine (DPPH-H) (**Schéma 40**).



**Schéma 43.** Structure du radical DPPH et produit de réduction DPPH<sub>2</sub>.

Ce test, largement utilisé, est rapide à mettre en œuvre et peut être adapté à des évaluations à haut débit. La mesure du piégeage du radical DPPH a été effectuée selon la méthodologie décrite par Brand-Williams et ses collaborateurs (1995).

1 ml de différentes concentrations des composés testés (10, 25, 50, 100, 200, 250 et 500 µg/mL) dans le méthanol a été ajouté à 2 mL d'une solution méthanolique à 0,004 % (p/v) de DPPH. La solution est incubée à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min, ensuite la réaction de transfert d'hydrogène de l'antioxydant vers le

DPPH• est suivie par spectroscopie UV-visible en enregistrant la décroissance de la bande d'absorption du DPPH• à 517 nm.

Le pourcentage d'inhibition (I %) de la production de radicaux libres à partir de DPPH a été calculé par l'équation suivante

$$\% \text{ de balayage DPPH} = [(A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle}] \times 100.$$

Où A contrôle est l'absorbance de la réaction témoin (contenant tous les réactifs à l'exception du composé à tester) et A échantillon est l'absorbance du composé à tester.

Une courbe d'étalonnage de la vitamine C a été tracée (différentes concentrations de la vitamine C en fonction de leur I %).

### I.2.5.2. Le radical ABTS

Le radical cation de l'acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) est stable sous sa forme libre. Ce radical est facilement formé à partir de l'acide correspondant par oxydation en présence de persulfate de potassium. D'autres oxydants peuvent être utilisés, tels que le dioxyde de manganèse (MnO<sub>2</sub>).

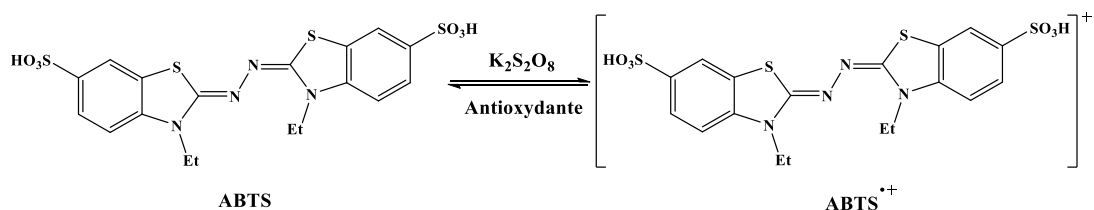


Schéma 44. Structure du radical ABTS<sup>+•</sup>.

Ce radical est utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant de fluides biologiques, de mélanges complexes ou de composés purs. Il est capable de réagir avec des antioxydants classiques de type phénols et thiols, mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron [25]. Ce radical est caractérisé par un spectre UV avec des maximums d'absorbance à 416, 650 et 734 nm. La concentration de ce radical peut être déterminée en mesurant l'absorbance à ces longueurs d'onde. L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cation entraîne sa réduction et une diminution de l'absorbance à 734 nm. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante du composé testé mais souvent aussi du temps et de la concentration.

En pratique, à une solution d'ABTS à 7 mM dans l'eau est ajoutée une solution de persulfate de potassium à (2.4 mM). En quantités égales, les deux solutions mères ont été mélangées et laissées réagir pendant 12 h dans l'obscurité à température ambiante

pour former le radical cation ABTS<sup>•+</sup>. Avant utilisation, la solution est diluée pour obtenir un absorbance de  $0,701 \pm 0,005$  à 740 nm.

La solution diluée de radical ABTS<sup>•+</sup> (990 µL) a été laissée réagir avec (10 µL) des solutions des composés à tester à des concentrations variables. Après 7 min, l'absorbance a été prise à 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le pourcentage de réduction du radical ABTS<sup>•+</sup> est calculé selon la formule ci-dessous :

$$\% \text{ de balayage ABTS} = [(A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle}] \times 100.$$

## II. Résultats et discussion

### II.1. Activité antibactérienne

Les composés synthétisés ont été criblés pour leur activité antibactérienne *in vitro* et ont été déterminés en utilisant la méthode de diffusion sur disque [8]. Les papiers filtres Whattman ont été autoclavés pendant une heure à 140°C. Tous les produits ont été dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) pour dilution afin de préparer des solutions mères et deux solutions filles pour le dosage antimicrobien; la charge bactérienne est égale à 0,62 McF. Les plaques de gélose ont été inoculées uniformément en surface avec un bouillon de culture frais de bactéries Gram positives comprenant: *Staphylococcus aureus* (ATCC-6538), *Salmonella typhimurium* (ATCC-14028) et Gram négatif : *Escherichia Coli* (ATCC-8737), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-9027). Les disques imprégnés de 10 µl ont été déposés sur les plaques de gélose, puis incubés à 30°C pendant 1 h pour permettre une bonne diffusion. Ils ont ensuite été transférés dans un incubateur à 37±2 °C pendant 24 heures. Les zones d'inhibition ont été mesurées à l'échelle du mm. Dans notre étude, la gentamicine a été utilisée comme antibiotique de référence.

Les produits synthétisés sont regroupés en trois séries.

**Série 1 :** Les dérivés de Pyrimidines, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines et pyridazino-purines.

**Série 2 :** Les dérivés de pyrazoles, isoxazoles, pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines.

**Série 3 :** Les dérivés de Pyrimido[1,6-a]pyrimidine, Pyrimido[1,2-g]purine et Pyrimido-[2,1-e]purine.

Les résultats sont regroupés respectivement dans les **Tableaux 11, 12, 13** et **5**. D'après

les résultats obtenus, les séries testées semblent être dotés d'une activité inhibitrice assez importante *via* les différentes bactéries.

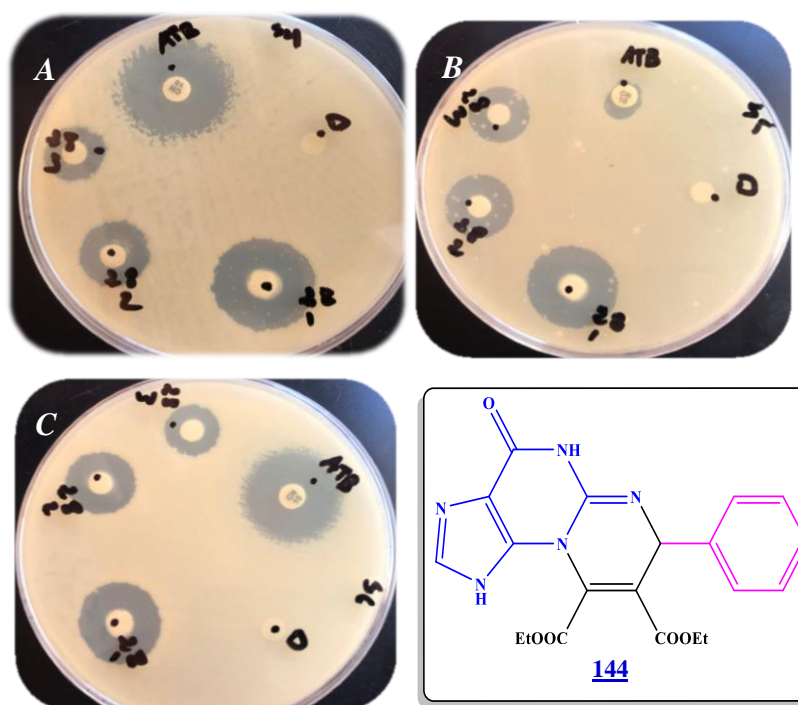
### II.1.1. Effet antibactérien de la série 1 (Pyrimidines, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines et pyridazino-purines)

Les composés de la série 1 montrent en général une activité modérée vis à vis des souches bactériennes étudiées, les résultats sont regroupés dans le **Tableau 27**.

**Tableau 27.** Evaluation de l'activité antibactérienne des composés de la première série.

Composés	Diamètre de la zone d'inhibition (mm/mg)											
	Bactéries											
	G+						G-					
	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Salamonella typhimuruim</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Escherichia Coli</i>		
DMSO	-			-			-			-		
Gentamicine	25			22			23			27		
Concentration $\mu\text{g/mL}$	150	75	37.5	150	75	37.5	150	75	37.5	150	75	37.5
<a href="#">136</a>	14	9.5	6.5	7.25	6	-	9	7.5	-	-	-	-
<a href="#">139</a>	8	-	-	-	-	-	14	11	6	11.5	6.5	-
<a href="#">140</a>	13	8	7	-	-	-	10	7	-	6.5	-	-
<a href="#">142</a>	12.5	8.25	6.5	16.5	11.5	8.5	15	13	9	14	11.5	8
<a href="#">143</a>	10	6.5	-	-	-	-	7	-	-	13	9	6.5
<a href="#">144</a>	22	17	15	21	17	13	23	16.5	15	-	-	-
<a href="#">145</a>	10.5	-	-	13	8	7	11	7.5	-	8	6.5	-
<a href="#">146</a>	11	8	7	14	12	7	13	11.5	6.5	-	-	-
<a href="#">159</a>	9	-	-	-	-	-	11	9.5	8	-	-	-
<a href="#">161</a>	10	6.5	-	12	8.5	6.5	12.5	10.5	7.5	8.5	7.5	6.5
<a href="#">163</a>	10	7	6	9.5	8	7	8.25	-	-	11	9.5	6.5
<a href="#">164</a>	9.5	7	-	12	8	6	14	12	7	10.5	9	-
<a href="#">165</a>	10	8	6	-	-	-	14	12	8.5	8	-	-
<a href="#">166</a>	-	-	-	11	9	6	10	-	-	-	-	-

Le composé [144](#) dérivés de la guanine est inactif vis-à-vis d'*Echrichia coli* qui a résisté à une forte concentration, mais il a montré une activité antibactérienne importante vis-à-vis des trois souches telles que *Pseudomonas aerogenosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salamonella typhimuruim* dont les zones d'inhibition varient entre 23, 22 et 21 mm respectivement à des concentrations mères 150 µg/mL. Dans les concentrations minimales 37.5 µg/mL, il montre aussi des zones d'inhibitions remarquables entre 13 mm pour *Salamonella typhimuruim* et 15 mm pour *Pseudomonas aerogenosa* et *Staphylococcus aureus*. Comme le montre la **Figure 57** suivante.



**Figure 57.** Evaluation de l'activité antibactérienne du composé [144](#) contre *Pseudomonas aerogenosa*(A), *Staphylococcus aureus*(B), *Salamonella typhimuruim* (C).

Concernant le *Staphylococcus aureus*, le niveau d'activité biologique est modéré dans tous les produits avec une zone d'inhibition variée entre (6.5-22 mm) sauf [166](#) ne présente aucun effet contre ce type de bactérie.

Pour le *Salamonella typhimuruim*, on remarque une zone d'inhibition relativement variable (6-21 mm), par contre les composés [139](#), [140](#), [143](#), [159](#), [165](#) ne donnent aucun effet biologique.

Tous les composés ont présenté une activité modérée contre *Pseudomonas aeruginosa* avec une zone d'inhibition entre 6 et 23 mm.

Les composés de cette série ont montré une légère activité contre l'*Escherichia coli* avec une zone d'inhibition entre 6.5 et 14 mm, mais les composés [136](#), [144](#), [159](#) et [166](#) ne donnent aucun effet, donc sont inactifs.

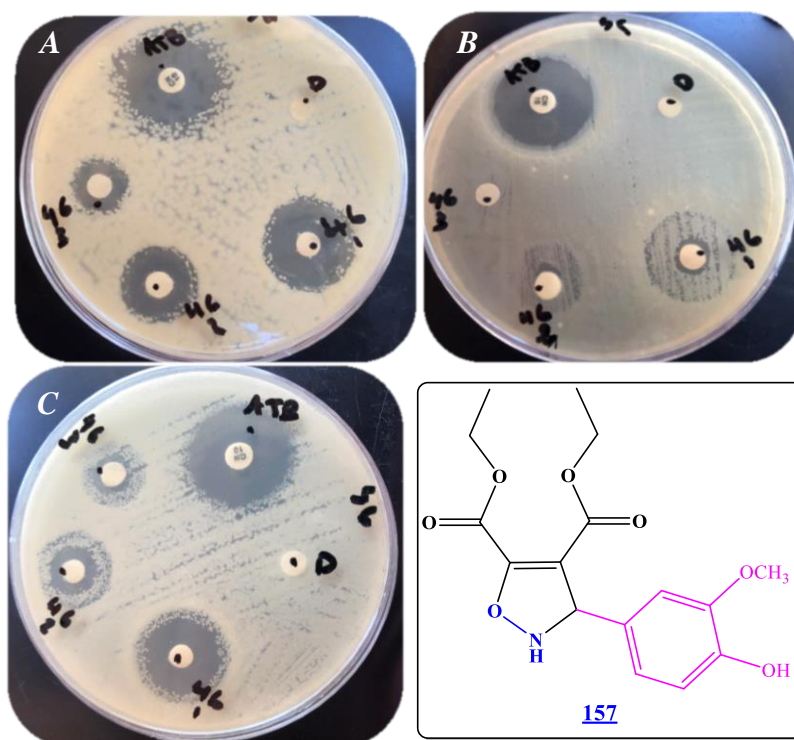
### II.1.2. Effet antibactérien de la série 2 (pyrazoles, isoxazoles, pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyrdazines)

Cette série contient les dérivés de pyrazoles, isoxazoles, pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyrdazines. Les résultats du pouvoir bactéricide sont regroupés dans les **Tableaux 28** et **29**.

**Tableau 28.** Evaluation de l'activité antibactérienne des pyrazoles et isoxazoles.

Composés	Zone d'inhibition en (mm/mg)								
	Bactéries								
	Gram (+)						Gram (-)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Salomonella typhimuruim</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
DMSO	-			-			-		
Gentamicine	25			22			23		
Concentration µg/mL	150	75	37.5	150	75	37.5	150	75	37.5
<a href="#">150</a>	12	10.5	6.5	13	10	-	12.5	11	10
<a href="#">151</a>	11	7.5	6	11.5	9.5	7	10	8	6.25
<a href="#">152</a>	12.5	11	7	12	10	-	15	12	6.5
<a href="#">153</a>	9	8	6.5	9.5	7	-	11.5	8.5	7
<a href="#">154</a>	10.5	9	7	10	8.5	7	10	9	8.5
<a href="#">155</a>	11	9.5	8.5	11	9	7.5	13	10	9
<a href="#">156</a>	8	6.25	6	17	11	9	15	12.5	8.5
<a href="#">157</a>	21	15	6	23	18	16	22	18	13.5

Le composé [157](#) a montré une activité antibactérienne importante vis-à-vis des trois souches dont les zones d'inhibition varient entre 23, 22 et 21 mm à des concentrations mères 150 µg/mL. Comme le montre la **Figure 58**.



**Figure 58.** Evaluation de l'activité antibactérienne du composé **157** contre *Pseudomonas aerogenosa*(A), *Staphylococcus aureus*(B), *Salomonella typhimuruim*(C).

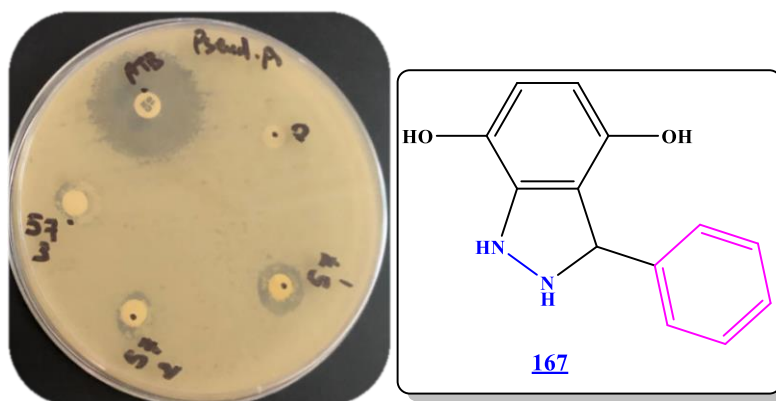
Dans les concentrations minimales 37.5  $\mu\text{g/mL}$ , le composé **157** montre aussi des zones d'inhibitions remarquables entre 16 mm pour *Salomonella typhimuruim*, 13.5 mm pour *Pseudomonas aerogenosa* et 6 mm pour *Staphylococcus aureus*.

L'analyse des résultats obtenus montre également que la plupart des pyrazoles et isoxazoles testés présentent une activité antibactérienne modérée ou légère envers les souches étudiées avec une zone d'inhibition variée entre 6 mm et 17 mm.

Concernant les dérivés de pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazine, l'analyse des résultats montre que ces produits testés présentent des zones d'inhibition relativement variables entre 6-15 mm pour les microorganismes utilisées, en revanche, aucune zone d'inhibition n'est observée pour *Pseudomonas aeruginosa* pour le composé **171**.

**Tableau 29.** Evaluation de l'activité antibactérienne des pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazine.

Composés	Zone d'inhibition en (mm/mg)								
	Bactéries								
	Gram(+)						Gram(-)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Salamonella typhimuruim</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
DMSO	-			-			-		
Gentamicine	25			22			23		
Concentration µg/mL	100	50	25	100	50	25	100	50	25
<a href="#">167</a>	9	6.5	-	15	13	6	12	10	8.5
<a href="#">168</a>	10	8.5	7	12	10.5	7.5	13	10	7.5
<a href="#">169</a>	11	10	8	15	8	6.5	9	-	-
<a href="#">170</a>	12	10	9	10	9	6.5	14	11	11.5
<a href="#">171</a>	6	-	7	13	11.5	9	-	-	-

**Figure 59.** Evaluation de l'activité antibactérienne du composé [167](#) contre *Pseudomonas aerogenosa*).

### II.1.3. Effet antibactérien de la série 3 (Pyrimido[1,6-a]pyrimidine, Pyrimido[1,2-g]purine et Pyrimido[2,1-e]purine).

L'activité antibactérienne de Pyrimido[1,6-a]pyrimidine, Pyrimido[1,2-g]purine et Pyrimido[2,1-e]purine a été déterminée avec des diamètres d'inhibition allant de 7 à 14 mm. Les résultats sont résumés dans le **Tableau 30**.

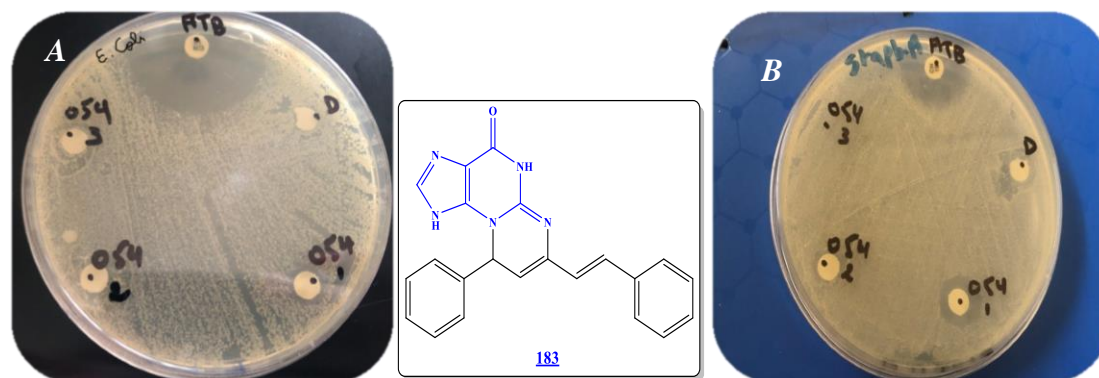
**Tableau 30.** Evaluation de l'activité antibactérienne des composés de la troisième série

Composés	Zone d'inhibition en (mm/mg)					
	Bactéries					
	Gram(-)			Gram(+)		
	<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
DMSO	-			-		
Gentamicine	25			23		
Concentration µg/mL	250	125	62.5	25	125	62.5
<a href="#">181</a>	12	-	-	13	10	8
<a href="#">182</a>	11	8	-	14	11	-
<a href="#">183</a>	9	7	-	14	10	-

D'après le tableau, le composé [181](#) montre une activité légère pour l'*Escherichia coli* avec un diamètre d'inhibition 12 mm à la concentration 250 µg/mL et il est inactif aux autres concentrations. Il montre aussi une légère activité pour le *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition entre 13 mm, 10 mm et 8 mm aux concentrations 250 µg/mL, 125 µg/mL et 62.5 µg/mL respectivement.

Pour l'*Escherichia coli*, les composés [182](#) et [183](#) donnent des activités légères avec un diamètre d'inhibition compris entre 7 et 11 mm à les concentrations 250 µg/mL, 125 µg/mL par contre il ne présente aucun niveau de sensibilité à la concentration 62.5 µg/mL.

Concernant le *Staphylococcus aureus*, les composés [182](#) et [183](#) ils présentent une activité considérable avec un diamètre d'inhibition compris entre 10 et 14 mm à les concentrations 250 µg/mL, 125 µg/mL par contre il ne donne aucun effet biologique à la concentration 62.5 µg/mL.



**Figure 60.** Evaluation de l'activité antibactérienne du composé **183** contre *Escherichia coli* (A), *Staphylococcus aureus*(B).

## II.2. Activité anti-oxydante:

Les tests par capture du radical DPPH et ABTS ont été réalisés systématiquement au moins deux fois pour chaque composé. L'ensemble des résultats obtenus nous a permis de déterminer quelques indications sur la relation structure-activité de nos composés pour ce test. Les composés testés peuvent être organisés en trois séries :

**Série 1 :** Les Pyrimidines, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines et pyridazino-purines.

**Série 2 :** Les pyrazoles, isoxazoles, pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines.

**Série 3 :** Les dérivés de Pyrimido[1,6-a]pyrimidine, Pyrimido[1,2-g] purine et Pyrimido[2,1-e]purine.

### II.2.1. Effet antioxydant de la série 1

La solution mère de cette série est de concentration (1mg/mL); ensuite une gamme de dilutions a été préparée à partir de cette dernière. Pour calculer l'IC<sub>50</sub>, on détermine l'équation de la droite de régression linéaire pour chaque courbe et on calcule pour une inhibition de 50% de la concentration correspondante.

**Tableau 31.** L'activité anti-oxydante *in vitro* de la première série vis-à-vis du DPPH.

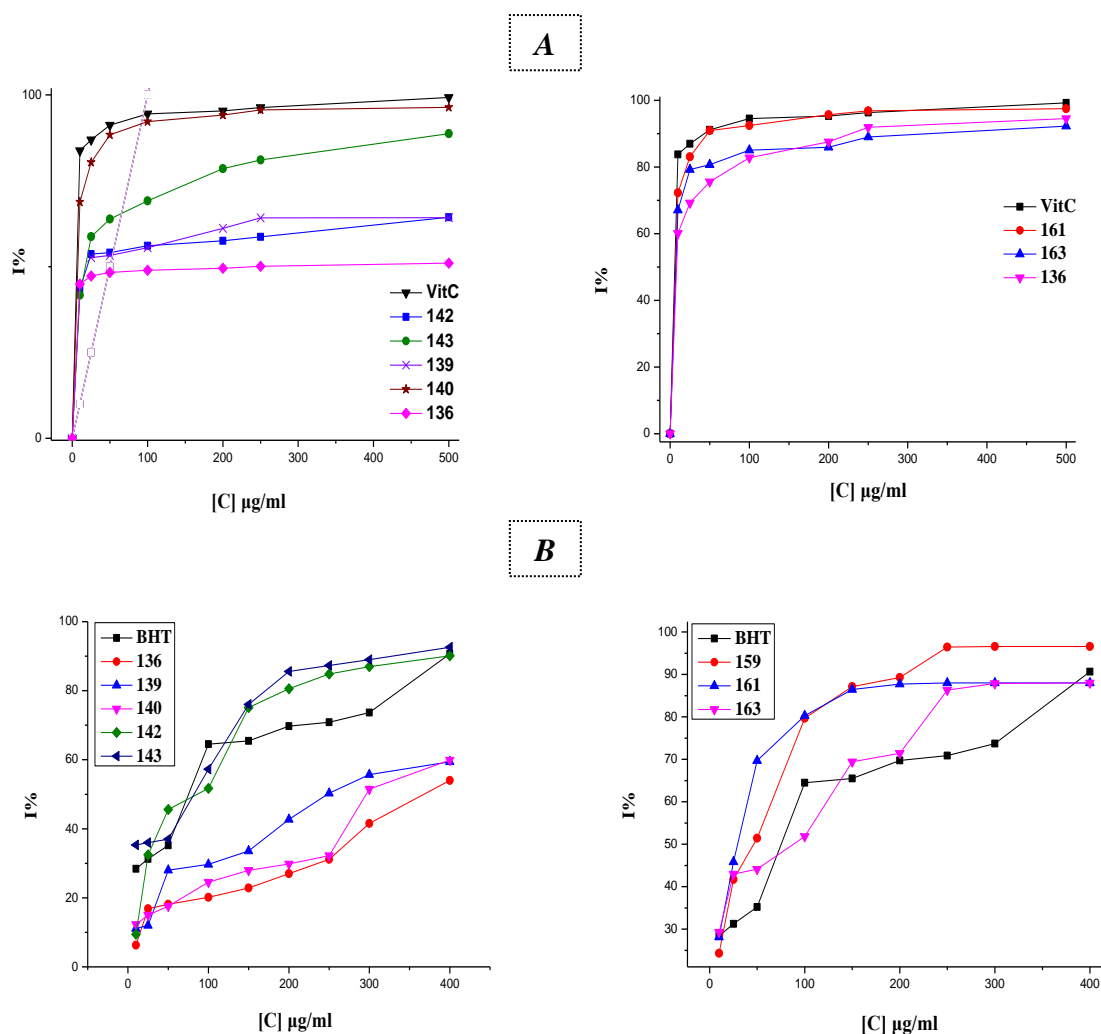
Composés	Concentration µg/mL							IC <sub>50</sub>
	10	25	50	100	200	250	500	
<b>136</b>	44.93	47.25	48.34	48.92	49.50	50.08	50.997	242.29
<b>139</b>	46.03	52.65	53.24	55.52	61.16	64.20	64.28	23.81
<b>140</b>	68.82	80.36	88.37	92.25	94.14	95.61	96.38	8.18

<a href="#">142</a>	43.56	53.67	54.086	56.108	57.54	58.67	64.36	19.34
<a href="#">143</a>	41.70	58.72	63.86	69.17	78.52	81.05	88.71	17.46
<a href="#">159</a>	60.13	69.27	75.58	82.81	87.54	91.94	94.52	8.81
<a href="#">161</a>	72.26	83.06	90.95	92.44	95.68	96.84	97.51	6.55
<a href="#">163</a>	67.11	79.24	80.73	85.05	85.96	89.04	92.28	7.93
<a href="#">Vit C</a>	83.77	86.96	91.19	94.51	95.32	96.31	99.27	5.42

**Tableau 32.** L'activité anti-oxydante *in vitro* de la première série vis-à-vis de l'ABTS.

Composés	Concentration $\mu\text{g/mL}$									
	10	25	50	100	150	200	250	300	400	IC <sub>50</sub>
<a href="#">136</a>	6.29	16.86	18.14	20.14	22.86	27	31.14	41.57	54	367.76
<a href="#">139</a>	1.14	12	28	29.71	33.57	42.71	50.29	55.71	59.43	247.70
<a href="#">140</a>	9.43	32.43	45.57	51.71	75.14	80.57	84.86	87	90.14	85.32
<a href="#">142</a>	12.27	14.98	17.55	24.54	27.96	29.81	32.24	51.50	59.91	295.04
<a href="#">143</a>	35.29	36	37	57.29	76	85.57	87.29	89	92.57	82.29
<a href="#">159</a>	25.29	41.71	51.43	79.71	87.14	89.29	96.43	96.57	96.75	46.66
<a href="#">161</a>	28.14	45.86	69.71	80.29	86.43	87.71	88	88	88	28.99
<a href="#">163</a>	29.29	43	44.14	51.86	69.43	71.43	86.29	87.86	88	86.68
<a href="#">BHT</a>	28.43	31.25	35.25	64.50	65.49	69.73	70.86	73.69	90.66	75.39

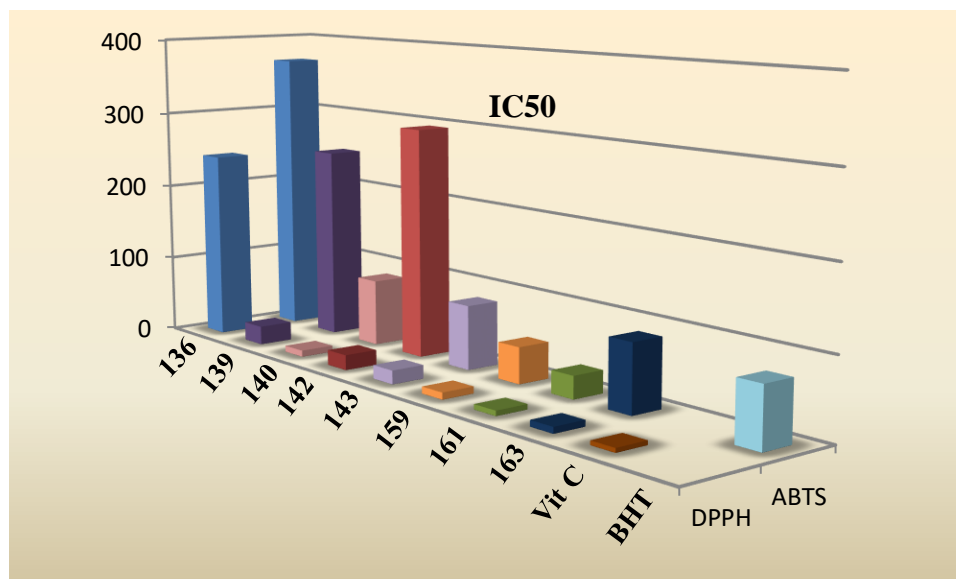
Les valeurs IC<sub>50</sub> sont résumées dans les **Tableaux 31** et **32**. L'activité de piégeage des composés [136-146](#) sur DPPH et ABTS a été comparée à celle de l'agent standard, l'acide ascorbique (IC<sub>50</sub>=5,42  $\mu\text{g/ml}$ ) et le BHT (IC<sub>50</sub>=75,39  $\mu\text{g/mL}$ ) respectivement. À une très faible concentration, [140](#) et [143](#) ont montré une bonne activité de piégeage des radicaux avec une valeur d'IC<sub>50</sub> a été trouvée respectivement 8.18  $\mu\text{g/mL}$ , 17.46  $\mu\text{g/mL}$  sur DPPH et 85.32  $\mu\text{g/mL}$ , 82.29  $\mu\text{g/mL}$  sur ABTS en raison de la présence des groupements donneurs d'électrons qui sont le méthoxy (OCH<sub>3</sub>) et l'hydroxyl (OH), attaché aux cycles benzéniques. Mais après avoir condensé ces composés pour atteindre aux cycles fusionnées avec pyridazines, nous avons obtenu une activité beaucoup plus élevée dans [161](#) et [163](#) que [140](#) et [143](#) avec une valeur de IC<sub>50</sub> a été trouvée 6.55  $\mu\text{g/mL}$ , 7.93  $\mu\text{g/mL}$  et 28.99  $\mu\text{g/mL}$ , 86.68  $\mu\text{g/mL}$  sur DPPH et ABTS respectivement.



**Figure 61.** Pouvoir d'inhibition du DPPH<sup>•</sup> (A) et ABTS<sup>+•</sup> (B) en fonction des différentes concentrations des Pyrimidines, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines.

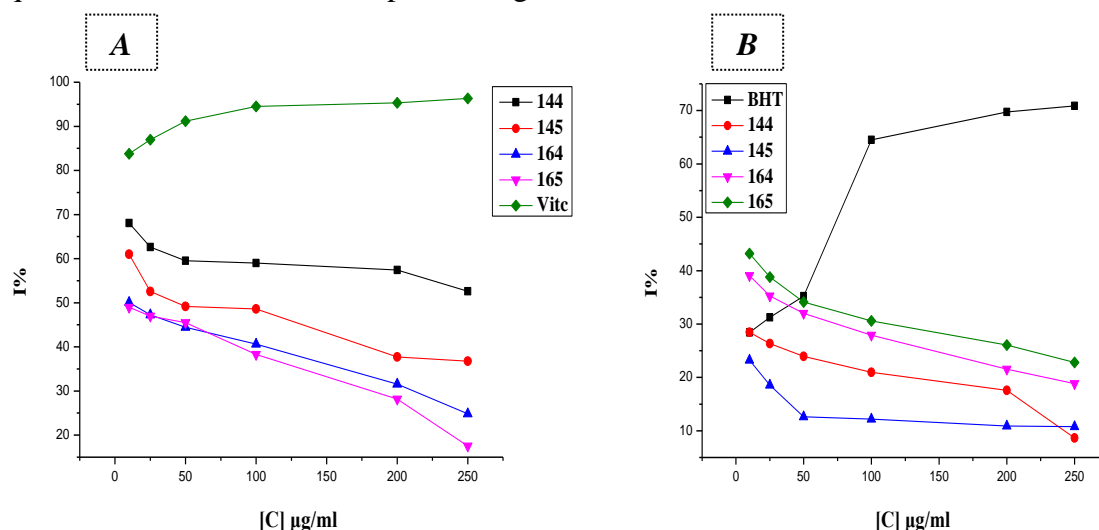
Le composé [139](#) a montré une capacité de piégeage modérée presque similaire (64,28% en DPPH, 59,43% en ABTS) à celle du composé [142](#) (64,36% en DPPH, 59,91% en ABTS). D'après les courbes ci-dessus, illustrent que [136](#) possède l'activité inhibitrice la plus faible dans les deux méthodes. Mais après la formation du noyau pyridazine et sa fusion avec leur structure, la capacité de piégeage augmente positivement comme observé dans le composé [159](#) avec des d'IC<sub>50</sub> très intéressantes dans DPPH (8.81 µg/mL) et ABTS (46.66 µg/mL).

Les composés [159](#) et [161](#) ont montré un effet de piégeage sur l'ABTS plus élevé que l'agent standard BHT, comme le montre la figure.



**Figure 62.** Histogramme comparatif des IC<sub>50</sub> de la série 1 dans les deux méthodes.

Nous avons observé que les composés [144-145](#) et [164-165](#) ont un pourcentage d'inhibition réversible comme le montre la **figure 63**. Ces produits sont synthétisés à partir d'une base nucléique qui est la guanine. La thymine et la guanine sont plus sensibles aux dommages oxydatifs qui comprennent des modifications de leurs structures telles que l'ajout de bases et de groupes de sucre, des ruptures d'hélice simple et double, et la formation de liaisons transversales avec d'autres molécules [30]. Dans ce cas, il existe une possibilité d'oxydation de la guanine par le DPPH, ce qui entraîne une inversion du pourcentage d'inhibition.



**Figure 63.** Pouvoir d'inhibition du DPPH<sup>•</sup> (A) et ABTS<sup>•+</sup> (B) en fonction des différentes concentrations des composés [144-145](#) et [164-165](#).

## II.2.2. Effet antioxydant de la série 2

Selon les résultats obtenus, les dérivés pyrazoles et isoxazoles testés ont présenté des valeurs d'IC<sub>50</sub> indiquant un bon potentiel antioxydant (Bon piègeurs de radicaux libres).

**Tableau 33.** L'activité anti-oxydante *in vitro* de la deuxième série vis-à-vis du DPPH.

Composés	Concentration µg/mL								
	10	25	50	100	200	250	400	500	IC <sub>50</sub>
<a href="#">150</a>	53.89	71.36	73.17	84.66	89.77	95.28	96.93	97.40	9.81
<a href="#">151</a>	58.22	65.15	76.55	84.19	89.69	96.62	96.70	96.70	8.18
<a href="#">153</a>	71.52	78.05	87.41	92.68	93.15	93.23	93.23	93.23	6.05
<a href="#">154</a>	74.74	82.22	86.31	86.70	89.77	90.24	91.66	94.57	6.55
<a href="#">155</a>	57.59	76.95	81.83	81.90	81.90	81.90	81.90	81.90	8.81
<a href="#">156</a>	48.99	57.96	58.93	62.01	73.70	76.78	83.29	92.70	12.07
<a href="#">157</a>	56.73	57.99	67.74	76.71	84.89	91.97	93.15	93.55	9.06
<a href="#">158</a>	57.43	59.54	60.07	60.95	61.57	61.74	61.92	62.36	8.81
<a href="#">VitC</a>	83.77	86.96	91.19	94.51	95.32	96.31	98.21	99.27	5.42

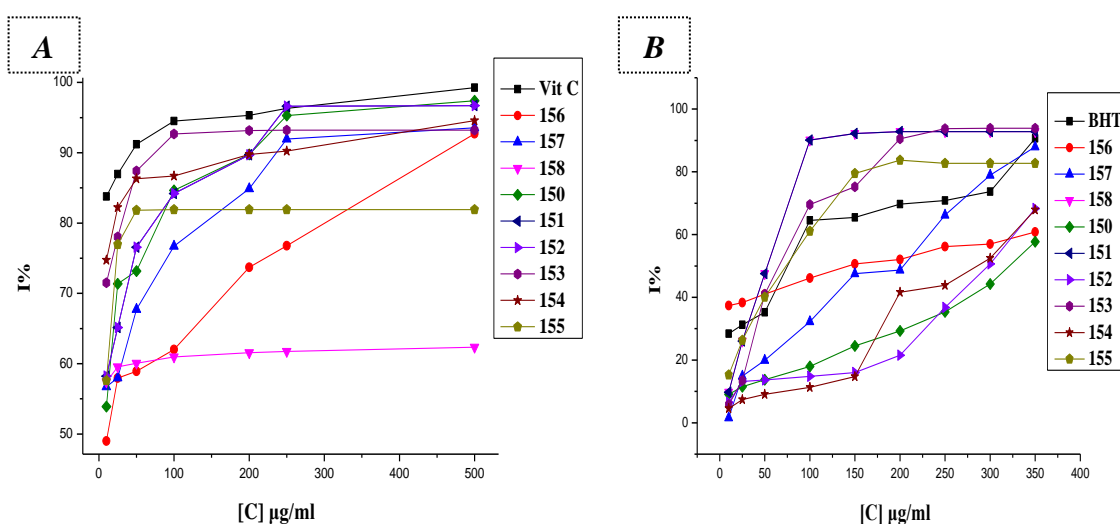
**Tableau 34.** L'activité anti-oxydante *in vitro* de la deuxième série vis-à-vis de l'ABTS.

Composés	Concentration µg/mL									
	10	25	50	100	150	200	250	300	350	IC <sub>50</sub>
<a href="#">150</a>	9.05	11.46	13.69	17.96	24.47	29.28	35.36	44.27	57.71	321.22
<a href="#">151</a>	9.76	26.03	47.52	90.10	92.22	92.79	92.79	92.79	92.79	52.98
<a href="#">152</a>	6.51	13.15	13.63	14.81	15.98	21.50	36.78	50.64	68.32	298.39
<a href="#">153</a>	5.80	13.44	41.02	69.59	75.25	90.52	93.78	93.92	93.92	64.97
<a href="#">154</a>	4.53	7.36	9.05	11.32	14.71	41.58	43.85	52.48	67.89	284.89
<a href="#">155</a>	15.28	26.31	40.03	61.10	79.49	83.73	82.74	82.74	82.74	73.86
<a href="#">156</a>	37.34	38.33	41.03	46.11	50.64	52.05	56.15	57.00	60.82	143.05
<a href="#">157</a>	1.56	14.85	19.94	32.25	47.52	48.66	66.20	78.93	87.98	203.27
<a href="#">158</a>	9.06	25.80	45.54	88.14	90.53	90.91	90.91	90.91	90.91	54.89
<a href="#">BHT</a>	28.43	31.25	35.22	64.50	65.49	69.73	70.86	73.69	90.66	75.39

**On note que :** ces composés, ont montrées une plus grande capacité de piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> par rapport à l'acide ascorbique. Le pouvoir de piégeage du DPPH<sup>•</sup> le plus élevé était observé pour le composé **153**, avec une valeur d'IC50 de 6.05 µg/mL, suivie par celui du composé **154** (6.55 µg/mL). Les composés restants ont exhibées des pouvoirs inférieurs que ces deux derniers.

Les résultats du pouvoir réducteur de l'ABTS<sup>+•</sup> montre que les produits **151**, **158** **153** et **155** présentent la plus forte activité anti-oxydante et en plus possèdent une capacité anti-oxydante *in vitro* supérieure à celle relevée pour le BHT avec une valeur d'IC50 52.98 µg/mL, 54.89 µg/mL, 64.97 µg/mL, 73.86 µg/mL respectivement.

Les graphes illustrés sur la **Figure 64**, représentent la variation du pourcentage de réduction de DPPH<sup>•</sup> et ABTS<sup>+•</sup> en fonction de la concentration des composés testé avec les antioxydants Vit C et BHT comme standards.



**Figure 64.** Pouvoir d'inhibition du DPPH<sup>•</sup> (A) et ABTS<sup>+•</sup> (B) en fonction des différentes concentrations des pyrazoles et isoxazoles.

La littérature indique que le cycle pyridazine possède une bonne activité antioxydante, cette étude vise à confirmer que ces groupes peuvent jouer un rôle important dans l'amélioration de l'approvisionnement en hydrogène et de la capacité de don/retrait d'électrons. De plus, cette étude indique que de tels groupes fonctionnels peuvent aider à stabiliser la forme radicalaire après don d'électrons ou apport d'hydrogène. Sur cette base, nous avons condensé les pyrazoles et isoxazoles pour atteindre aux

pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines puis ont été testés pour leur pouvoir antioxydant.

**Tableau 35.** L'activité anti-oxydante *in vitro* des pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines vis-à-vis du DPPH.

Composés	Concentration µg/mL						
	10	25	50	100	200	250	IC <sub>50</sub>
<a href="#">167</a>	50.40	54.04	58.92	66.90	70.36	74.27	9.86
<a href="#">168</a>	49.69	50.31	52.26	56.34	59.01	61.93	16.63
<a href="#">169</a>	59.80	66.01	75.61	85.52	89.85	91.11	8.16
<a href="#">170</a>	61.92	73.80	87.88	93.86	94.10	94.18	8.17
<a href="#">171</a>	72.15	80.57	88.67	92.37	93.47	93.71	7.10
<a href="#">Vit C</a>	83.77	86.96	91.19	94.51	95.32	96.31	5.42

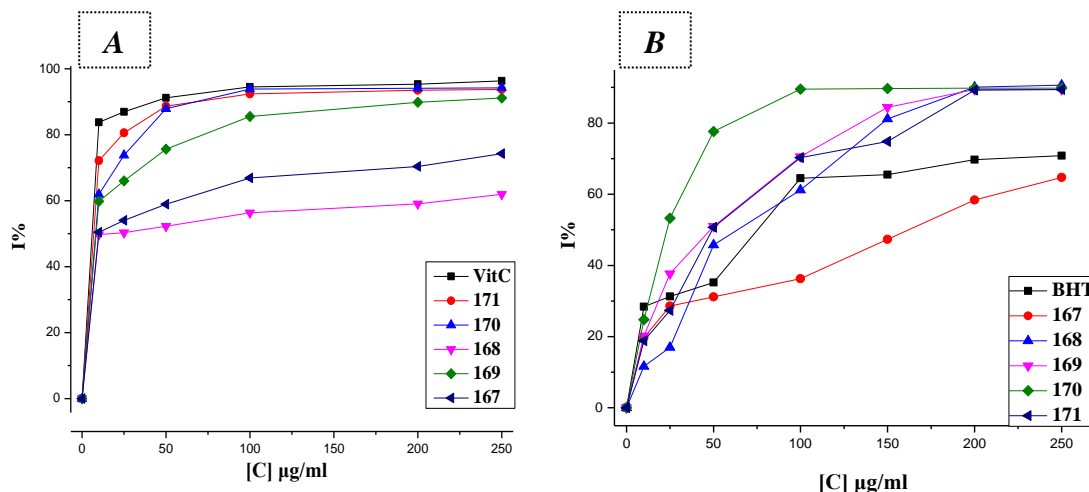
**Tableau 36.** L'activité anti-oxydante *in vitro* des pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines vis-à-vis de l'ABTS.

Composés	Concentration µg/mL							
	10	25	50	100	150	200	250	IC <sub>50</sub>
<a href="#">167</a>	19.69	28.61	31.16	36.26	47.31	58.36	64.73	162.08
<a href="#">168</a>	11.61	16.99	45.75	61.19	81.14	90.08	90.65	63.65
<a href="#">169</a>	20.25	37.68	50.99	70.54	84.42	89.38	89.38	47.73
<a href="#">170</a>	24.79	53.26	77.62	89.52	89.66	89.80	89.80	23.21
<a href="#">171</a>	18.84	27.34	50.71	70.25	74.79	89.24	89.38	49.11
<a href="#">BHT</a>	28.43	31.25	35.22	64.50	65.49	69.73	70.86	75.39

Le composé [171](#) à montré une bonne activité de piégeage des radicaux DPPH avec une valeur d'IC<sub>50</sub> 7.10 µg/mL. En revanche, le composé [170](#) considéré comme le meilleur antioxydant parmi tous les composés étudiés dans toutes les séries vis-à-vis le test ABTS avec une valeur d'IC<sub>50</sub> 23.21 µg/mL.

D'une part, les composés [169](#) et [170](#) ont une activité de piégeage des radicaux DPPH similaire (8.16 µg/mL et 8.17 µg/mL) et d'autre part, [169](#) et [171](#) une activité de piégeage des radicaux ABTS similaire (47.73 µg/mL et 49.11 µg/mL).

Tous les composés possèdent une capacité anti-oxydante très bonne que celui de BHT vis-à-vis le test ABTS. Tandis que, le composé **167** était le moins efficace avec une valeur  $IC_{50} = 162.08 \mu\text{g/mL}$ .



**Figure 65.** Pouvoir d'inhibition du  $DPPH^{\bullet}$  (A) et  $ABTS^{\bullet+}$  (B) en fonction des différentes concentrations des pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines.

Ces graphes montrent bien que le pourcentage d'inhibition des radicaux libres  $DPPH^{\bullet}$  et  $ABTS^{\bullet+}$  augmente proportionnellement avec la concentration de des pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines.

Après avoir discuté les résultats obtenus, ils ont été comparés aux les obtenus précédemment. Nous avons constaté qu'il y'a une diminution notable des valeurs d' $IC_{50}$  au niveau des pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines par rapport aux celles des pyrazoles et isoxazoles sauf le composé **168** en raison de problème de solubilité dans le méthanol. Comme nous le savons c'était plus la valeur d' $IC_{50}$  est basse, plus l'activité anti-oxydante d'un composé est grande, donc les pyrazolo-pyridazines et isoxazolo-pyridazines possède une très bonne activité antioxydantes vis-à-vis des radicaux étudiés.

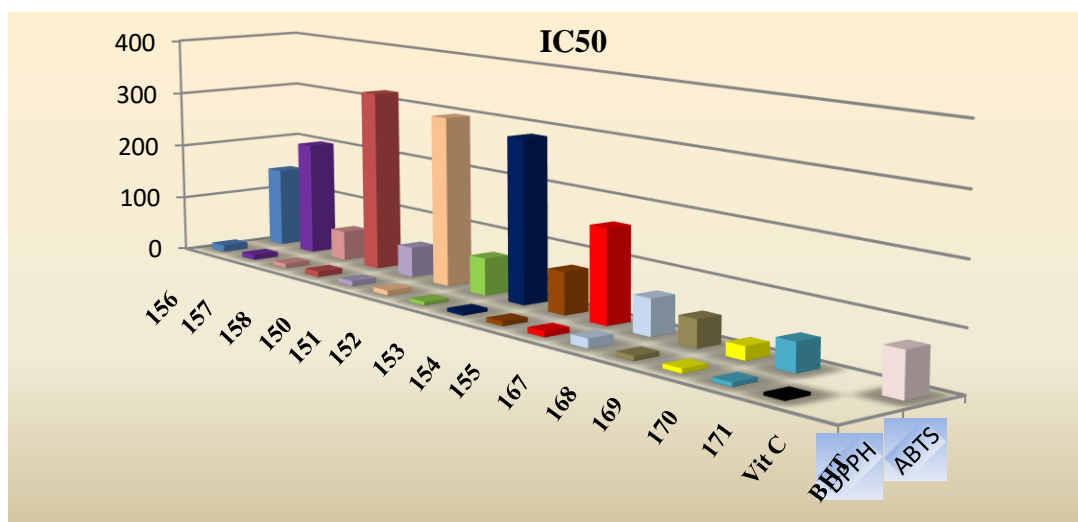


Figure 66. Histogramme comparative des IC50 de la série 2 dans les deux méthodes.

### II.2.3. Effet antioxydant de la série 3

L'activité anti-oxydante des dérivés choisis vis-à-vis du radical DPPH et ABTS a été mesurée. Les valeurs IC50 sont résumées dans les **tableaux 37, 38**.

Tableau 37. L'activité anti-oxydante *in vitro* de la troisième série vis-à-vis du DPPH.

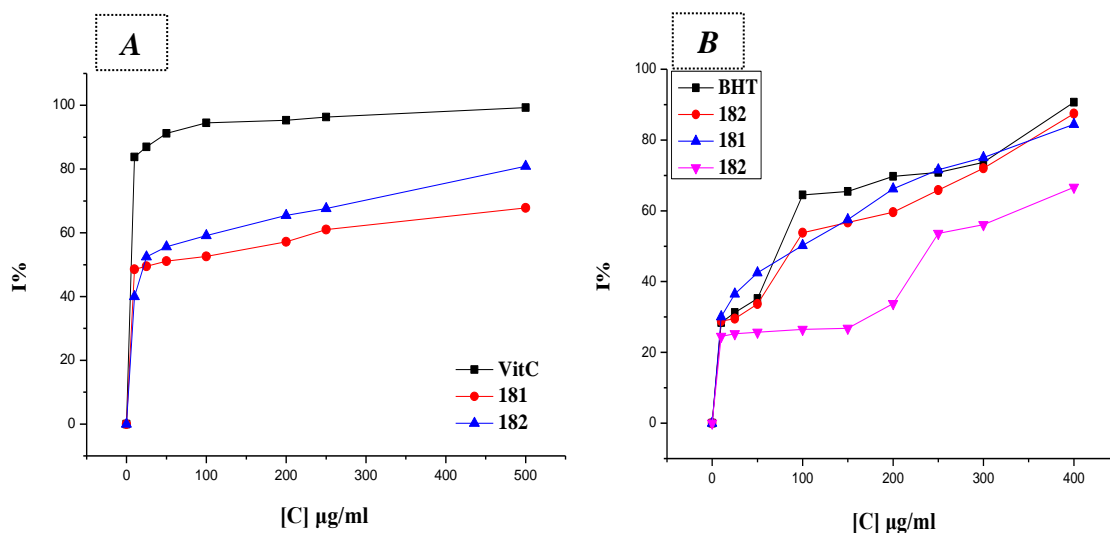
Composés	Concentration $\mu\text{g/mL}$							
	10	25	50	100	200	250	500	IC <sub>50</sub>
<b>181</b>	48.57	49.48	51.14	52.57	57.20	60.99	67.82	27.11
<b>182</b>	40.01	52.49	55.60	59.14	65.46	67.65	80.88	22.021
<b>Vit C</b>	83.77	86.96	91.19	94.51	95.32	96.31	99.27	5.42

Tableau 38. L'activité anti-oxydante *in vitro* de la troisième série vis-à-vis de l'ABTS.

Composés	Concentration $\mu\text{g/mL}$									
	10	25	50	100	150	200	250	300	400	IC <sub>50</sub>
<b>181</b>	30.10	6.52	42.51	50.21	57.49	66.19	71.61	75.04	84.45	97.86
<b>182</b>	28.82	9.53	33.67	53.78	56.69	59.63	65.84	72.04	87.45	90.72
<b>183</b>	24.54	5.25	25.71	26.53	26.82	33.81	53.64	56.06	66.62	240.79
<b>BHT</b>	28.43	31.25	35.25	64.50	65.49	69.73	70.86	73.69	90.66	75.39

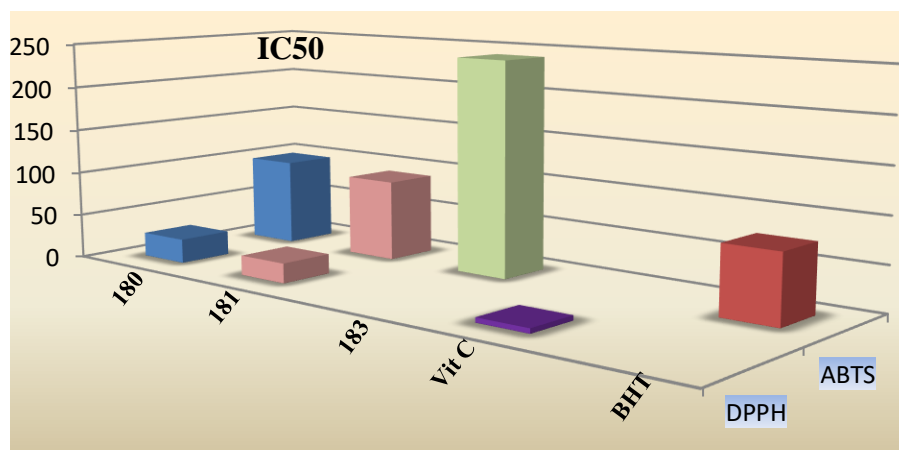
Les résultats obtenus, indiquent que le composé pyrimido [1,2-g]purine **182** possède un meilleur pouvoir réducteur des deux radicaux avec une valeur d'IC50 22.02  $\mu\text{g/mL}$ .

vis-à-vis du test DPPH et 90.72  $\mu\text{g/mL}$  vis-à-vis du test ABTS. Ce résultat est dû à la présence du groupement amide greffé au noyau d'adénine. Le composé **181** a montré une capacité de piégeage presque similaire à celle du composé **182** 27.11  $\mu\text{g/mL}$  en DPPH, 97.86  $\mu\text{g/mL}$  en ABTS.



**Figure 67.** Pouvoir d'inhibition du DPPH $^{\bullet}$  (A) et ABTS $^{+\bullet}$  (B) en fonction des différentes concentrations des Pyrimido[1,6-a]pyrimidine **181**, Pyrimido [1,2-g]purine **182** et Pyrimido-[2,1-e]purine **183**.

Le composé **183** présente une activité modérée vis-à-vis du test ABTS. Par contre n'est pas du tout été actif vis-à-vis du test DPPH. Ce composé comportant le noyau de guanine et comme nous l'avons mentionné précédemment, la guanine sont plus sensibles aux dommages oxydatifs donc il existe une possibilité d'oxydation de la guanine par le DPPH, ce qui conduit à aucune valeur d'IC<sub>50</sub> sur le diagramme ci-dessous.



**Figure 68.** Histogramme comparative des IC50 de la série 3 dans les deux méthodes.

### Conclusion

Dans ce présent travail, on s'est intéressé aux effets anti-oxydants et antibactériens des Pyrimidines, pyrimido-purines, pyrimido-pyridazines, pyridazino-purines, pyrazoles, isoxazoles, pyrazolo-pyridazines, isoxazolo-pyridazines, Pyrimido[1,6-a]pyrimidine, Pyrimido[1,2-g]purine et Pyrimido-[2,1-e]purine.

En ce qui concerne l'activité antioxydante, deux méthodes ont été examinées; test du DPPH, test de l'ABTS. Dans tous les tests réalisés, on a remarqué l'existence d'une corrélation significative entre l'activité des produits et leurs structures. La plus parts des dérivés synthétisés montrent une activité anti-oxydante importante et relative entre les différentes méthodes utilisées.

L'activité antibactérienne réalisée *in vitro* sur quatre souches bactéries, deux bactéries Gram positives comprenant: *Staphylococcus aureus* (ATCC-6538), *Salamonella typhimurium* (ATCC-14028) et deux bactéries Gram négatif : *Escherichia Coli* (ATCC-8737), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-9027). Les résultats ont montré des activités assez intéressantes sur lesbactéries testées.

## Références:

- [1]. Cos, P., Vlietinck, A.J., Berghe, D.V., Maes, L. *Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'*. *J. Ethnopharmacol.*, **2006**, 106(3), pp. 290-302. Doi: [10.1016/j.jep.2006.04.003](https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.04.003). PMID: 16698208.
- [2]. Rbaa, M., Hichar, A., Bazdi, O. *et al.* « *Synthesis, characterization, and in vitro antimicrobial investigation of novel pyran derivatives based on 8-hydroxyquinoline* ». *Beni-Suef Univ J. Basic. Appl. Sc.i*, **2019**, **8**, 8. <https://doi.org/10.1186/s43088-019-0009-9>
- [3]. Kolenda, R., Burdukiewicz, M., Schierack P. *A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic Escherichia coli of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic E. coli*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2015 Mar 12, 5, 23. doi: [10.3389/fcimb.2015.00023](https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00023). PMID: 25815276; PMCID: [PMC4357325](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC4357325/).
- [4]. Mehraj, J., Witte, W., Akmatov, MK., Layer, F., Werner, G., Krause, G. *Epidemiology of Staphylococcus aureus Nasal Carriage Patterns in the Community*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **2016**, 398, 55-87. Doi: [10.1007/82\\_2016\\_497](https://doi.org/10.1007/82_2016_497). PMID: 27370344.
- [5]. Sharma, G, Rao.S., Bansal, A., Dang, S., Gupta, S., Gabrani, R. *Pseudomonas aeruginosa biofilm: potential therapeutic targets*. *Biologicals*, **2014**, 42(1), p. 1-7. Doi: [10.1016/j.biologicals.2013.11.001](https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2013.11.001). PMID: 24309094.
- [6]. Mittrücker, HW., Kaufmann, SH. *Immune response to infection with Salmonella typhimurium in mice*. *J. Leukoc. Biol.*, **2000** Apr, 67(4), p. 457-63. Doi: [10.1002/jlb.67.4.457](https://doi.org/10.1002/jlb.67.4.457). PMID: 10770276.
- [7]. do Evangelho, J.A., da Silva Dannenberg, G., Biduski, B., El Halal, SLM., Kringel, DH., Gularte, MA., Fiorentini, AM., da Rosa Zavareze, E. *Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil*. *Carbohydr. Polym.*, **2019**, 222:114981. Doi: [10.1016/j.carbpol.2019.114981](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114981). PMID: 31320073.
- [8]. Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M., Mahmood, T., Dawson, L. *The anaerobic digestion of solid organic waste*. *Waste. Manag.*, **2011**, 31(8), pp. 1737-44. Doi:

- 10.1016/j.wasman.2011.03.021. PMID: 21530224.
- [9]. Ahoyo, T. A., Ahissou, H., Kounon, F., *et al.* *Etude de la qualité bactériologique des aliments vendus sur le campus de l'Université d'Abomey Calavi au Bénin.* *Int. J. Bio. Chem. Sci.*, **2010**, 4(4). DOI: [10.4314/ijbcs.v4i4.63045](https://doi.org/10.4314/ijbcs.v4i4.63045)
- [10]. Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., *et al.* *Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard.* *LWT-F, Sci., Tech.*, **2003**, 36(7), p. 679-684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4)
- [11]. Rolland, Y. *Antioxydants naturels végétaux.* *OCL.*, **2004**, 11(6), pp. 419-424. <https://doi.org/10.1051/ocl.2004.0419>
- [12]. Favier, A. *Le stress oxydant. L'actualité chimique*, **2003**, 108(10), p. 863-832.
- [13]. Gurer-Orhan, H., Ince, E., Konyar, D., Saso, L., Suzen, S. *The Role of Oxidative Stress Modulators in Breast Cancer.* *Curr. Med. Chem.*, **2018**, 25(33), pp. 4084-4101. doi: [10.2174/0929867324666170711114336](https://doi.org/10.2174/0929867324666170711114336). PMID: 28699501.
- [14]. Goudable, J., Favier, A. *Radicaux libres oxygénés et antioxydants.* *Nutrition clinique et métabolisme*, **1997**, 11(2), pp. 115-120. [https://doi.org/10.1016/S0985-0562\(97\)80058-1](https://doi.org/10.1016/S0985-0562(97)80058-1)
- [15]. Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., Dhama, K. *Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay.* *Biomed. Res. Int.* **2014**, 2014:761264. Doi: [10.1155/2014/761264](https://doi.org/10.1155/2014/761264). PMID: 24587990.
- [16]. Delattre, J., Beaudoux, J-L., Bonnefont-Rousselot, D. *Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques).* **2005**, 548 p.
- [17]. Ali, S.S., Kasoju, N., Luthra, A., *et al.* *Indian medicinal herbs as sources of antioxidants.* *Food. Res. Int.*, **2008**, 41(1), pp. 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.10.001>
- [18]. Scherer, R., Godoy, H. T. *Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method.* *F. chem.*, **2009**, 112(3), pp. 654-658. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>

- [19]. Huang, D., Ou, B., Prior, RL. The *chemistry behind antioxidant capacity assays*. *J. Agric. Food Chem.*, **2005**, 53(6), pp. 1841-56. Doi: [10.1021/jf030723c](https://doi.org/10.1021/jf030723c). PMID: 15769103.
- [20]. Sánchez-moreno', C, Larrauri, JA. *Principales métodos para la determinación de la oxidación lipídica Main methods used in lipid oxidation determination*. *Food Sci., Tech., Int.* **1998**, 4(6), p. 391-399.  
Doi: [10.1177/ 108201329800400603](https://doi.org/10.1177/108201329800400603)
- [21]. Sánchez-moreno', C. *Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems*. *Food Sci., Tech., I.* **2002**, 8(3), pp.121-137. <https://doi.org/10.1106/108201302026770>
- [22]. Wayner, D. D., Burton, G. W., Ingold, K.U., Locke, S. *Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. The important contribution made by plasma proteins*. *FEBS. Lett.*, **1985**, 187(1), pp. 33-7. Doi: [10.1016/0014-5793\(85\)81208-4](https://doi.org/10.1016/0014-5793(85)81208-4). PMID: 4018255.
- [23]. Popov, I., Lewin, G., et Baehr, R. v. *Photochemiluminescent detection of antiradical activity. I. Assay of superoxide dismutase*. *Biomed. Biochim. Acta.*, **1987**, 46(11), pp. 775-779. PMID: 3446204
- [24]. Cao, G., Alessio, H.M., Cutler, R.G. *Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants*. *Free-Radic. Biol. Med.*, **1993**, 14(3), pp. 303-11. Doi: [10.1016/0891-5849\(93\)90027-r](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90027-r). PMID: 8458588.
- [25]. 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), pp. 1231-7. Doi: [10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3). PMID: 10381194.
- [26]. Li, C., Oldham, C. D., May, S. W. *NN-dimethyl-1,4-phenylenediamine as an alternative reductant for peptidylglycine alpha-amidating mono-oxygenase catalysis*. *Biochem. J.*, **1994**, 300(Pt1)(Pt1), pp. 31-6. Doi: [10.1042/bj3000031](https://doi.org/10.1042/bj3000031). PMID: 8198547.

- [27]. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. L. W. T. *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food. Sci., Tech.*, **1995**, 28(1), pp. 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- [28]. Benzie, I. F, Strain, J. J. *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal. Biochem.*, **1996**, 239(1), pp. 70-6. Doi: [10.1006/abio.1996.0292](https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292). PMID: [8660627](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8660627/).
- [29]. Winston, G. W., Regoli, F., Dugas, A. J-Jr., Fong, J.H., Blanchard, K. A. *A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. Free-Radic. Biol. Med.*, **1998**, 24(3), pp. 480-93. Doi: [10.1016/s0891-5849\(97\)00277-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(97)00277-3). PMID: [9438561](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9438561/).
- [30]. Pincemail, J., Meurisse, M., Limet R., *et al. L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. Vaisseaux, Coeur, Poumons*, **1999**, 4(5), pp. 12-23.

## ***C*ONCLUSION *G*ENERALE**

L'objectif principal de travail présenté dans ce manuscrit était de synthétiser de nouveaux composés hétérocycliques à visées thérapeutiques et étude de leurs potentiels antioxydants et antibactériens.

La synthèse de ces motifs hétérocycliques a été réalisée par les méthodes de synthèse classique basé sur la réaction multi-composants de Biginelli suivie d'une condensation sur les nucléophiles azotés comme l'hydrazine, le phénylhydrazine et l'arylamine.

Au cours du **premier chapitre**, nous avons exploité les données de la littérature concernant les potentiels thérapeutique de divers hétérocycles étudiés comme les pyrimidines, purines et pyridazines en générale et leurs dérivés fusionnés (pyrimido-pyrimidines, pyrimido-pyridazine, pyrimido-purines et pyridazino-purines). Nous avons mis en évidence le large éventail d'applications biologiques et pharmacologiques des différents noyaux hétérocycliques étudiés.

Au cours du **deuxième chapitre**, nous avons présenté nos résultats concernant la synthèse et la caractérisation structurale de nouveaux composés hétérocycliques dérivés de pyrimidines, pyridazines et purines à visées thérapeutiques. Notre stratégie de synthèse des différents motifs hétérocycliques est basée sur l'utilisation la réaction multicomposants de Biginelli pour la synthèse des pyrimidines.

Dans une première partie, nous avons exposé un aperçu bibliographique sur les méthodes de synthèse de différents motifs hétérocycliques (pyrimidine, purines et pyridazine) et leurs dérivés fusionnés comme les pyrimido-pyrimidines, pyrimido-pyridazines et pyridazino-purines.

Dans une deuxième partie, nous avons préparé les dihydropyrimidines issus de la réaction classique de Biginelli par condensation de l'oxalacétate de sodium, l'urée et un aldéhyde aromatique en présence d'un catalyseur acide. Cette réaction a été étendue par la suite aux nucléophiles azotés comme les nucléobases (adénine, guanine et cytosine), l'hydrazine, le phénylhydrazine et l'hydroxylamine pour synthétiser de nouveaux dérivés hétérocycliques tels que les pyrimido-purines, les pyrimido-pyrimidines, les oxazoles et les imidazoles.

La présence des deux groupements fonctionnels ester (COOEt) sur les différents motifs synthétisés va sans doute permette d'élargir la structure de ces composés par condensation avec les hydrazines et les arylamines. Dans ce cas, la réaction conduit aux

pyridazino-purines, pyrimido-pyridazines, isoxazolo-pyridazines et imidazolo-pyridazines.

Dans le **troisième chapitre**, avons rapporté les résultats des études biologiques (activité anti-oxydante et antibactérienne) des molécules synthétisés. Ces études biologiques ont confirmés l'importance de ces dérivés hétérocycliques, à savoir :

- Des activités anti-oxydantes *in vitro* très intéressantes contre les radicaux libres (DPPH et ABTS).
- Des activités antibactériennes *in vitro* comparables à celles de la Gentamicine utilisé comme antibiotique commercialisé.

### **Perspectives**

Nous avons pu préparer de nouveaux composés hétérocycliques fusionnés dérivés de pyrimidine, pyridazine, purine, pyrazole et isoxazole. La méthode utilisée peut être étendue à d'autres dérivés, d'une part, et d'autre part, les intermédiaires obtenus peuvent être le siège de plusieurs transformations chimiques qui permettent d'accéder rapidement à une large gamme de dérivés hétérocycliques potentiellement actives.

Les molécules que nous avons préparées présentent deux pôles d'intérêts. Ils sont, comme tous les polyhétérocycles susceptibles d'avoir des propriétés biologiques intéressantes (antibactériens et antioxydants) ils offrent des possibilités réactionnelles supplémentaires grâce à la présence des groupements esters et hydroxyls.

D'autres activités biologiques (*in vivo* et *in vitro*) anti-inflammatoires et anticancéreuses sont en cours de réalisation.

## **CHAPITRE IV**

### ***PARTIE EXPERIMENTALE***

## Appareillages et matérielles

### Solvants et Produits

Les composés organiques de départ disponibles commercialement (Aldrich, Acros organics) sont utilisés tels que reçus sans purification additionnelle. Toutes les réactions sont effectuées sous atmosphère d'argon, à moins d'avis contraire.

Les solvants de réaction sont préalablement séchés et distillés selon les méthodes usuelles.

L'avancement des réactions et la pureté des produits obtenus ont été suivis par chromatographie sur couche mince (CCM) de silice sur aluminium (plaques commerciales Merck Kieselgel 60 F254, épaisseur de silice 0,2 mm) et révélées sous rayonnement UV à 254 nm.

La séparation des produits a été effectuée soit par chromatographie flash sur colonne de gel de silice, soit par recristallisation à basse température ou précipitation.

### 1. Résonance Magnétique Nucléaire du proton ( $^1\text{H}$ ) et du carbone $^{13}\text{C}$

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$  ont été enregistrés respectivement à (300, 400 et 600) et (75 et 101 MHz) sur des spectromètres Bruker Avance à température ambiante. Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont rapportés en parties par million (ppm) par rapport au signal du  $\text{Me}_4\text{Si}$  pris comme référence interne.

La multiplicité des signaux est indiquée par les abréviations suivantes :

*s* : singlet, *d* : doublet, *dd* : double dédoublé, *t* : triplet, *q* : quadruplet, *m* : multiplet....etc. Les constantes de couplage *J* (valeurs absolues) sont exprimées en Hertz (Hz). Le logiciel Mestrenova-11.04-18998 a été utilisé pour traiter les spectres obtenus.

### 2. Spectrométrie de masse

Les spectres de Masse ont été enregistrés sur un appareil HP 5989A MS, à 70 eV pour les spectres IE et avec du méthane comme gaz réactif pour les spectres IC. Les spectres ESI masse ont été obtenus sur Mariner (TOF ESI) et API 365 (ESI 3Q) spectromètres de masse avec du méthanol comme un jet de solvant.

### 3. Spectre Infrarouge

Les spectres Infrarouge sont réalisés à l'aide du spectrophotomètre à transformée de Fourier (Agilent Cary 630) à partir d'échantillons dispersés dans une matrice de bromure de potassium. Les fréquences caractéristiques sont repérées par leur nombre d'onde exprimé en  $\text{cm}^{-1}$ .

### 4. Point de fusion

Les points de fusion ont été déterminés en utilisant l'appareil Princeton instruments model WRS-2.

### Matériel et produits pour les tests biologiques

1. Müller Hinton : Milieu nutritif pour les souches bactériennes.
2. Les souches bactériennes référencier et nous ont été fournies par l'institut de pasteur (*Staphylococcus aureus*, *Escherchia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salamonellatyphimuruim*)
3. Solvant de dilution.DMSO
4. Antibiotique : Gentamicine
5. Boites de pétries.
6. Pipettes Pasteur, étuve, Bec Benzène.
7. Radicaux libres : DPPH et ABTS.
8. Acide ascorbique, BHT.

## Protocoles Expérimentaux

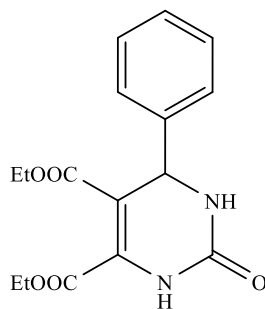
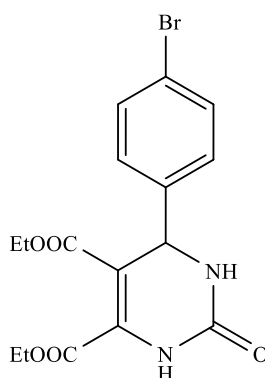
### Préparation des dihydropyrimidine-2-one dicarboxylates par la réaction de Biginelli.

#### Procédure 1 : Synthèse catalysée par HCl ou *p*-TsOH

Un mélange de diéthyle oxalacétate de sodium (un équivalent), nucléobase (adénine, guanine ou cytosine) (un équivalent) et d'un aldéhyde aromatique (un équivalent) en présence de 10 % mol de TsOH ou 2 gouttes de HCl *conc.* Dans de l'éthanol a été agité au reflux pendant 3 heures. Après que la réaction ait été complète (comme indiqué par CCM), le mélange a été versé dans de l'eau froide et acidifié en utilisant H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Le précipité a été filtré, lavé à l'eau et plusieurs fois à l'hexane ou à l'éther de pétrole. Le solide qui a été séparé a été recristallisé dans de l'éthanol/eau (50:50) à basse température ou en utilisant la chromatographie éclair sur gel de silice (éluant: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, MeOH 95:5) pour fournir les pyrimidines fusionnées pures dans des rendements de 33% -59%.

#### Procédure 2 : Utilisation de SSA comme catalyseur

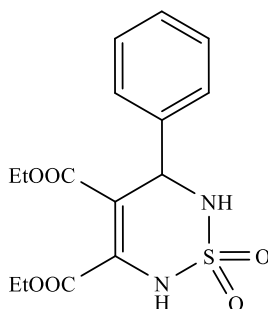
Un mélange équimolaires de di-éthyles oxalacétate de sodium, une nucléobase (adénine, guanine ou cytosine) et un aldéhyde aromatique et de 10 mol % de SSA dans de l'éthanol a été agité et chauffé à 90°C pendant 5 h. Une fois la réaction terminée (suivi par CCM), le mélange a été refroidi à température ambiante à l'aide d'eau glacée. Le solide obtenu a été filtré et lavé avec deux portions d'eau et plusieurs fois avec de l'hexane et de l'éther de pétrole pour éliminer les traces d'aldéhyde. Le catalyseur SSA a été séparé du produit après dilution du mélange réactionnel avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La purification se fait par recristallisation à partir d'éthanol/eau (50:50) à basse température ou la chromatographie sur gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, MeOH 95:5).

**Diéthyl 6-phényl-2-oxo-1,2,3,6-tétrahydropyrimidine-4,5-dicarboxylates: [136](#)****Formule Chimique:** C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>**T<sub>f</sub>** = 172-174 °C.**Rdt** = 27% (procédure 1), 55% (procédure 2)**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1660 (C=C), 1714 (C=O), 1747 (C=O), 2985 (CH), 3263 (NH).**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.08 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.27 (t, *J* = 7.0, 3H, CH<sub>3</sub>); 4.00 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>); 4.23 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>); 5.18 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H, 6-CH); 7.26-7.41 (m, 5H, *Harom*); 7.94 (d (large), *J* = 3.0 Hz, 1H, NH); 9.92 (s (large), 1H, NH).**RMN<sup>13</sup>C (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm)** 14.13, 14.27, 53.93, 60.66, 62.34, 100.32, 126.71, 128.24, 129.11, 141.35, 144.01, 151.92, 163.05, 164.00.**HRMS ESI<sup>+</sup> (m/z):** 319.1281 (MH<sup>+</sup> C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> calculée: 319. 1293), 341 [MNa<sup>+</sup>].**Diéthyl-6-(4-bromophényl)-2-oxo-1,2,3,6-tétrahydropyrimidine-4,5-dicarboxylates:****[137](#)****Formule Chimique:** C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>**Rdt** = 56% (procédure 1), 58% (procédure 2).**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1658 (C=C), 1699 (C=O), 1745 (C=O), 2926 (CH), 3245 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm):** 1.06 (t, *J* = 7.0, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.25 (t, *J* = 7.0, 3H, CH<sub>3</sub>); 3.97 (q, *J* = 7.0, 2H, CH<sub>2</sub>); 4.20 (q, *J* = 7.0, 2H, CH<sub>2</sub>); 5.14 (d, *J* = 3.0, 1H, CH); 7.19 (d, *J* = 8.4, 2H, H arom); 7.57 (d, *J* = 8.4, 2H, H arom); 7.93 (s (large), 1H, NH); 9.94 (s (large), 1H, NH).

**HRMS-ESI<sup>+</sup> (m/z):** 397.0383 (MH<sup>+</sup> C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>5</sub> calculée: 397.0399), 420 (55%, MNa<sup>+</sup>).

**Diéthyl-5-phényl-5,6-dihydro-2H-1,2,6-thiadiazine-3,4-dicarboxylate 1,1-dioxide: [138](#)**



**Formule Chimique:** C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S

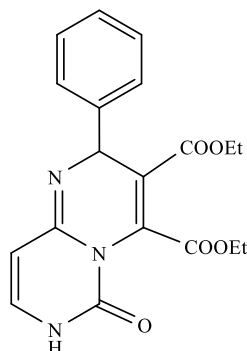
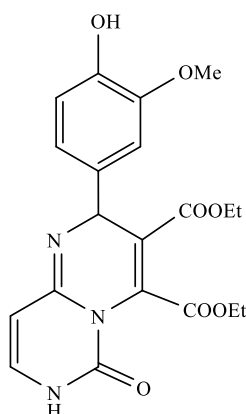
**Rdt** = 48% (procédure 1), 54% (procédure 2).

**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1165 (SO<sub>2</sub>), 1312 (SO<sub>2</sub>), 1585 (C-N), 1695 (C=O), 1721 (C=O), 3107 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, ppm):** 1.17 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.09 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.26 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.89 (s, 1H, CHPh), 7.22– 8.11 (m, 5H, Harom), 10.03 (s, 1H, NH), 12.85 (s, 1H, NH).

**RMN<sup>13</sup>C (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm):** 14.3, 40.1, 61.7, 61.7, 128.9, 128.9, 129.6, 129.7, 129.9, 131.2, 133.1, 133.2, 167.6, 167.7.

**HRMS-ESI<sup>+</sup> (m/z):** 356.0951 (MH<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S calculée: 355.0963), 378 [MNa]<sup>+</sup>.

**Diéthyl-2-phényl-6-oxo-6,7-di(H)pyrimido[1,6-a]pyrimidine-3,4-dicarboxylates: [139](#)****Formule Chimique:** C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>**T<sub>f</sub>** = 135–137°C.**Rdt** = 48% (procédure 1), 53% (procédure 2).**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1742 (C=O), 1710 (C=O), 1671 (C=N), 3253 (NH).**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.02 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.06 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.03 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.08 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.14 (s, 1H, CHPh), 7.31-7.41 (m, 7H, H-Ar), 12.2 (s, 1H, NH).**RMN<sup>13</sup>C (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 14.3, 60.6, 79.7, 117.6, 127.9, 129.0, 129.6, 129.6, 136.2, 148.3, 161.6, 168.5.**HRMS-ESI+ (m/z):** 370.1397 (MH<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> calculée: 370.1403), 392 [MNa]<sup>+</sup>.**Diéthyl 2-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)- 6-oxo-6,7-di(H)pyrimido[1,6-a]pyrimidine-3,4-dicarboxylates: [140](#)****Formule Chimique:** C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>**T<sub>f</sub>** = 159-161 °C.**Rdt** = 48% (procédure 1), 52% (procédure 2).

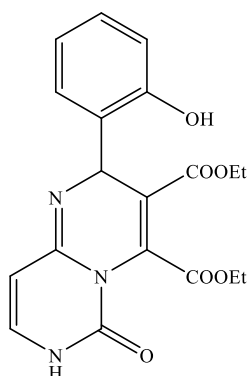
**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1660 (C=O), 1740 (C=O), 1587 (C=N), 3163 (NH), 3023 (CH arom), 1583 (Arom).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.10 (t,  $J$ = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.15 (t,  $J$ = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.73 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.03 (q,  $J$ = 6.9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.05 (q,  $J$ = 3.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.87 (s, 1H, CH), 6.59 (d,  $J$ = 8.2 Hz, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 6.63 (s, 1H, CH), 6.92 (d,  $J$ =1.9 Hz, 1H, H<sub>éthyl</sub>), 7.20 (d,  $J$ = 7.0 Hz, 1H, Harom), 7.81 (s, 1H, H arom), 8.92 (s, 1H, NH), 11.48 (s, 1H, OH).

**RMN<sup>13</sup>C (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 14.4, 56.0, 59.1, 60.3, 95.4, 113.7, 115.5, 119.8, 128.1, 146.5, 147.2, 147.60, 148.6, 153.5, 155.7, 160.2, 162.3, 166.4.

**HRMS-ESI<sup>+</sup> ( $m/z$ ):** 416.1458 (MH<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> calculée: 416.1458), 438 [MNa]<sup>+</sup>.

**Diéthyl 2-(2-hydroxyphényl)-6-oxo-6,7-dihydro-2H-pyrimido[1,6-a]pyrimidine-3,4-dicarboxylates:** [141](#)



**Formule Chimique:** C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>

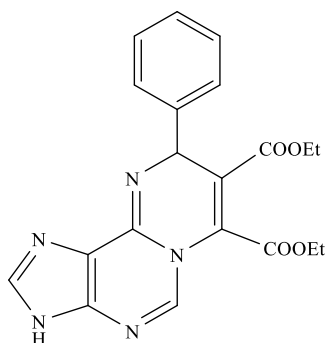
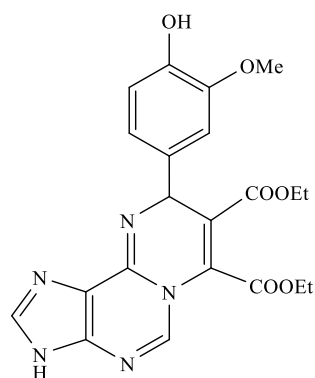
**T<sub>f</sub>** = 202-204 °C.

**Rdt** = 41% (procédure 1), 55% (procédure 2)

**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 3424 (NH), 3045(OH), 1712-1684 (C=O), 1602 (C=N), 1448(C=C), 1372 (C-N), 1178 (C-O).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, ppm):** 1.18 (t, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.29 (t, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.18 (s, 1H), 4.03 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.31 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.45 (d,  $J$  = 7.1, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 7.47 (td,  $J$  = 7.6, 1.1 Hz, 1H), 7.51 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 7.82 (ddd,  $J$  = 8.7, 7.3, 1.6 Hz, 1H), 8.02 (dd,  $J$  = 7.8, 1.7 Hz, 8.75 (d,  $J$  = 7.1, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 8.89 (s, 1H, NH), 10.05 (s, 1H, OH).

**RMN<sup>13</sup>C (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 14.55, 60.20, 117.01, 118.55, 120.95, 125.79, 131.85, 136.08, 150.11, 155.44, 158.67, 165.77.

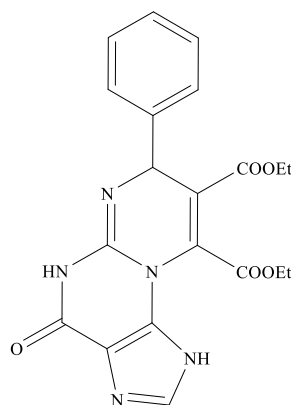
**Diéthyl 9-phényl-3,9-di(H)pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylates: [142](#)****Formule Chimique:** C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>**T<sub>f</sub>** = 105–107°C**Rdt** = 51% (procédure 1), 54% (procédure 2).**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1742 (C=O), 1710 (C=O), 1668 (C=N), 3208 (NH).**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.16 (t, *J*=7.1, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.24 (t, *J*=7.1, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.08 (q, *J*=7.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.16 (q, *J*= 7.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.14 (s, 1H, CHPh), 7.30-7.44 (m, 5H, *Harom*), 7.65 (s, 1H, CH), 8.12 (s, 1H, CH), 12.19 (s, 1H, NH).**HRMS-ESI<sup>+</sup>(*m/z*):** 394.1503 (MH<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> calculée: 394.1515), 416 [MNa]<sup>+</sup>.**Diéthyl-9-(4-hydroxy-3-méthoxyphenyl)-3,9-di(H)pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylates: [143](#)****Formule Chimique:** C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>**T<sub>f</sub>** = 78–80 °C.**Rdt** = 43% (procédure 1), 57% (procédure 2).**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1704 (C=O), 1691(C=O), 1664 (C=N), 1589 (Arom), 3070 (CH *arom*), 3163 (NH), 3471 (OH).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm):** 1.22 (t, *J*= 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.23 (t, *J*= 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.86 (s, 1H, CH-Ph), 4.08 (q, *J*=7.1 Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 4.20 (q, *J*=7.1 Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 6.81 (s, 1H, CH-Ph), 6.98-7.44 (m, 5H, Ar), 7.63 (s, 1H, CH), 8.12 (s, 1H, CH), 9.78 (s, 1H, OH), 10.23 (s, 1H, NH).

**RMN<sup>13</sup>C (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm):** 14.3, 60.6, 79.8, 117.6, (127, 128, 129), 136.2, 148.3, 161.6, 168.5.

**HRMS-ESI<sup>+</sup>(*m/z*):** 440.1566 (MH<sup>+</sup>, C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> calculée: 440.1570), 462 [MNa]<sup>+</sup>

**Diéthyl-6-phényl-10-oxo-3,5,6,10-tétrahydropyrimido[1,2-*f*]purine-7,8-dicarboxylates : [144](#)**



**Formule Chimique:** C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>

**T<sub>f</sub>** = 383-385°C.

**Rdt** = 33% (procédure 1), 41% (procédure 2).

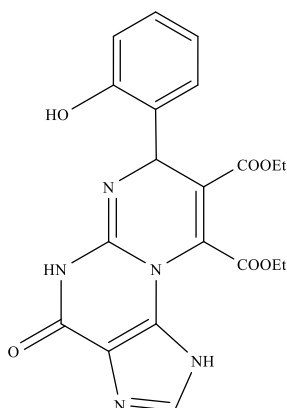
**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1693 (C=O), 1660 (C=N), 1575 (Ar), 3193 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm):** 0.22 – 0.57 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.73 (dd, *J*= 4.9, 2.1 Hz, 1H, CH), 3.31 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.48 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.47 – 6.32 (m, 2H, Harom), 6.52 – 6.49 (m, 1H, H-Ar), 6.60 – 6.54 (m, 2H, Harom), 6.62 (s, 1H, CH), 10.10 (s, 1H, NH), 11.58 (s, 1H, NH).

**RMN<sup>13</sup>C (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm):** 14.4, 58.9, 60.3, 60.5, 126.9, 127.3, 127.6, 128.1, 128.6, 128.9, 129.0, 143.9, 164.6.

**HRMS-ESI<sup>+</sup>(*m/z*):** 410.1452 (MH<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> calculée: 410, 1464), 432 [MNa]<sup>+</sup>.

**Diéthyl-6-(2-hydroxyphényl)-10-oxo-3,5,6,10-tetra(H)pyrimido[1,2-f]purine-7,8-dicarboxylates: [146](#)**



**Formule Chimique:** C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>

**T<sub>f</sub>** = 345-347°C

**Rdt** = 39% (procédure 1), 45% (procédure 2).

**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1692 (C=O), 1663 (C=N), 3286 (NH), 3314 (OH).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 0.99-1.39 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 4.02 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.20 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.39 (m, 1H, CH), 7.09–7.76 (m, 4H, *Harom*), 8.76 (s, 1H, CH), 9.60 (s, 1H, OH), 10.53 (s, 1H, NH), 11.38 (s, 1H, NH).

**HRMS-ESI<sup>+</sup>(*m/z*):** 426.1402 (MH<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> calculée: 426,1413).

## Préparation de pyrazole-3,4-dicarboxylates

### Mode opératoire

#### 1. Utilisation de l'hydrazine

Une solution de 1 équivalent de diéthylmalonate de sodium (1équi, 5 mmol, 1.05g), un équivalent d'aldéhydes aromatiques et un équivalent d'hydrazine hydraté 80%, dans l'acide acétique est placée dans un ballon à fond rond surmonté d'un réfrigérant. Le mélange réactionnel est maintenu à reflux pendant 30 min, après l'achèvement de la réaction, le mélange réactionnel est versé sur de l'eau glacée et acidifié par H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> sous agitation magnétique pendant quelques minutes jusqu'à l'apparition de précipité. Après la filtration, les produits obtenus sont purifiés sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 95:5) ou (acétate d'éthyle/n-hexane, 80 :20).

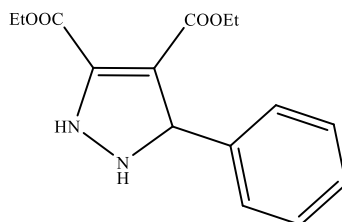
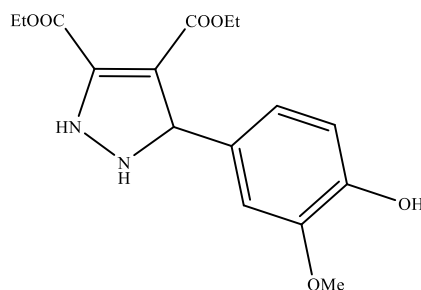
## 2. Utilisation de phénylhydrazine

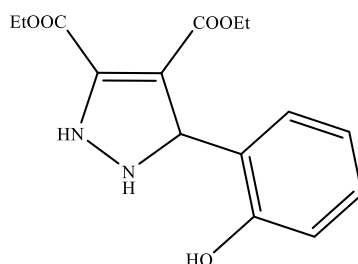
Dans un ballon de 50 ml, Une solution de un équivalent de phénylhydrazine dans l'éthanol est ajoutée à une solution de 1 équivalent de diéthylxalacétate de sodium (1équi, 5 mmol, 1.05g), un équivalent d'aldéhydes aromatiques, et d'une quantité catalytique du HCl (2 gouttes) dans l'éthanol, le mélange réactionnel est refroidi à 0°C.

Une réaction exothermique a eu lieu. Une fois l'addition est terminée, le mélange réactionnel est chauffé au reflux pendant 3 heures. Le mélange réactionnel est versé sur de l'eau glacée et acidifié par H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> tout en maintenant l'agitation pendant 5 à 10 minutes jusqu'à l'apparition de précipité. Après la filtration, les produits obtenus sont purifiés sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 95:5) ou (acétate d'éthyle/n-hexane, 80 :20).

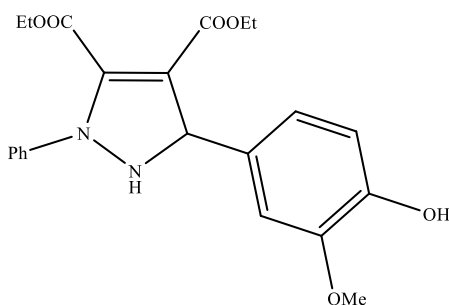
## 3. Synthèse des isoxazolo-3,4-dicarboxylates

Une solution de un équivalent de chlorhydrate d'hydroxylamine (1éq, 5 mmol, 0.35 g) et un équivalent de AcONa (1éq, 5 mmol, 0.53 g) dans l'éthanol est chauffé à 90°C, sous agitation magnétique pendant 15min. Ensuite, on a introduit des quantités équimolaires de diéthylxalacétate de sodium (1équi, 5 mmol, 1.05g), un équivalent d'aldéhydes aromatiques. Le mélange réactionnel est agité magnétiquement à une température entre 90-95°C pendant 3 heures. Après l'achèvement de la réaction, le mélange réactionnel est versé sur de l'eau glacée et filtré dans le cas d'obtention d'un solide ou extrait par l'acétate d'éthyle dans le cas d'obtention d'une huile. Les produits bruts sont purifiés sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 95:5) ou (acétate d'éthyle/n-hexane, 80 :20).

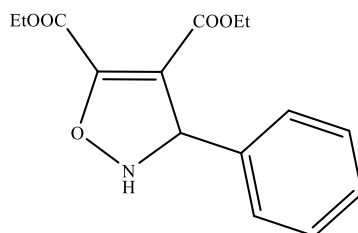
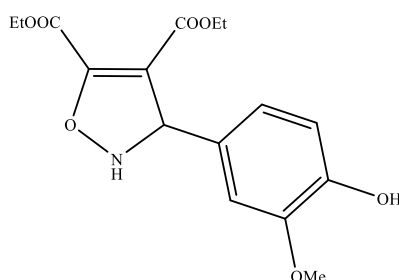
**Diéthyl-5-phényl-2,5-dihydro-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylates: [150](#)****Formule Chimique:** C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>**T<sub>f</sub>** = 139-141 °C**Rdt** = 43 %**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 3651-3749 (NH), 1717-1623 (C=O), 1505 (C=C)**RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.23 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 4.21 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.31 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.89 (s, 1H, CHPh), 5.52 (s, 1H, NH), 7.22 (m, 4H, H-Ar), 7.52 (d, 1H, H-Ar), 8.73 (s, 1H, NH).**Diéthyl-5-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-2,5-dihydro-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylates: [151](#)****Formule Chimique:** C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>**T<sub>f</sub>** = 101-103 °C**Rdt** = 78 %**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 3589-3568 (NH), 1715-1699 (C=O), 1558 (C=C)**RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.20 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 4.08 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.23 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.76 (s, 1H, CHPh), 6.43 (s, 1H, NH), 6.88 (d, 1H, H-Ar), 7.26 (dd, 1H, H-Ar), 7.46 (d, 1H, H-Ar), 8.58 (s, 1H, NH), 9.71 (s, 1H, OH).

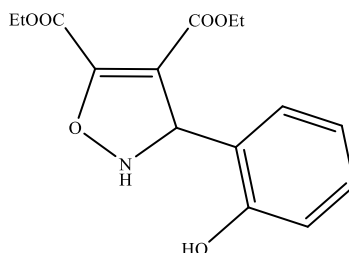
**Diéthyl-5-(2-hydroxyphényl)-2,5-dihydro-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylates: [152](#)****Formule Chimique:** C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>**T<sub>f</sub>** = 113-115 °C**Rdt** = 50 %**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 3570-3652 (NH), 1618-1570 (C=O), 1483 (C=C).

**RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.15 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3.90 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.13 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.29 (s, 1H, CHPh), 5.17 (s, 1H, NH), 6.96 (d, 1H, H-Ar), 7.00 (d, 1H, H-Ar), 7.41 (ddd, 1H, H-Ar), 7.70 (dd, 1H, H-Ar), 9.01 (s, 1H, NH), 11.15 (s, 1H, OH).

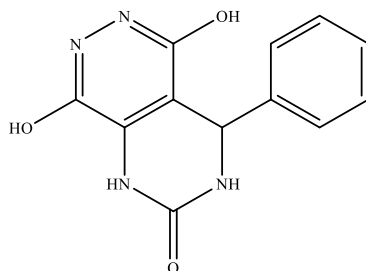
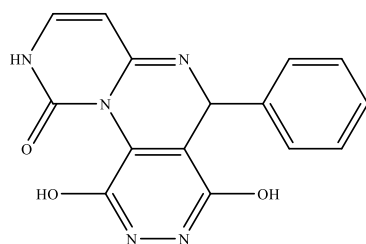
**Diéthyl-5-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-2-phényl-2,5-dihydro-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylates: [154](#)****Formule Chimique:** C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>**T<sub>f</sub>** = 202-204 °C**Rdt** = 57 %**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 3222 (NH), 1651-1596 (C=O), 1499 (C=C)

**RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.16 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3.78 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.84 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.89 (s, 1H, CHPh), 7.51-6.67 (m, 8H, H-Ar), 9.26 (s, 1H, NH), 10.87 (s, 1H, OH).

**Diéthyl 3-phényl-2,3-dihydroisoxazole-4,5-dicarboxylates: [156](#)****Formule Chimique:** C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub>**Rdt** = 49 %**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 3310 (NH), 1796-1691 (C=O), 1448 (C=C).**RMN<sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.20 (t, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.26 (t, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.23 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.36 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.02 (s, 1H, CHPh), 7.47 (m, 2H, H-Ar), 7.60 (ddt, 1H, H-Ar), 8.10 (m, 2H, H-Ar), 8.76 (s, 1H, NH).**Diéthyl-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-2,3-dihydroisoxazole-4,5-dicarboxylates:****[157](#)****Formule Chimique:** C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>7</sub>**Tf** = 127-129 °C**Rdt** = 63 %**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 3476 (NH), 1720-1566 (C=O), 1508 (C=C).**RMN<sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.44 (t, 3H, CH<sub>3</sub>) 1.48 (t, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.04 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.48 (q, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 6.11 (s, 1H, CHPh), 7.04 (s, 1H, H-Ar), 7.60 (d, 1H, H-Ar), 7.62 (d, 1H, H-Ar), 8.56 (s, 1H, NH), 8.85 (s, 1H, OH).**RMN<sup>13</sup>C (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm):** 14.03, 14.08, 56.34, 62.66, 111.23, 114.97, 115.33, 126.52, 134.05, 146.64, 153.13, 153.79, 155.95, 159.61, 168.40.

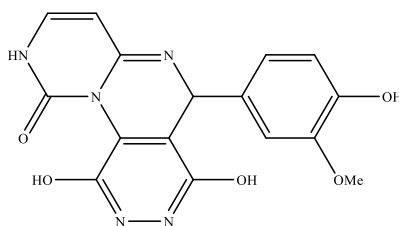
**Diéthyl 3-(2-hydroxyphényl)-2,3-dihydroisoxazole-4,5-dicarboxylates: 158****Formule Chimique:** C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>6</sub>**Tf** = 86-87 °C**Rdt** = 55%**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 3273 (NH), 1709-1631 (C=O), 1451 (C=C).**RMN<sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.28 (t, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.35 (t, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.20 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.35 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.18 (s, 1H, CHPh), 6.96 (td, 1H, H-Ar), 7.04 (dd, 1H, H-Ar), 7.21 (dd, 1H, H-Ar), 7.32 (ddd, 1H, H-Ar), 8.26 (s, 1H, NH), 10.12 (s, 1H, OH).**RMN<sup>13</sup>C (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm):** 14.01, 14.05, 61.42, 62.75, 73.43, 116.46, 116.71, 119.96, 130.81, 131.33, 152.99, 154.95, 156.96, 170.22, 173.67.**Préparation de dihydroxypyrimido[4,5-d]pyridazines et dihydroxypyridazino [4,5-d]purines :****Mode opératoire**

Les esters de l'acide diéthylpyrimidin-2(1H)-one-4,5-dicarboxyliques de départ (1 équiv, 383 mg, 1,15 mmol) ont été dissous dans 50 mL de méthanol dans un ballon à fond rond de 200 mL. Un excès d'hydrate d'hydrazine (20 équiv, 1,00 mL, 1,03 g, 20,6 mmol) a été ajouté à la solution. Le mélange a été agité à température ambiante pendant 24 heures. Après achèvement (CCM), de l'eau froide (50 ml) et H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ont été ajoutées ce qui a permis d'obtenir la pyridazine fusionnée pure par filtration sous forme de solide blanc.

**5,8-dihydroxypyrimido[4,5-d]pyridazine: [159](#)****Formule Chimique:** C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>**T<sub>f</sub>** = 142-144 °C**Rdt** = 90%**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1071 (C-O), 1304 (C-N), 1424-1453 (C=C), 1507-1601 (C=N), 1692 (C=O), 2677-3344 (NH), 3186-3341 (OH).**RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 5.30 (1H, s, CHPh), 7.28- 7.33 (5H, m, H-*Ar*), 7.35 (1H, s, NH), 7.38 (1H, s, NH), 7.82 (1H, s, OH), 7.83 (1H, s, OH).**RMN<sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 53.01, 110.97, 121.52, 126.81, 128.22, 129.00, 134.49, 143.47, 152.32, 155.55.**1,2-dihydro-7,10-dihydroxy-6-phénylpyrimido[1',6':1,2]pyrimido[5,4-d]pyridazin-1(*1H*)-one: [160](#)****Formule Chimique:** C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>**T<sub>f</sub>** = 166-168 °C.**Rdt** = 83%**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1110 (C-O), 1259 (C-N), 1424 (C=C), 1504-1457 (C=N), 1596 (C=O), 2500-3341 (OH), 3469 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm):** 4.15 (s, 1H, CHPh), 6.04 (d, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 7.35 – 7.27 (m, 1H, H-Ar), 7.55 – 7.35 (m, 4H, H-Ar), 7.70 (d, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 9.92 (s, 1H, NH), 11.55 (s, 1H, OH), 11.80 (s, 1H, OH).

**1,2-dihydro-7,10-dihydroxy-6-(4-hydroxy-3-méthoxy)phénylpyrimido[1',6':1,2]pyrimido[5,4-d]pyridazin-1(IH)-one: [161](#)**



**Formule Chimique:** C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>

**T<sub>f</sub>** = 175-177 °C

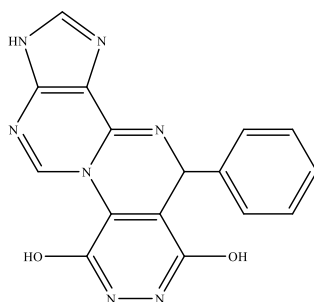
**Rdt** = 85%

**IR (KBr, ν cm<sup>-1</sup>):** 1459-1514 (C=N), 3509- 2570 (OH), 1589 (C=O), 1426 (C=C).

**RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm):** 3.74 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.52 (s, 1H,CHPh), 5.26 (d, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 6.69 (d, 1H, H-Ar), 6.75 (d, 1H, H-Ar), 6.84 (d, 1H, H-Ar), 7.40 (d, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 8.22 (s, 1H, NH), 8.72 (s, 1H, OH) 9.70 (s, 1H, OH), 9.77 (s, 1H, OH).

**RMN<sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm):** 49.96, 56.04, 111.14, 115.58, 115.85, 118.28, 119.36, 126.56, 129.15, 134.55, 144.48, 146.38, 147.84, 148.63, 153.52, 191,49.

**5-phénylpyridazino[4',5':5,6]pyrimido[1,2-g]purine-1,4-diols: [162](#)**



**Formule Chimique:** C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub>

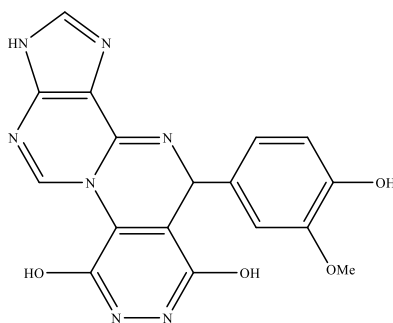
**T<sub>f</sub>** = 188-190 °C.

**Rdt** = 89%

**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1297 (C-O), 1380 (C-N), 1540 (C=C), 1655-1579 (C=N), 1596 (C=O), 3418-3330 (OH), 3505 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 6.05 (s, 1H, CHPh), 7.71 – 7.37 (m, 5H, H-Ar), 7.71 (s, 1H, H), 8.45 (s, 1H, H), 11.56 (s, 1H, OH), 11.69 (s, 1H, OH), 12.48 (s, 1H, NH).

**5-(4-hydroxy-3-méthoxy)phénylpyridazino[4',5':5,6]pyrimido[1,2-g]purine-1,4-diols: [163](#)**



**Formule Chimique:** C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>

**T<sub>f</sub>** = 153-155 °C

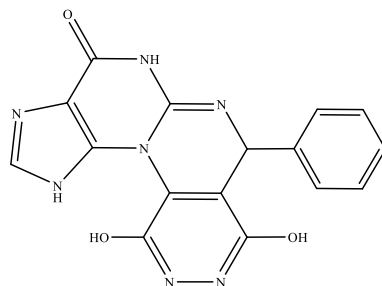
**Rdt** = 94%

**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1250 (C-N), 1428 (C=C), 1595-1505 (C=N), 2640- 3433 (OH), 3480 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 3.84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.08 (s, 1H, CHPh), 6.05 (s, 1H, H-6), 6.88 (d, 1H, H-Ar ), 7.26 (dd, 1H, H-Ar ), 7.46 (d, 1H, H-Ar ), 8.58 (s, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 9.71 (s, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 10.85 (s, 1H, OH), 11.15 (s, 1H, OH), 11.18 (s, 1H, OH), 11.23 (s, 1H, NH).

**RMN<sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 55.91, 55.97, 110.34, 110.45, 115.94, 116.01, 123.96, 124.04, 125.94, 125.98, 148.33, 148.42, 150.25, 150.32, 161.01, 161.08.

**6,9-dihydroxy-1,5-dihydro-10-phénylpyridazino[4',5':5,6]pyrimido[2,1-e]purine-1(1H)-one: [164](#)**



**Formule Chimique:** C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>

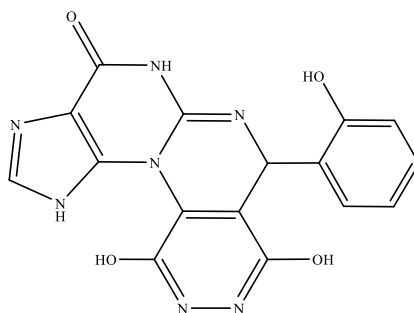
**T<sub>f</sub>** = 252-254 °C

**Rdt** = 80%

**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1366 (C-N), 1467 (C=C), 1555-1540 (C=N), 1665 (C=O), 3099-3064 (OH), 3314 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 4.02 (s, *J* = 4.8 Hz, 1H, CHPh), 6.31 – 5.91 (m, 3H, *Harom*), 7.22 (d, *J* = 39.4 Hz, 2H, *Harom*), 7.59 (s, 1H, H-imidazole), 9.33 (s, 1H, NH), 10.18 (s, 1H, OH), 10.46 (s, 1H, OH), 12.27 (s, 1H, NH).

**6,9-dihydroxy-1,5-dihydro-10-(2-hydroxy)phénylpyridazino[4',5':5,6]pyrimido-[2,1-e]purine-1(1H)-one: [166](#)**



**Formule Chimique:** C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>

**T<sub>f</sub>** = 320-321 °C

**Rdt** = 82%

**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1370 (C-N), 1467 (C=C), 1553-1540 (C=N), 1665(C=O), 3099 (OH), 3314 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 4.00 (s, 1H, CHPh), 6.02 (s, 1H-Ar), 6.24 (s, 1H-Ar), 6.73 (s, 1H-Ar), 6.94 (s, 1H-Ar), 7.59 (s, 1H), 7.87(s, 1H, OH), 8.63 (s, 1H, NH), 9.03 (s, 1H, OH), 9.37 (s, 1H, OH), 10.17 (s, 1H, NH).

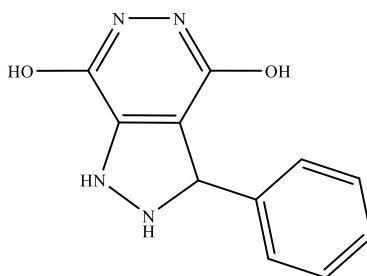
**Préparation de 3-phényl-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyridazin-4,7-diol et 3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-2,3-dihydroisoxazolo[4,5-d]pyridazin-4,7-diol.**

**Mode opératoire**

Les pyrazoles et isoxazoles de départ (1 équi, 0.3g) ont été dissous dans le minimum de méthanol. Un excès d'hydrate d'hydrazine (20 équiv, 1,00 mL, 1,03 g, 20,6 mmol) a été mélangé progressivement avec la solution méthanolique sous agitation à température ambiante pendant 24 heures.

Après achèvement (CCM), de l'eau froide (50 ml) a été ajoutée avec quelques gouttes de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Après une minute d'agitation, un précipité s'est formé. Les produits sont recueillis purs directement par filtration.

**3-phényl-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyridazin-4,7-diols: [167](#)**



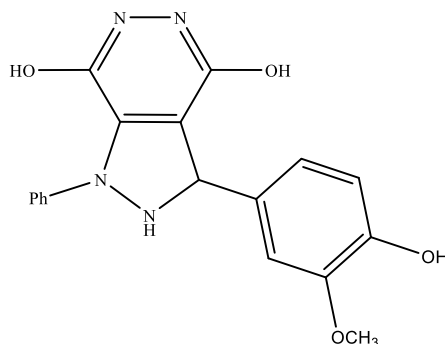
**Formule Chimique:** C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>

**Rdt = 66%**

**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1493-1593 (C=C), 1603-1633 (C=N), 3635-3322 (OH), 3201 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 4.88 (s, 1H, CHPh), 5.48(s, 1H, NH), 7.06 (d, 1H, H-Ar), 7.17 (dd, 1H, H-Ar) 7.25 (d, 1H, H-Ar), 7.35 (dd, 1H, H-Ar), 7.52 (dd, 1H, H-Ar), 8.73 (s, 1H, NH), 10.28 (s, 1H, OH), 12.56 (s, 1H, OH).

**3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1-phényl-2,3-dihydro-1H-pyrazolo[3,4-d]pyridazine-4,7-diols: [170](#)**



**Formule Chimique:** C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>

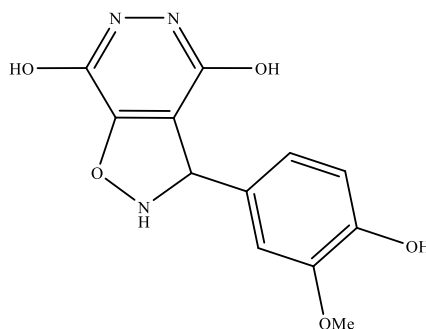
**Rdt** = 59%

**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1595-1505 (C=C), 1617-1602 (C=N), 3675-3651 (OH), 3314(NH)

**RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 3.37 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.76 (s, 1H, CH-Ph), 6.77 (m, 1H, H-Ar), 6.87 (dd, 1H, H-Ar), 7.20 (m, 1H, H-Ar), 6.98 (d, 1H, H-Ar), 7.41 (ddd, 1H, H-Ar), 7.54 (dd, 1H, H-Ar), 7.70 (dd, 1H, H-Ar), 8.15 (s, 1H, H-Ar), 9.01 (s, 1H, NH), 10.41 (s, 1H, OH), 10.54 (s, 1H, OH), 11.14 (s, 1H, OH).

**3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-2,3-dihydroisoxazolo[4,5-d]pyridazine-4,7-diols:**

**[171](#)**

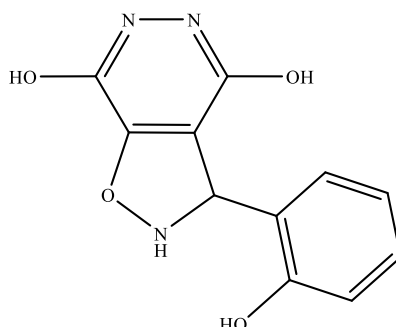


**Formule Chimique:** C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>

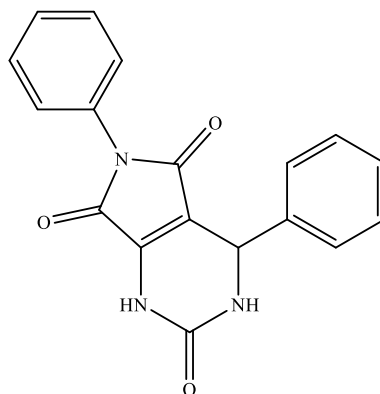
**Rdt** = 83%

**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1655-1595 (C=N), 3749-3510 (OH), 3206 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm):** 4.01 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5.95 (s, 1H, CH-Ph), 7.22 (dd, 1H, H-Ar), 7.32 (s, 1H, H-Ar), 7.55 (d, 1H, H-Ar), 8.59 (s, 1H, NH), 8.63 (s, 1H, OH), 8.68 (s, 1H, OH), 9.85 (s, 1H, OH).

**3-(2-hydroxyphényl)-2,3-dihydroisoxazolo[4,5-d]pyridazine-4,7-diols: [172](#)****Formule Chimique:** C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>**Rdt** = 62%**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1507-1601(C=C), 1618-1572 (C=N), 3748, 3675-3652 (OH), 3243 (NH)**RMN<sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm):** 5.58 (s, 1H, CHPh), 6.97 (td, 1H, H-Ar), 7.04 (dd, 1H, H-Ar), 7.36 (dd, 1H, H-Ar), 7.40 (td, 1H, H-Ar), 8.72 (s, 1H, NH), 11.35 (s, 1H, OH), 11.39 (s, 1H, OH), 11.42 (s, 1H, OH).**Préparation de 4,6-diphényl-3,4-dihydro-1H-pyrrolo [3,4-d] pyrimidine-2,5,7 (6H)-trione: [175](#)**

Dans un ballon de 50 ml, on introduit en quantités équimolaires un mélange de diéthyl-2-oxo-6-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyrimidine-4,5-dicarboxylate (1équi, 0.57 mmol, 0.18g ) et aniline (1équi, 0.57 mmol, 0.067ml) dans 20ml d'éthanol. La réaction maintenue sous agitation à reflux pendant 3h à 90°C. Après achèvement (CCM), de l'eau glacée a été ajoutée au mélange réactionnel pour précipiter le produit et ensuite être extrait avec du dichlorométhane. Après filtration, le solvant est évaporé sous vide puis le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (CH<sub>2</sub>C<sub>2</sub>/MeOH 95:5) ou (Hexane/EtOAc 20:80) pour donner le pyrrolo [3,4-d] pyrimidine sous forme de solides blancs.

**4,6-diphényl-3,4-dihydro-1H-pyrrolo [3,4-d] pyrimidine-2,5,7(6H)-trione: 175**

**Formule Chimique:** C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

**Rdt** = 75%

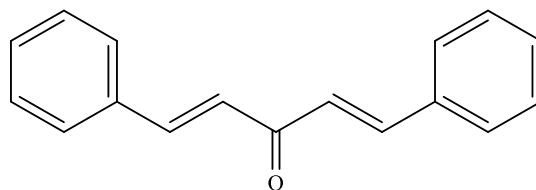
**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 3252-3109 (NH), 1744 (C=O), 1707 (C=O), 1655 (C=O), 1461 (C=C), 1215 (C-O).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 6.22 (s, 1H, H-5), 7.13 – 7.03 (m, 2H, H-Ar), 7.28 (dd, J = 8.4, 7.3 Hz, 2H, H-Ar), 7.39 (d, J = 4.5 Hz, 3H, H-Ar), 7.53 (s, 1H, NH-4), 7.74 – 7.64 (m, 3H, H-Ar), 8.99 (s, 1H, NH-2).

**RMN<sup>13</sup>C (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 60.43, 81.14, 121.79, 127.97, 128.60, 129.04, 129.10, 129.53, 131.92, 135.37, 140.16, 162.41, 167.36, 168.62.

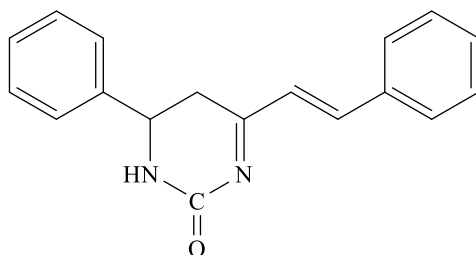
**Préparation de dibenzalacétone par la condensation de Claisen-Schmidt:****Mode opératoire**

Dissoudre (0,02 mol) de benzaldéhyde et (0,01 mol) d'acétone dans 10 ml d'éthanol. Diluer 4 ml de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium Dissoudre (0,02 mol) de benzaldéhyde et (0,01 mol) d'acétone dans 10 ml d'éthanol. Diluer 4 ml de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium avec 15 ml d'eau et ajouter à la première solution agiter vigoureusement le mélange pendant environ 15 minutes puis laisser reposer pendant encore 15 minutes enfin, refroidir dans de l'eau glacée pendant 10 minutes. La dibenzalacétone se sépare sous forme de cristaux jaunes pâles, avec 15 ml d'eau et ajoutés à la solution précédente. agiter vigoureusement le mélange pendant environ 15 minutes puis laisser reposer pendant encore 15 minutes enfin refroidir dans de l'eau glacée pendant 10 minutes. La dibenzalacétone se sépare sous forme de cristaux jaunes pâles, filtré à la pompe, bien lavé à l'eau et bien séché. Recristalliser à partir de l'éthanol, la pureté du produit a été vérifiée par CCM.

**1,5-diphénylpenta-1,4-dien-3-one : [177](#)****Formule Chimique:** C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O**T<sub>f</sub>** = 109-111°C**Rdt** = 65%**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1480 (C=C-Ar), 1640 (C=C), 1700 (C=O)**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 4.6 (d, 2H, 2 CHPh); 7-1-7.4 (m, 10H) Ar – H) 7.66 (d, 2H, CH<sub>éthyl</sub>).**Préparation de dérivés des pyrimidines [178-180](#) et pyrimidines fusionnées [181](#), [182](#) et [183](#):**

Un mélange de un équivalent dibenzalacétone DBA (0,02 mol), un équivalent de 1,3-diamines (urée, sulfamide, thiourée, cytosine, adénine and guanine) (0,02 mol) et deux équivalents d'hydroxyde de sodium (0,04 mol) a été dissous dans l'éthanol et agité pendant 2 heures. Le mélange réactionnel a ensuite été versé dans 250 mL d'eau froide sous agitation continue pendant une heure et conservé au réfrigérateur pendant une nuit. Les produits précipités obtenus, ont été filtrés et lavés à l'eau, puis recristallisés dans l'éthanol/eau (50:50) à basse température ou purifiés sur chromatographie sur gel de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, MeOH 95:5).

Nous avons établi la même procédure mais en utilisant l'eau et un mélange de solvants (Eau-Ethanol, 1:1).

**6-phényl-4-styryl-5,6-dihydropyrimidin-2(1H)-one: 178**

**Formule Chimique:** C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O

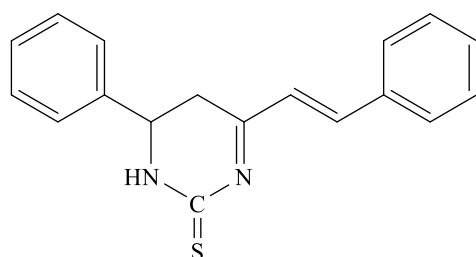
**T<sub>f</sub>** = 252-254 °C

**Rdt** = 71% (EtOH/NaOH), 64% (EtOH-H<sub>2</sub>O(v/v)/NaOH).

**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1625 (C=N), 1650 (C=C), 1710 (C=O), 3300 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.4-1.7 (d, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.8 (d, 1H, CH); 6.06-6.4(d, 2H, CH=CH); 7.1-7.5 (m, 10H, H-Ar), 8.0 (s, 1H, NH).

**HRMS-ESI<sup>+</sup> (m/z):** 277.1328 (MH<sup>+</sup>, C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O calculée: 277.1340).

**6-phényl-4-styryl-5,6-dihydropyrimidine-2(1H)-thione: 179**

**Formule Chimique:** C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>S

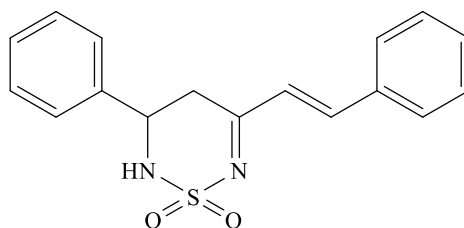
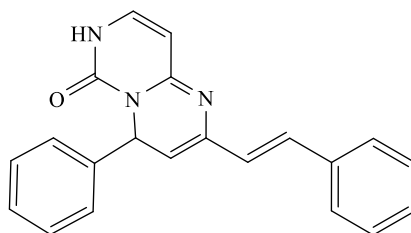
**T<sub>f</sub>** = 172-174 °C

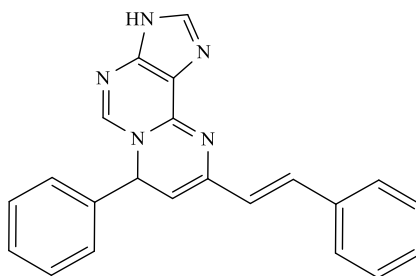
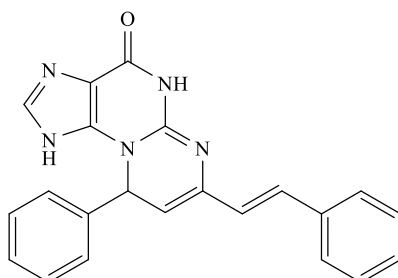
**Rdt** = 62% (EtOH/NaOH), 58% (EtOH-H<sub>2</sub>O (v/v)/NaOH).

**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1624 (C=N), 1645 (C=C), 1675 (C=S), 3340 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.4-1.6 (d, 2H); 3.7 (d, 1H); 6.1-6.4 (d, 2H); 7.0-7.4 (m, 10H); 8.0 (s, 1H).

**HRMS-ESI<sup>+</sup> (m/z):** 293.1106 (MH<sup>+</sup>, C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>S calculée: 293.1112).

**3-phényl-5-styryl-3,4-dihydro-2H-1,2,6-thiadiazine 1,1-dioxydes: [180](#)****Formule Chimique:** C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S**T<sub>f</sub>** = 190-192 C°**Rdt** = 56% (EtOH/NaOH), 48% (EtOH-H<sub>2</sub>O (v/v)/NaOH).**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1173 (SO<sub>2</sub>), 1333 (SO<sub>2</sub>), 1492 (C=C), 3028 (CH), 3240 (NH).**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 1.8 (2H, d, *J* = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 2 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, NH), 3.90 (1H, t, *J* = 7.0 Hz, CH), 5.60 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, CH<sub>éthyl</sub>), 6.60 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, CH<sub>éthyl</sub>), 7.12-7.30 (10H, m, *Harom*).**HRMS-ESI<sup>+</sup> (*m/z*):** 313.1004 (MH<sup>+</sup>, C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S calculée: 313.1010).**4-phényl-2-styryl-4,7-dihydro-6H-pyrimido[1,6-*a*]pyrimidin-6-one: [181](#)****Formule Chimique:** C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O**T<sub>f</sub>** = 195-197 °C**Rdt** = 67% (EtOH/NaOH), 53% (EtOH-H<sub>2</sub>O (v/v)/NaOH), 41% (H<sub>2</sub>O).**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1655 (C=C), 1601 (C=O), 3027 (CH), 3158 (NH).**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 4.50 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, CH<sub>cyto</sub>); 5.56 (s, 1H, CHPh); 6.0 (d, 1H, NH); 6.3 (s, 1H, CH); 6.65 (d, 1H, CH<sub>styr</sub>); 6.85 (d, 1H, CH<sub>styr</sub>); 7.06-7.30 (m, 11H, *Harom*); 7.30 (d, 1H, CH<sub>cyto</sub>).**HRMS-ESI<sup>+</sup> (*m/z*):** 328.1437 (MH<sup>+</sup>, C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O calculée: 328.1449).

**7-phényl-9-styryl-3,7-dihydropyrimido[2,1-g]purine: 182****Formule Chimique:** C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>**T<sub>f</sub>** = 189-191 °C**Rdt** = 61% (EtOH/NaOH), 57% (EtOH-H<sub>2</sub>O (v/v)/NaOH), 45% (H<sub>2</sub>O).**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1700 (C=O), 1745 (C=O), 1594 (C=N), 3026 (CH), 3159 (NH).**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 4.59 (d, *J* = 7.01 Hz, CHPh); 7.19 (d, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 7.28–7.37 (m, 10H, Harom), 7.61 (s, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 7.91 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, CH<sub>styryl</sub>), 7.93 (s, 1H, CH<sub>aden</sub>), 10.02 (s, 1H, NH).**HRMS-ESI<sup>+</sup> (*m/z*):** 352.1550 (MH<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub> calculée: 352.1562).**9-phényl-7-styryl-5,9-dihydropyrimido[2,1-b]purin-4(1H)-one: 183****Formule Chimique:** C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O**T<sub>f</sub>** = 258,9°C**Rdt** = 52% (EtOH/NaOH), 50% (EtOH-H<sub>2</sub>O (v/v)/NaOH), 38% (H<sub>2</sub>O).**IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>):** 1670 (C=O), 1603 (C=N), 3077 (NH amide), 3322 (NH amine).**RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 4.58 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H, CHPh), 6.27 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 6.63 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 7.52 – 6.89 (m, 10H, NH), 7.80 (d, 1H, CH<sub>éthyl</sub>), 8.31 (s, 1H, CH), 8.88 (s, 1H, NH<sub>amide</sub>), 10.02 (s, 1H, NH).**RMN<sup>13</sup>C (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm):** 143.22, 135.21, 130.96, 129.44, 129.24, 129.00, 128.70, 126.18, 79.64.**HRMS-ESI<sup>+</sup> (*m/z*):** 368.1499 (MH<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>O calculée: 368.1511).

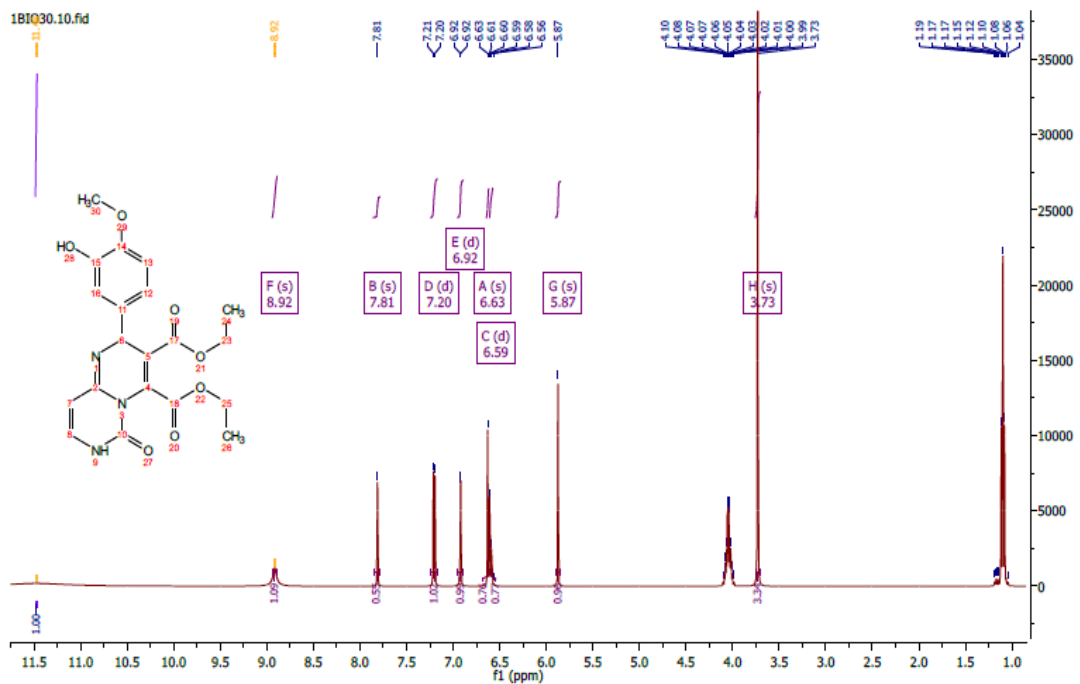
*ANNEXE I*

*Les Spectres RMN*

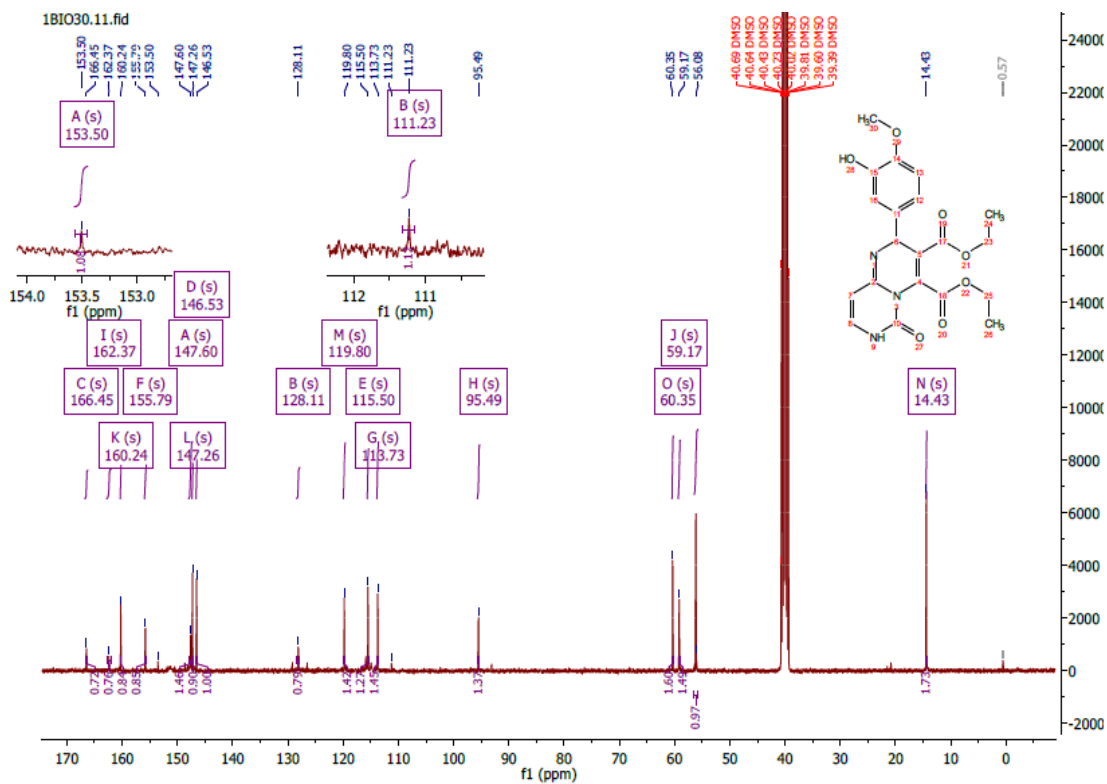




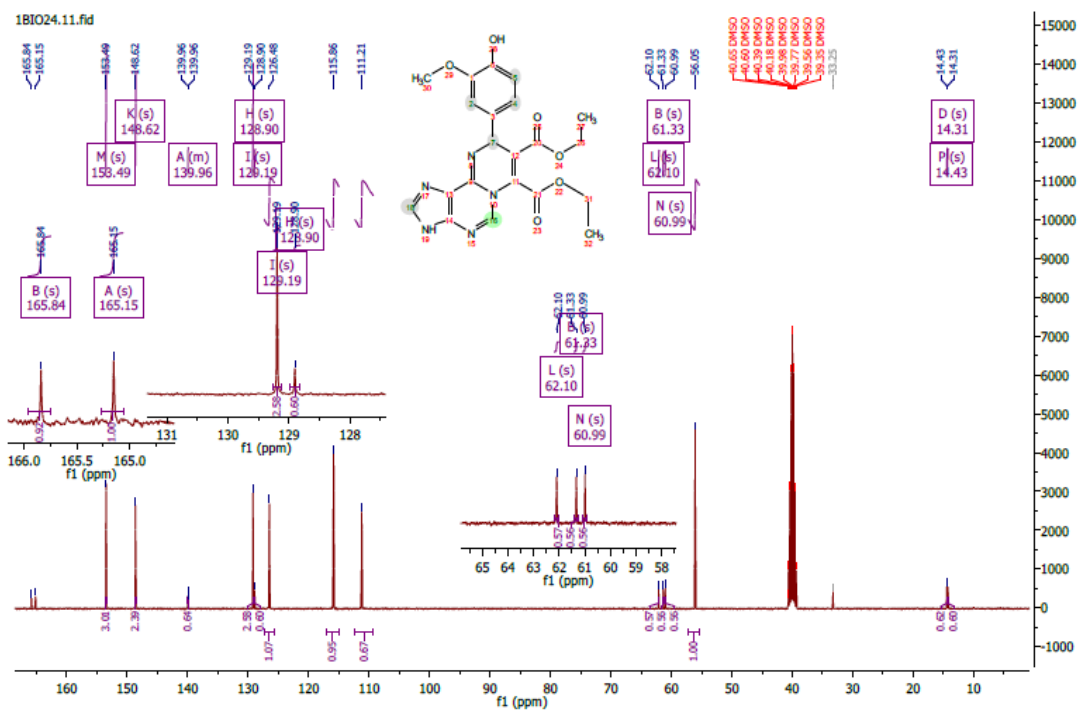
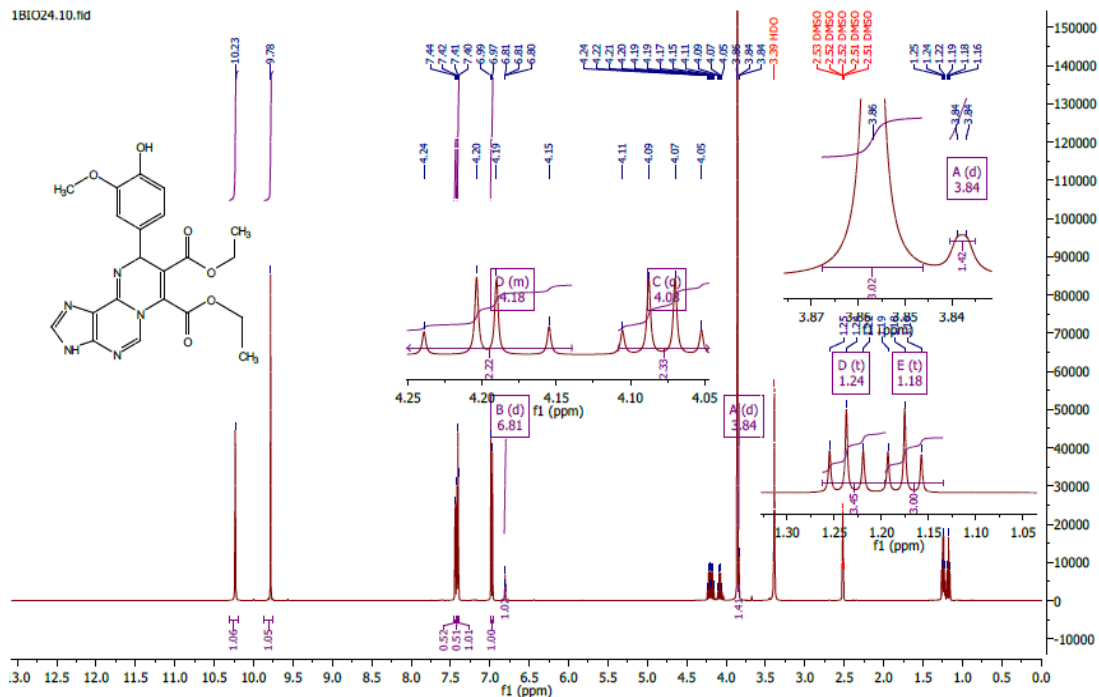




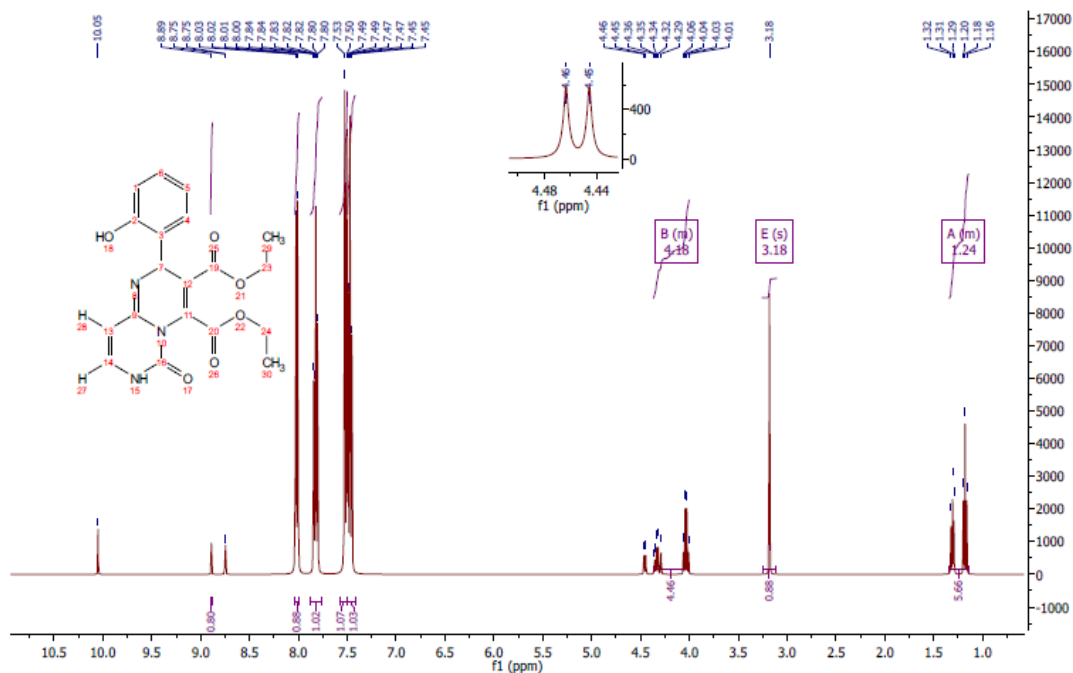
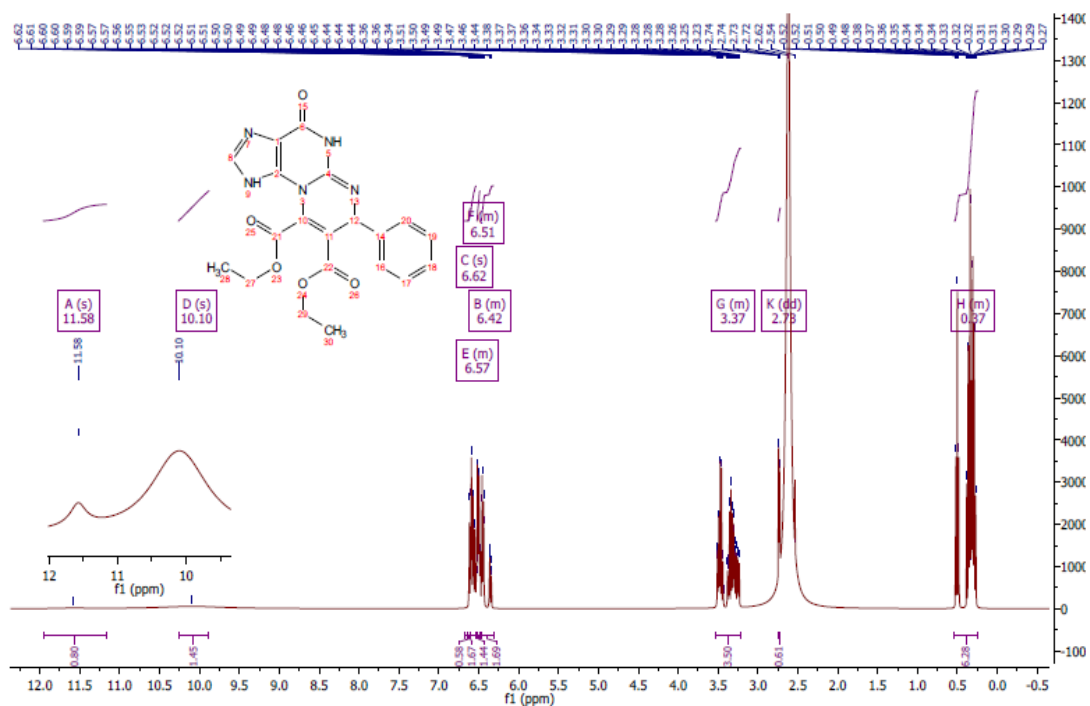
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.48 (s, 1H, OH), 8.92 (s, 1H, NH), 7.81 (s, 1H Ar), 7.20 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H Ar), 6.92 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H Ar), 6.63 (s, 1H Ar), 6.59 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H Ar), 5.87 (s, 1H 6-CH), 4.03 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.05 (q, *J* = 3.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.73 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1.15 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.10 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>)



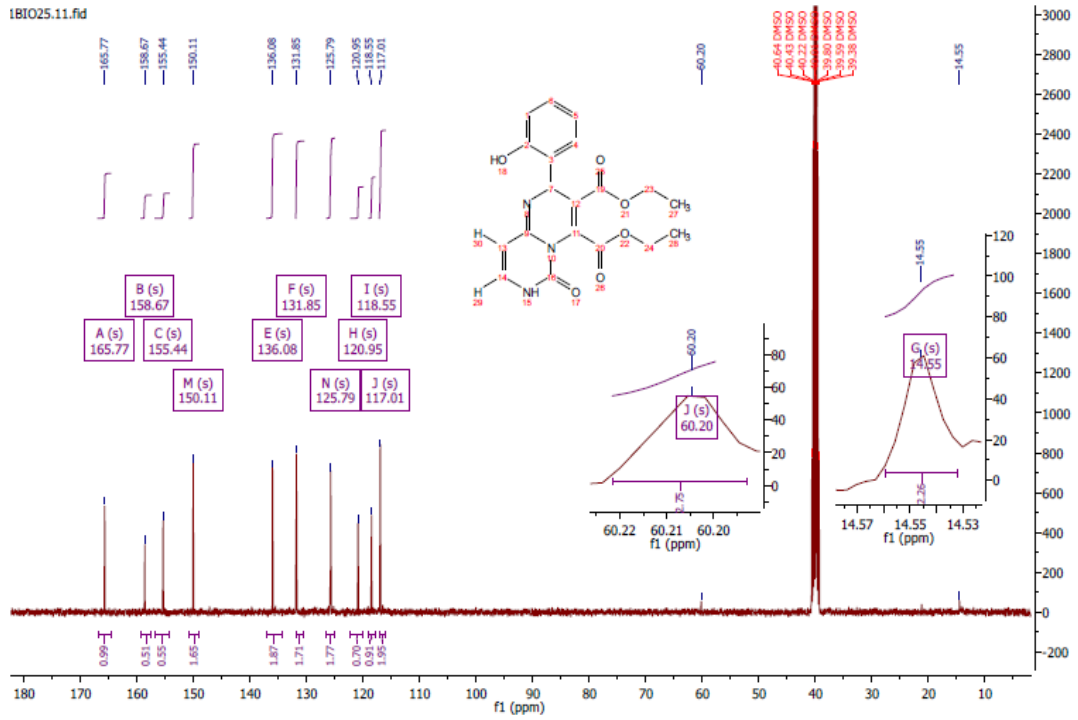




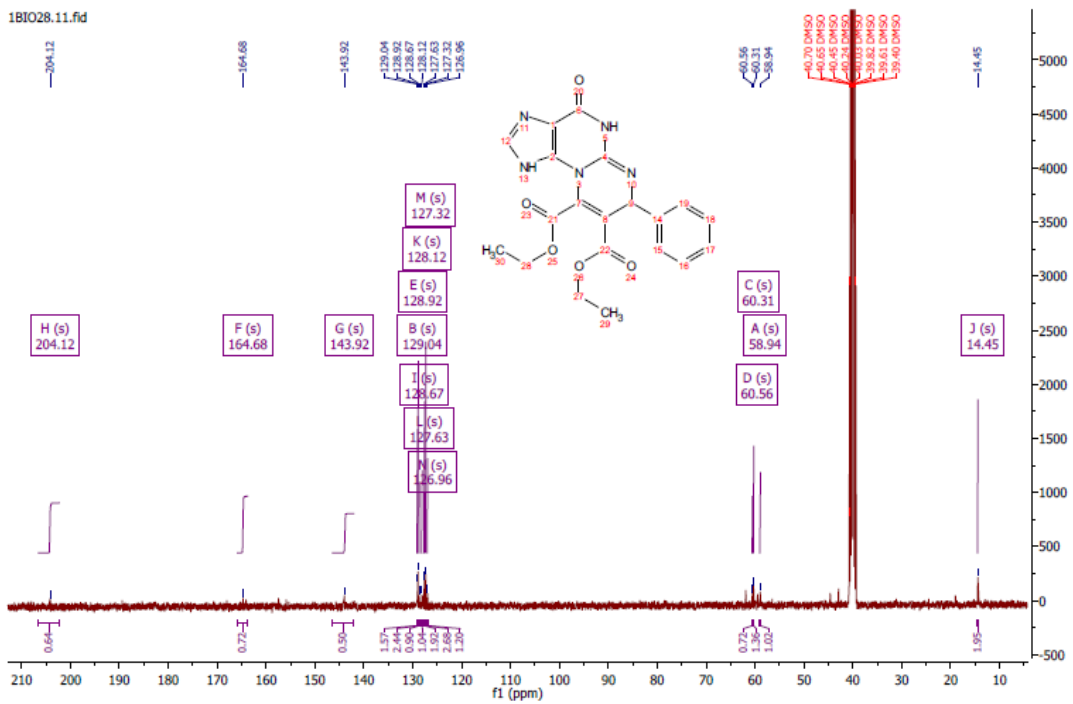
<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 165.84, 165.15, 153.49, 148.62, 139.96, 129.19, 128.90, 126.48, 115.86, 111.21, 62.10, 61.33, 60.99, 56.05, 14.43, 14.31.



$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 10.05 (s, 1H, OH) 8.89 (s, 1H, NH), 8.75 (d,  $J = 7.1$ , 1H, H-14), 8.02 (dd,  $J = 7.8, 1.7$  Hz, 1H), 7.82 (ddd,  $J = 8.7, 7.3, 1.6$  Hz, 1H), 7.51 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.47 (td,  $J = 7.6, 1.1$  Hz, 1H), 4.45 (d,  $J = 7.1$ , 1H, H-13), 4.31 (q, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.03 (q, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.18 (s, 1H), 1.29 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.18 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ).



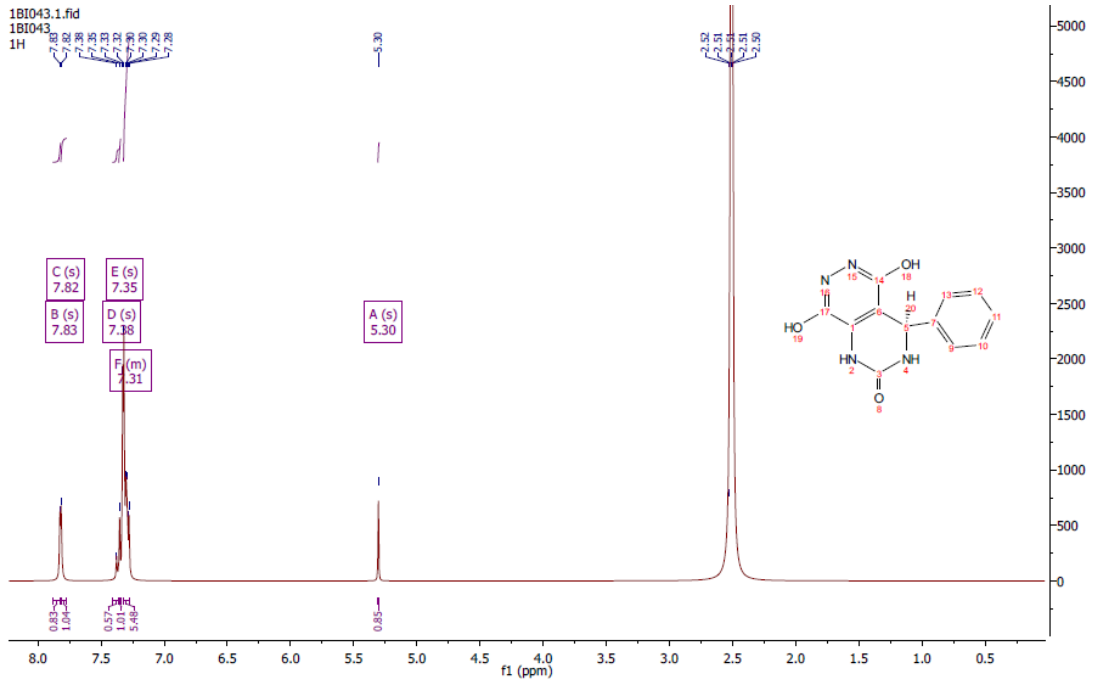
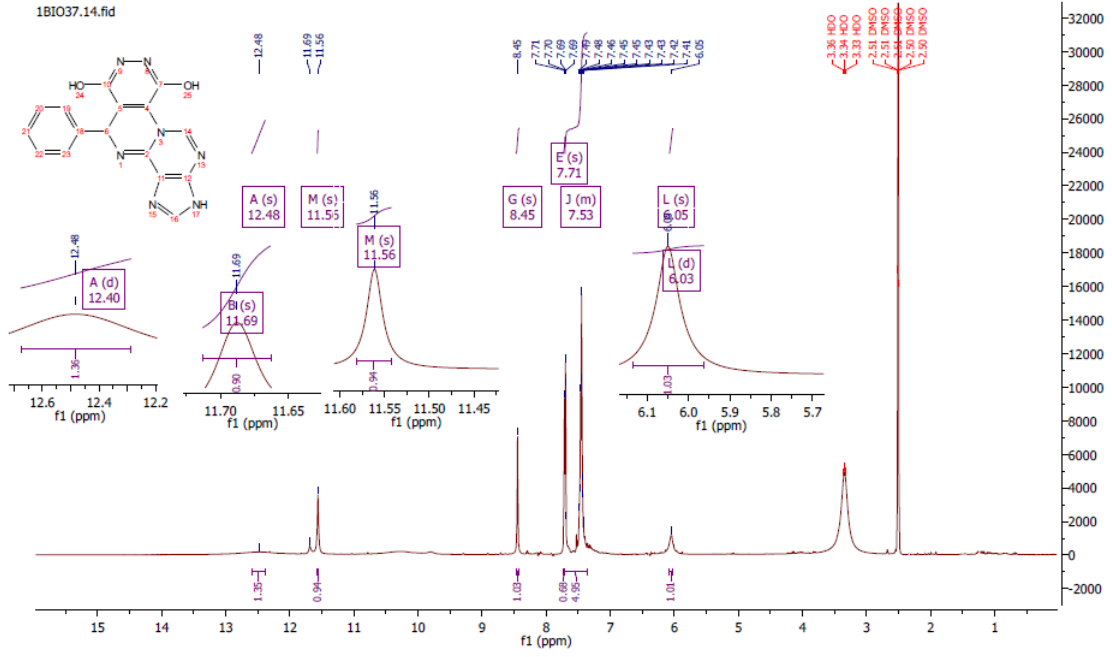
<sup>13</sup>C NMR (101 MHz DMSO-d<sub>6</sub>) δ 165.77, 158.67, 155.44, 150.11, 136.08, 131.85, 125.79, 120.95, 118.55, 117.01, 60.20, 14.55 .

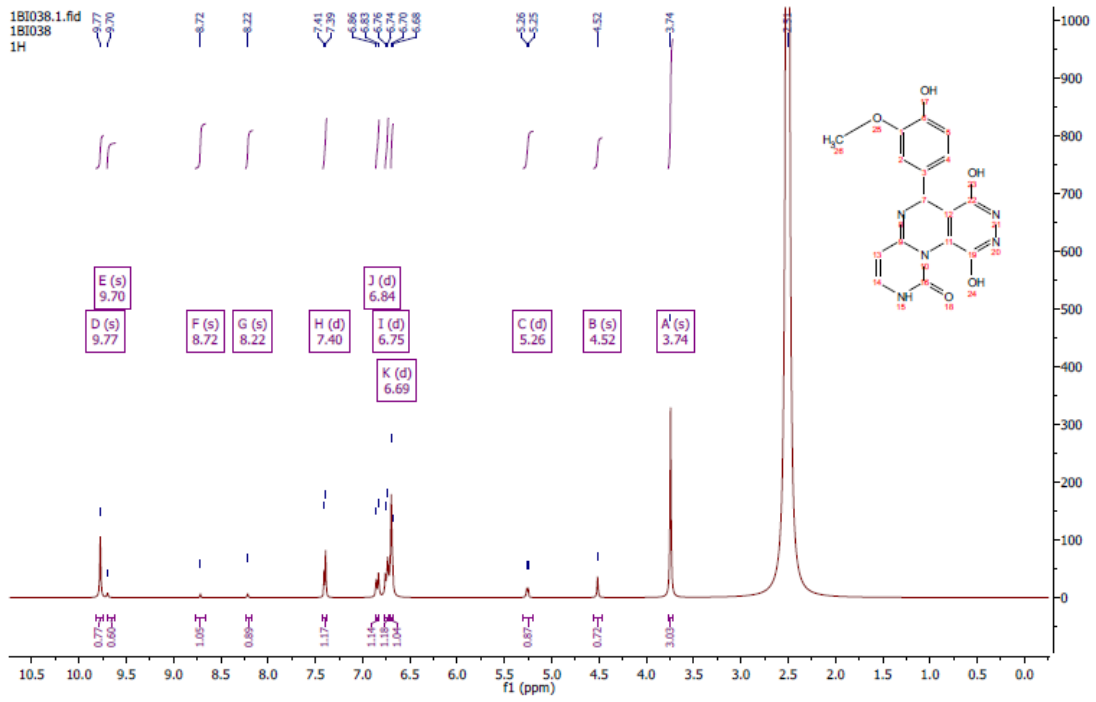
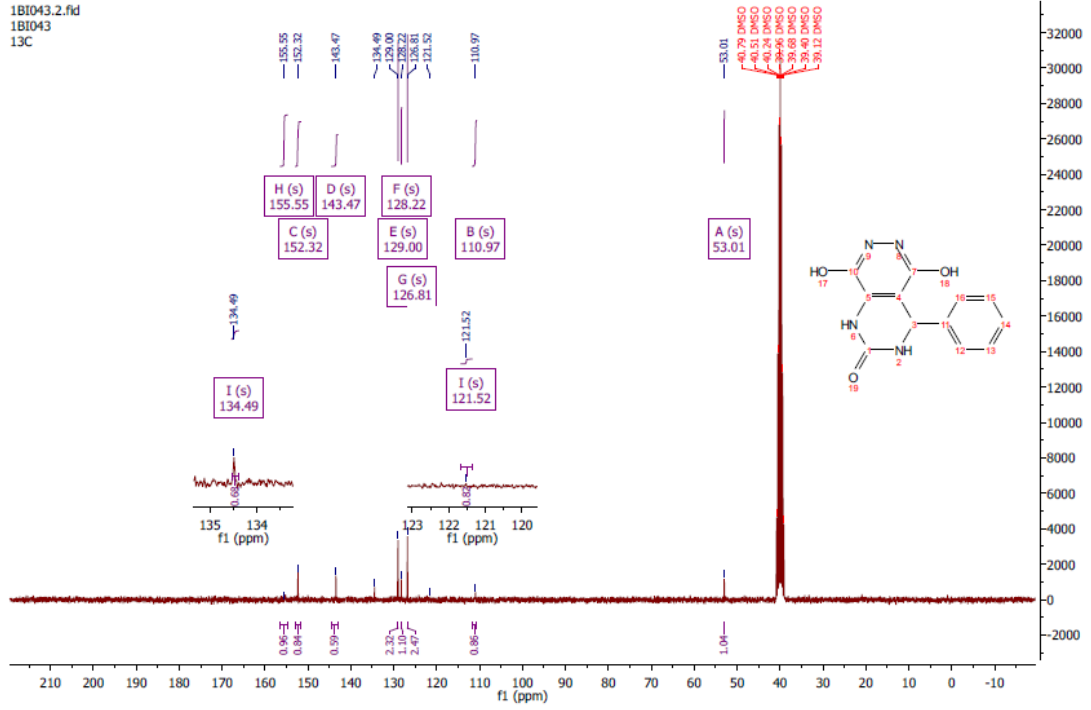


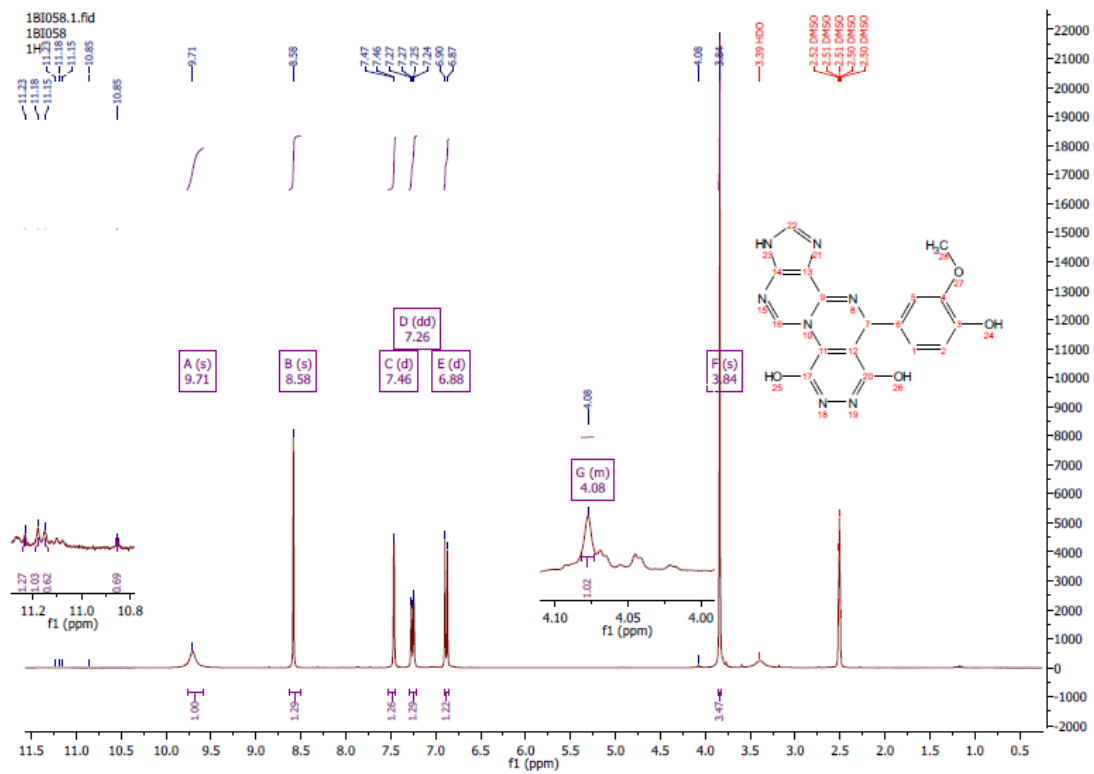
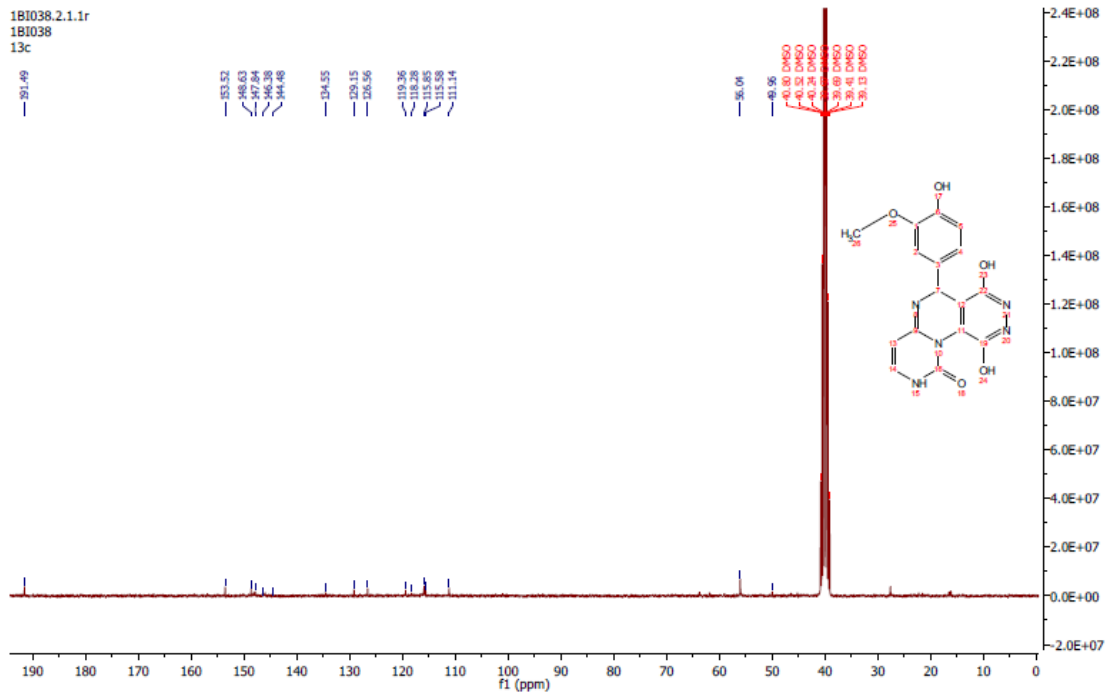
<sup>13</sup>C NMR (101 MHz DMSO-d<sub>6</sub>) δ 204.12, 164.68, 143.92, 129.04, 128.92, 128.67, 128.12, 127.63, 127.32, 126.96, 60.56, 60.31, 58.94, 14.45.

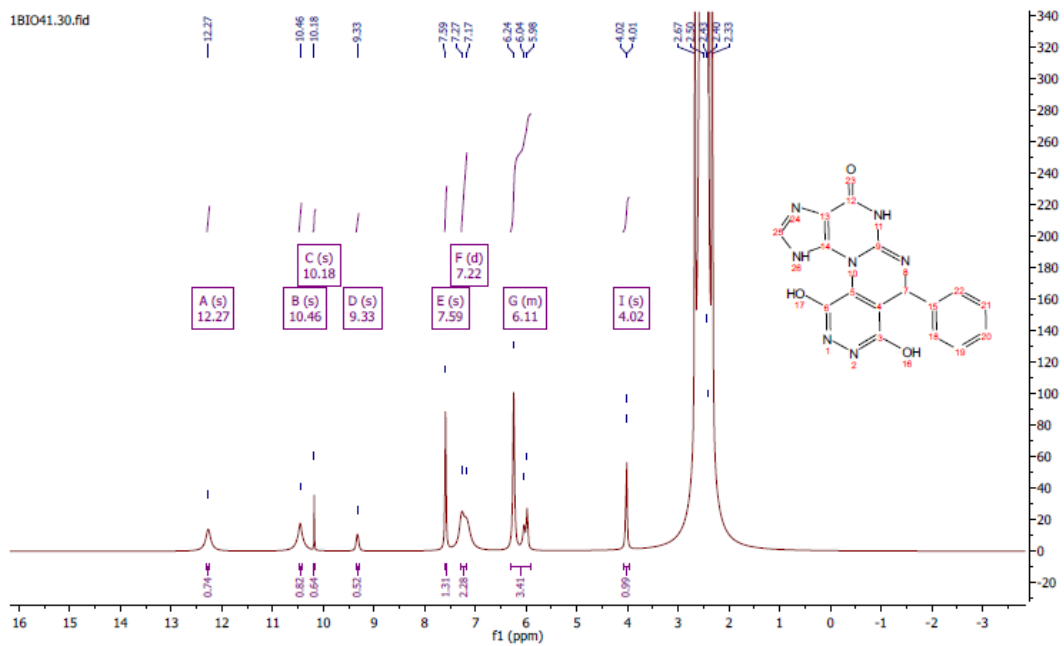
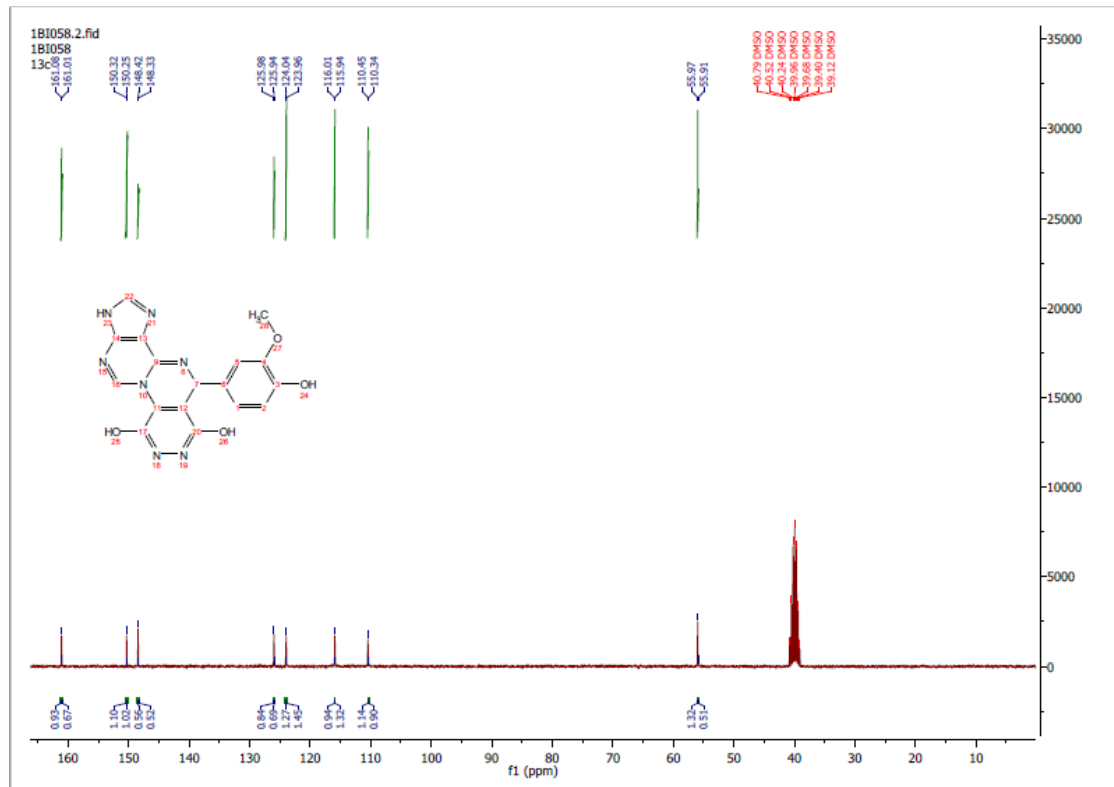




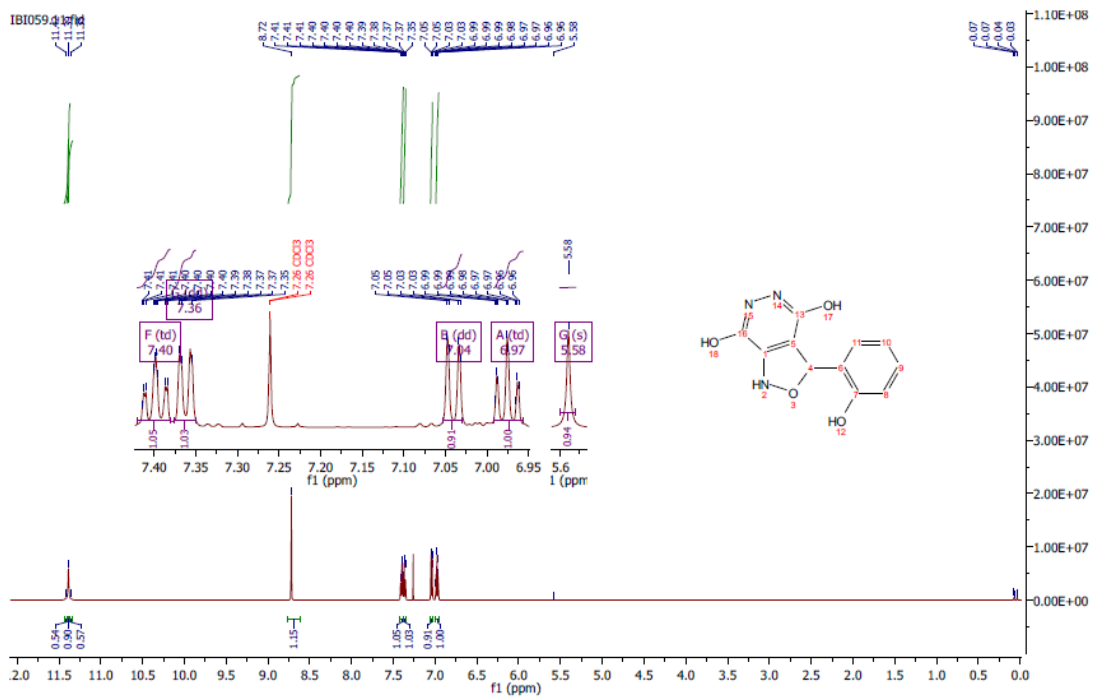
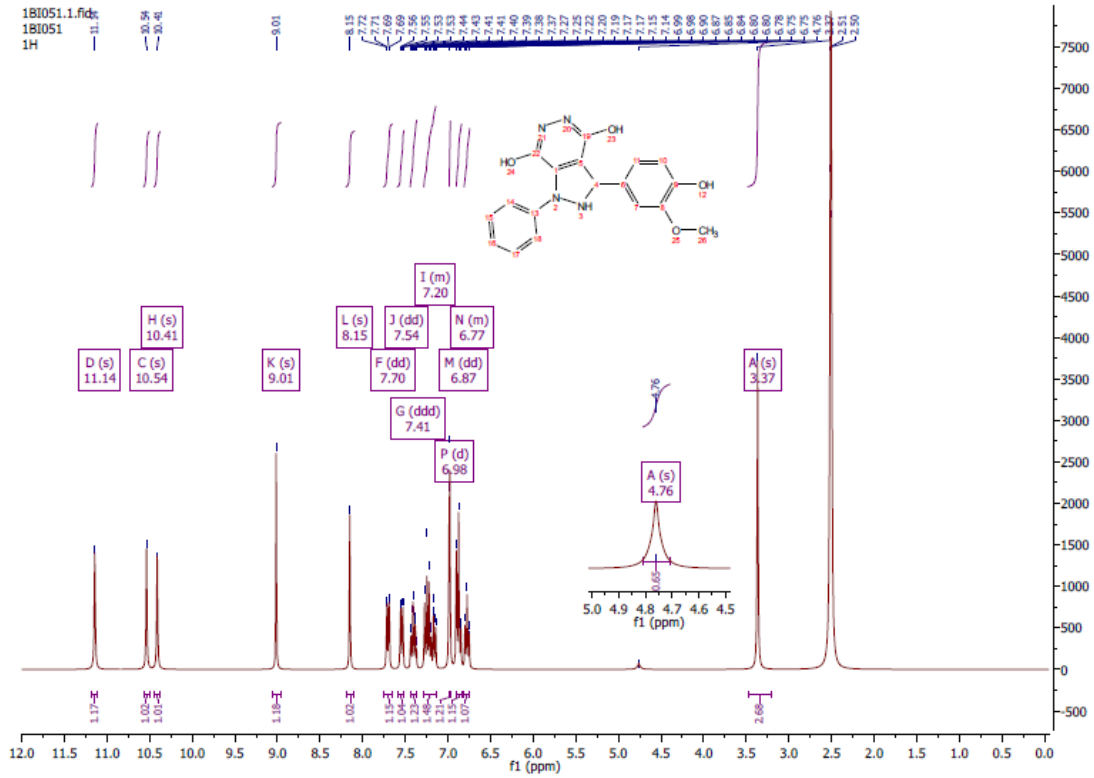


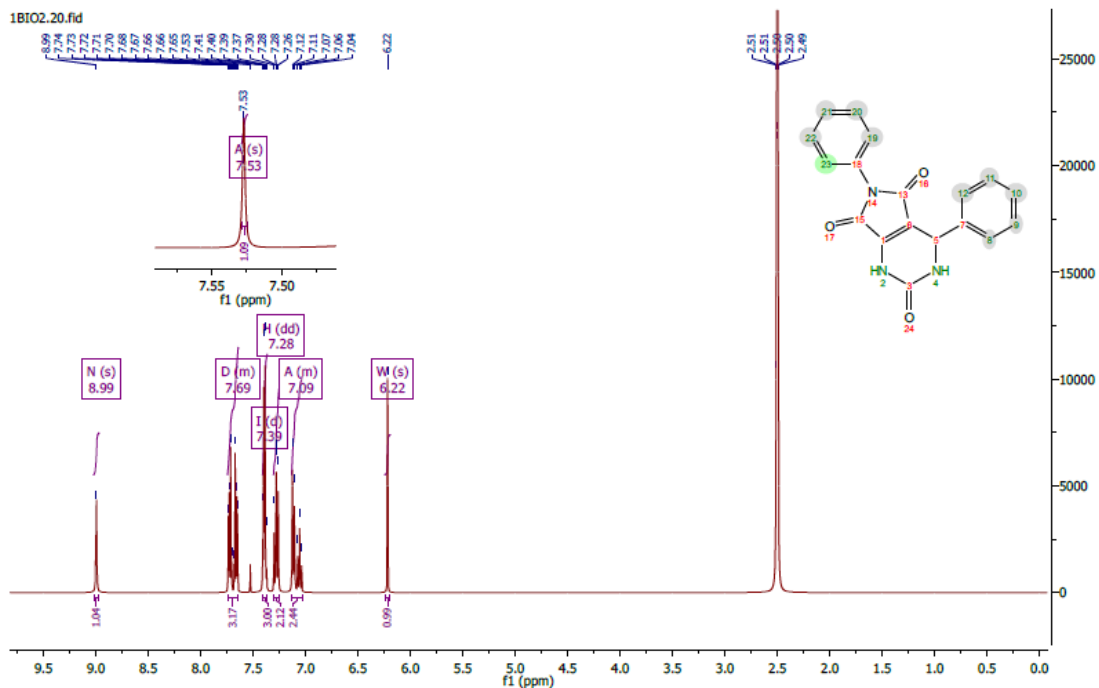




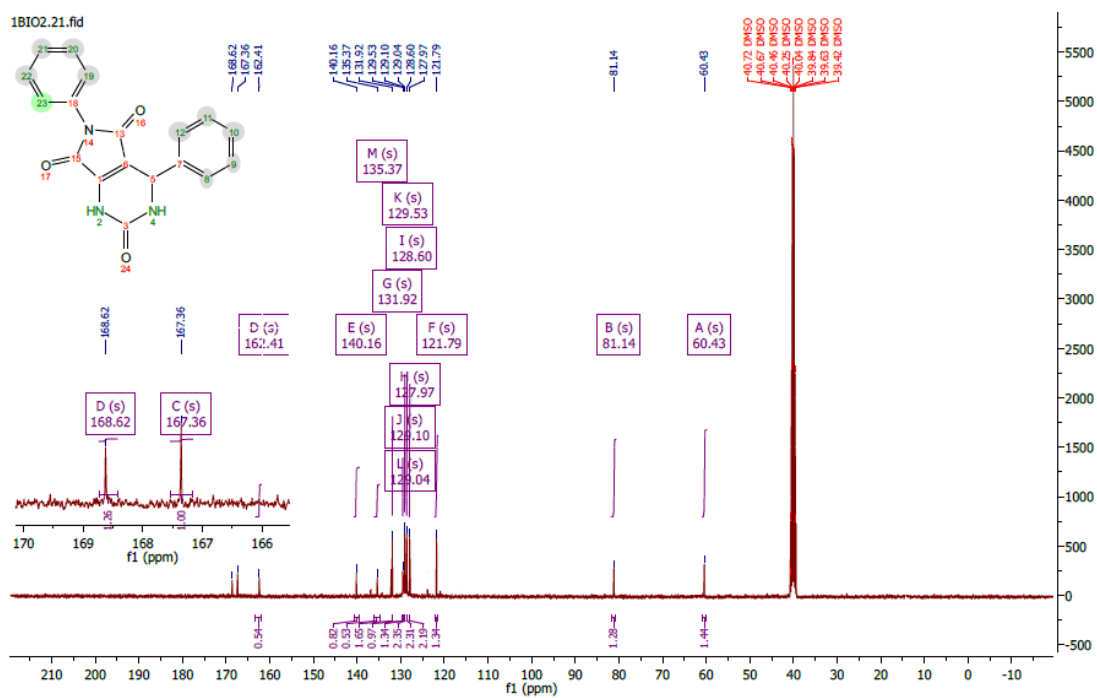


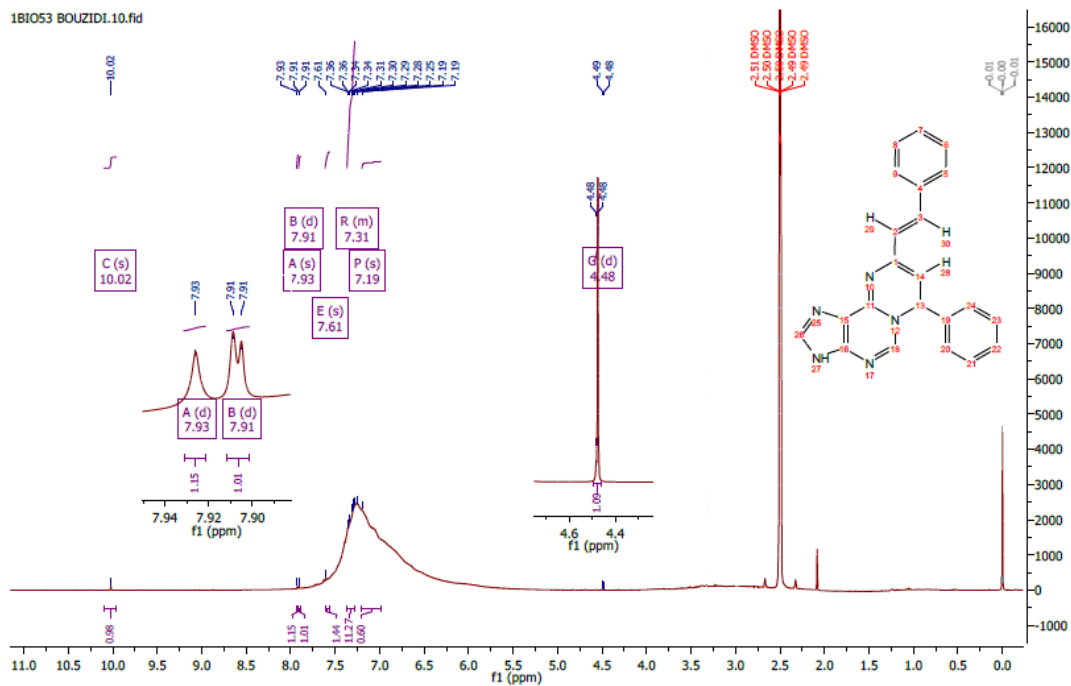
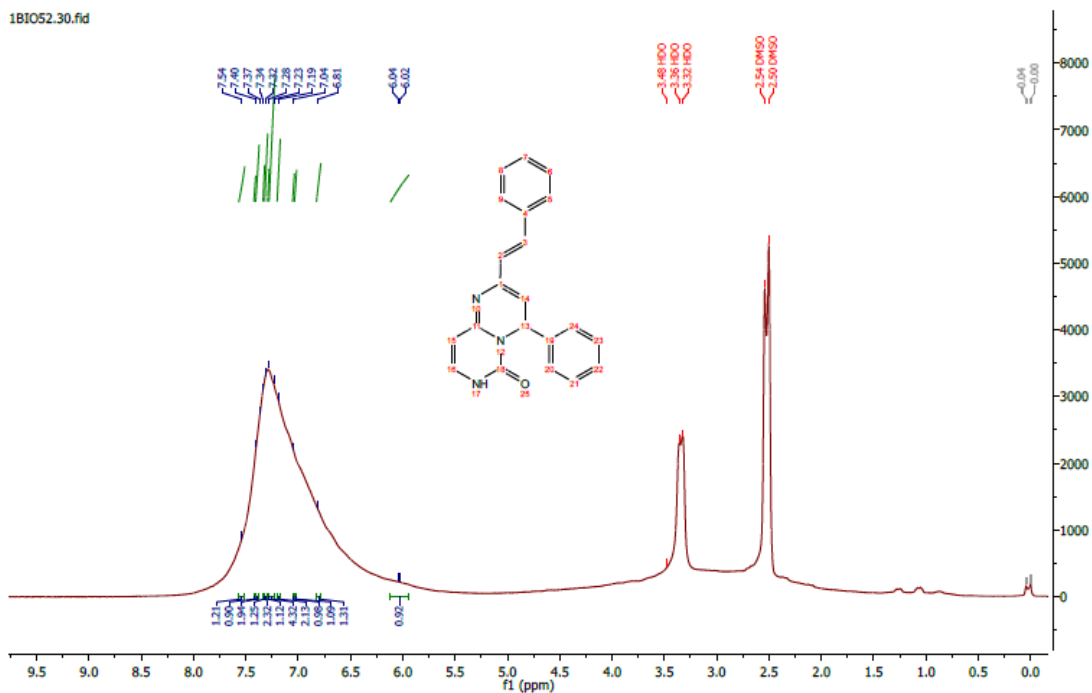
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  12.27 (s, 1H, NH-26), 10.46 (s, 1H, OH-17), 10.18 (s, 1H, OH-16), 9.33 (s, 1H, NH-11), 7.59 (s, 1H, H-25), 7.22 (d,  $J = 39.4$  Hz, 2H, H-Ar), 6.31 – 5.91 (m, 3H, H-Ar) 4.02 (s,  $J = 4.8$  Hz, 1H, H-7).





<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.99 (s, 1H, NH-2), 7.74 – 7.64 (m, 3H, H-Ar), 7.53 (s, 1H, NH-4), 7.39 (d, J = 4.5 Hz, 3H, H-Ar), 7.28 (dd, J = 8.4, 7.3 Hz, 2H, H-Ar), 7.13 – 7.03 (m, 2H, H-Ar), 6.22 (s, 1H, H-5).





<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.02 (s, 1H, NH), 7.93 (s, 1H, H-18), 7.91 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-29), 7.61 (s, 1H, H-26), 7.37 – 7.28 (m, 11H, H-Ar), 7.19 (d, 1H, H-28), 4.48 (d, 1H, H-13).



## ***ANNEXE II***

### ***Publication***

Ce travail a fait l'objet d'une publication internationale:

Bouguessa, I.; Dehamchia, M.; Bayou, S.; Gouasmia, A.; Régaïnia, Z. *Silica Sulfuric Acid Catalyzed Synthesis of Pyrimidines and New fused Pyrimido-purines via Biginelli Reaction. J. Chem. Tech*, **2021**, 29(4), 504-511. Link web: <https://doi.org/10.15421/jchemtech.v29i4.241661>



UDC 678.686

## SILICA SULFURIC ACID CATALYZED SYNTHESIS OF PYRIMIDINES AND NEW FUSED PYRIMIDO-PURINES *via* BIGINELLI REACTION

Ichrak Bouguessa<sup>1</sup>, Mohamed Dehamchia<sup>2\*</sup>, Samir Bayou<sup>1</sup>, Abdelkrim Gouasmia<sup>3</sup> and Zine Régainia<sup>4,5</sup>.<sup>1</sup> El Oued University, PO Box 789, 39000, Algeria.<sup>2</sup> El Oued University, PO Box 789, 39000, Algeria<sup>3</sup> Laarbi Tebessi University, Constantine Road, Tebessa, 12000, Algeria<sup>4</sup> Mohamed Cherif Messadia University, Souk Ahras 41000, Algeria<sup>5</sup> Badji Mokhtar University PO Box 12 Annaba-Algeria.

Received 5 October 2021; accepted 15 November 2021; available online 21 January 2022

### Abstract

Studies on strategies for the synthesis of pyrimidine derivatives have generated great interest in the chemistry of heterocyclic compounds due to the pharmacological properties of pyrimidines. The most common method for pyrimidine skeleton synthesis is the traditional synthetic approach using the multicomponent Biginelli reaction. A convenient and efficient one-pot three-component synthesis of a new class of pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylate, pyrimido[2,1-e]purine-8,9-dicarboxylate, and pyrimido[1,6-a]pyrimidine-3,4-dicarboxylate under Biginelli reaction conditions has been described. These compounds were prepared by condensation of sodium diethyl oxalacetate, substituted aromatic aldehyde, and nucleobase (adenine, guanine, or cytosine) using hydrochloric acid, mild heterogeneous solid silica sulfuric acid (SSA), or *p*-toluenesulfonic acid (TsOH) as a catalyst. The chemical structures of the synthesized compounds were confirmed using infrared spectroscopy (IR), proton (<sup>1</sup>H) nuclear magnetic resonance (NMR), and mass spectrometric analysis.

**Keywords:** Dihydropyrimidine-2-one; purines; multicomponent reaction; Biginelli reaction; silica sulfuric acid; nucleobases

## КАТАЛІТИЧНИЙ СИНТЕЗ ПІРИМІДИНІВ І НОВИХ СКЛАДНИХ ПІРИМІДО-ПУРИНІВ ШЛЯХОМ РЕАКЦІЇ БІГІНЕЛЛІ

Ірак Бугесса<sup>1</sup>, Мохамед Дехамчія<sup>2\*</sup>, Самір Байю<sup>1</sup>, Абделькрім Гуасмія,<sup>3</sup> Зіне Регайнія<sup>4,5</sup><sup>1</sup> Університет Ель-Уед, поштова скринька 789, 39000, Алжир.<sup>2</sup> Університет Ель-Уед, поштова скринька 789, 39000, Алжир.<sup>3</sup> Університет Лаарбі Тебессі, Костянтинівська дорога, Тебесса, 12000, Алжир<sup>4</sup> Університет Мохаммеда Шерифа Мессадія, Сук Ахрас 41000, Алжир<sup>5</sup> Університет Баджи Мохтар, поштова скринька 12 Аннаба-Алжир.

Стратегії синтезу піримідинових похідних викликають великий інтерес у дослідників в області хімії гетероциклічних сполук. Найбільш поширеним методом синтезу піримідинового скелета є традиційний підхід з використанням багатокомпонентної реакції Біджінееллі. У даній роботі описано зручний та ефективний одnoreакторний трикомпонентний синтез нового класу піримідо[1,2-g]пурин-7,8-дикарбоксилату, піримідо[2,1-e]пурин-8,9-дикарбоксилату та піримідо[1,6-a]піримідин-3,4-дикарбоксилату в умовах реакції Біджінееллі. Ці сполуки були отримані шляхом конденсації діетилноксалацетату натрію, заміщеного ароматичного альдегіду і азотистої основи (аденіну, гуаніну або цитозину) з використанням хлоридної кислоти, м'якого гетерогенного твердого кремнезему сірчаної кислоти (SSA) або *p*-толуолсульфонової кислоти (TsOH) в якості каталізатора. Хімічні структури синтезованих сполук були підтверджені за допомогою інфрачервоної спектроскопії (ІК), протонного (<sup>1</sup>H) ядерного магнітного резонансу (ЯМР) і мас-спектрометричного аналізу.

**Ключові слова:** Дигідропіримідин-2-он; пурини; багатокомпонентна реакція; реакція Біджінееллі; сірчаноокислий кремній; азотисті основи.

\*Corresponding author: e-mail: mohchar5@yahoo.fr

© 2021 Oles Honchar Dnipro National University;

doi: 10.15421/jchemtech.v29i4.241661

## КАТАЛИТИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ПИРИМИДИНОВ И НОВЫХ СЛОЖНЫХ ПИРИМИДО-ПУРИНОВ ПУТЕМ РЕАКЦИИ БИГИНЕЛЛИ

Ичрак Бугесса<sup>1</sup>, Мохамед Дехамчия<sup>2\*</sup>, Самир Байю<sup>1</sup>, Абделькрим Гуасмия<sup>3</sup> и Зине Регаиния<sup>4,5</sup>.

<sup>1</sup>Лаборатория VTRS, Химический факультет, Университет Эль-Уэд, почтовый ящик 789, 39000, Алжир.

<sup>2</sup>Лаборатория биоразнообразия и применения биотехнологий в сельскохозяйственной среде, Биологический факультет, Университет Эль-Уэд, почтовый ящик 789, 39000, Алжир.

<sup>3</sup>Лаборатория органических материалов и гетерохимии, Химический факультет, Университет Лаарби Тебесса, Константиновская дорога, Тебесса, 12000, Алжир

<sup>4</sup>Университет Мохамеда Шерифа Мессадия, Факультет наук и технологий Сук Ахрас 41000, Алжир

<sup>5</sup>Лаборатория прикладной органической химии (LCOA), группа гетероциклической химии, Факультет наук, кафедра химии, Университет Баджи Мохтар, почтовый ящик 12, Аннаба-Алжир.

### Аннотация

Стратегии синтеза пиримидиновых производных вызывают большой интерес у исследователей в области химии гетероциклических соединений. Наиболее распространенным методом синтеза пиримидинового скелета является традиционный подход с использованием многокомпонентной реакции Биджинелли. В данной работе описан удобный и эффективный однореакторный трехкомпонентный синтез нового класса пиримидо[1,2-g]пурин-7,8-дикарбоксилата, пиримидо[2,1-e]пурин-8,9-дикарбоксилата и пиримидо[1,6-a]пиримидин-3,4-дикарбоксилата в условиях реакции Бигинелли. Эти соединения были получены путем конденсации диэтилоксалацетата натрия, замещенного ароматического альдегида и азотистого основания (аденина, гуанина или цитозина) с использованием хлоридной кислоты, мягкого гетерогенного твердого кремнезема серной кислоты (SSA) или *p*-толуолсульфоновой кислоты (TsOH) в качестве катализатора. Химические структуры синтезированных соединений были подтверждены с помощью инфракрасной спектроскопии (ИК), протонного (<sup>1</sup>H) ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и масс-спектрометрического анализа.

Ключевые слова: Дигидропиримидин-2-он; пурины; многокомпонентная реакция; реакция Бигинелли; сернокислый кремний; азотистые основания.

### Introduction

The pyrimidine skeleton (1,3-diazine) exists in many natural products including DNA, RNA, thiamine (Vitamin B1), and alloxan [1-2] (Figure 1). It is also present in many useful synthetic therapeutic agents such as the human immunodeficiency virus (HIV) drug zidovudine (AZT) [3] and barbiturates [4] (Figure 1).

Moreover, pyrimidines contain heterocycles, and their fused analogues have been reported to possess a wide variety of biological activities [5] that include anticancer [6], antifungal [7-8], antileishmanial [9], antimicrobial [10-11], anticonvulsant [12], antiviral [13], antioxidant [14], anti-inflammatory [15], and antidiabetic activities [16].

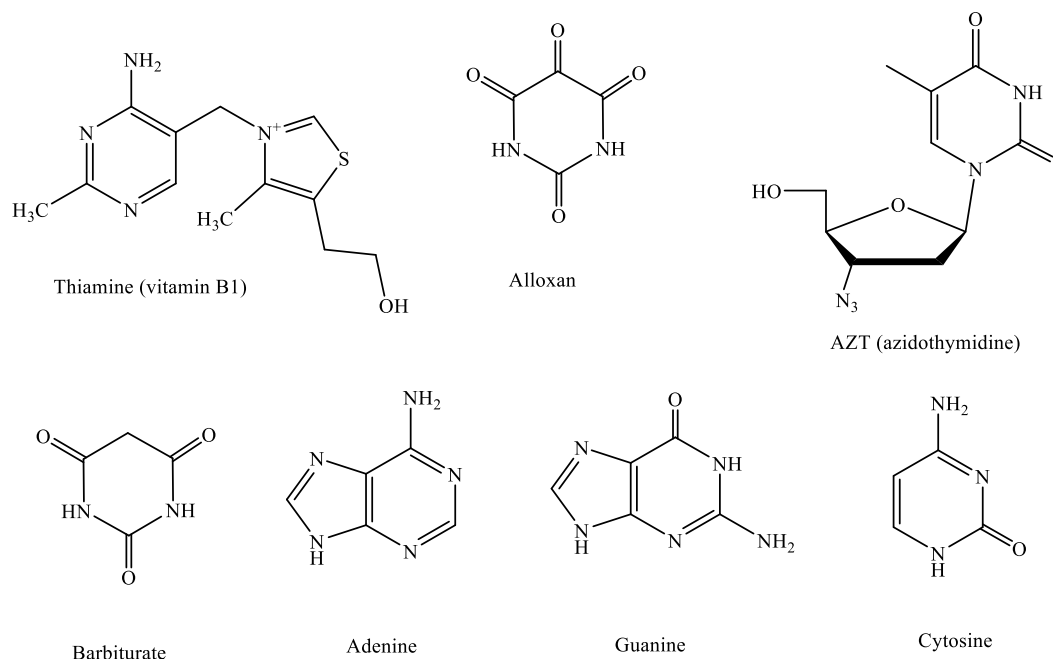


Fig. 1. General structures of natural and synthetic pyrimidines derivatives.

Therefore, studies on strategies for the synthesis of pyrimidine derivatives have received great interest in heterocyclic chemistry. In this case, several traditional and non-conventional

strategies have been developed for the synthesis of dihydropyrimidin-2-ones derivatives [17-24]. The most common method for the synthesis of pyrimidine skeleton is the typical, traditional and

useful synthetic approach via the Biginelli multicomponent reaction [25]. This reaction provides a ready access to a broad range of pyrimidinones derivatives with various biological activities [6–16].

Within the last two decades, the Biginelli pyrimidines synthesis has attracted considerable attention, and many developments and modifications have been reported. In this regard, various homogeneous and heterogeneous catalysts have been utilized, including  $\text{H}_2\text{SO}_4$  based on silica gel or alumina [26], silica sulfuric acid (SSA) [27], polymer Zeolite (TS-1) [28], and HZSM-5 [29].

To continue our interest in the synthesis of biologically fused heterocyclic compounds [30–31], we report herein an efficient one-pot multicomponent reaction for the synthesis of novel fused pyrimido-purines by cyclocondensation of nucleobases (adenine, guanine, and cytosine) (Fig. 1), diethyl oxalacetate, and substituted aromatic aldehydes in the presence of silica sulfuric acid (SSA) as a heterogeneous acidic catalyst under Biginelli reaction conditions [32–34].

## Experimental

### Instrumental techniques

$^1\text{H}$  NMR spectra were recorded on a Bruker Avance 400 spectrometer at ambient temperature. The chemical shifts ( $\delta$ ) are reported in ppm and were measured in dimethylsulfoxide ( $\text{DMSO}-d_6$ ) relative to tetramethylsilane (TMS,  $\delta = 0.0$  ppm), which was used as the internal standard.  $^{13}\text{C}$  NMR spectra were recorded on a Bruker Avance 400 spectrometer (101 MHz) with complete proton decoupling. Infrared spectra were recorded on an Agilent Cary 630 FTIR spectrometer. ESI-MS spectra were obtained on Mariner (ESI TOF) and API 365 (ESI 3Q) mass spectrometers using methanol as a spray solvent. Analytical thin-layer chromatography (TLC) was performed using Silica Gel 60Å F254 precoated plates. Melting points (Mp) were determined using a Reichert Thermovar or an Electrothermal 9200 apparatus and were not corrected. All solvents and reagents were commercially available and were used without further purification.

### Chemical synthesis. Synthesis of silica sulfuric acid

The silica sulfuric acid was prepared in accordance with a reported procedure [35–37]. Briefly, 60.0 g of silica gel were charged into a 500 mL suction flask that was equipped with a constant pressure dropping funnel containing

chlorosulfonic acid (23.3 g, 0.2 mol) and a gas inlet tube for conducting HCl gas over an adsorbing solution (*i.e.*  $\text{H}_2\text{O}$ ). The chlorosulfonic acid was slowly added for 30 min at room temperature. After the addition was complete, the reaction was allowed to proceed for 30 min. SSA was obtained as a white solid.

*General procedure for the synthesis of pyrimidine-4,5-dicarboxylates derivatives 1a-c using SSA as a catalyst.* A mixture of equimolar amounts of sodium diethyl oxalacetate, 1,3-diamines (urea, sulfamide or thiourea), aromatic aldehyde, and 10 mol % of SSA in ethanol was stirred and heated at  $90^\circ\text{C}$  for 3 h. After the reaction was completed (followed by TLC), the mixture was cooled to room temperature with ice water. The precipitate was filtered off, washed with two portions of water and several times with hexane and petroleum ether to remove traces of aldehyde. The SSA catalyst was separated from the product after dilution of the reaction mixture with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Recrystallization from ethanol/water (50:50) at a low temperature or chromatography on silica gel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , MeOH 95:5) provided the pure expected product in 54%–58% yields.

*Diethyl 6-phenyl-2-oxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-4,5-dicarboxylate (1a)* [32]. This compound was obtained as a pale-yellow solid in 55% yield. Mp  $172\text{--}174^\circ\text{C}$  (reported  $173\text{--}175^\circ\text{C}$ , ref [21]). IR (KBr,  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ ): 1660 (C=C), 1714 (C=O), 1747 (C=O), 2985 (CH), 3263 (NH).  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ , ppm): 1.05 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 1.25 (t,  $J = 7.0$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ); 3.97 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 4.20 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 5.15 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H, 6-CH); 7.23–7.42 (m, 5H, Harm); 7.91 (d(*br*),  $J = 3.01$  Hz, 1H, NH); 9.89 (s (*br*), 1H, NH). HRMS ESI<sup>+</sup> ( $m/z$ ): 319.1281 ( $\text{MH}^+$   $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_5$  requires 319.1293), 341 [ $\text{MNa}^+$ ].

*Diethyl 6-(4-bromophenyl)-2-oxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-4,5-dicarboxylate (1b)* [32]. This compound was obtained as colorless oil in 58% yield. IR (KBr,  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ ): 1658 (C=C), 1699 (C=O), 1745 (C=O), 2926 (CH), 3245 (NH).  $^1\text{H}$ NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ , ppm): 1.06 (t,  $J = 7.0$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ); 1.25 (t,  $J = 7.0$ , 3H,  $\text{CH}_3$ ); 3.97 (q,  $J = 7.0$ , 2H,  $\text{CH}_2$ ); 4.20 (q,  $J = 7.0$ , 2H,  $\text{CH}_2$ ); 5.14 (d,  $J = 3.0$ , 1H, CH); 7.19 (d,  $J = 8.4$ , 2H, H Ar); 7.57 (d,  $J = 8.4$ , 2H, H arom); 7.93 (s(*br*), 1H, NH); 9.94 (s(*br*), 1H, NH). HRMS-ESI<sup>+</sup> ( $m/z$ ): 397.0383 ( $\text{MH}^+$   $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{BrN}_2\text{O}_5$  requires 397.0399), 420 (55%,  $\text{MNa}^+$ ).

*Diethyl 3-phenyl-1,1-dioxo-2,3,6-trihydro-1,2,6-thiadiazine-4,5-dicarboxylate (1c)*. This compound was obtained as colorless oil in yield=48% using conc. HCl and 54% using SSA. IR (KBr,

$\nu$  cm<sup>-1</sup>): 1165 (SO<sub>2</sub>), 1312 (SO<sub>2</sub>), 1585 (C-N), 1695 (C=O), 1721 (C=O), 3063 (NH). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, ppm): 1.17 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.09 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.26 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.89 (s, 1H, CH-Ph), 7.22– 8.11 (m, 5H, *Harom*), 10.03 (s, 1H, NH), 12.85 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 167.7, 167.6, 133.2, 133.1, 131.2, 129.9, 129.7, 129.6, 128.9, 128.9, 61.7, 61.7, 40.1, 14.3; HRMS-ESI<sup>+</sup> (*m/z*): 356.0951 (MH<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S requires: 355.0963), 378 [MNa]<sup>+</sup>.

*General procedure for the synthesis of fused pyrimidines derivatives (2a-b), (3a-b) and (4a-b) using conc. HCl as a catalyst.* A mixture of sodium diethyl oxalacetate (one equivalent), nucleobase (adenine, guanine or cytosine) (one equivalent), aromatic aldehyde (one equivalent), and 10 mol % of a catalyst (TsOH) or 2 drops of *conc.* HCl in ethanol was stirred at reflux for 3 hours. After the reaction was completed (as indicated by TLC), the mixture was poured into cool water and acidified using H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> or H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. The precipitate was filtered, washed with water, and several times with hexane or petroleum ether. The separated solid was recrystallized in ethanol/water (50:50) at a low temperature or using flash chromatography on silica gel (eluent: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, MeOH 95:5) to supply the pure fused pyrimidines in 33% -59% yields.

*General procedure for the synthesis of fused pyrimidines derivatives (2a-b), (3a-b) and (4a-b) using SSA as catalyst.* A mixture of equimolar amounts of sodium diethyl oxalacetate, nucleobase (adenine, guanine, or cytosine), aromatic aldehyde, and 10 mol % of SSA in ethanol was stirred and heated at 90°C for 5 h. After the reaction was complete (followed by TLC), the mixture was cooled to room temperature using ice water. The solid that was obtained was filtered and washed with two portions of water and several times with hexane and petroleum ether to remove traces of aldehyde. The SSA catalyst was separated from the product after dilution of the reaction mixture with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Recrystallization from ethanol/water (50:50) at a low temperature or chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, MeOH 95:5) provided the pure expected substance in yields ranging from 41%–62%.

*Diethyl 2-phenyl- 6-oxo-6,7-di(H)pyrimido[1,6-a]pyrimidine-3,4-dicarboxylate (2a).* This compound was prepared according to the general procedure using sodium diethyl oxalacetate (1.05g, 5 mmol), cytosine (0.56g, 5 mmol) and benzaldehyde (0.53g, 5 mmol). Compound (2a) was obtained as a white solid in yield= 48% using

*conc. HCl and 53% using SSA; Mp 135–137°C.* IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>): 1742 (C=O), 1710 (C=O), 1671 (C=N), 3253 (NH); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 1.02 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.06 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.03 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.08 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.14 (s, 1H, CH-Ph), 7.31-7.41 (m, 7H, H-Ar), 12.2 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 14.3, 60.6, 79.7, 117.6, 127.9, 129.0, 129.6, 129.6, 136.2, 148.3, 161.6, 168.5. HRMS-ESI<sup>+</sup> (*m/z*): 370.1397 (MH<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> requires: 370.1403), 392 [MNa]<sup>+</sup>.

*Diethyl 2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)- 6-oxo-6,7-di(H)pyrimido[1,6-a]pyrimidine-3,4-dicarboxylate (2b).* This compound was prepared according to the general procedure using sodium diethyl oxalacetate (1.05g, 5 mmol), cytosine (0.56g, 5 mmol) and vanillin (0.76g, 5 mmol). Compound (2b) was obtained as a white solid in yield= 48% using *conc.* HCl and 52% using SSA. Mp 160 °C. IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>): 1660 (C=O), 1740 (C=O), 3163 (NH), 3023 (CH *arom*), 1583 (Arom). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 1.10 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.15 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.73 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.03 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.05 (q, *J* = 3.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.87 (s, 1H, CH), 6.59 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, CH *ethyl*), 6.63 (s, 1H, CH), 6.92 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, CH *ethyl*), 7.20 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, *Harom*), 7.81 (s, 1H, H *arom*), 8.92 (s, 1H, NH), 11.48 (s, 1H, OH). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 166.4, 162.3, 160.2, 155.7, 153.5, 148.6, 147.60, 147.2, 146.5, 128.1, 119.8, 115.5, 113.7, 95.4, 60.3, 59.1, 56.0, 14.4. HRMS-ESI<sup>+</sup> (*m/z*): 416.1458 (MH<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> requires: 416.1458), 438 [MNa]<sup>+</sup>.

*Diethyl 9-phenyl-3,9-di(H)pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylate (3a).* This compound was prepared according to the general procedure, using sodium diethyl oxalacetate (1.05g, 5 mmol), adenine (0.675g, 5 mmol) and benzaldehyde (0.53g, 5 mmol). Compound (3a) was obtained as a white solid in yield = 51% using *conc.* HCl and 54% using SSA; R<sub>f</sub> = 0.30 [SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (9:1)]; Mp 105–107°C. IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>): 1742 (C=O), 1710 (C=O), 1668 (C=N), 3208 (NH). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 1.16 (t, *J* = 7.1, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.24 (t, *J* = 7.1, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.08 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.16 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.14 (s, 1H, CH-Ph), 7.30-7.44 (m, 5H, *Harom*), 7.65 (s, 1H, CH), 8.12 (s, 1H, CH), 12.19 (s, 1H, NH). HRMS-ESI<sup>+</sup> (*m/z*): 394.1503 (MH<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> requires: 394.1515), 416 [MNa]<sup>+</sup>.

*Diethyl 9-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,9-di(H)pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylate (3b).* This compound was prepared according to the general procedure, using sodium diethyl

oxalacetate (1.05g, 5 mmol), adenine (0.675g, 5 mmol) and vanilin (0.76g, 5 mmol). Compound (**3b**) was obtained as a white solid in yield = 43% using conc. HCl and 57% using SSA. Mp 78–80°C. IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>): 1704 (C=O), 1691(C=O), 1664 (C=N), 1589 (Arom), 3070 (CH arom), 3163 (NH), 3471 (OH). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 1.22 (t, *J*= 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.23 (t, *J*= 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.86 (s, 1H, CH-Ph), 4.08 (q, *J*=7.1 Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 4.20 (q, *J*=7.1 Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 6.81 (s, 1H, CH-Ph), 6.98-7.44 (m, 5H, Ar), 7.63 (s, 1H, CH), 8.12 (s, 1H, CH), 9.78 (s, 1H, OH), 10.23 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 14.3, 60.6, 79.8, 117.6, (127, 128, 129), 136.2, 148.3, 161.6, 168.5. HRMS-ESI<sup>+</sup> (*m/z*): 440.1566 (MH<sup>+</sup>, C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> requires: 440.1570), 462 [MNa]<sup>+</sup>

*Diethyl 6-phenyl-10-oxo-3,5,6,10-tetrahydro-pyrimido[1,2-f]purine-7,8-dicarboxylate (4a)*. This compound was prepared according to the general procedure using sodium diethyl oxalacetate (1.05g, 5 mmol), guanine (0.75g, 5 mmol) and benzaldehyde (0.53g, 5 mmol). Compound (**4a**) was obtained as a white solid in yield= 33% using conc. HCl and 41% using SSA; Mp 384°C. IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>): 1693 (C=O), 1660 (C=N), 1575 (Ar), 3093 (NH), <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 0.22 – 0.57 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.73 (dd, *J*= 4.9, 2.1 Hz, 1H, CH), 3.31 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.48 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.47 – 6.32 (m, 2H, Harom), 6.52 – 6.49 (m, 1H, H-Ar), 6.60 – 6.54 (m, 2H, Harom), 6.62 (s, 1H, CH), 10.10 (s, 1H, NH), 11.58 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 164.6, 143.9, 129.0, 128.9, 128.6, 128.1, 127.6, 127.3, 126.9, 60.5, 60.3, 58.9, 14.4. HRMS-ESI<sup>+</sup> (*m/z*): 410.1452 (MH<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> requires: 410, 1464), 432 [MNa]<sup>+</sup>.

*Diethyl 6-(2-hydroxyphenyl)-10-oxo-3,5,6,10-tetra(H)pyrimido[1,2-f]purine-7,8-dicarboxylate (4b)*. This compound was prepared according to the general procedure using sodium diethyl oxalacetate (1.05g, 5 mmol), guanine (0.75g, 5 mmol) and salicylaldehyde (0.76g, 5 mmol). Compound (**4b**) was obtained as a white solid in yield= 39% using conc. HCl and 45% using SSA; Mp 346°C. IR (KBr,  $\bar{\nu}$  cm<sup>-1</sup>): 1692 (C=O), 1663 (C=N), 2900 (NH), 3314 (OH). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 0.99-1.39 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 4.02 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.20 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.39 (m, 1H, CH),

7.09–7.76 (m, 4H, Harom), 8.76 (s, 1H, CH), 9.60 (s, 1H, OH), 10.53 (s, 1H, NH), 11.38 (s, 1H, NH); HRMS-ESI<sup>+</sup> (*m/z*): 426.1402 (MH<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> requires: 426,1413).

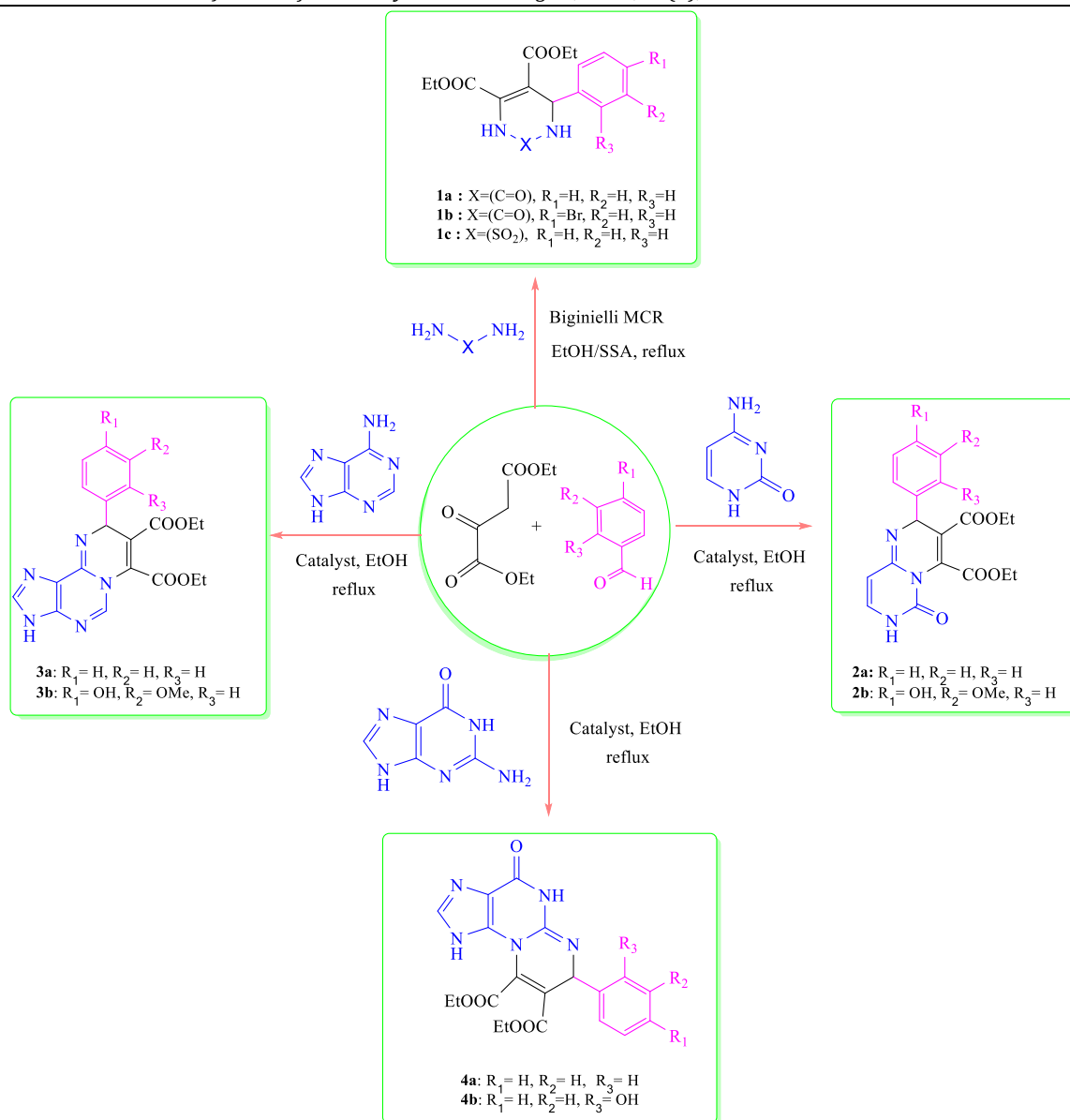
## Results and Discussions

According to the literature [25], diethyl 2-oxo-pyrimidine-4,5-dicarboxylate derivatives **1a-c** (Scheme 1) were prepared with a one-pot three-component cyclo-condensation of aromatic aldehydes, diethyl oxalacetic ester and urea using hydrochloric acid (HCl) as a catalyst in ethanol (EtOH).

To explore the effect of different catalysts, these reactions were performed using silica sulfuric acid (SSA) as a reusable solid acid catalyst under the same conditions (EtOH/reflux). Products **1a-c** were also obtained in moderate yields and the results are summarized in Table 1. Compared with other reported catalysts (*e.g.*, conc. HCl) [25], SSA is beneficial to reaction yields under the same conditions.

To develop and study the Biginelli reaction [18], the substitution of urea by nucleobases, characterized by a single amino group (NH<sub>2</sub>) as nitrogen donors (1,3-diamines), was investigated (Figure 1), in this case and three types of acid catalysts (conc. HCl, SSA, and *p*-toluenesulfonic acid [TsOH]) under the same conditions (EtOH/reflux) [28-30]. A new series of fused pyrimido[1,6-*a*]pyrimidine-3,4-dicarboxylate **2a-b**, pyrimido[1,2-*g*]purine-7,8-dicarboxylate **3a-b**, and pyrimido[2,1-*e*]purine-8,9-dicarboxylate **4a-b** were synthesized using one-pot three-component cyclo-condensation of sodium diethyl oxalacete, aromatic aldehydes, and nucleobase (adenine, guanine, or cytosine) (Scheme 1).

The mixture was stirred at 90 °C for an appropriate time until the condensation was complete (Table 1). The progress of the reaction was monitored using thin-layer chromatography (TLC). In this method, we used a catalytic amount (10 mol %) of catalyst (SSA or TsOH) or two drops of conc. HCl. The results in Table 1 show that all fused pyrimido-purines derivatives **2a-b**, **3a-b**, and **4a-b** were obtained in moderate yields within 3-5 hours.



**Scheme 1. Multicomponent synthesis of fused pyrimido-purines derivatives using nucleobases.**

The reaction yield with adenine derivatives (pyrimido[1,2-g]purine-7,8-dicarboxylates) was higher than that with cytosine and guanine derivatives. This may be due to the absence of the

carbonyl group in the adenine structure. The results of the condensation reaction under various conditions are presented in Table.

Table

Catalyst, time and isolated yields of pyrimidines and fused pyrimidines derivatives in EtOH as solvent.					
Comp	1,3-diamine	Aldehyde	Catalyst	Time (h)	Yield (%)
1a [21]	Urea	<i>Benzaldehyde</i>	<i>conc.</i> HCl	3	27 ref. [25]
			SSA	3	55
1b [21]	Urea	<i>4-bromobenzaldehyde</i>	<i>conc.</i> HCl	8	56 ref. [25]
			SSA	3	58
1c	Sulfamide	<i>Benzaldehyde</i>	<i>conc.</i> HCl	3.5	48
			SSA	3.5	54
2a	Cytosine	<i>Benzaldehyde</i>	<i>conc.</i> HCl	3	48
			SSA	3	53
2b		<i>Vanilin</i>	TsOH	3	48
			SSA	3	52
3a	Adenine	<i>Benzaldehyde</i>	<i>conc.</i> HCl	3	51

		SSA	3	54
3b	Vanilin	conc. HCl	3	43
		SSA	3	57
		TsOH	5	33
4a	Benzaldehyde	SSA	5	41
		conc. HCl	5	39
4b	Salicylaldehyde	SSA	5	45

All the synthesized compounds were characterized using proton ( $^1\text{H}$ ) nuclear magnetic resonance (NMR), carbon-13 ( $^{13}\text{C}$ ) NMR, infrared (IR) spectroscopy, and mass spectrometric analysis (MS). The Fourier transform (FT)-IR spectra confirmed that the desired Biginelli products were obtained by the appearance of a strong absorption bands at  $\bar{\nu} = 1700\text{ cm}^{-1}$ , which corresponds to C=O groups. In addition, all IR spectra showed a characteristic band over  $1600\text{ cm}^{-1}$ , which corresponds to aromatic ring stretch for all pyrimidines derivatives. The  $^1\text{H}$  NMR spectra of synthesized compounds revealed signals at 7.00 parts per million (ppm) that were assigned to aromatic ring protons. In addition, the  $^1\text{H}$  NMR spectra of fused products revealed the presence of amine protons (NH). Furthermore, the electrospray ionization (ESI) mass spectra of all products showed peaks at  $m/z=[M+1]$  and  $m/z=[M+23]$ , which correspond to the molecular mass of ions  $[M+H]^+$  and  $[M+Na]^+$ , respectively.

### Conclusion

In summary, we demonstrated the synthesis of dihydropyrimidin-2(*H*)-one-4,5-dicarboxylate derivatives using SSA as mild heterogeneous solid acid catalyst *via* one-pot three-component condensation under Biginelli reaction conditions. We demonstrated the extension of this procedure in the synthesis of three series of fused pyrimidines (pyrimido[1,2-*g*]purine-7,8-dicarboxylate, pyrimido[1,2-*f*]purine-7,8-dicarboxylate, and pyrimido[1,6-*a*]pyrimidine-3,4-dicarboxylate) using nucleobases as 1,3-diamine reagents under the same conditions. These novel fused pyrimidines are currently undergoing biological studies.

### Consent for publication

Not applicable

### Availability of data and materials

Not applicable

### Funding

This research received no external funding

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise.

### Acknowledgements

The authors are thankful to Technical Center on Physico-Chemical Analysis (CRAPC) for providing all the necessary of spectral analysis.

### References

- [1] Holmgrenm, A. V.; Wennermm, W. (1963). *Coll.V.*, 4, 23.
- [2] Webb, M.E.; Marquet, A.; Mendel, R.R.; Rébeillé, F.; Smith, A.G. (2007). Elucidating biosynthetic pathways for vitamins and cofactors. *Nat. Prod. Rep.*, 24(5), 988–1008. doi: 10.1039/b703105j
- [3] Horwitz, J. P.; Chua, J.; Noel, M. (1964). The Monomesylates of 1-(2'-Deoxy- $\beta$ -D-lyxofuranosyl)thymine. *J. Org. Chem.*, 29(7): 2076–2078. doi: 10.1021/jo01030a546
- [4] Chang, S.K.; Hamilton, A.D. (1988). Molecular recognition of biologically interesting substrates: synthesis of an artificial receptor for barbiturates employing six hydrogen bonds. *J. Am. Chem. Soc.*, 110 (4): 1318–1319. doi: 10.1021/ja00212a065
- [5] Kumar, S.; Narasimhan, B. (2018). Therapeutic potential of heterocyclic pyrimidine scaffolds. *Chem. Cent. J.*, 12 (1), 38–68. doi: 10.1186/s13065-018-0406-5
- [6] Abbas, N.; Matada, G.S.P.; Dhiwar, P.S.; Patel, S.; Devasahayam, G. (2021). Fused and Substituted Pyrimidine Derivatives as Profound Anti-Cancer Agents. *Anticancer. Agents Med. Chem.*, 21(7), 861–893. doi: 10.2174/1871520620666200721104431
- [7] Jain, K.S.; Chitre, T.S.; Miniyar, P.B.; Kathiravan, M.K.; Bendre, V.S.; Veer, V.S.; Shahane, S.R.; Shishoo, C.J. (2006). Biological and medicinal significance of pyrimidines. *Curr. Science. India*, 90(6) : 793–803.
- [8] Wani, M.Y., Ahmad, A., Kumar, S., Sobral, A.J.F.N. (2017). Flucytosine analogues obtained through Biginelli reaction as efficient combinative antifungal agents. *Microb. Pathog.*, 105, 57–62. doi: 10.1016/j.micpath.2017.02.006
- [9] Gatta, F.; Gradoni, L.; Lupardini, E.; Gramiccia, M.; Orsini, S. (1991). Synthesis and antileishmanial activity of some 1- or 2-(dihydroxyalkyl) and 3-(dihydroxyalkoxy)pyrazolo [3,4-*d*] pyrimidines. *Farmaco*, 46(1), 75–84. PMID: 2054043
- [10] Khalifa, N.M.; Abdel-Rahman, A-A.H.; Abd-Elmoe, S.I.; Fathalla, O.A.; El-Gwed, A. A. (2013). A convenient synthesis of some new fused pyridine and pyrimidine derivatives of antimicrobial profiles. *Res. Chem. Intermed.*, 41(4): 2295–2305. doi: 10.1007/s11164-013-1347-1
- [11] Desai, N.C.; Joshi, S.B.; Jadeja, K.A. (2020). Synthesis, antimicrobial/radical scavenging, and in-silico investigations of a novel class of 4-[[4'-hydroxymethylphenyl]-1H-1',2',3'-triazol-1-yl-methyl]-2H-chromen-2-ones. *J. Heterocycl. Chem.*, 57(2), 791–795. doi: 10.1002/jhet.3821

- [12] Laddha, S.S.; Bhatnagar, S.P. (2010). Novel fused quinazolinones: further studies on the anticonvulsant activity of 1,2,9,11-tetrasubstituted-7H-thieno[2',3':4,5]pyrimido[6,1-b]-quinazolin-7-one and 1,3,10,12-tetrasubstituted-8H-pyrido[2',3':4,5]pyrimido[6,1-b]quinazolin-8-one. *Future Med. Chem.*, 2(4): 565–573. doi: 10.4155/fmc.10.16, PMID: 21426007
- [13] Kumar, S.; Deep, A.; Narasimhan, B. (2019). A Review on Synthesis, Anticancer and Antiviral Potentials of Pyrimidine Derivatives. *Curr. Bioact. Compd.*, 15 (3), 289–303. doi: 10.2174/1573407214666180124160405
- [14] Salem, M.S.; Farhat, M.; Errayes, A.O.; Madkour, H.M. (2015). Antioxidant Activity of Novel Fused Heterocyclic Compounds Derived from Tetrahydropyrimidine Derivative. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 63(11): 866–872. doi: 10.1248/cpb.c15-00452 PMID: 26521851
- [15] Nassar, E.; El-Badry, Y.A.; El Kazaz, H. (2016). Synthesis, in Vivo Anti-inflammatory, and in Vitro Antimicrobial Activity of New 5-Benzofuranyl Fused Pyrimidines. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 64(6): 558–563. doi: 10.1248/cpb.c15-00922 PMID: 27250790
- [16] Panahi, F.; Yousefi, R.; Mehraban, M.H.; Khalafi-Nezhad, A. (2013). Synthesis of new pyrimidine-fused derivatives as potent and selective antidiabetic  $\alpha$ -glucosidase inhibitors. *Carbohydr. Res.*, 380, 81–91. doi: 10.1016/j.carres.2013.07.008 PMID: 23978663
- [17] Roopan, S.M.; Sompalle, R. (2016). Synthetic chemistry of pyrimidines and fused pyrimidines: A review. *Synth. Commun.*, 46(8): 645–672. doi: 10.1080/00397911.2016.1165254
- [18] Mamaghani, M.; Tabatabaeian, K.; Araghi, R.; Fallah, A.; Hossein Nia, R. (2014). An Efficient, Clean, and Catalyst-Free Synthesis of Fused Pyrimidines Using Sonochemistry. *Org. Chem. Inter.*, 2014, 406869. <https://doi.org/10.1155/2014/406869>
- [19] Naik, T.A.; Chikhalia, K.H. (2007). Studies on Synthesis of Pyrimidine Derivatives and their Pharmacological Evaluation, *J. Chem.*, 4, 507590. doi: 10.1155/2007/507590
- [20] Jadhav, C.K.; Nipate, A.S.; Chate, A.V.; Songire, V.D.; Patil, A.P.; Gill, C.H. (2019). Efficient Rapid Access to Biginelli for the Multicomponent Synthesis of 1,2,3,4-Tetrahydropyrimidines in Room-Temperature Diisopropyl Ethyl Ammonium Acetate. *ACS Omega*, 4(27), 22313–22324. doi: 10.1021/acsomega.9b02286
- [21] Sethiya, A.; Soni, J.; Manhas, A.; Jha, P.C.; Agarwal, S. (2021). Green and highly efficient MCR strategy for the synthesis of pyrimidine analogs in water via C–C and C–N bond formation and docking studies. *Res. Chem. Intermed.*, 47, 4477–4496. doi:10.1007/s11164-021-04529-0
- [22] Hamdi, N.; Medyouni, R.; Bilel, H.; Mansour, L.; Romerosa, A. (2017). An Efficient One-Pot Protocol for the Synthesis of Substituted 3,4-Dihydropyrimidin-2(1H)-ones Using Metallophthalocyanines (MPcs) as Potent Heterogeneous Catalysts: Synthesis, Characterization, Aggregation and Antimicrobial Activity. *Molecules*, 22(4), 605. doi:10.3390/molecules22040605
- [23] Youssef, A.M.S.; Fouda, A.M.; Faty, R.M. (2018). Microwave assisted synthesis of some new thiazolopyrimidine and pyrimidothiazolopyrimidopyrimidine derivatives with potential antimicrobial activity. *Chem. Cent. J.*, 12, 50. doi:10.1186/s13065-018-0419-0
- [24] Allam, M.; Bhavani, A.K.D.; Vodnala, S. (2017). Novel Alkaloids from the Sponge *Batzella* sp.: Inhibitors of HIV gp120-Human CD4 Binding. *Russ. J. Gen. Chem.*, 87, 2712–2718. doi: 10.1134/S1070363217110299
- [25] Biginelli, P. (1891). Ueber Aldehyduramide des Acetessigäthers, *Chem. Ber.*, 24(1), 1317–1319. doi: 10.1002/cber.189102401228
- [26] Dilmaghani, K. A.; Zeynizadeh, B.; Yari, M. (2009). One-Pot Synthesis of 3,4-Dihydropyrimidin-2(1H)-ones and Their Sulfur Derivatives with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Supported on Silica Gel or Alumina. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 184 (7), 1722–1728. doi: 10.1080/10426500802293153
- [27] Salehi, P.; Dabiri, M.; Zolfigol, M. A.; Bodaghi Fard, M. A. (2003). Silica sulfuric acid: an efficient and reusable catalyst for the one-pot synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones. *Tetrahedron. Lett.*, 44(14): 2889–2891. doi: 10.1016/S0040-4039(03)00436-2
- [28] Kulkarni, M. G.; Chavhan, S. W.; Shinde, M. P.; Gaikwad, D. D.; Borhade, A. S.; Dhondge, A. P.; Shaikh, Y. B.; Ningdale, V. B.; Desai, M. P.; Bihade, D. R. (2009). Zeolite catalyzed solvent-free one-pot synthesis of dihydropyrimidin-2(1H)-ones – A practical synthesis of monastrol. *Beilst. J. Org. Chem.*, 5 (4). doi: 10.3762/bjoc.5.4
- [29] Radha, R. V.; Shrinivas, N.; Kishan, R.; Kulkarni, S. J.; Raghavan, K. V. (2001). Microwave-assisted synthesis of 3,4-Dihydropyrimidin-2(1H)-ones using acid-functionalized mesoporous polymer. *Green Chem.*, 3 (6), 305–306.
- [30] Dehamchia, M.; Régainia, Z. (2013). Conventional and microwave-assisted solvent-free synthesis of fused [1,2,5]thiadiazolo[3,4-b]quinoxaline-2,2-dioxide derivatives. *J. Sulfur Chem.*, 34(3), 242–249. doi: 10.1080/17415993.2012.729589
- [31] Dehamchia, M.; Régainia, Z. (2012). Synthesis of new fused benzothiadiazepines and macrocyclic sulfamides starting from n,n-disubstituted sulfamides and n(boc)-sulfamides. *ISRN Org. Chem.*, 2012, 810938. doi: 10.5402/2012/810938 PMID: 24052851
- [32] Kolosov, M.A., Al-Ogaili, M.J.K., Parkhomenko, V.S., Orlov, V.D. (2014). Synthesis and N-alkylation of diethyl 4,7-dihydroazolo[1,5-a]pyrimidin-5,6-dicarboxylates. *Chem. Heterocycl. Compd.*, 49(10): 1484–1489. doi: 10.1007/s10593-014-1399-1
- [33] Rajendra, V.P., Jagdish, U.C., Dipak, S.D., Vaishali, S.S., Anil, G.B. (2019). Biginelli Reaction: Polymer Supported Catalytic Approaches. *ACS Comb. Sci.*, 21 (3): 105–148. doi: 10.1021/acscmbosci.8b00120
- [34] Sheibani, H.; Seifi, M.; Bazgir, A. (2009). Three-Component Synthesis of Pyrimidine and Pyrimidinone Derivatives in the Presence of High-Surface-Area MgO, a Highly Effective Heterogeneous Base Catalyst. *Synth. Commun.*, 39(6), 1055–1064. doi: 10.1080/00397910802474982
- [35] Gaikwad, D.D. (2013). Silica sulphuric acid catalysed one pot synthesis of Biginelli reaction in water. *Orbital. Elec. J. Chem.*, 5, 17–22.
- [36] Salehi, P., Zolfigol, M.A., Shirini, F., Baghbanzadeh, M. (2006). Silica Sulfuric Acid and Silica Chloride as Efficient Reagents for Organic Reactions. *Curr. Org. Chem.*, 10(17): 2171–2189. doi: 10.2174/138527206778742650
- [37] Baghernejad, B. (2011). Silica Sulfuric Acid (SSA): An Efficient and Heterogeneous Catalyst for Organic Transformations. *Mini Rev. Org. Chem.*, 8(1), 91–102. doi: 10.2174/157019311793979963