

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

BADJI MOKHTAR-ANNABA UNIVERSITY

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA



جامعة باجي مختار – عنابة

Année 2019

Faculté des Sciences

Département de Chimie

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT

Option: Chimie organique

THÈME

**Conception et synthèse de nouvelles molécules
hétérocycliques biologiquement actives**

Par:

M. ^{elle} CHETTIBI Naouel

Devant le jury:

Président: Mr. BOUHEDJA Yacine Prof. Université BADJI Mokhtar-Annaba

Directeur de thèse: Mr. LIACHA Messaoud Prof. Université BADJI Mokhtar-Annaba

Examineurs:

Mr. DJEROUROU Abdelhafid Prof. Université BADJI Mokhtar-Annaba

Mr. KHORIEF Nacereddine Abdelmalek Prof. ENSET de Skikda

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEURE DE THESE

Monsieur le Messaoud LIACHA

Professeur à l'Université BADJI Mokhtar de Annaba

Je tiens à vous exprimer tout mon respect et mes vifs remerciements, tant pour avoir assuré avec rigueur l'encadrement de ce travail, que pour ce sujet d'actualité, qui a contribué à stimuler mon épanouissement intellectuel et à me transmettre le goût de la recherche. Je suis heureuse et très fière de vous témoigner ici ma profonde gratitude, pour la pertinence de vos remarques, et pour votre contribution à la présentation des idées dans ce mémoire. Ainsi, je vous suis grandement reconnaissante, pour m'avoir accueilli, soutenu, conseillé, et pour votre disponibilité.

A NOS JUGES

Monsieur BOUHEDJA Yacine

Professeur à l'Université BADJI Mokhtar de Annaba

Je vous remercie pour l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de présider ce jury. Vous avez su me faire profiter de votre gentillesse, de vos connaissances et de votre expérience, ainsi pour vos conseils amicaux.

Monsieur Abdelhafid DJEROUROU

Professeur à l'Université Badji Mokhtar de Annaba

J'adresse mes plus sincères remerciements à vous pour acceptez de lire ce mémoire avec un esprit critique et de m'avoir fait profil de vos suggestions.

Monsieur KHORIEF Nacereddine Abdelmalek

Maitre de conférences (A) à l'ENSET de Skikda

J'exprime mes sincères remerciements à vous pour avoir accepté de faire partie de mon jury. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude, pour votre aide et votre gentillesse.

Je voudrais remercier toutes les personnes qui m'ont aidé à réaliser ce travail :

Tous mes remerciements vont aussi au Monsieur **DJILANI Salah Eddine**, Professeur à l'université d'Annaba et au Docteur **DADA Noureddine**, membre du Labo, je ne saurai jamais vous remercier assez pour votre aide. Croyez à ma sincère gratitude.

Je remercie chaleureusement tous les doctorants et les stagiaires qui font partie des équipes du Laboratoire de synthèse et biocatalyse organique, plus particulièrement: Farida, Sofiene, Zahra, Mohamed, Hanane, Yasmina, Asma, Houria. Pour l'ambiance agréable qui régnait dans le laboratoire.

Enfin, je ne serais terminer cette liste sans adresser un remerciement particulier à ceux qui m'ont soutenu dans l'ombre, mes parents pour m'avoir toujours permis de travailler et de

vivre dans de meilleures conditions. Qu'ils trouvent dans l'accomplissement de ce travail, un geste de reconnaissance et de remerciement.

Abréviations

BF₄	tétrafluoroborate
TEBA	chlorure de triéthylbenzylammonium
CCM	C hromatographie sur C ouche M ince
DABCO	1,4- d iazabi C yclo[2.2.2] o ctane
DFT	D ensity F unctional T heory
DIPEA	<i>N, N</i> - d iisopropylethyl A mine
DMF	<i>N, N</i> - D i- M éthyl F ormamide
DMSO	D iméthylsulfoxyde
DMSO-<i>d</i>6	D i M éthyl S ulf O xide d eutééré
DBU	1,8- d iazabicyclo[5.4.0] u ndéc-7-ène
DME	d iméthoxyethane
éq.	E quivalent
Hz	H ertz
IR	I nfra- R ouge
K₂CO₃	C arbonate de P otassium
MHz	M éga H ertz
MW	M icro-ondes
Pd/C	P alladium sur charbon
Pf	P oint de fusion
Ph₃P	Triphénylphosphine
ppm	partie par millions
Rdt	R endement
Rf	R apport frontal
RMN	R ésonance M agnétique N ucléaire
rt	T empérature a mbiante
<i>t</i>-Bu	<i>tert</i> - B utyle
THF	T étra H ydro F urane
TEA	triéthylamine ou <i>N, N</i> -diéthyléthanamine
US	U ltra S onores
UV	U ltra V iolet

الملخص:

يدخل هذا العمل في اطار تحضير و دراسة الخصائص الفيزيوكيميائية و البيولوجية لمجموعة جديدة من مركبات هيدرازونات البنزوكسازين-3-ون, حيث تم انجاز هذه الدراسة العلمية في مختبر التحضر البيو-تحفيزي العضوي بجامعة عنابة. لتحقيق هذا العمل كان لابد علينا اولا تحضير او تركيب المركب الاولي و الاساسي المتمثل في البنزوكسازين-3-ون , هذا الاخير تم اعداده بسهولة انطلاقا من مركب 2-امينوفينول, و لقد تمكنا أيضا من تصنيع مشتق ايثيل-2-3-او كزوبنزوكسازينيل)اسيتات بطريقتين, بعد ذلك قمنا بتحضير هيدرازيد الموافق وهي ضروري لاستمرار عمل المقدم. و هكذا تم تصنيع عدة مركبات هيدرازونية جديدة, عن طريق تفاعل تكثيف بين عدة بنزاليدهيدات مختلفة الاستبدال بشكل مناسب على الحلقة العطرية و الهيدرازيد المذكور اعلاه. فيما يخص الخصائص البيولوجية لبعض من الهيدرازونات المتحصل عليها تم دراستها و تقييم فعاليتها كمضادات للبكتريا بالنسبة لبعض السلالات من النوع Gram⁺, Gram⁻ و كمضادة للفطريات. عدة طرق استعملت لتحضير هذه المركبات و هذا باستعمال الايثانول كمذيب في وجود حمض الخليك كمحفز بواسطة التسخين الكلاسيكي, و كذلك تحت تأثير الموجات فوق الصوتية و قد وجد ان القيام بالتفاعلات تحت تأثير الموجات فوق الصوتية يتم بسهولة اكبر و كذلك تشكل المركبات المختلفة بمردودات و نقاوة عالية. هدفنا من هذا العمل هو وضع عملية بسيطة وفعالة تتوافق مفاهيم الكيمياء الخضراء و التنمية المستدامة, و قد سمح لنا التنشيط بالموجات فوق الصوتية بتجنب المذيبات العضوية و المواد الخطيرة و تقنيات التطهير التي تستخدم في العمليات التقليدية, و ثانيا للحد بشكل كبير في زمن رد الفعل. تم تحديد البنية الكيميائية بالنسبة لجميع المركبات التي قمنا بتحضيرها بواسطة مختلف الطرق الطيفية المعروفة, الاشعة تحت الحمراء (FT-IR) الرنين المغناطيسي (¹H-NMR, ¹³C-NMR).

الكلمات المفتاحية: بنزوكسازين-3-ون, N-اسيل هيدرازين, كيمياء خضراء, نشاط مضاد للجراثيم, نشاط مضاد للفطريات.

Résumé :

Le travail de thèse présenté dans le cadre des recherches réalisées au sein du Laboratoire de synthèse et Biocatalyse Organique concernant la synthèse, la réactivité et les études des propriétés physico-chimiques et biologiques de nouveaux dérivés des N-acylhydrazones benzoxazinoniques. La première partie de ce travail a été consacrée à la mise en place d'une méthode de synthèse pour la 2H-benzoxazin-3(4H)-one, le composé est préparé facilement à partir de 2-aminophénol. Nous avons aussi pu synthétiser le dérivé de substitution correspondant, l'éthyl-2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acetate par deux méthodes. Par la suite, le substrat hydrazide benzoxazinonique correspondant qui est nécessaire pour la poursuite de notre travail de thèse a été préparé. C'est ainsi que de nouvelles N-acylhydrazones ont été synthétisées par condensation entre les différents benzaldéhydes convenablement substitués sur le noyau aromatique et le substrat hydrazide. Les composés N-acylhydrazones des structures spécifiques préparés par plusieurs méthodes de synthèses: sous chauffage classique dans l'éthanol en présence de l'acide acétique, sous irradiation ultrasonique et agitation dans le jus de citron. Les réactions sous irradiation ultrasonique sont faciles à effectuer, et les produits sont formés avec de bons à excellents rendements. En fin, le dernier volet de travail réalisé a été réservé à l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des composés N-acylhydrazones synthétisés contre deux souches bactériennes à gram positif et une souche à gram négative et une souche fongique. Notre objectif vise à mettre un procédé simple et efficace obéissant aux concepts de la chimie verte et du développement durable, l'activation par ultrasons a permis d'une part d'éviter les solvants organiques, les substances dangereuses, et les techniques de purification souvent utilisés dans les procédés conventionnels, et d'autre part de diminuer de façon importante le temps de réaction. Les structures des produits synthétisés ont été élucidées par les différentes méthodes spectroscopiques usuelles FT-IR, ^1H -RMN, ^{13}C -RMN.

Mots clés: 2H-benzoxazin-3(4H)-ones, N-acylhydrazones, Chimie verte, antibactérienne, Antifongique.

Summary

The work is part of the research conducted within the Synthesis and Organic Biocatalysis Laboratory, reactivity and studies of the physicochemical and biological properties of new N-hydrazone derivatives from benzoxazinone scaffold. The first part of this project was dedicated to the implementation of a simple and effective method for the synthesis of 2H-benzoxazin-3(4*H*)-one derivative, this compound is easily prepared from 2-aminophenol. We have synthesized the corresponding substitution derivative ethyl 2-(3-oxo-2H-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)yl)acetate by two methods. In the following, we have synthesized the hydrazide substrate which is necessary for the continuation of our work. Thus, new N-acylhydrazones have been synthesized by condensation between the various benzaldehydes suitably substituted on the aromatic ring and the hydrazide substrate. In a second part, the N-acylhydrazone compounds of specific structure were prepared by three methods of synthesis: under conventional heating in ethanol in the presence of acetic acid, ultrasonic irradiation and stirring in lemon juice. The reactions by ultrasonic irradiation are easy to perform; the products are formed with good to excellent yields. The last part was devoted to evaluating the antibacterial and antifungal activity of the synthesized N-acylhydrazones benzoxazinone against two gram-positive and one gram-negative bacterial strain and fungal strain. Our objective is to highlight a simple and efficient process that follows the concepts of green chemistry and sustainable development. Ultrasound activation has made it possible to avoid organic solvents, hazardous substances and purification often used in conventional processes, and secondly to significantly reduce the reaction time. The structures of the synthesized products were elucidated by various usual spectroscopic methods, FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR.

Key words: 2H-benzoxazin-3(4*H*)-ones, N-acylhydrazones, Green chemistry, Antibacterial, Antifungal.

LISTE DES FIGURES

Liste des Figure

Figure 1: Structure générale des dérivés hydrazones synthétisés.5

CHAPITRE 1

Figure 1.1: Bleu de méthylène à gauche et Prontosil à droite.9

Figure 1.2: Le Salvarsan ou Arsphénamine (un mélange de trimère et pentamère contrairement à l'idée de Paul Ehrlich).9

Figure 1.3: Pénicilline G à gauche et Streptomycine à droite.9

Figure 1.4: Mécanisme d'action générale d'antibiotique.11

Figure 1.5: Structure d'une bactérie.12

Figure 1.6: Bactérie d'*Escherichia coli*.15

Figure 1.7: Bactérie de *Pseudomonas aeruginosa*.16

Figure 1.8: Bactérie de *Staphylocoques aureus*.16

Figure 1.9: Bactérie de *Candida albicans*.17

Figure 1.10: Structure de Pénicillines et les Céphalosporines.19

Figure 1.11: Structure de l'Érythromycine et la Spiramycine.19

Figure 1.12: Structure de la Clarithromycine et Azithromycine.20

Figure 1.13: Structure de la Chlorophénicol et Thiamphénicol.20

Figure 1.14: Structure de la Nystatine.23

Figure 1.15: structure de 5-Flucytosine.24

Figure 1.16: Ravuconazole et Sordarin.24

CHAPITRE 2

Figure 2.1: Structure du Belpharin A.27

Figure 2.2: Le composé C-1027 B, chromophore actif d'antibiotiques enediyne anti-tumoraux.27

Figure 2.3: Structure de la Flumioxazine C et la Thidiazimine D.28

Figure 2.4: Structure chimique du Bemoradan E et du Fluconazole F.28

Figure 2.5: Structure des fibrates G.28

Figure 2.6: Exemple de fibrates, structure chimique du médicament Chlofibrate.29

Figure 2.7: Structure chimiques du médicament Fénofibrate H.29

Figure 2.8: 7-acyl-2,3-dihydro-1,4-benzoxazin-3-ones I.29

Figure 2.9: Structure de la 2H-1,4-Benzoxazin-3-(4H)-one.30

LISTE DES FIGURES

Figure 2.10: Principales méthodes de synthèse des benzoxazin-3-(4H)-ones.....	31
Figure 2.11: dérivés de la benzoxazinones ayant des activités antibactériennes et antifongiques.....	54
Figure 2.12: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones liées à un noyau imidazole à activité antifongique potentielle.....	55
Figure 2.13: Synthèse de certains analogues 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones es à activité relative aux modulateurs de canaux de potassium.....	57
Figure 2.14: Synthèse et activité anticonvulsante de 7-benzylamino-2H-1,4-benzoxazine-3(4H)-ones.....	57
Figure 2.15: Dérivés de 2-{2-[3-méthyl-4-(2-méthylbenzylidène)-5-oxo-4,5-dihydro-1Hpyrazol-1-yl]-2-oxoéthyl}-2H-1,4-benzoxazin-3 (4H)-ones comme agents antioxydants.....	59
Figure 2.16: Dérivé 2H-benzoxazin-3-(4H)-ones comme agent antagoniste ligands du récepteur 5-HT1B et récepteurs 5-HT1D.....	59
Figure 2.17: Dérivés 6-cinnamoyl-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ones comme agents anticancéreux.....	59
Figure 2.18: Structure des dérivés benzoxazin-3(4H)-ones comme agents antihypertenseurs et anti-rythmiques.....	60
 <u>CHAPITRE 3</u>	
Figure 3.1: Structure générale des hydrazones.....	63
Figure 3.2: Exemple des sources naturelles d'hydrazones.....	64
Figure 3.3: Certains composés hydrazones utilisés dans le traitement de la tuberculose.....	65
Figure 3.4: Hydrazones comme intermédiaires.....	66
Figure 3.5: Métabolisme <i>in-vitro</i> et <i>in-vivo</i> des hydrazones.....	66
Figure 3.6: Structure de l'Isoniazide (INH).....	67
Figure 3.7: Métabolisme <i>in vivo</i> de l'acide 4-fluorobenzoïque ((5-nitro-2-Furyl)-méthylène-hydrazide.....	68
Figure 3.8: Métabolisme microsomique hépatique <i>in vitro</i> de la N-(4-chlorobenzyl)-N'-benzoylhydrazine (CBBAH).....	68
Figure 3.9: Formation des hydrazones dérivés de l'acide α -cétoglutarique, la vitamine B ₆ et de l'acide pyruvique.....	69
Figure 3.10: Acétylhydrazones et Oxamoylhydrazones anti-convulsivants.....	70

LISTE DES FIGURES

Figure 3.11: Dérivés hydrazones à activité anticonvulsivante.....	70
Figure 3.12: L'hydrazone le plus actif.....	70
Figure 3.13: Le composé le plus actif 3-(4-chlorophénylimino)-5-méthyl-1,3-dihydro-indol-2-one.....	71
Figure 3.14: Acétylhydrazones et semicarbazones à activité anticonvulsivante prometteuse.....	71
Figure 3.15: Hydrazones bases de Schiff pyrimidiniques à activité anticonvulsivante.....	71
Figure 3.16: Structure du sulphonyl-hydrazone.....	72
Figure 17: Dérivés hydrazones antidépressantes.....	72
Figure 3.18: Arylidenehydrazides.....	72
Figure 3.19: Hydrazones d'acide phénylacétique.....	72
Figure 3.20: acylhydrazones à effet vasodilatateur.....	73
Figure 3.21c₁-c₂: 3,4-Dihydroisoquinoléines substituées en position 1 à activité anti-hypertensive.....	73
Figure 3.22: complexe de Zn (II) du ligand 2-chlorobenzaldéhyde anti-hypertensives.....	74
Figure 3.23a-d: Dérivés hydrazones ayant une activité antiplaquettaire.....	75
Figure 3.24a-f: Dérivés hydrazones ayant une activité anticancéreuse.....	76
Figure 3.25a-h: Dérivés hydrazones possédant des propriétés antimicrobiennes....	78
Figure 3.26: Hydrazones synthétisées à partir de divers dérivés du cholestérol antimicrobiens.....	78
Figure 3.27a-f: Dérivés hydrazones étudiés pour leurs propriétés antifongiques....	80
Figure 3.28a-f: Dérivés hydrazones avec des propriétés anti-inflammatoire et analgésique.....	82
Figure 3.29: Synthèse de 3,5-bis (substitués) pyrazoles et isoxazoles.....	83
Figure 3.30: hydrazones à base d'imidazoline à activité antioxydante.....	83
Figure 3. 31: Hydrazones hétérocycliques pyrimidyliques–inhibiteurs de la glycogène synthase kinase-3(GSK-3).....	84
Figure 3.32: Hydrazones synthétisées à partir de chalcones à activité antiproliférative.....	84

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE 4

Figure 4.1: Synthèse de la 3(4H)-benzoxazinone à partir de chlorure de l'acide chloroacétyle et de l'o-aminophénol.....	91
Figure 4.2: Spectre 1H-RMN du composé 2	92
Figure 4.3: Spectre 13C-RMN du composé ester (2).....	92
Figure 4.4: Spectre 1H-RMN du composé hydrazide 3.....	93
Figure 4.5: Spectre 13C-RMN du composé hydrazide (3).....	94
Figure 4.6: Structure des composés de benzoxazinonylacylhydrazones synthétisés.....	95
Figure 4.7: Structure des composés Nitro-N-acylhydrazones benzoxazinones synthétisés.....	96
Figure 4.8: Mécanisme de formation de l'acylhydrazone benzoxazinonique par condensation d'aldéhydes et d'hydrazide en présence d'un catalyseur acide.....	97
Figure 4.9: Spectre IR du composé hydrazide 3 (-CONHNH2).....	100
Figure 4.10: Spectre IR du composé 4a 2-OH.....	100
Figure 4.11: Spectre IR du composé 4b 2-OH,5-Cl.....	101
Figure 4.12: Spectre IR du composé 4c 3,5-Ditert (CH ₃).....	101
Figure 4.13: Spectre IR du composé 4g 2,5-di-OCH ₃ (CH ₃).....	102
Figure 4.14: Spectre IR du composé 4k 4-NO ₂	102
Figure 4.15: Spectre 1H-RMN du composé 4a.....	103
Figure 4.16: Spectre 13C-RMN du composé 4a.....	104
Figure 4.17: Spectre 1H-RMN du composé 4f.....	104
Figure 4.18: Spectre 13C-RMN du composé 4f.....	105
Figure 4.19: Spectre 1H-RMN du composé 4c.....	105
Figure 4.20: Spectre 13C-RMN du composé 4c.....	106
Figure 4.21: Spectre 1H-RMN du composé 4k 4-NO ₂	106
Figure 4.22: Spectre 13C-RMN du composé 4k 4-NO ₂	107

LISTE DES SCHEMAS

Liste des schémas

CHAPITRE 2

Schéma 2.1: Stratégie O-alkylation-réduction-cyclisation.....	32
Schéma 2.2: Première synthèse supportée des benzoxazin-3(4H)-ones.....	32
Schéma 2.3: Synthèse d'une benzoxazin-3-(4H)-one chirale.....	32
Schéma 2.4: Séquence mécanistique de la cyclisation, mettant en jeu une attaque intramoléculaire.....	33
Schéma 2.5: Synthèse de la benzoxazin-3(4H)-one à partir de 2-nitrophénol en deux étapes.....	33
Schéma 2.6: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir des 2-nitrophénols et des chloro(bromo)acétonitriles.....	34
Schéma 2.7: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones par réaction du 2-nitrophénols avec les aldéhydes et les isocyanures.....	34
Schéma 2.8: Stratégie N-acylation-cyclisation pour la synthèse de la Benzoxazin-3-(4H)-one.....	35
Schéma 2.9: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir des 2-aminophénols et du chlorure de chloroacétyle.....	35
Schéma 2.10: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir de l'o-aminophénol chlorhydrate et du 2-bromo-2-phénylacétate.....	36
Schéma 2.11: Synthèse de la 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one à partir de l'o-aminophénol et le chlorure de 2-chloroacétyle dans un milieu aqueux alcalin.....	36
Schéma 2.12: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir des 2-aminophénols en présence liquide ionique.....	36
Schéma 2.13: Mécanisme proposé pour la synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones pour la réaction précédente.....	37
Schéma 2.14: Réaction de synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir de 2-aminophénols catalysé par le DBU dans le DMF.....	37
Schéma 2.15: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones par condensation entre la triphénylphosphine et le 4-nitro-2-aminophénol.....	38
Schéma 2.16: Synthèse des 2H-benzoxazin-3(4H)-ones par condensation entre l'acétylène dicarboxylate de diméthyle et le 4-nitro-2-aminophénol dans l'eau.....	38

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 2.17: Synthèse des benzoxazinones par condensation du 4-nitro-2-aminophénol avec le diéthyl-2-bromo-2-méthylmalonate dans le DMF.....	38
Schéma 2.18: Synthèse des benzoxazinones à partir du 2-aminophénol sous micro-ondes.....	39
Schéma 2.19: Synthèse de 7-méthyl-2H-benzoxazin-3(4H)-one.....	39
Schéma 2.20: Synthèse de benzoxazin-3(4H)-ones à partir des 2-aminophénols sous différentes conditions.....	40
Schéma 2.21: synthèse des 1,4-benzoxazinones substitués en C-2.....	41
Schéma 2.22: Synthèse des dérivés 2-alkyl-4-arylméthyl-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones à partir de 2-aminophénols comme précurseurs par N-alkylation réductrice.....	41
Schéma 2.23: Synthèse du noyau 2H-1,4-benzoxazine-3-(4H)-one dans la dernière étape, après modification de précurseurs 2-aminophénols.....	41
Schéma 2.24: Synthèse de nouveaux dérivés 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones différemment substitués en position 2.....	42
Schéma 2.25: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones via un réarrangement de Smiles.....	43
Schéma 2.26: Mécanisme proposé pour la réaction précédente.....	43
Schéma 2.27: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir des 2-halogénophénols catalysée par l'iodure de cuivre (I).....	43
Schéma 2.28: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir du difluorodinitrobenzène en tant que précurseurs.....	44
Schéma 2.29: Synthèse en cascade des benzoxazin-3(4H)-ones à partir du 2-iodophénol.....	44
Schéma 2.30: Synthèse de benzoxazin-3(4H)-ones par une cyclisation intramoléculaire du 2-haloaniline dans palladium, et en présence de ligand Pd(dba) ₂ et d'un ligand [(t-Bu) ₃ PH]BF ₄	45
Schéma 2.31: Mécanisme proposé pour la réaction précédente.....	45
Schéma 2.32: Synthèse des dérivés benzoxazin-3(4H)-ones par voie électrochimique.....	45
Schéma 2.33: Synthèses de benzoxazin-3(4H)-ones à partir de N-méthoxy-N-acylnitrénium et N-phthalimido-N-acylnitrénium et en présence de l'iode hypervalent.....	46

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 2.34: Réduction sélective de la fraction lactame des 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones.....	47
Schéma 2.35: Réduction en présence d'un agent réducteur fort.....	37
Schéma 2.36: L'alkylation du 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one sous irradiation microonde.....	48
Schéma 2. 37: L'alkylation du 3-oxo-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazine-2-carboxylates par halides alkyles.....	49
Schéma 2.38: Synthèse des 2-hydroxy-1,4-benzoxazine-2-carboxylate d'alkyles par oxidation de carbanion.....	49
Schéma 2.39: Synthèse de 2-fluoro des dérivés 2H-1,4-benzoxazin-4(3H)-ones par une monofluorination.....	50
Schéma 2.40: Transformation du 2-bromo-2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one en leurs analogues 2-amino et 2-mercapto correspondants.....	50
Schéma 2.41: Homologation des 3-oxo-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazine-2-carboxylates en son ester homologue.....	51
Schéma 2.42: Transformation de la 1,4-benzoxazine-3-one en 3-méthoxy-1,4-benzoxazine, en utilisant un sel de Meerwein.....	51
Schéma 2.43: Bromation du 6-acétyl-4-méthyl-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one dans l'acide acétique.....	52
Schéma 2.44: hydroxylation en position 6 de la benzoxazin-3-(4H)-one.....	52
Schéma 2.45: L'acylation de Freidel–Crafts du 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones.....	52
Schéma 2. 46: Acylation de la benzoxazin-3-(4H)-one par l'anhydride phtalique.....	53
Schéma 2.47: Transformation du 6-bromo-2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one en 8-pyridin-4-yl-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one.....	53
Schéma 2.48: Réductions sélectives des substituants ester, cétone et aldéhyde des dérivés 1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones.....	54
Schéma 2.49: Synthèse et activité antibactérienne-antifongique des pyrazolines-benzoxazin-3(4H)-ones.....	56
Schéma 2.50: Synthèse et activité et activités antimicrobiennes et antioxydantes in vitro des benzylidene-pyrazolo-benzoxazine-3(4H)-ones.....	58
Schéma 2.51: Procédé de synthèse des dérivés du benzo[1,4]oxazin-3-(4H)-ones avec une amidation oxidative sélective.....	61

LISTE DES SCHEMAS

CHAPITRE 4

Schéma 4.1: Voie synthétique des composés acylhydrazones souhaités. Réactifs et conditions: (A: méthode A), reflux, éthanol absolu, acide acétique glacial, 35 min; (B: méthode B), éthanol absolu, 6–7 min.....	90
Schéma 4.2: Schéma 4.2: Synthèse de 2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acetate d'éthyle dans l'acétone et dans DMF.....	91
Schéma 4.3: Synthèse de l'hyrazide benzoxazinonique (3).....	93
Schéma 4.4: Synthèse de l'hyrazide benzoxazinonique (3); CC: Chauffage conventionnel, US: irradiations ultrasons.....	94
Schéma 4.5: Synthèse des acylhydrazones 4a, 4c, 4e, 4f, 4g, 4j dans le jus de citron comme solvant.....	98

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

CHAPITRE 1

Tableau 1.1: Antibiotiques bactériostatiques et bactéricides.....14

Tableau 1.2. Les principaux agents responsables d'infections fongiques.....22

CHAPITRE 2

Tableau 2.1: Synthèse d'une série de benzoxazin-3(4*H*)-ones sous différentes conditions.....40

CHAPITRE 4

Tableau 4.1: Étude comparative des composés acylhydrazones synthétisés (**Figure 4.6: 4a–4h**).....95

Table 4.2: Étude comparative en termes de rendement et de temps de réaction (méthode **A** et **B**) des composés de benzoxazinonylacétohydrazide synthétisés (**4i–4k**, **Figure 4.7**).....96

Tableau 4.3: Rendements et temps de la synthèse des hydrazones dans le jus de citron solvant.....98

Tableau 4.4: Activité antibactérienne et antifongique *in vitro* (zone d'inhibition en mm) des composés dérivés acylbenzoxazinones (**4a-4h**).....109

Tableau 4.5: Activité antibactérienne et antifongique *in vitro* (zone d'inhibition en mm) des composés **nitro**-acylbenzoxazinones (**4a-4d**).....110

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	1
<u>CHAPITRE 1</u> : Les antibactériens et antifongiques, Généralités	
1. INTRODUCTION.....	8
2. HISTORIQUE.....	8
3. Généralités.....	9
3.1. Quelques généralités sur les micro-organismes.....	10
3.2. Définition d'antibiotiques.....	10
3.3. Mode d'action des antibiotiques sur les bactéries.....	11
3.4. Les bactéries.....	11
3.4.1. Les cibles bactériennes des antibiotiques.....	12
3.4.2. Paroi des bactéries à Gram positif.....	12
3.4.3. Paroi des bactéries à Gram négatif: beaucoup plus complexe.....	12
3.4.4. Culture des bactéries.....	13
3.4.5. Notion du bactériostatique et du bactéricide.....	14
3.4.6. L'effet bactériostatique CMI.....	14
3.4.7. L'effet bactéricide CMB.....	14
3.5. Les bactéries étudiées.....	15
3.5.1. <i>Escherichia coli</i>	15
3.5.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
3.5.3. <i>Staphylocoques aureus</i>	16
3.6. La levure <i>Candida albicans</i>	16
3.7. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne.....	17
3.7.A. Méthode de diffusion.....	17
3.7.B. Méthode de dilution.....	18
3.8. Résistance aux antibiotiques.....	18
3.9. Les médicaments antibiotiques.....	18
3.9.1. La familles des β -lactamines.....	19
3.9.2. La famille des macrolides.....	19
3.9.3. La famille des phénicoles.....	20
3.9.4. La famille des Sulfamides et Diaminopyridines.....	20
3.9.5. Combinaison d'antibiotiques.....	20

TABLE DES MATIERES

3.10. Les Antifongiques.....	21
3.10. Comment agissent les antifongiques?.....	22
3.10.1. Résistance.....	22
3.10.2. Les médicaments antifongiques.....	23
3.10.3. Prescription courante des médicaments antifongique.....	23
3.10.4. Agents antifongiques synthétiques.....	24
3.10.5. Derniers ajouts à l'arsenal de médicaments antifongiques.....	24
4. Conclusion.....	25

CHAPITRE 2: Généralités sur les benzoxazin-3(4H)-ones

2.1. INTRODUCTION.....	26
2.2. STRUCTURE DES 2H-BENZOXAZIN-3(4H)-ONES.....	29
2.3. SYNTHÈSE DES DERIVES 2H-1,4-BENZOXAZIN-3-(4H)-ONES.....	30
2.3.1. Principales méthodes de synthèse des dérivés 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones.....	31
2.3.1.a. Synthèse à partir des dérivés 2-nitrophénols.....	31
2.3.1.b. Séquences réactionnelles à partir de dérivés 2-aminophénols.....	34
2.3.1.c. Synthèse à partir des dérivés 2-halophénols comme précurseurs.....	42
2.3.1.d. Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones par voie électrochimique.....	45
2.3.1.e. Autres synthèses.....	46
2.4. REACTIVITE CHIMIQUE DES 2H-1,4-BENZOXAZIN-3(4H)-ONES.....	46
2.4.1. Réduction des 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones: Synthèse des 3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazines.....	46
2.4.2. Modification des substituants des noyaux 1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones.....	48
2.4.3. Modification des substituants dans le cycle aromatique de 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones.....	51
2.5. INTERET BIOLOGIQUE DE LA BENZOXAZIN-3(4H)-ONE ET DE SES DERIVES.....	54
2.5.1. Activités antibactérienne et antifongique.....	54
2.5.2. Activités relative aux modulateurs de canaux de potassium.....	56
2.5.3. Activité anticonvulsivante.....	57
2.5.4. Activités antimicrobiennes and antioxydantes.....	57
2.5.5. Activité anticancéreuse.....	59

TABLE DES MATIERES

2.5.6. Activité antihypertenseur et anti-arythmique.....	60
2.6. CONCLUSION.....	61

CHAPITRE 3 : Généralités sur les hydrazones

3.1. INTRODUCTION.....	62
3.2. STRUCTURE GENERALE DES HYDRAZONES.....	63
3.3. SOURCE NATURELLE DES HYDRAZONES.....	63
3.4. SYNTHÈSE ET PROPRIÉTÉS DES HYDRAZONES.....	64
3.5. PRINCIPALES PROPRIÉTÉS PHARMACOLOGIQUES DES HYDRAZONES.....	67
3.5.1. Activité anticonvulsivante.....	69
3.5.2. Activité antidépressante.....	71
3.5.3. Activité anti-hypertensive.....	73
3.5.4. Activité antiplaquettaire.....	74
3.5.5. Activité anticancéreuse.....	75
3.5.6. Activité antimicrobienne.....	77
3.5.7. Activité antifongique.....	79
3.5.8. Activité anti-inflammatoire et analgésique.....	80
3.5.9. Activité antioxydante.....	82
3.5.10. Activité antidiabétique.....	83
3.5.11. Activité antiproliférative.....	84
3.6. APPLICATIONS DES HYDRAZONES.....	84
3.6.1. Applications biologiques et pharmaceutiques.....	85
3.6.2. Applications analytiques.....	85
3.6.3. Hydrazones en optique non linéaire.....	86
3.6.4. Applications catalytiques.....	87
3.6.5. Autres applications.....	88
3.7. Conclusion.....	88

CHAPITRE 4:PARTIE EXPERIMENTALE

4. SYNTHÈSE DES ACYLHYDRAZONES N'-(ARYLIDENE)-2-(3-OXO-2H- BENZO[b][1,4]OXAZIN-4(3H)-YL)ACETOHYDRAZIDES.....	89
4.1. INTRODUCTION.....	89

TABLE DES MATIERES

4.2. SYNTHÈSE CHIMIQUE.....	89
4.2.1. Synthèse des produits de départ (matières premières).....	90
4.2.1.1. Synthèse de la 3(4H)-benzoxazinone (1).....	90
4.2.1.2. Synthèse de 2-(3-Oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acétate d'éthyle (2).....	91
4.2.1.3. Synthèse de la 2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acétohydrazide (3).....	92
4.2.1.4. Synthèse des N-acylhydrazones N'-(Arylidène)-2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acétohydrazides (4a-h).....	94
4.2.1.5. Synthèse des complexes des ligands benzoxazinonques.....	107
4.3. ÉVALUATION BIOLOGIQUE.....	108
4.3.A. Dérivés N-acylhydrazones benzoxazinones.....	108
4.3.B. Dérivés Nitro-N-acylhydrazones benzoxazinones.....	109
4.4. CONCLUSION.....	111

CHAPITRE 5:PARTIE EXPERIMENTALE

Partie expérimentale.....	112
Conclusion générale et Perspectives.....	138

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les travaux présentés dans ce mémoire de thèse ont été réalisés au Laboratoire de Synthèse et Biocatalyse Organique-LSBO, sous la direction scientifique de Monsieur le Professeur Messaoud LIACHA. Ils ont pour but la synthèse et l'évaluation pharmacologique d'une nouvelle famille de composés hétérocycliques benzoxazinoniques de type N-acylhydrazones, et s'inscrivent dans le cadre général des recherches développées pour la découverte de nouvelles molécules à visée médicale, en particulier antimicrobiennes menées au sein du groupe de pharmacochimie.

Après une présentation des généralités sur les antibiotiques et les phénomènes de résistance, les benzoxazinones ainsi que les hydrazones, nous exposerons par la suite la méthodologie suivie basée sur des études de recherche publiées dans la littérature. Nous terminerons par la présentation des diverses voies de synthèse développées, et mises en œuvre pour l'obtention de ces composés ainsi que leur évaluation pharmacologique.

Dans ce contexte, nous pouvons remarquer que les composés *Leads* pour la chimiothérapie antibactérienne, comme pour toute la chimiothérapie, sont obtenus à partir de deux sources: la synthèse chimique *de novo* et les produits naturels. Pour les antibactériens, les produits naturels ont historiquement été de loin les plus importants, avec seulement trois classes d'usage clinique ayant un patrimoine purement synthétique. Les autres classes d'antibactériens ont toutes leurs racines dans les produits naturels obtenus à partir de sources microbiennes.

Le développement de la chimiothérapie antibactérienne a ses racines à la fin du XIX^e siècle, avec les observations des microbiologistes contemporains, y compris des scientifiques éminents tels que Robert Koch et Louis Pasteur, sur l'activité antagoniste entre les populations microbiennes, et dans les recherches de Paul Ehrlich d'une «*balle magique*» capable de toxicité sélective vers les cellules bactériennes.^[1] Cependant, ce n'est qu'au milieu du XX^e siècle et l'introduction des sulfonamides (en tant que thérapies chimiques) en 1935 et β -lactames (en tant que thérapies de produits naturels) en 1940, que les antibactériens ont trouvés une utilisation généralisée et l'âge moderne de traitement antibactérien a commencé. L'introduction de ces composés annonçait également le début d'une période d'intense activité,

[1] N.C. Lloyd, H.W. Morgan, B.K. Nicholson, R.S. Ronimus, *Angew. Chem.*, **2005**, *117*, 963–966.

parfois appelée «*âge d'or*» de la découverte antibactérienne,^[2] et pendant cette période, des années 1940 aux années 1960, la majorité des médicaments antibactériens en usage courant ont été découverts.

Il a ensuite suivi un important «*fossé de l'innovation*» de près de 40 ans, sans nouveaux *Scaffolds* antibactériens introduits dans la pratique clinique entre les quinolones en 1962 et le Linozolid (Zyvox) oxazolidinone en 2000.^[3] La plupart des antibactériens introduits au cours de l'âge d'or ont été découverts à la suite de dépistage des produits naturels obtenus à partir de fermentations microbiennes. En outre, l'amélioration remarquable de la chimiothérapie antibactérienne des années 1930 aux années 1960 a conduit à un certain degré de complaisance en ce qui concerne les maladies bactériennes, et la disponibilité de nombreuses thérapeutiques efficaces a rendu le domaine progressivement moins attirant du point de vue des investissements industriels.^[4] La recherche antibactérienne est restée un champ actif dans les décennies entre l'âge d'or et l'introduction du Linozolid, mais les composés introduits dans l'utilisation clinique pendant cette période étaient des versions modifiées des classes existantes, plutôt que de nouvelles entités chimiques en leur propre endroit.

Aujourd'hui, le développement de nouveaux antibactériens continue de représenter un investissement peu attractif pour les grandes firmes pharmaceutiques.^[5] La principale raison en est la «*auto-obsolescence*» des antibactériens: si un antibactérien est efficace, il guérit rapidement la maladie qui a nécessité son utilisation, donc évitant la nécessité pour le patient de continuer le traitement. En revanche, pour les troubles chroniques tels que l'hypertension, les thérapeutiques peuvent être utilisés en continu pendant des décennies. La nature mature de la recherche antibactérienne, les cycles de vie incertains pour les nouveaux médicaments, et l'environnement réglementaire général affectant le rythme de l'exploitation translationnelle, tous diminuent l'élan commercial pour investir dans les antibactériens dans un marché très difficile.^[6] Pour ces raisons, il se peut que les progrès les plus rapides de la recherche

[2] J. Davies, *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.*, **2006**, 17(5), 287–290.

[3] C. Walsh, *Nat. Rev. Microbiol.*, **2003**, 1(1), 65–70.

[4] S. Rachakonda, L. Cartee, *Curr. Med. Chem.*, **2004**, 11, 775–793.

[5] a) H. Kresse, M.J. Belsey, H. Rovini, *Nat. Rev. Drug. Discovery.*, **2007**, 6, 19–20; b) S.J. Projan, P.A. Bradford, *Curr. Opin. Microbiol.*, **2007**, 10, 441–446.

[6] a) S.J. Projan, D.M. Shlaes, *Clin. Microbiol. Infect.*, **2004**, 10, 18–22; b) B. Spellberg, J.H. Powers, E.P. Brass, L.G. Miller, J.E.Jr. Edwards, *Clin. Infect. Dis.*, **2004**, 38, 1279–1286; c) M.A. Fischbach, C.T. Walsh, *Science*, **2009**, 325, 1089–1093.

antibactérienne proviennent maintenant des laboratoires universitaires et des petites et moyennes entreprises de biotechnologie.^[7]

Dans cette optique, nous discutons brièvement les différents processus bactériens ciblés par les agents antibactériens, ainsi que le développement de mécanismes de résistance à ces agents. L'objectif principal de cette étude est de présenter un aperçu des domaines les plus récents et significatifs dans la recherche antibactérienne contemporaine.

Les développements récents dans les méthodes de découverte «classiques» sont discutés, y compris l'application des techniques génétiques modernes dans le dépistage des produits naturels issus de bactéries et des exemples de compagnies de chimie pharmaceutique, qui continuent de respirer une nouvelle vie dans les classes existantes d'antibactériens. Nous allons ensuite présenter des approches plus exploratoires, notamment le développement d'antibactériens hybrides et l'exploitation potentielle de peptides de défense de l'hôte pour une intervention thérapeutique.

La résistance aux antibactériens est devenue un enjeu majeur au cours des dernières décennies, d'autant plus que la génération de nouveaux agents antibactériens apparemment à sec. Comme nous l'avons montré, tout n'est pas perdu; il existe de nombreuses pistes actives de recherche en cours pour développer la prochaine génération de médicaments antibactériens. La recherche de nouveaux médicaments antibactériens qui sont plus efficaces et capables de surmonter les mécanismes de résistance bactérienne se poursuit sérieusement, à la fois dans les milieux académiques et dans les petites et moyennes firmes de biotechnologie, mais aussi avec un intérêt renouvelé des grandes firmes pharmaceutique.

Les produits naturels récemment identifiés et les produits provenant de versions modifiées des classes antibactériennes existantes, ont montré une signification prometteuse de fournir des agents antibactériens plus efficaces. La recherche initiale impliquant la combinaison de deux agents antibactériens actifs en un seul composé hybride, a le potentiel de combattre partiellement les mécanismes de résistance. Un autre domaine de potentiel énorme est le développement des peptides et des imitations peptidiques antimicrobiens. On croit qu'ils agissent sur des cibles multiples, réduisant ainsi éventuellement le taux d'évolution des mécanismes de résistance. En plus des méthodes discutées dans la littérature, de nombreuses

[7] a) R.C. Moellering, *Int. J. Antimicrob. Agents.*, **2011**, *37*, 2–9; b) D. Jabes, *Curr. Opin. Microbiol.*, **2011**, *14*, 564–569.

approches alternatives sont également explorées comme moyens de combat pour combattre potentiellement la résistance antibactérienne; il s'agit notamment de la modulation ou de la stimulation de l'immunité,^[8] des combinaisons thérapeutiques et du réaménagement de médicaments hors-brevet ou de candidats aux médicaments rejetés.

La majorité des médicaments antibactériens existants sur le marché ou dans le développement clinique aujourd'hui, ne se concentrent que sur un petit nombre de cibles biologiques. Avec une incidence croissante de la résistance aux médicaments qui agissent sur ces quelques cibles, il y a un besoin urgent de rechercher de nouveaux objectifs. L'identification de nouvelles cibles et approches biologiques qui pourraient conduire à des antibactériens avec un nouveau mode d'action contre des processus tels que la biosynthèse bactérienne, les voies métaboliques essentielles, la fonction membranaire bactérienne perturbatrice,^[9] ou la biosynthèse des parois cellulaires est un domaine critique et actif de la recherche. Un exemple intéressant est la découverte de la nouvelle cible FabF 1B, qui est impliqué dans la biosynthèse lipidique.^[10] On espère que la résistance se développera plus lentement pour les médicaments agissants avec un nouveau mécanisme. En effet, des résistances aux médicaments les plus utilisés (et les moins chers) se répandent. Donc, la recherche de nouvelles molécules, plus actives, bon marché, sans effets secondaires trop marqués, est aujourd'hui une urgence pour l'homme.

La fusion de deux agents antimicrobiens avec des modes d'action distincts pour produire une seule entité bi-fonctionnelle, est un concept qui est utilisé en chimie pharmaceutique depuis plusieurs décennies.^[7] La justification de la production de ces composés est qu'ils peuvent présenter un spectre élargi d'activité sur leurs agents constitutifs, y compris contre les organismes résistants, et, avec leur double mode d'action, semble être plus lent pour conduire l'émergence de la résistance bactérienne. La principale difficulté associée à cette stratégie est que, pour qu'elle soit considérée comme réussie, les agents hybrides doivent s'avérer plus efficaces que la somme de leurs parties.

Le travail de recherche que nous avons réalisé entre dans le cadre d'une série de travaux relatifs à l'un des thèmes spécifiques du groupe de PharmacoChime: Pharmacomodulation du modèle benzoxazinonique, qui consiste à modifier certains éléments

[8] R.E.W. Hancock, A. Nijnik, D.J. Philpott, *Nat. Rev. Microbiol.*, **2012**, *10*, 243–254.

[9] J.G. Hurdle, A.J.O. Neill, I. Chopra, R.E. Lee, *Nat. Rev. Microbiol.*, **2011**, *9*, 62–75.

[10] J. Wang, *et al.*, *Nature*, **2006**, *441*, 358–361.

structuraux d'un composé, dans l'objectif de renforcer une composante de l'activité biologique, de diminuer ou supprimer des effets secondaires indésirables, et d'améliorer ainsi l'indice thérapeutique des molécules cibles. Dans la continuité des recherches menées au laboratoire sur la chimie et la biologie des benzoxazinones, contribuant à la recherche des voies de modification de ces composés en vue d'améliorer leurs propriétés physicochimiques et pharmacologiques, et en raison des considérations précisées précédemment, qu'il nous a paru intéressant, d'associer le pharmacophore **2H-benzoxazin-3(4H)-one**, dont on connaît les potentialités dans plusieurs domaines de la chimie des médicaments, à un groupement azométhine de type **-HC=N-NH-** qui constitue un exemple très caractéristique de pharmacomodulation dans plusieurs séries de composés biologiquement actifs, notamment dans celles des antibactériens et antifongiques, au sein d'une structure de type N-acylhydrazones, ce qui devait nous conduire à la préparation de molécules répondant à la structure générale suivante:

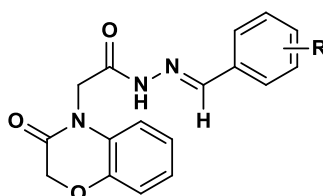


Figure 1: Structure générale des dérivés N-acylhydrazones synthétisés.

Dans un second temps; en raison de l'intérêt augmenté et accentué pour les réactions chimiques respectueuses de l'environnement, des efforts de recherche intensifs fondés sur l'utilisation de méthodologies utilisant des approches vertes ont été signalés pour promouvoir la synthèse des composé hétérocycliques diversement fonctionnalisés.^{[11],[12],[13],[14],[15]} En effet, plusieurs nouvelles techniques ont été introduites au cours de ces dernières années dans le domaine de la chimie pharmaceutique, dans le but d'accélérer le processus de découverte et de développement de nouveaux médicaments.

C'est ainsi que les irradiations ultrasoniques ont été utilisées au cours de ces dernières années comme un outil polyvalent dans une grande variété d'applications.^{[16],[17],[18],[19]} Ils

[11] H. Chabane, Y. Adjeroud, M. Liacha, *PhytoChem. & BioSub. J.*, **2016**, *10*, 73–78.

[12] A. Shinde, S. Zangade, S. Chavan, Y. Vibhute, *Org. Commun.*, **2014**, *7*, 60–67.

[13] L. Ravishankar, S. A. Patwe, N. Gosarani, A. Roy, *Syn. Commu: An Int. J. Rapid. Commu. Syn. Org. Chem.*, **2010**, *40*, 3177–3180.

[14] M. Chakraborty, S. Baweja, S. Bhagat, T.S. Chundawat, *Int. J. Chem. Reactor Eng.*, **2012**, *10*, 1–12.

[15] V.K. Rao, S.S. Reddy, B.S. Krishna, K.R.M. Naidu, C.N. Raju, S.K. Ghosh, *Green. Chem. Lett. And. Rev.*, **2010**, *3*, 217–223.

[16] S. Tangestaninejad, M. Moghadam, V. Mirkhani, H. Kargar, *Ultra. Sonochem.*, **2006**, *13*, 32–36.

possèdent plusieurs avantages tels que les rendements améliorés et la sélectivité, la purification facile, les diminutions significatives du temps de réaction, et sont plus économiques en énergie.^{[20],[21]} Motivés par ces résultats intéressants et prometteurs, et dans la continuité de nos efforts vers le développement de méthodologies de synthèse vertes utiles,^{[22],[23],[24]} nous avons développés un protocole réussi et pratique pour la préparation de certains nouveaux **N-acylhydrazones benzoxazinoniques** comme agents antimicrobiens potentiels.

Au commencement des travaux présentés dans ce manuscrit, aucune étude n'avait été réalisée sur ce type de composés N-hydrazones benzoxazinoniques.

L'objet de cette thèse s'inscrit dans cette optique d'amélioration de l'efficacité des hydrazones existantes. Les objectifs sont donc de synthétiser différents composés de ces agents antimicrobiens potentiels, dans le cadre de stratégies développées améliorant leurs performances thérapeutiques.

Dans le cadre de cette étude, visant à trouver des produits pouvant être utiles à la santé humaine, les observations et les résultats des études publiées dans la littérature sont plus particulièrement intéressantes, laissant entrevoir la faisabilité d'un tel travail de recherche.

C'est dans cet esprit multidisciplinaire que cette étude a été entreprise.

Ce manuscrit est organisé de la manière suivante:

La *première partie* de ce manuscrit de thèse est dédiée à la présentation des bases bibliographiques, sur lesquelles s'est construit le projet de recherche; elle se subdivise en trois principaux chapitres qui sont brièvement décrits ci-après:

[17] G. Cravotto, M. Beggiato, A. Penoni, G. Palmisano, S. Tollari, J.M. Leveque, W. Bonrath, *Tetrahedron . Letters.*, **2005**, *46*, 2267–2271.

[18] G. Cravotto, G. Palmisano, S. Tollari, G.M. Nano, A. Penoni, *Ultra. Sonochem.*, **2005**, *12*, 91–94.

[19] D. E. Crawford, *Beilstein. J. of. Org. Chem.*, **2017**, *13*, 1850–1856.

[20] K. M. Khan, W. Jamil, N. Ambreen, M. Taha, S. Perveen, G.A. Morales, *Ultra. Sonochem.*, **2014**, *21*, 1200–1205.

[21] B.S. Singh, H.R. Lobo, D.V. Pinjari, K.J. Jarag, A.B. Pandit, G.S. Shankarling, *Ultra. Sonochem.*, **2013**, *20*, 633–639.

[22] K. Seddiki, W. Yahia, M. Liacha, A. Defant, D. Sighel, I. Mancini, *ARKIVOC.*, **2017**, *5*, 315–329.

[23] Y. Adjeroud, H. Chabane, M. Liacha, *Rev. Roum. Chim.*, **2016**, *61*, 111–117.

[24] H. Chabane, Y. Adjeroud, M. Liacha, *Org. Commun.*, **2017**, *10*, 24–31.

Le premier chapitre sera consacré à un rappel des connaissances et des généralités sur les antibiotiques et aux phénomènes de résistance. En *second chapitre* seront abordées des généralités sur la **2H-benzoxazin-3(4H)-one** et de ses dérivés (méthodes de préparation, propriétés chimiques et principales activités biologiques), et qui a fait l'objet de notre étude au cours de ce travail.

Dans *le troisième chapitre*, nous présenterons un rappel bibliographique sur les N-acylhydrazones, leurs méthodes de préparation, ainsi que leurs propriétés physico-chimiques et principale application pharmaceutiques dans divers domaines. L'ensemble des résultats des travaux personnels de ce travail de thèse seront exposés et discutés dans *la deuxième partie*, puis les méthodes et protocoles expérimentaux utilisés pour répondre aux questions pratiques posées seront présentés dans une *troisième et dernière partie*. Les résultats des activités biologiques des produits synthétisés, ainsi que l'identification structurale par les différentes méthodes spectroscopiques des molécules étudiées sont présentés. L'ensemble des données et résultats obtenus est discuté par rapport aux travaux publiés, et les perspectives offertes par ce travail sont envisagées.

CHAPITRE 1

Les antibactériens et antifongiques : Généralités

Chapitre 1–Les antibactériens et antifongiques: Généralités

1.1. INTRODUCTION

Le développement d'antibiotiques sont parmi les réalisations les plus puissantes et réussies de la science et de la technologie moderne pour le contrôle des maladies infectieuses. La découverte des antibiotiques était à l'origine d'une des plus grandes révolutions du monde médical; ce sont des substances naturelles, semi-synthétiques ou synthétiques qui ont le pouvoir d'inhiber ou de détruire des bactéries sans perturber le fonctionnement des cellules de l'hôte.

Cependant, la résistance microbienne croissante aux antibiotiques utilisés, nécessite la recherche de nouveaux composés qui peuvent contribuer à la lutte contre la crise liée à la découverte de nouveaux médicaments antibiotiques. Les progrès les plus spectaculaires de la chimie pharmaceutique ont été faits lorsque des composés hétérocycliques ont joué un rôle important dans la régulation des activités biologiques. Les antibiotiques appartiennent à une classe de médicaments très prescrits pour lutter contre les infections bactériennes.

Les infections bactériennes sont responsables de très nombreuses maladies qui provoquaient par le passé (avant l'arrivée des antibiotiques) des millions de morts chaque année. Les principales infections bactériennes sont la tuberculose, la pneumonie, l'angine, la bronchite, les infections urinaires, les abcès, l'acné,... Il s'agit de la classe de médicaments la plus prescrite dans le monde.

1.2. HISTORIQUE

Il ne fait aucun doute que les maladies infectieuses ont existé depuis la préhistoire, mais leur rôle y est le plus souvent méconnu, elles ont de tout temps accompagné l'homme, mais celui-ci ne le sait que depuis plus d'une certaine d'années, vers 1876 avec les découvertes de Pasteur et Koche. La preuve de leur existence en ces âges lointains existe pour certaines d'entre elles, dont les lésions spécifiques ou plus rarement les agents infectieux sont retrouvés sur les ossements ou sur les momies et même dans les anciens écrits.^[1]

Les premiers antimicrobiens utilisés étaient des vaccins (Edward Jenner en 1796, Louis Pasteur depuis 1880-1885), des colorants de synthèse chimique comme le **Bleu de**

[1] M. Doble and A.K. Kruthiventi, *Academic. Pres. Elsevier.*, **2007**, p3-5.

méthylène, le **Salvarsan** ou **Arsphénamine** (est un mélange de trimère et pentamère contrairement à l'idée de Paul Ehrlich), le **Prontosil**, et enfin les antibiotiques: **Pénicilline G** 1928, **Gramicidine S** 1942, **Streptomycine** 1944, qui sont des produit naturels issus de microorganismes. L'ère des antibiotiques a transformé totalement l'univers des maladies infectieuses, au point qu'ont pensé un certain temps à pouvoir les faire disparaître.^[2]

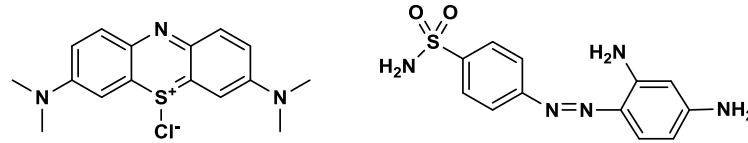


Figure 1.1: Bleu de méthylène à gauche et **Prontosil** à droite.

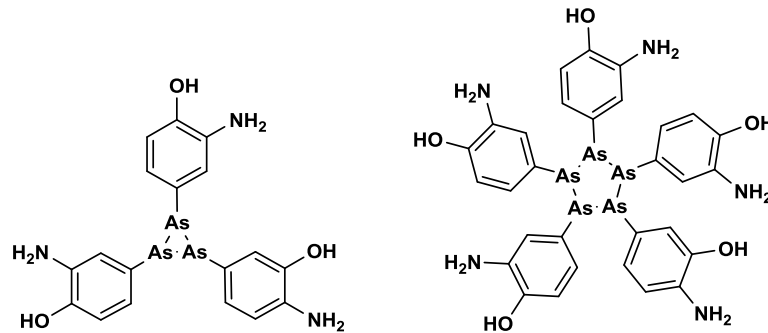


Figure 1.2: Le **Salvarsan** ou **Arsphénamine** (un mélange de trimère et pentamère contrairement à l'idée de Paul Ehrlich).

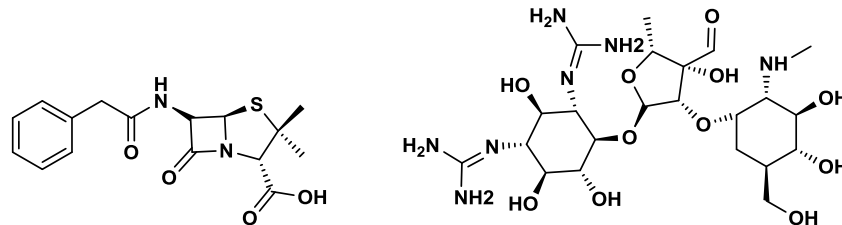


Figure 1.3: **Pénicilline G** à gauche et **Streptomycine** à droite.

1.3. GENERALITES

Un microbe, ou micro-organisme, fait partie d'un groupe large et extrêmement divers d'organismes. Ces organismes sont regroupés sur la base d'une seule propriété: ils sont si petits qu'ils ne peuvent être visualisés sans l'aide d'un microscope. Les microbes sont indispensables à la vie. Parmi leurs nombreux rôles, ils sont nécessaires au cycle géochimique et la fertilité de sols. Ils sont utilisés pour produire des aliments ainsi que des composants pharmaceutiques et industriels. D'un autre côté, ils peuvent être la cause de nombreuses

[2] M. Hadj Youcef, D. Barkat and T. Benabdallah, *J. Saudi. Soc.*, **2006**, 10(1), 15.

maladies végétales et animales et des contaminations alimentaires. Enfin les microbes sont largement utilisés dans les laboratoires de recherche pour l'étude des processus cellulaires.^[3]

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi-résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments semi-synthétiques à base de substances naturelles.^[4]

1.3.1. Quelques généralités sur les micro-organismes

Un microbe ou micro-organisme est un organisme vivant autonome, généralement unicellulaire, invisible à l'œil nu. Les protozoaires, les champignons microscopiques, les bactéries et les virus sont des microbes. Appelés protistes, divisés en deux grandes catégories selon leur structure cellulaire: les protistes supérieurs ou eucaryotes et les protistes inférieurs ou procaryotes. Ces dernières années, il y a eu un grand intérêt pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens, due à une augmentation alarmante du taux des infections avec les microorganismes résistant aux antibiotiques. Vu leurs petite taille, ils sont échappé de l'observation, ils ne sont donc visible qu'au microscope. Les micro-organismes peuvent être divisés en quatre grands groupes.^[4]

- Les bactéries
- Les virus
- Les levures et les champignons «*mycoses*»
- Les protozoaires.

1.3.2. Définition d'antibiotiques

Du grec **anti**, "contre" et **bios**, "vie", un antibiotique est une substance d'origine naturelle ou synthétique, utilisée comme des molécules capables d'inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries, sans affecter l'hôte (cellules eucaryotes).^[5]

[3] D. Yala, A.S. Merad, D. Mohamedi, Ouar M.N. Korich, *Médecine du Maghreb*, **2001**, 91, 5-12.

[4] J. Billing, P.W. Sherman, *Q. Rev. Biol.*, **1998**, 73, 3-49.

[5] J.L. Avril, H. Dabernat, F. Denis, H. Montiel, *Bactériologie clinique*, 2ème édition Marketing., **1992**, p 277-279.

1.3.3. Mode d'action des antibiotiques sur les bactéries

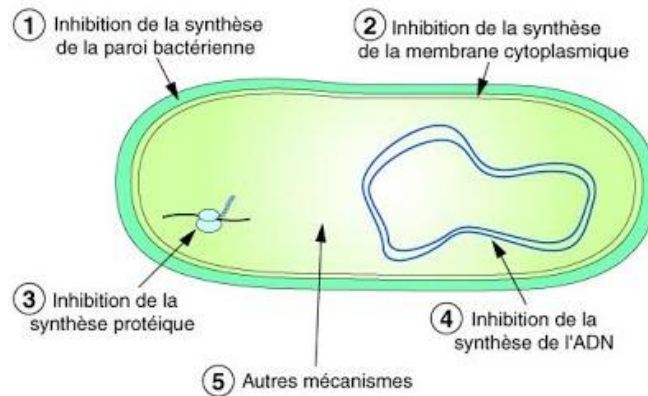


Figure 1.4: Mécanisme d'action générale d'antibiotique.

Cependant, ces dernières années, de profonds changements ont marqué les connaissances en microbiologie médicale, spécialement le nombre croissant de microorganismes impliqués dans les processus pathologiques et la résistance aux traitements appliqués.^[6] Il est donc nécessaire de trouver une alternative: de nouveaux remèdes plus efficaces ayant moins d'effets secondaires que les antibiotiques et moins onéreux, comme exemple des plantes médicinales et aromatiques.

1.3.4. Les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes vivants unicellulaires (formé d'une seule cellule) classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (*Bacteria*) et bactéries primitives (*Archaea*). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux **Bacteria**. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1 μ m. On peut les voir au microscope optique (de 0.5 μ m à 1 μ m de largeur et de 0.5 à 0.8 μ m de longueur) et appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal.^[7]

La majorité des bactéries présentes naturellement chez l'homme ne causent pas d'effets néfastes à la santé. Certaines sont même essentielles autant à l'organisme humain qu'à l'environnement, comme les bactéries présentes dans les intestins qui aident à digérer.

[6] T. Eberlin, *Les Infections Microbiennes*, Tome 1: Agents Infectieux, Nathan Université. Paris., 1997.

[7] C. Nauciel, and J.L. Vildé, *Bactériologie médicale*, 2^{ème} Edition. Masson, Paris., 2005, P: 5,10.

D'autres bactéries, par contre, sont bel et bien des véritables agents pathogènes qui provoquent toujours une maladie.^[8]

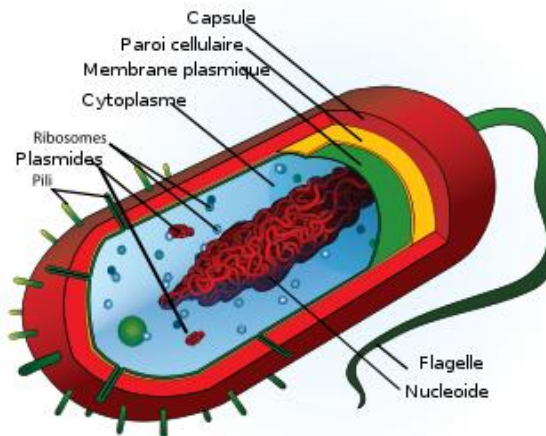


Figure 1.5: Structure d'une bactérie.

1.3.4.1. Les cibles bactériennes des antibiotiques

Les cibles des antibiotiques sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie. Les antibiotiques peuvent inhiber la biosynthèse des acides nucléiques (ADN et ARN), mais leurs cibles principales sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens.^[9]

1.3.4.2. Paroi des bactéries à Gram positif

Le peptidoglycane est le constituant majeur. La muréine représente jusqu'à à 30% du poids sec d'une cellule. Le peptidoglycane est très solide et les liaisons croisées entre chaînes glucidiques sont nombreuses.

1.3.4.3. Paroi des bactéries à Gram négatif: beaucoup plus complexe

Le peptidoglycane est une couche mince peu dense (<15% du poids sec). L'autre constituant essentiel est un lipide couplé à la glucosamine et à des résidus phosphore qui est amphiphile, possédant une partie hydrophobe et un autre hydrophile. Sur les résidus glucosamine, des polysaccharides complexes sont fixés et forment la partie la plus externe de la paroi.^[8]

[8] J.L. Elghozi, D. Duval, Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion. Paris., 1992, P 289.

[9] S.B. Singh, J.F. Barrett, *Biochem. Pharmacol.*, **2006**,71, 1006-1015.

Pour pouvoir être utilisable en pratique clinique, un antibiotique doit se caractériser par une action spécifique sur les germes visés sans perturber le fonctionnement des cellules eucaryotes (hôte). Un antibiotique devra donc idéalement affecter une voie métabolique absente ou peu active chez les eucaryotes mais essentielle aux procaryotes, ou atteindre une cible spécifique aux procaryotes. Les antibiotiques actuels peuvent se diviser en 5 groupes, en fonction de leur cible pharmacologique.

1. Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne.
2. Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique.
3. Antibiotiques inhibiteurs de voies métaboliques.
4. Antibiotiques anti-anaérobies.
5. Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs.

1.3.4.4. Culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C. En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe). L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon.

1.3.4.5. Notion du bactériostatique et du bactéricide

Quand l'ATB inhibe seulement la croissance des bactéries, on parle ici de l'effet bactériostatique, mais lorsque l'ATB provoque la mort des bactéries on parle de l'effet bactéricide.^[10]

[10] F. Haddouchi, H. Lazouni, K.A. Ahammer, C.F. Carson, T.V. Riley, *J.Appl. Microbiol.*, **1999**, 86, 985-990.

1.3.4.6. L'effet bactériostatique CMI

C'est une activité bactérienne au cours de laquelle il ne se manifeste aucune destruction bactérienne, on remarque une inhibition de la croissance bactérienne, croissance qui reprend dès que la substance disparaît. En limitant la croissance bactérienne, la molécule permet aux défenses naturelles de l'organisme d'entrer en jeu sans être dépassées. L'effet bactériostatique d'une molécule est évalué par la concentration minimale inhibitrice. Pour une souche donnée, la CMI est la plus faible concentration inhibitrice d'antibiotique pour laquelle il n'y a plus de germes microbiens visibles.^[11]

1.3.4.7. L'effet bactéricide CMB

C'est un effet qui se manifeste par une accélération de la mort des bactéries aux concentrations d'ATB utilisées *in vivo* ou *in vitro*; s'il persiste moins de 0,01% de survivants après 18 h de culture.^[15]

Tableau 1.1: Antibiotiques bactériostatiques et bactéricides.

Classes d'antibiotiques à action bactériostatique	Classes d'antibiotiques à action bactéricide
Macrolides, Sulfamidés, Tétracyclines, Lincosamides, Nitrofuranes, Phénicolés, Ethambutol, Cyclosérine	β -Lactames, Fluoroquinolones, Aminoglycosides, itroimidazoles, Glycopeptides (bactéricidie lente), Polymyxines, Synergistines, Ansamycines, Acide fusidique, Isoniazide, Pyrazinamide

1.3.5. Les bactéries étudiées

1.3.5.1. *Escherichia coli*

C'est une bactérie à gram négatif,^[12] appartenant à la famille des *Entérobactérie*, souvent mobiles, mais parfois immobiles, isolées pour la première fois par Thomas Escherich en 1855. C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. Sa longueur varie de 2

[11] C.F., Carson, K.A. Hammer and T.V. Riley, *Microbios*, **1995**, 82,181-185.

[12] P. Steven, C. Rachel, E. Martha, H. Paul, . S. Jane, and W.J. Peter, *Microbiology of Waterborne Diseases*. Ed Elsevier Academic Press, **2004**, p 71-132.

à 6 μm .^[13] *E. coli* est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales.^[14]

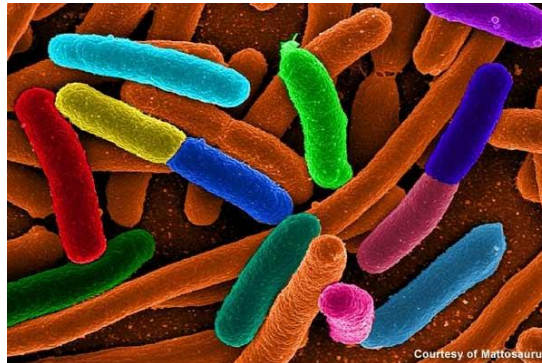


Figure 1.6: Bactérie d'*Escherichia coli*.

1.3.5.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *pseudomonas* est fait de bacilles mobiles aérobies stricts, se cultive facilement sur les milieux usuels. C'est une bactérie gram-négative, ces bacilles fins sont de 1.5 à 3 μm . Ce germe est ubiquitaire du sol, de l'air de l'eau ou sur les végétaux. On le trouve souvent dans l'environnement hospitalier, surtout dans les endroits humides. Il s'agit de bactéries résistantes pour plusieurs antibiotiques.^[15] Elle est responsable de 10% de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3^{ème} rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1^{er} rang pour les infections pulmonaires basses et le 3^{ème} rang pour les infections urinaires.^[16]



Figure 1.7: Bactérie de *Pseudomonas aeruginosa*.

[13] J.P. Nataro, J.B. Kaper, *Microbiol. Rev.*, **1998**, *11*, 142-201.

[14] J.L. Avril, Dictionnaire pratique de bactériologie générale. Edition Ellipses-Marketing, Beecham-Sévigé, Paris, **1991**, p 43.

[15] C. Richard, M. Kiredjian, Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts: Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Acinetobacter, Brucelle, Bordetella; 2^{ème} édition. Ed Institut. Pasteur. Paris. **1995**, p: 42-43.

[16] M. Medjbar, A. Bouyoucef, T. Benayad, K. Zerrouki, Caractérisation des salmonelles dans les tueries avicole de la wilaya de Blida. Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie. **2008**, p: 158-161.

1.3.5.3. *Staphylocoques aureus*

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des *cocci* à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1µm. Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, sporulés, habituellement sans capsule. Elles sont la cause de la méningite, l'ostéomyélite et la diarrhée.^[16] *Staphylococcus aureus* est un germe aérobie-anaérobie facultatif.^[17] Il développe rapidement des résistances aux antibiotiques et les souches hospitalières ne sont souvent sensibles qu'aux glycopeptides.

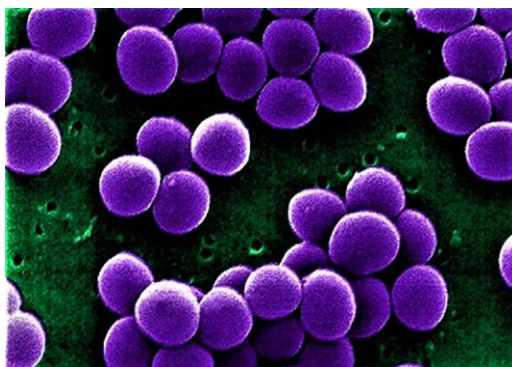


Figure 1.8: Bactérie de *Staphylocoques aureus*.

1.3.6. La levure *Candida albicans*

Les levures sont typiquement unicellulaires.^[18] *Candida albicans* est l'espèce de levure la plus connue du genre *Candida*. Au laboratoire médical, la culture en boîte pétri donne des colonies qui sont grandes, rondes, de couleur blanche ou crème. Le genre *Candida* comprend 81 espèces de champignons lévuriformes. *Candida albicans* est la plus souvent à l'origine de la plupart des manifestations pathologiques chez l'homme. C'est un champignon fréquemment retrouvé au niveau de la bouche, sur la peau, et du tractus gastro-intestinal de plusieurs personnes normales. Parmi les conditions favorisant une infection à *candida*, notons le diabète, la grossesse, les antibiotiques, les cortico-stéroïdes et toute maladie pouvant affecter l'état général d'un individu.^[19] Cette espèce est responsable de plus de 80% des infections connues sous le terme de candidose, comme les infections superficielles cutanées, infections superficielles muco-cutanées.^[20]

[17] H.F. Chambers, *Microbiol. Rev.*, **1997**, *10*, 781-791.

[18] F. Pieri, S. Kirkiacharian, *Pharmacologie et Thérapeutique*, 2ème édition marketing. Paris, **1992**, p 443.

[19] J. Delorme, A. Robert, *Mycologie médicale*. Ed., **1997**, p. 184.

[20] J.L. Avril, H. Dabernat, F. Denis, H. Monteil, *Bactériologie clinique*. (Ed) Paris, **2000**, p 602.

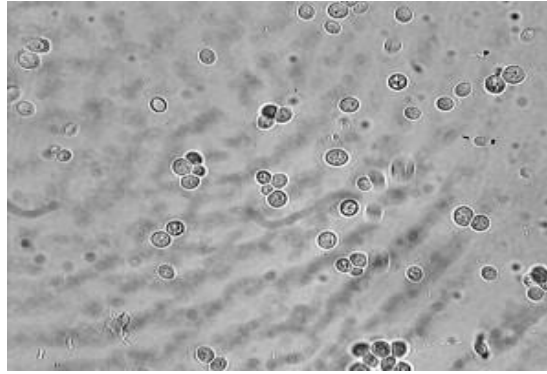


Figure 1.9: Bactérie de *Candida albicans*.

1.3.7. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne

L'antibiogramme (ATB) a pour but de déterminer les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis des divers antibiotiques. Par définition (O.M.S), la CMI est la plus faible concentration d'antibiotique capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une bactérie donnée, appréciable à l'œil nu, après une période d'incubation donnée. La détermination de cette valeur est peu précise.^[21]

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne *in vitro* sont nombreuses et donnent parfois des résultats différents selon les conditions expérimentales adoptées par chaque manipulateur. Deux genres de techniques sont utilisables:

1.3.7.a. Méthode de diffusion

Les disques de papier buvard imprégnés d'une quantité définie d'antibiotique sont déposés à la surface d'un milieu gélosé (milieu de Müller Hinton) préalablement ensemencé avec une suspension de bactéries. A partir du disque, l'antibiotique diffuse dans la gélose, sa concentration étant d'autant plus faible qu'on s'éloigne de la source (gradient de concentration). Après incubation du milieu de culture (18h à 37°C), on constate que chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne: la multiplication des microorganismes s'arrête là où il existe dans la gélose une concentration d'antibiotique supérieure ou égale à la concentration minimale inhibitrice (CMI).

On mesure le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne et on en déduit la valeur approchée de la CMI de l'agent antimicrobien vis à vis de la souche étudiée (l'aire

[21] J. Duval, C.J. Soussy, Abrégé d'antibiothérapie ; bases bactériologiques pour l'utilisation des antibiotiques. C.J. Published by Paris, Masson, 1980.

circulaire qui entoure le disque et qui ne montre aucune culture visible permet de mesurer le diamètre d'inhibition qui indique le degré de sensibilité de la bactérie).^[22]

1.3.7.b. Méthode de dilution

C'est la méthode de référence, qui peut être pratiquée en milieu solide et liquide, lorsque la mesure de la CMI est effectuée selon une technique en milieu liquide, on distribue dans un premier temps, dans une série de tubes à hémolyse stériles (ou dans les capsules d'une plaque), sous un même volume, des concentrations décroissantes d'antibiotique que l'on ensemence avec un inoculum calibré de la souche étudiée. Après 18 à 24h d'incubation à 37°C, la plus faible concentration de la gamme produisant l'inhibition de la culture microbienne est qualifiée de CMI.

Le principe de la technique en milieu solide est identique, différentes concentrations d'antibiotiques sont incorporées dans une série de boîtes qui contiennent un milieu nutritif solide par la présence de gélose. L'intérêt de cette technique en milieu solide réside dans la possibilité d'étudier un grand nombre de souches bactériennes.

1.3.8. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques apparaît comme un événement normal de l'évolution des microorganismes. Elle est toutefois favorisée par l'usage des antibiotiques qui exercent une pression de sélection en privilégiant la croissance de souches résistantes ou en induisant l'expression de phénotypes inductibles.

1.3.9. Les médicaments antibiotiques

Récemment, les taux de menaces microbiennes associés à l'apparition croissante de la résistance aux antimicrobiens dans les hôpitaux sont des préoccupations majeures pour la santé publique et les communautés scientifiques du monde entier. Il existe plusieurs classes d'antibiotiques.

Les principales sont les bêta-lactamines, les macrolides, les phénicolés, les sulfamides, etc.

[22] P. Ozenda, Flore et végétation du Sahara. In: CNRS (Ed.), Paris, 1991.

1.3.9.1. La familles des β -lactamines

Les β -lactamines sont une vaste famille d'antibiotiques qui ont été obtenues, d'abord par fermentation, puis par héli-synthèse. Tous ces antibiotiques présentent un mode d'action commun, mais se distinguent par le spectre, la sensibilité aux mécanismes de résistance, la pharmacocinétique ou la tolérance. Parmi les antibiotiques β -lactamines disponibles, les médicaments les plus utilisés on trouve, les Pénicillines et les Céphalosporines (Figure 1.10).

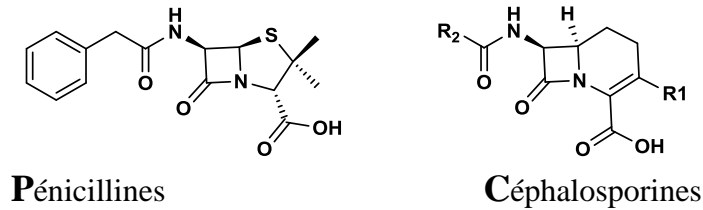


Figure 1.10: Pénicillines et les Céphalosporines.

1.3.9.2. La famille des macrolides

Les premiers macrolides sont d'origine naturelle (érythromycine, spiramycine, trioléandomycine). De nouveaux dérivés semi-synthétiques de l'érythromycine (roxithromycine, clarithromycine, dirithromycine, azithromycine) présentent d'importantes différences dans leurs paramètres pharmacocinétiques et une diminution nette des interactions médicamenteuses. Les kétolides présentent une activité vis-à-vis de souches résistantes aux macrolides conventionnels.

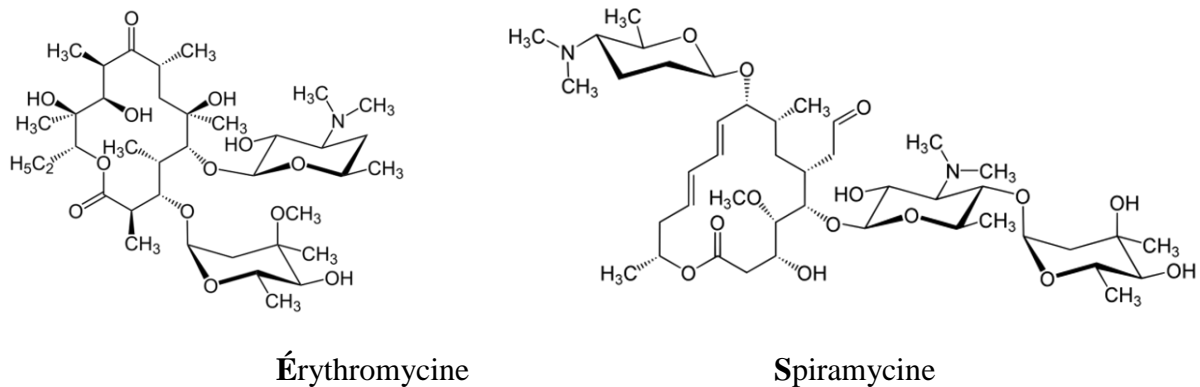


Figure 1.11: Structure de l'Érythromycine et la Spiramycine.

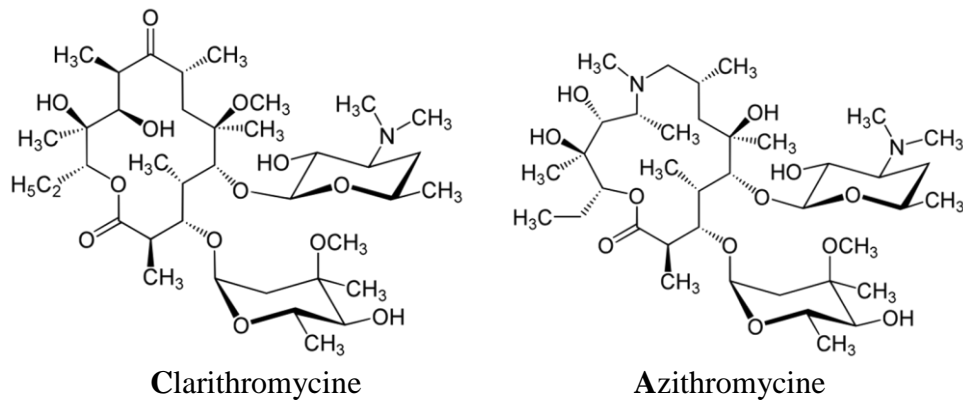


Figure 1.12: Structure de la Clarithromycine et Azithromycine.

1.3.9.3. La famille des phénicoles

Les phénicoles sont des antibiotiques potentiellement utiles en raison de leur large spectre et de leur bonne pénétration dans le système nerveux central, mais dont l'usage est actuellement limité pour leur toxicité médullaire. Les phénicoles sont des dérivés de l'acide dichloroacétique, porteurs aussi d'un phényle substitué. Le groupement dichloroacétamide est certainement important pour l'activité antibiotique. A l'heure actuelle, deux molécules sont en usage clinique: le Chloramphénicol, réservé à l'usage topique en raison de sa toxicité, et le Thiamphénicol (Figure 1.13).

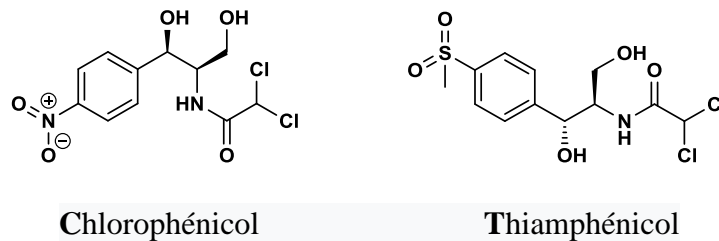


Figure 1.13: Structure de la Chlorophénicol et Thiamphénicol.

1.3.9.4. La famille des Sulfamides et Diaminopyridines

Les sulfamidés sont des molécules de synthèse, construites sur l'observation de l'activité antibiotique du **Prontosil** qui s'est révélé être une prodrogue. Aujourd'hui, ils sont souvent combinés aux diaminopyridines pour augmenter leur activité et réduire le risque d'émergence de résistance.

1.3.9.5. Combinaison d'antibiotiques

La combinaison de plusieurs antibiotiques pour traiter une infection grave est une stratégie courante et souvent efficace. Elle se justifie par une série d'avantages:

- elle peut conduire à une synergie entre les antibiotiques administrés. C'est l'effet recherché dans le traitement des endocardites par la combinaison β -lactame + aminoglycoside (la pénicilline favorise la capture de l'aminoglycoside par son effet sur la paroi) ou dans le traitement des infections urinaires par la combinaison Sulfamide + Triméthoprim (les deux produits exerçant des actions séquentielles sur une voie métabolique).

- elle permet de minimiser les risques de voir émerger des souches résistantes car la probabilité de sélectionner une souche résistante simultanément à plusieurs classes d'antibiotiques est nettement plus faible qu'en utilisant un seul agent. Ainsi, pour le traitement d'infections difficiles à éradiquer comme celles à mycobactéries, on utilisera toujours une association de deux, voire trois, antibiotiques.

1.3.10. Les Antifongiques

Les antifongiques (ou antifungiques) tirent leur nom du latin *fungus* qui signifie champignons. Ce sont donc des médicaments capables de traiter les mycoses.

Les mycoses sont des infections provoquées par des champignons microscopiques, organismes végétaux, dépourvus de chlorophylle, de structure filamenteuse ou unicellulaire. Les champignons font généralement partie de la flore commensale d'un individu, mais, plus généralement, vivent en saprophytes dans le milieu extérieur. Ils deviennent le plus souvent pathogènes et invasifs soit d'une inoculation massive (aspergillose pulmonaire p. ex.) soit à la faveur d'un terrain particulier (hôte immunodéprimé, traitement antibiotique déséquilibrant la flore commensale).

Les infections fongiques systémiques se rencontrent presque exclusivement chez les patients immunodéprimés. Les principaux agents responsables d'infections fongiques sont repris au tableau 1.2. Même si l'anatomie et la physiologie de ces organismes sont particulières, ils font partie du règne des eucaryotes, ce qui rend plus difficile la mise au point de médicaments à mode d'action ciblé. En outre, une étape déterminante dans l'action des antifongiques est leur capacité à atteindre leur cible moléculaire, car les champignons sont protégés par une enveloppe de nature chimique complexe, mais essentiellement hydrophobe (chitine, phospholipides, stérols, glycoprotéines).

Tableau 1.2. Les principaux agents responsables d'infections fongiques.

Champignons	site infecté préférentiellement
• Levures (<i>Candida</i>)	peau et muqueuses; système gastro-intestinal, système urinaire, système ostéoarticulaire, système cardio-respiratoire.
Cryptococcus	système nerveux central, système respiratoire, peau et muqueuses.
Histoplasma	Poumons, peau et muqueuses.
Blastomyces	Poumons, peau et muqueuses, os, voies génito-urinaires.
Coccidioides	Poumons, peau et muqueuses, système nerveux central.
Moisissures (<i>Aspergillus</i>)	oreille et sinus, œil, poumons, système nerveux central.
Mucorales (<i>Absidia</i> , <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i>)	système rhino-cérébral, poumons, système gastro-intestinal.

1.3.10.1. Comment agissent les antifongiques?

Un antifongique agira:

- soit en s'attaquant directement à la paroi fongique, provoquant ainsi la mort de la cellule (action fongicide).
- soit en bloquant la division cellulaire, arrêtant ainsi la reproduction des champignons (action fongistatique).

1.3.10.2. Résistance

De rares résistances sont décrites dans des unités hospitalières qui font un usage large de ces médicaments. Elles touchent des souches de *Candida lusitanae*, *Candida tropicalis* et *Petriellidium boydii*, *Trichosporon* et *Fusarium*. Les mécanismes de résistance incluent des altérations de la membrane lipidique, particulièrement des stérols, des altérations des phospholipides, une augmentation de l'activité de la catalase entraînant une réduction de la susceptibilité aux dommages oxydatifs.

1.3.10.3. Les médicaments antifongiques

1.3.10.3.1. Prescription courante des médicaments antifongique

Contrairement à la chimiothérapie antibactérienne, il y a relativement peu d'agents antifongiques disponibles. C'est parce que, jusqu'aux années 1970, les infections fongiques étaient moins fréquentes. Cela était dû soit à un manque de diagnostic ou d'occurrence, et historiquement était beaucoup moins susceptible de causer la fatalité, du moins dans le «monde développé». Ceci, couplé avec l'extrême difficulté dans le développement d'un médicament qui est sélectif contre les cellules fongiques, qui sont très semblables à la cellule de mammifères, a été attribuée à la rareté des fongicides de prescription.^[23]

L'Amphotéricine B,^{[24],[25],[26],[27]} parentérale est le traitement de choix des mycoses systémiques (candidose, cryptococcose, aspergillose, histoplasmosse, blastomycose). L'administration orale est réservée aux candidoses buccales et digestives. Le traitement local suffit aux formes superficielles de candidoses, pityrosporoses ou autres infections mycosiques muqueuses. Par voie orale, la Nystatine est utilisée dans le traitement des infections digestives à *Candida*, *Trychosporon*, *Geotrichum*. Une application particulière consiste dans la décontamination digestive (prophylaxie en chirurgie digestive, par exemple). Par voie locale, la Nystatine convient au traitement des candidoses cutanées ou muqueuses.

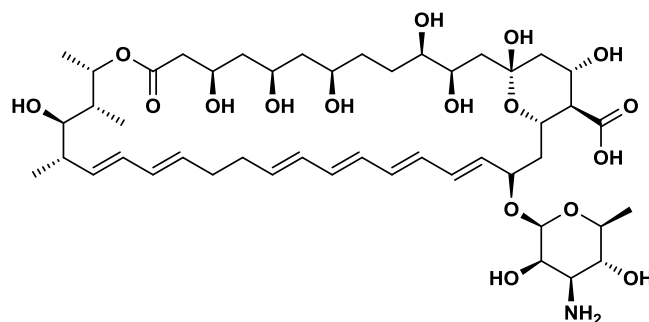


Figure 1.14: Structure de la Nystatine.

[23] N. Gow, *Mycologist*, Cambridge University Press, U. K., **2002**, 16.

[24] E.A. Stone, H.F. Harold, L. Kirshenbaum, *Clinical Therapeutics*, **2002**, 24, 3-12.

[25] (a) J. Onishi, M. Meinz, J. Thompson, *J. Antimicrob. Agent, Chemo.*, **2000**, 44, 368-377; (b) N. H. Georgopapadakou, *Microb.*, **1995**, 3, 98-104.

[26] E. Hazen, R. Brown, *Science*, **1950**, 112, 423-423.

[27] (a) F. Odds, *Mycologist*, **2003**, 17, 51-55. (b) V. Andriole, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2000**, 16, 317-321.

1.3.10.4. Agents antifongiques synthétiques

Le 5-Flucytosine^[28] (Figure 1.15) est un analogue de la pyrimidine fluorée. Il est converti en un antimétabolite 5-fluoro-uracile (5-FU) dans les cellules fongiques, mais pas dans les cellules de mammifères. Le 5-FU inhibe l'enzyme thymidylate synthétase et affecte ainsi la réplication de l'ADN. Le 5-Flucytosine est utilisé en conjonction avec l'AmB comme un traitement pour les infections fongiques systémiques graves telles que la Méningite cryptococcique. Le 5-Flucytosine n'est pas prescrit seul comme la résistance se pose couramment pendant le traitement.

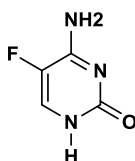


Figure 1.15: structure de 5-Flucytosine.

1.3.10.5. Derniers ajouts à l'arsenal de médicaments antifongiques

Il ya plusieurs médicaments antifongiques qui sont soit nouveau sur le marché ou en fin de phase essais cliniques. Ils incluent quelques nouveaux azoles, p.ex. Ravuconazole^[28] (Figure 1.16), un triazole structurellement liés au fluconazole, qui ont montré des résultats très prometteurs essais cliniques dans un essai de drogue de thérapie de sauvetage. La Sordarine^[29] (Figure 1.16) est un produit naturel obtenu à partir des champignons *Sordaria araneosa SP.*, et agit en inhibant l'étape d'élongation de la synthèse protéique dans l'organisme cible.

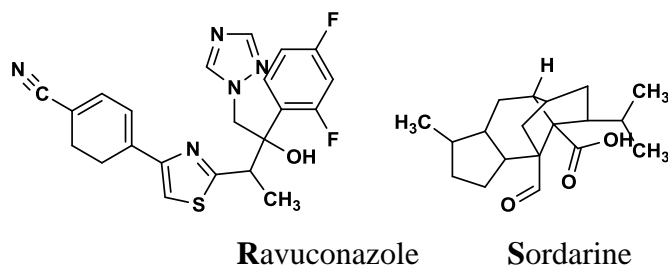


Figure 1.16: Ravuconazole et Sordarin.

[28] R.F. Hector, *Clin. Tec. Small. Anim. Prac.*, **2005**, 20, 240-249.

[29] A. Basilio, J. Collado, M.T. Diez, Z. Guan, G.H. Harris, M.C. Justice, J. Nielsen-kahn, M.S. Shastry, Merck and Co. INC (P O BOX 2000 Rahway, NJ, U.S., 0706509071971, 51, 119-120.), **2004** patent (IPC1-7): A61K031/522; A61K031/7076; C07D493/12; A61K031/7072.

1.4. CONCLUSION

Au cours de ce chapitre de la première partie, nous nous sommes focalisés sur les antibactériens et les antifongiques, en montrant l'intérêt biologique de ces derniers sur lesquels nous allons centrer notre étude relative à l'évaluation biologique. En effet, le domaine anti-infectieux est l'un des axes pharmaceutiques principalement développé au sein de l'équipe de pharmacochimie. C'est la raison pour laquelle nous nous sommes intéressés dans un premier temps à la synthèse de benzoxazin-3(4*H*)-ones, qui ont retenu notre attention compte-tenu de leur possible intérêt, principalement connues pour leurs activités antibactériennes et antifongiques. Par conséquent, l'objectif de ce travail est d'obtenir des molécules d'intérêt biologique dans cette série chimique selon une méthodologie synthétique originale, efficace et respectueuse pour l'environnement.

CHAPITRE 2
Généralités sur les
benzoxazin-3(4*H*)-ones

Chapitre 2-Généralités sur les benzoxazin-3(4H)-ones

2.1. INTRODUCTION

Les composés N-hétérocyclique présentent depuis longtemps une classe importante en raison de leurs diverses applications thérapeutiques et synthétique,^[1] grâce à leurs propriétés particulières venant de la présence d'un atome d'azote. Les 2H-benzoxazin-3(4H)-ones sont parmi les composés azotés les plus utilisés en synthèse organique; ce sont également des synthons utiles pour plusieurs produits naturels et de molécules bioactives. Ces propriétés particulières leurs ont donné une très grande importance dans l'industrie pharmaceutique et agrochimique,^[2] et aussi pour leurs diverses applications telles que: pesticides, bactéricides.^{[3],[4],[5],[6],[7]}

Dans ce chapitre nous présenterons l'état des travaux antérieurs sur ces hétérocycles azotés: 2H-benzoxazin-3(4H)-ones, leurs intérêts biologiques, leurs différentes méthodes de synthèse à partir de précurseurs variés et l'étude de la réactivité de ces dérivés. En effet, les dérivés benzoxazin-3(4H)-ones sont des composés très importants utilisés en synthèse organique dans l'élaboration de nouveaux systèmes hétérocycliques hautement fonctionnalisés.

Par ailleurs, les dérivés de la benzoxazin-3(4H)-one^[8]: tels que le **Belpharin A** (Figure 2.1), et autres glucosides à base de squelette 2-hydroxy-2H-1,4-benzoxazinone, isolés à partir des plantes graminées tels que le maïs, le riz et le seigle, ont été suggérés comme facteurs de résistance des plantes contre les maladies microbiennes et les insectes.^[9]

[1] T. Eicher, S. Hauptmann, *The Chem. of Heterocycles.*, 2nd ed, Wiley-VCH: Weinheim., **2003**.

[2] (a) D.S. La, J. Belzile, J.V. Bready, A. Coxon, T. DeMelfi, N. Doerr, J. Estrada, J.C. Flynn, S.R. Flynn, R.F. Graceffa, S.P. Harriman, J.F. Larrow, A.M. Long, M.W. Martin, M.J. Morrison, V.F. Patel, P.M. Roveto, L. Wang, M.M. Weiss, D.A. Whittington, Y. Teffera, Z. Zhao, A.J. Polverino, J.C. Harmange, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 1695–1705; (b) J. Ilaš, T. Tomašić, D. Kikelj, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 2863-2867; (c) J. Ilaš, Ž. Jakopin, T. Borštnar, M. Stegnar and D. Kikelj, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*(18), 5617-5629.

[3] M. Frey, P. Chomet, E. Glawischnig, C. Stettner, S. Grün, A. Winklmaier, *et al*, *Science*, **1997**, *77*, 696–699.

[4] M. Zikmundova, K. Drandarov, L. Bigler, M. Hesse, and C. Werner, *Appl. Environ. Microbiol.*, **2002**, *68*(10), 4863–4870.

[5] H.R. Bravo, S.V. Copaja, *Anna. Appl. Biol.*, **2002**, *140*, 129–132.

[6] A.E. Glenn, S.E. Gold, C.W. Bacon, Fdb1 and Fdb2, *Mol. Plant. Microbe. Interact.*, **2002**, *15*(2), 91–101.

[7] M.-Z. Huang, K.-L. Huang, Y.-G. Ren, M.-X. Lei, L. Huang, Z.-K. Hou, A.-P. Liu, X.-M. Qu, *J. Agric. Food. Chem.*, **2005**, *53*, 7908-7914.

[8] G.P. Ellis, *John. Wiley. And. Sons.*, **1987**, 55-71.

[9] P.K. Hietala, A.I. Virtanen, *Acta. Chem. Scand.*, **1960**, *14*, 502.

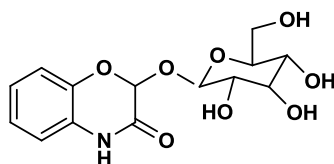


Figure 2.1: Structure du Belpharin A.

Le noyau 1,4-benzoxazin-3(4H)-one est aussi présent dans divers antibiotiques tel que le composé **C-1027 B**, décrit dans la littérature comme étant un chromophore actif d'antibiotiques enediynes anti-tumoraux (Figure 2.2).^[10] De plus, certaines 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones ont largement été étudiées dans différents domaines de la chimie, y compris l'industrie chimique et pharmaceutique. Ces dérivés benzoxazinoniques présentent plusieurs sites actifs, leur conférant une grande réactivité, faisant de ces hétérocycles d'excellents précurseurs dans la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques susceptibles de présenter d'intéressantes propriétés pharmacologiques tels que, antibactériens,^{[11],[12]} anti-inflammatoires,^[13] antiulcéreux,^[14] antipyrétiques,^[15] anti-hypertensives,^[16] antifongiques,^[17] modulateurs des canaux de potassium,^[18] et agents antirheumatiques.^[20] Certains dérivés peuvent également être utiles dans le traitement des maladies cardiaques et autres.^[19]

[10] W. Liu, D.S. Christenson, S. Standage, B. Shen, *Science*, **2002**, 297, 1170-1173.

[11] M. Akhter, A. Husain, N. Akhter, M.S.Y Khan, *Indian. J. Pharm. Sci.*, **2011**, 73(1), 101-104.

[12] R. Frechette, M.A. Weidner-Wells, *WO. Patent. Appl.*, 9717333, **1997**.

[13] P.Smid, H.K.A.C. Coolen, H.G. Keizer, R. van Hes, J.-P. de Moes, A.P. den Hartog, B. Stork, R.H. Plekkenpol, L.C. Niemann, C.N.J. Stroomer, M.T.M. Tulp, H.H. van Stuivenberg, A.C. McCreary, M.B. Hesselink, A.H.J. Herremans, C.G. Kruse, *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 6855-6869.

[14] R. Fringuelli, D. Pietrella, F. Schiaffella, A. Guarraci, S. Perito, F. Bistoni, A. Vecchiarelli, *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10, 1681.

[15] A. Macchiarulo, G. Costantino, D. Fringuelli, A. Vecchiarelli, F. Schiaffella, R. Fringuelli, *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10, 3415.

[16] T.B.Jr. Lanni, K.L. Greene, C.N. Kolz, K.S. Para, M. Visnick, J.L. Mobley, D.T. Dudley, T.J. Baginski, M. B. Liimatta, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, 17(3), 756-760.

[17] M.-Z. Huang, K.L. Huang, Y.G. Ren, M.X. Lei, L. Huang, Z.K. Hou, A.P. Liu, X.M. Qu, *J. Agric. Food. Chem.*, **2005**, 53, 7908.

[18] M. Anderluh, J. Cesar, P. Stefanic, D. Kikelj, D. Janes, J. Murn, K. Nadrah, M. Tominc, E. Addicks, A. Giannis, M. Stegnar, M.S. Dolenc, *Eur. J. Med. Chem.*, **2005**, 40, 25.

[19] M. Hori, I. Watanabe, H. Ohtaka, K. Harada, J. Maruo, T. Morita, T. Ya-mamoto, H. Tsutsui, *Patent.*, 1996/719766, **1996**.

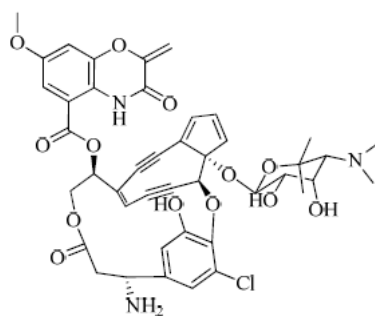


Figure 2.2: Le composé **C-1027 B**, chromophore actif d'antibiotiques enediynes anti-tumoraux.

La synthèse de certains composés hétérocycliques a contribué positivement dans l'amélioration des conditions de la vie humaine. Un exemple de composés contenant un noyau 1,4-benzoxazin-3(4H)-one utilisé comme herbicides efficaces: la **Flumioxazine C** et la **Thidiazimine D** (Figure 2.3).^[20] Le mode d'action de ces dérivés est probablement l'inhibition de la protoporphyrinogène oxydase, enzyme importante pour la synthèse de la chlorophylle.

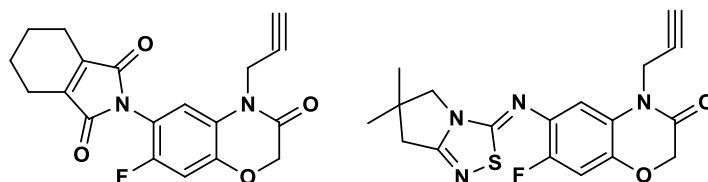


Figure 2.3: Structure de la **Flumioxazine C** et la **Thidiazimine D**.

De plus, le **Bemoradan E** est un agent vasodilatateur inotrope actif oralement à action prolongée,^[21] et des analogues du **Fluconazole F** qui se sont révélés être une nouvelle classe d'agents antifongiques actifs contre *Candida albicans* (Figure 2.4).^[22]

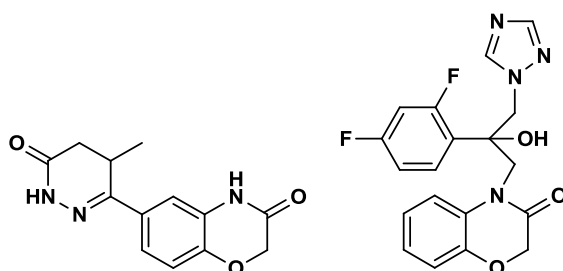


Figure 2.4: Structure chimique du **Bemoradan E** et du **Fluconazole F**.

[20] M.Z. Huang, F.X. Luo, H.B. Mo, Y.G. Ren, X.G. Wang, X.M. Ou, M.X. Lei, A.P. Liu, L. Huang, M.-C. Xu, *J. Agric. Food. Chem.*, **2009**, 57, 9585-9592.

[21] D.W. Combs, M.S. Rampulla, S.C. Bell, D.H. Klaubert, A.J. Tobia, R. Falotico, B. Haertlein, C. Lakas-Weiss, and J.B. Moore, *J. Med. Chem.*, **1990**, 33, 380-386.

[22] H.B. Borate, S.R. Maujan, S.P. Sawargave, M.A. Chandavarkar, S.R. Vaiude, V.A. Joshi, R.D. Wakharkar, R. Iyer, R.G. Kelkar, S.P. Chavan, S.S. Kunte, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, 20,722-725.

D'autre part, les dérivés 2H-benzoxazin-3(4H)-ones sont considérés comme analogues structuraux des acides aryloxyalcanoïques, plus connus sous le nom de fibrates **G**. C'est l'une des familles les plus utilisées dans le domaine des normolipémiants (Figure 2.5).

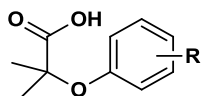


Figure 2.5: Structure des fibrates **G**.

Parmi les médicaments actuellement utilisés, les fibrates constituent toujours la famille la plus importante du moins quant au nombre de ses représentants (Figure 2.6).



Clofibrate: X = Cl, R₁ = Et, R₂ = R₃ = CH₃

Figure 2.6: Exemple de fibrates, structure chimique du médicament Chlofibrate.

Lors d'études préliminaires, sur la série des 6-acyl-1,4-benzoxazin-3-ones, qui sur le plan structural est la plus proche des Fibrates, et en particulier du Fenofibrate **H** (Figure 2.7), s'étant révélée moins active que celles des isomères acylé en 7 **I** (Figure 2.8).^[23]



Clofibrate: X = Cl (p), R = -CH₂-CH₃

Fenofibrate: X = -CO-C₆H₄-Cl(p), R = C₃H₇

Figure 2.7: Structure chimiques du médicament Fénofibrate **H**.

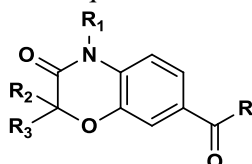


Figure 2.8: 7-acyl-2,3-dihydro-1,4-benzoxazin-3-ones **I**.

Plusieurs 7-aroïl, 7-acyl, 7-cynnamoyl-2,3-dihydro-1,4-benzoxazin-3-ones ont été synthétisés et étudiés, quant à leurs propriétés normolipémiantes. Les études pharmacodynamiques ont mis en évidence pour certains dérivés une activité hypocholestérolémiante voisine de celle de Fénofibrate.^[24] Depuis lors plusieurs voies de synthèse ont été proposées, cependant, le plus souvent dans des conditions particulières ou avec des rendements moyens voir même faibles.

[23] Z. Moussavi, M.O. Plancke, Ph. Olivier, D. Lesieur, J.C. Fruchart, J. Sauziers, *Clinica. Chimica. Acta.*, **1989**, 180, 35-44.

Ainsi, ces quelques exemples mettent en évidence le rôle important des 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones dans le domaine de la chimie pharmaceutique. Tenant compte de leurs applications tant dans le domaine agrochimique que dans le domaine pharmaceutique, ils constituent souvent des cibles de choix en synthèse organique.

2.2. STRUCTURE DES 2H-BENZOXAZIN-3(4H)-ONES

Généralement, les composés 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones ont un système bicyclique formé de l'accolement d'un noyau aromatique, et d'un autre noyau hétérocyclique oxazinonique constitué de deux hétéroéléments (un atome d'oxygène et un atome d'azote) et portant un groupe carbonyle. Les plateformes peuvent être différemment substituées au niveau de l'atome d'azote en position 4, du cycle aromatique ou encore sur le carbone 2 de l'hétérocycle. Leurs utilisations en synthèse organique dans l'élaboration de nouvelles molécules hétérocycliques hautement fonctionnalisées est justifiée par leurs propriétés biologiques potentielles, ainsi que de leurs importantes et diverses utilisations pharmaceutiques. Cependant, les études relatives à la préparation et l'évaluation de leurs propriétés pharmacologiques est d'un intérêt considérable. La structure de ce pharmacophore de base «**2H-1,4-Benzoxazin-3-(4H)-one**» utilisé pour la réalisation de notre travail est représenté par la Figure 2.9 ci-dessous.

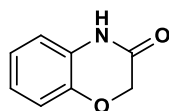


Figure 2.9: Structure de la 2H-1,4-Benzoxazin-3-(4H)-one.

Tenant compte de la richesse de la chimie des benzoxazin-3-(4H)-ones, et leurs diverses applications dans plusieurs domaines de la science, nous présentons dans cette revue bibliographique les principales méthodes de synthèse, la réactivité et les propriétés biologiques les plus significatives de ce type de noyaux hétérocycliques se retrouvant dans de nombreuses molécules d'origine naturelle ou synthétique.

2.3. SYNTHÈSE DES DÉRIVÉS 2H-1,4-BENZOXAZIN-3-(4H)-ONES

En se basant sur le grand intérêt porté par les systèmes moléculaires contenant le motif structural 2H-1,4-Benzoxazin-3-(4H)-one, nombreuses sont les méthodes décrites dans la littérature décrivant la synthèse de ces dérivés. Dans tous les cas, les protocoles de leur préparation les plus significatifs, utilisent les 2-aminophénols, les 2-nitrophénols substitués ou

les dérivés 2-halophénols comme précurseurs.^{[24],[25]} En effet, diverses stratégies permettant l'introduction de divers groupements ont été développées.

Dans ce chapitre nous nous intéresserons aux principales méthodes de leur préparation (Figure 2.10).

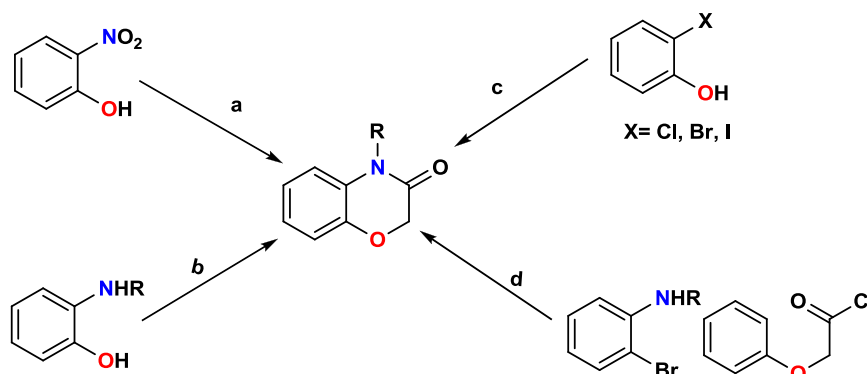


Figure 2.10: Principales voies de synthèse des 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones.

2.3.1. Principales méthodes de synthèse des dérivés 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones

2.3.1.a. Synthèse à partir des dérivés 2-nitrophénols

Les séquences réactionnelles classiques permettant l'obtention des 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones à partir des dérivés 2-nitrophénols se réalise en trois étapes. Dans un premier temps, le dérivé 2-nitrophénol est engagé dans une étape d'O-alkylation. Après réduction du groupe nitro, la cyclisation permet de conduire aux composés benzoxazin-3(4H)-ones souhaités. Les premières synthèses des 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones *via* cette méthode ont été décrites en 1879 par Fritzsche, et par la suite en 1884 par Thate.^{[26],[27]} La seule différence entre ces deux méthodes réside dans l'étape de réduction. Celle proposée par Fritzsche se faisait en présence d'un mélange d'étain et d'acide chlorhydrique (Sn/HCl), alors que celle de Thate avait été réalisée en présence du fer et d'acide acétique. En 2000, cette voie de synthèse a été utilisée par plusieurs auteurs pour la synthèse des différentes 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones *N*-hydroxylées alkylées en position C-2.^[28] Après déprotonation en présence d'un mélange K₂CO₃/MeOH, le phénolate est mis en présence de l' α -alcanoate d'éthyle correspondant pour donner le dérivé intermédiaire 2-(O-nitrophénoxy)-alcanoate d'éthyle, suivie d'une réduction

[24] E.G. Feng, H. Huang, Y. Zhou, D.J. Ye, H.L. Jiang, H. Liu, *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 2846–2849.

[25] D.B. Chen, G.D. Shen, W.L. Bao, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 4067–4073.

[26] P. Fritzsche, *J. für. Praktische. Chem.*, **1879**, 20, 283.

[27] A. Thate, *J. für. Praktische. Chem.*, **1884**, 29, 178.

[28] S. Özden, A. Murat Öztürk, H. Göker, N. Altanlar, *Il. Farmaco.*, **2000**, 55, 715-718.

dans un mélange de Zn/NH₄Cl a permis l'obtention des hydroxylamine, qui par cyclisation spontanée produisent les différentes 1,4-benzoxazin-3-ones *N*-hydroxylées souhaitées (Schéma 2.1).

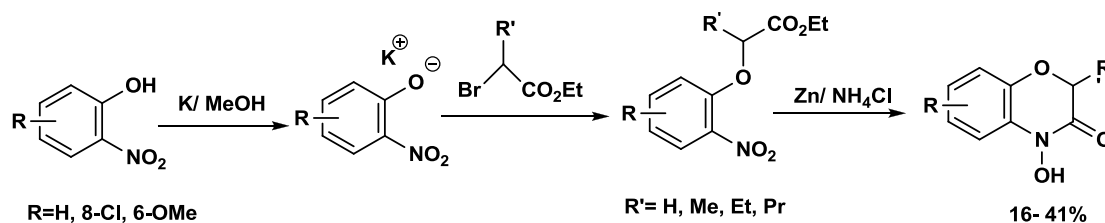


Schéma 2.1: Stratégie *O*-alkylation-réduction-cyclisation.

La première synthèse supportée de dérivés benzoxazin-3-(4*H*)-ones s a été décrite par Lee *et al.* en 2001.^[29] La séquence réactionnelle commence par un couplage entre l'acide 4-hydroxy-3-nitrobenzoïque et la résine de Rink préalablement déprotégée. Le 2-nitrophénol greffé est alors alkylé par le 2-bromoalcanoate d'alkyle ou d'aryle en présence d'une base pour former les composés éthers nitrés intermédiaires. Le groupe nitro est ensuite réduit en utilisant le chlorure d'étain dihydraté (SnCl₂.2H₂O), et la cyclisation se produit dans le toluène à reflux. Après la *N*-alkylation de l'amide des composés obtenus, les différents benzoxazin-3-(4*H*)-ones sont libérés de la résine dans un milieu acide (Schéma 2.2).

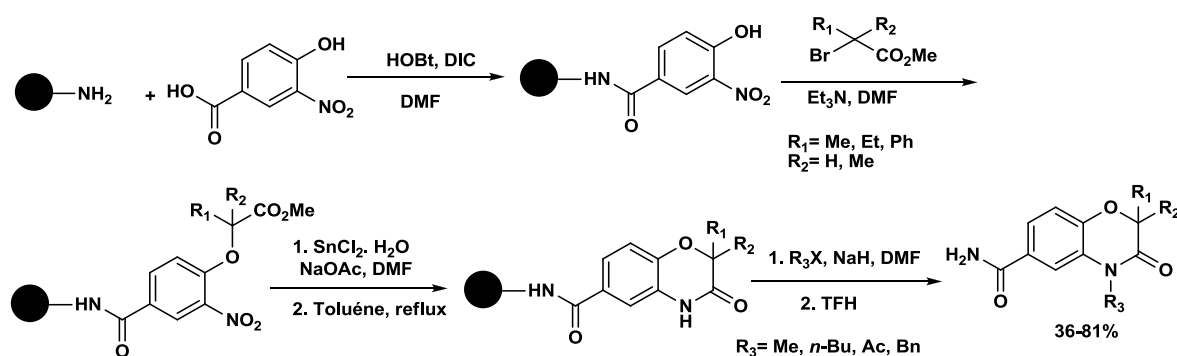


Schéma 2.2: Première synthèse supportée des benzoxazin-3(4*H*)-ones.

En 2004, la synthèse d'une 1,4-benzoxazin-3-(4*H*)-one chirale à partir de la (*S*)-2-hydroxy- γ -butyrolactone a été décrite par Rybczynski *et al.*^[30] Le groupe nitro de la lactone chirale (*R*)-3-(2-Nitrophenoxy)dihydrofuran-2-one obtenue après réaction de Misunobu à partir du 2-nitrophénol est réduite par hydrogénation catalytique. Par cyclisation, la (*R*)-2-(hydroxyéthyl)-2*H*-1,4-benzoxazin-3-(4*H*)-one est directement obtenue (Schéma 2.3).

[29] C.L. Lee, K.P. Chan, Y. Lam, S.Y. Lee, *Tetrahedron. Lett.*, **2001**, 42, 1167-1169.

[30] (a) P.J. Rybczynski, R.E. Zeck, J. Dudash, D.W. Combs, T.P. Burris, M. Yang, M.C. Osborne, X. Chen, K.T. Demarest, *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 196-209; (b) P.J. Rybczynski, R.E. Zeck, D.W. Combs, I. Turchi, T.P. Burris, J.Z. Xu, M. Yang, K.T. Demarest, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, 13, 2359-2362.

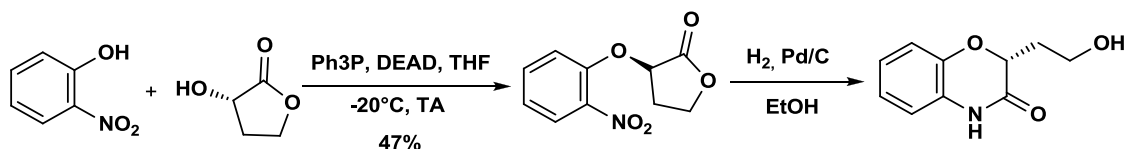


Schéma 2.3: Synthèse d'une benzoxazin-3-(4H)-one chirale.

Kirk *et al.*^[31] ont décrit la synthèse des 2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ones, mettant en jeu la formation d'une liaison 3-4, utilisant les 2-nitrophénols ou leurs dérivés comme précurseurs. Ils ont ainsi obtenu, en deux étapes, plusieurs 2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ones différemment substituées, à partir de *N*-(2-nitrophénoxyacétyl) dipeptides. La synthèse implique une hydrogénation dans le bicarbonate de sodium aqueux, en présence d'oxyde de platine, suivie d'une cyclisation spontanée des amines résultantes pour obtenir enfin le dérivé lactame. La séquence mécanistique de la cyclisation met en jeu une attaque intramoléculaire du groupe amino aromatique, impliquant un transfert de proton (Schéma 2.4).

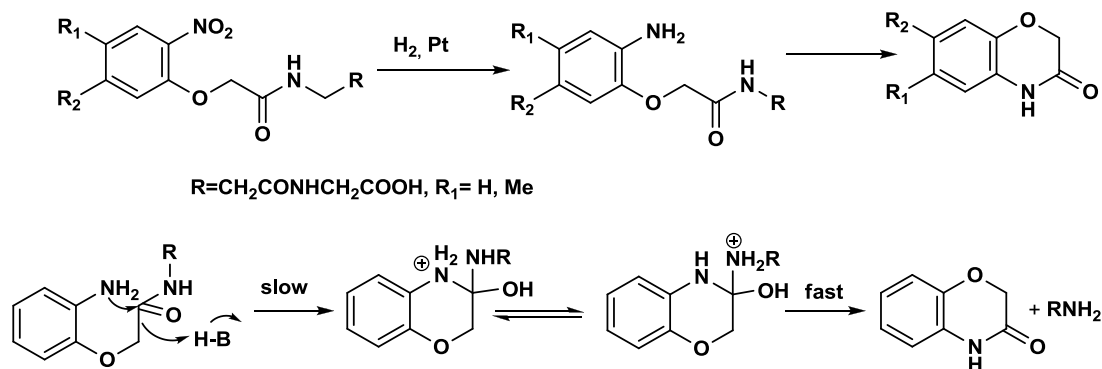


Schéma 2.4: Séquence mécanistique de la cyclisation, mettant en jeu une attaque intramoléculaire.

Macías *et al.*^[32] ont aussi mis au point une méthode similaire en deux étapes pour la synthèse de la 2*H*-benzoxazin-3(4*H*)-one, mettant en jeu une *O*-alkylation du 2-nitrophénol avec le bromoacétate d'éthyle dans le DMF en présence de l'éthanol et de KOH, suivie d'une cyclisation réductrice du 2-nitrophénoxyacétate d'éthyle formé intermédiairement en présence du palladium sur charbon à (Pd/C 10%) et du borohydrure de sodium dans une solution aqueuse de 1,4-dioxane pour donner la 2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-one avec un rendement de 70% (Schéma 2.5).

[31] K.L. Kirk, L.A. Cohen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94(23), 8142-8147.

[32] F.A. Macías, D. Marín, A. Oliveros-Bastidas, D. Chinchilla, A.M. Simonet, J.M.G. Molinillo, *J. Agric. Food Chem.*, **2006**, 54, 991-1000.

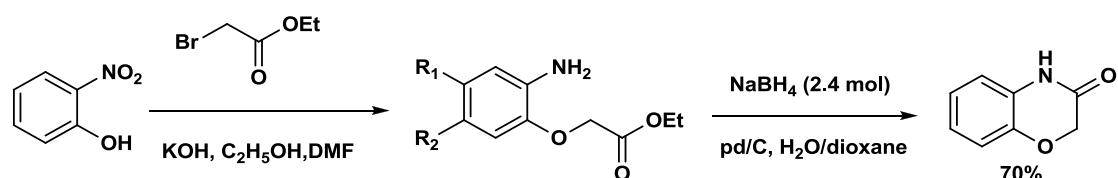


Schéma 2.5: Synthèse de la benzoxazin-3(4H)-one à partir de 2-nitrophénol en deux étapes.

Ramesh *et al.*^[33] ont proposé une voie simple de synthèse pour les dérivés 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones, par cyclisation, impliquant la formation de la liaison **3-4** du système bicyclique. L'utilisation des 2-nitrophénols et des chloro- ou bromoacétonitriles, en présence du carbonate de potassium dans l'acétone anhydre, a permis de préparer les produits d'addition de structures 2-(2-nitrophénoxy)acétonitriles intermédiaires correspondants qui, après traitement avec du fer dans l'acide acétique à reflux dans l'acétone, donnent les composés benzoxazinoniques finaux avec d'excellents rendements (Schéma 2.6).

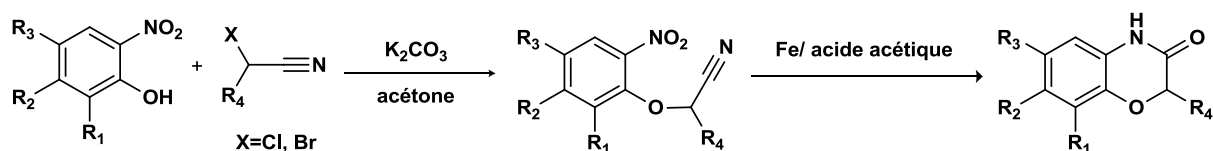
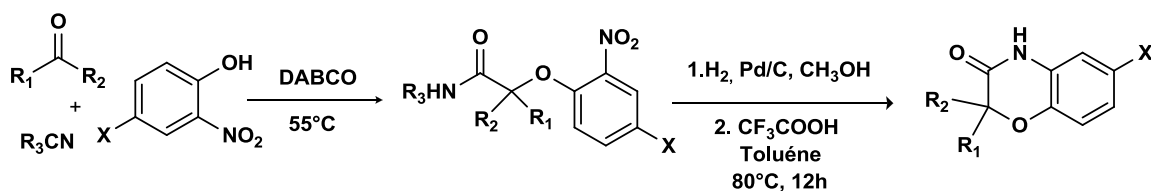


Schéma 2.6: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir des 2-nitrophénols et des chloro(bromo)acétonitriles.

Dans le même contexte, Martinand-Lurin *et al.*^[34] ont proposé une nouvelle méthode pour la synthèse de nouveaux dérivés 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones. La synthèse implique d'abord une réaction simple et efficace à trois composants à partir de matières premières facilement disponibles, y compris les 2-nitrophénols avec les aldéhydes et les isocyanure en présence d'une amine tertiaire-DABCO (1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane), suivie d'une cyclisation réductrice des *O*-aryloxy carboxamides formés intermédiairement en présence du palladium sur charbon (Pd/C 10%) dans le méthanol, en présence de l'acide trifluoroacétique et du toluène, a pu donner les 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones correspondants avec un rendement entre (44-94%) (Schéma 2.7).

[33] C. Ramesh, B.R. Raju, V. Kavala, C.W. Kuo, C.F. Yao, *Tetrahedron*, **2011**, 67, 1187–1192.

[34] M.-L. Elodie, E.K. Laurent, G. Laurence, *Tetrahedron. Lett.*, **2014**, 55, 5144–5146.



$R_1 = i\text{-Pr, CH}_2\text{CH}_2\text{Ph, Et, 3-Fc}_6\text{H}_4, 4\text{-MeOC}_6\text{H}_4, \text{CF}_3, \text{CH}_2\text{OCH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$

$R_2 = \text{H, CH}_3 \quad R_3 = \text{Cy, 4-MeOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2, 3,4\text{-(MeO)}_2\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$

$X = \text{H, Cl, Br, OCH}_3, \text{CH}_3$

Schéma 2.7: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones par réaction du 2-nitrophénols avec les aldéhydes et les isocyanures.

2.3.1.b. Séquences réactionnelles à partir de dérivés 2-aminophénols

De nouvelles voies de synthèse ont été envisagées directement à partir des 2-aminophénols, afin d'éviter l'étape de réduction du groupe nitro. Plusieurs travaux ont été cités dans la littérature pour des hétérocycles benzoxazin-3(4H)-ones. Nous exposons les principaux d'entre eux.

Aschan en 1887^[35] a rapporté la première stratégie développée pour la préparation de la benzoxazin-3(4H)-one à partir du 2-aminophénol. Après acylation par le chlorure de chloroacétyle dans le benzène, l'amide formé est cyclisé par *O*-alkylation intramoléculaire en milieu alcalin pour donner la benzoxazin-3(4H)-one (Schéma 2.8).

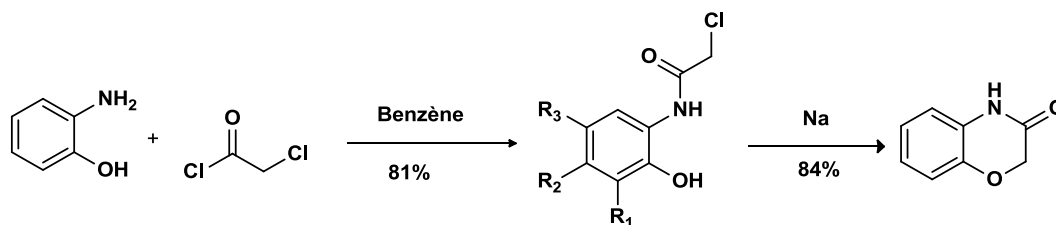


Schéma 2.8: Stratégie *N*-acylation-cyclisation pour la synthèse de la Benzoxazin-3-(4H)-one.

Ces conditions ont par la suite été reprises et améliorées pour synthétiser divers dérivés avec de meilleurs rendements.

Parmi les premiers travaux sur la synthèse des dérivés 2H-1,4-Benzoxazin-3-(4H)-ones; il y a ceux décrits par Huang *et al.* en 1984,^[36] qui ont mentionnés l'obtention exclusive de ces derniers en une seule étape, à partir des 2-aminophénols convenablement substitués sur le noyau aromatique. Ils ont montré qu'il était possible de synthétiser ces composés, en faisant réagir le chlorure de chloroacétyle sur les différents 2-aminophénols en présence de

[35] O. Aschan, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1887**, 20, 1523-1524.

[36] X. Huang, and C.C. Chan, *Synthesi.*, **1984**, 842-851.

bicarbonate de sodium et de la benzyltriéthylammonium (TEBA) comme catalyseur dans le chloroforme (Schéma 2.9).

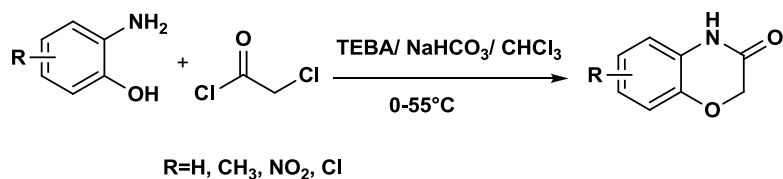


Schéma 2.9: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir des 2-aminophénols et du chlorure de chloroacétyle.

De même, une étude sur la synthèse de ce type de dérivés a été développée par Danette A. Dudley *et al.*,^[37] en 2000. Ce protocole consiste à préparer les divers dérivés convenablement substitués en position 2 de l'hétérocycle benzoxazinonique, en se basant sur une réaction de couplage entre le 2-aminophénol chlorhydrate et les 2-bromo-2-phénylacétates de méthyle dans le DMF en présence de l'hydrure de sodium (Schéma 2.10).

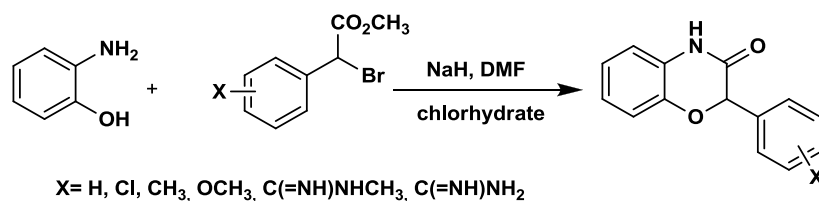


Schéma 2.10: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir de l'o-aminophénol chlorhydrate et du 2-bromo-2-phénylacétate.

D'autre part, Rajagopalan *et al.*^[38] ont mentionnés l'obtention exclusive de la 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one, par condensation de l'ortho-aminophénol avec le chlorure de 2-chloroacétyle, pour donner le composé intermédiaire N-(2-hydroxyphényl)-2-chloroacétamide, qui subit une réaction de cyclisation intramoléculaire, induisant la formation de la liaison 1-2, par chauffage dans une solution aqueuse de potasse ou de soude (Schéma 2.11).

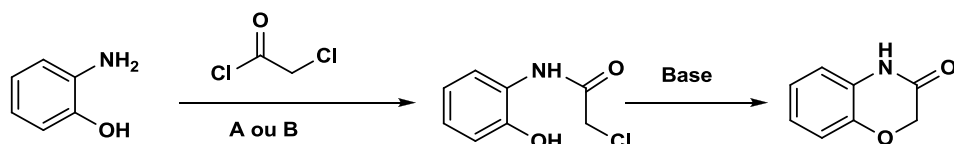


Schéma 2.11: Synthèse de la 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one à partir de l'o-aminophénol et le chlorure de 2-chloroacétyle dans un milieu aqueux alcalin.

[37] A.D. Danette, M.B. Amy, C. Liguio, L.C. Wayne, R.H. Debra, P.I. Diane, J.-D. Nancy, B.M. Thomas, E.M. Thomas, S.N. Lakshmi, T.R. Stephen, A.T. Julia, A.V.H. Chad, and J.E. Jeremy, *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 4063–4070.

[38] P. Rajagopalan, *U. S. Patent.*, *4*, 013,652, **1977**.

Une autre voie de synthèse des 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones a été décrite par Sharifi *et al.*^[39] La procédure appliquée consiste à condenser les différents 2-aminophénols avec les 2-bromoalcanoates d'éthyle, dans un liquide ionique en présence du 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU) à température ambiante (Schéma 2.12) selon le mécanisme présenté dans le (schéma 2.13).

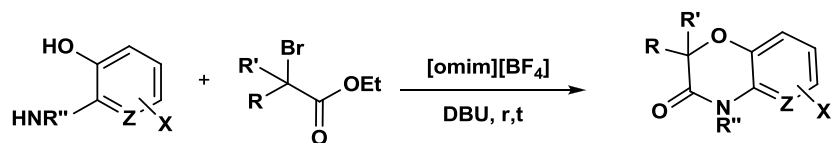


Schéma 2.12: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir des 2-aminophénols en présence liquide ionique.

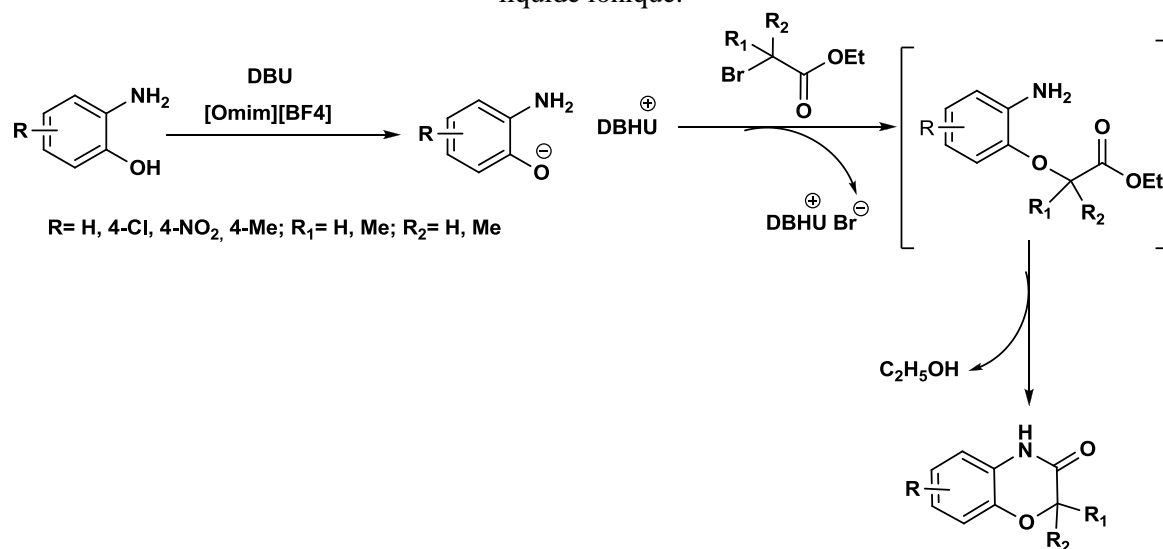


Schéma 2.13: Mécanisme proposé pour la synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones pour la réaction précédente.

Par ailleurs, Ceylan *et al.*, ont développé une nouvelle méthode de synthèse pour les 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones, en utilisant un chauffage inductif entre les 2-aminophénols et le 2-bromopropanoate d'éthyle catalysé par le DBU en présence du DMF dans un système d'écoulement continu, employant des microréacteurs remplis de nanoparticules magnétiques comme le ferrite de manganèse à une température de 135°C (Schéma 2.14).^[40]

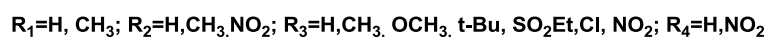


Schéma 2.14: Réaction de synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir de 2-aminophénols catalysé par le DBU dans le DMF.

[39] A. Sharifi, M. Barazandeh, M.S. Abaee, M. Mirzaei, *Tetrahedron. Lett.*, **2010**, 51, 1852–1855.

[40] S. Ceylan, L. Coutable, J. Wegner, A. Kirschning, *J. Chem. Eur.*, **2011**, 17, 1884–1893.

Yavari *et al.*^[41] ont de leur part proposé une autre méthode pour la synthèse de nouveaux dérivés benzoxazin-3(4H)-ones, par condensation de la triphénylphosphine avec l'acétylène dicarboxylate de diméthyle; et la 4-nitro-2-aminophénol constitue la matière première de départ de cette voie de synthèse (Schéma 2.15).

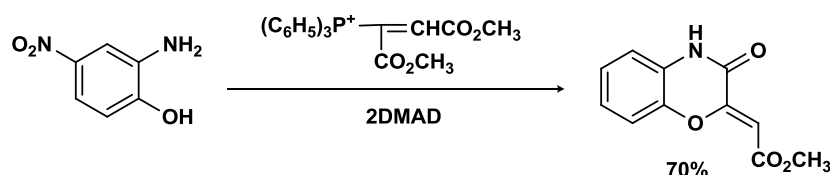


Schéma 2.15: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones par condensation entre la triphénylphosphine et le 4-nitro-2-aminophénol.

Sadjadi *et al.*^[42] ont rapporté une synthèse facile pour la préparation de nouveaux dérivés 2H-benzoxazin-3(4H)-ones avec un rendement global de 89%, en réalisant la même réaction en présence de cuivre nanocristallin dans l'eau à température ambiante pendant 40 minutes (Schéma 2.16).

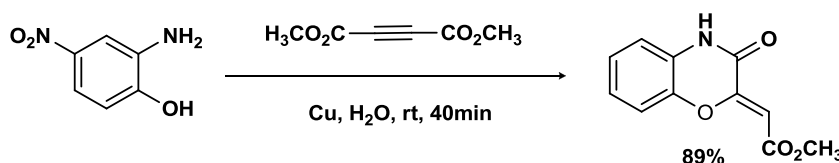


Schéma 2.16: Synthèse des 2H-benzoxazin-3(4H)-ones par condensation entre l'acétylène dicarboxylate de diméthyle et le 4-nitro-2-aminophénol dans l'eau.

Une autre méthode facile et généralisée pour la préparation du dérivé éthyle (3,4-dihydro-2-méthyl-6-nitro-3-oxo-2H-benzoxazin-2-yl)carboxylate a été développée par Mtsumoto Yuzo *et al.*^[43]. Elle est basée sur la condensation du 4-nitro-2-aminophénol avec le diéthyl-2-bromo-2-méthylmalonate dans le DMF en présence du fluorure de potassium. Le produit désiré a été obtenu avec un rendement de 79% (Schéma 2.17).

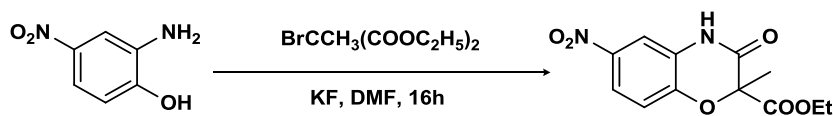


Schéma 2.17: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones par condensation du 4-nitro-2-aminophénol avec le diéthyl-2-bromo-2-méthylmalonate dans le DMF.

En 2005, Dai *et al.*^[44] ont décrit une méthodologie intéressante, permettant de synthétiser des dérivés de type 2H-benzoxazin-3(4H)-ones, à partir d'une réaction

[41] I. Yavari, M. Adib, L. Hojabri, *Tetrahedron.*, **2002**, 58, 6895-6899.

[42] S. Sadjadi, R. Hekmatshoar, S.J. Ahamdi, M. Hosseinpour, M. Outokesh, *Commun.*, **2010**, 40, 607-614.

[43] Y. Mtsumoto, W. Uchida, H. Nakahara, I. Yanagisawa, T. Shibamura, and H. Nohira, *chem. Pharm. Bull.*, **2000**, 48(3), 428-432.

[44] W.M. Dai, X. Wang, C. Ma, *Tetrahedron*, **2005**, 61, 6879-6885.

régiosélective entre les 2-aminophénols et le 2-bromopropanoate d'éthyle. La réaction étudiée met en jeu la formation des liaisons **1-2** et **3-4**, et elle a été réalisée par chauffage contrôlé sous irradiations micro-ondes, conduisant à l'obtention des composés correspondants avec de bons rendements (Schéma **2.18**).

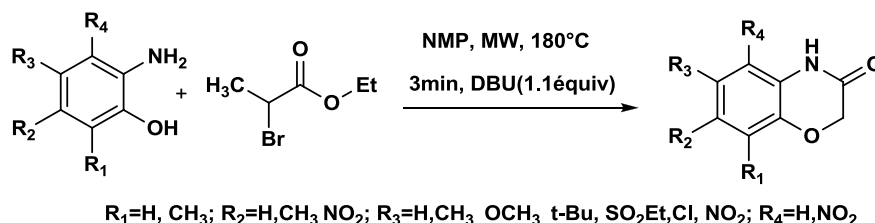


Schéma 2.18: Synthèse des benzoxazinones à partir du 2-aminophénol sous micro-ondes.

En 2008, une nouvelle approche de synthèse en deux étapes a été décrite par Jongphil Kang *et al.*^[45] pour la préparation des dérivés 2H-benzoxazin-3(4H)-ones. Dans la première étape, une condensation entre le 5-méthyl-2-aminophénol avec le chlorure de chloroacétyle dans l'acétonitrile, en présence du carbonate de potassium à température ambiante; mais ils ont remarqué la présence d'une quantité du produit intermédiaire non cyclisé, qui n'a pas été isolé. La deuxième étape de la réaction consiste à cycliser totalement cet intermédiaire dans le DMF en présence de carbonate de potassium pour obtenir le composé 7-méthyl-2H-benzoxazin-3(4H)-one (Schéma **2.19**).

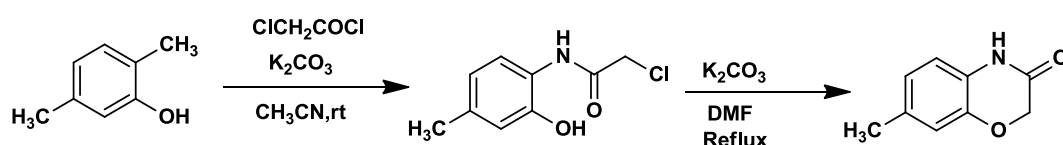


Schéma 2.19: Synthèse de 7-méthyl-2H-benzoxazin-3(4H)-one.

D'une manière similaire, Xing *et al.*^[46] ont synthétisés une série de 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones par réaction de condensation entre les 2-aminophénols et divers aldéhydes aromatiques, des isocyanures et des acides α -bromoalcanoïques selon une réaction de Ugi à quatre composants, sous irradiations micro-ondes (*U-4CR*), impliquant ainsi une O-alkylation intramoléculaire. Cette dernière a été réalisée à température ambiante dans le méthanol et sous chauffage micro-ondes contrôlé (Conditions A), conduisant à des composés intermédiaires non cyclisés, qui subissent une réaction d'O-alkylation intramoléculaire Conditions C, (Schéma **2.20**).

[45] K. Jongphil, K.Kyeong-Hee, G. Manjunath, H. Zuo, K. Tae-Hyun, C.R. Raji, S. Chandrasekhar, and S. Dong-Soo, *ARKIVOC.*, **2008**, (xiv), 67–76.

[46] X. Xing, J. Wu, G. Feng, W.M. Dai, *Tetrahedron*, **2006**, 62, 6774–6781.

Dans une méthode similaire, utilisant un protocole en deux étapes pour la préparation des dérivés 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones.^[47] Une première réaction «multi-composants» d'Ugi (*U-MCR*), mettant en jeu des 2-aminophénols, des aldéhydes, des isocyanures et des 2-hydroxyacides, suivie d'une cyclisation de Mitsunobu des composés intermédiaires formés (Schéma 2.20). La réaction de Ugi a été réalisée en présence de tamis moléculaires (3Å) pendant 48 heures (Conditions A). La cyclisation de Mitsunobu a été effectuée à 0°C dans le dichlorométhane en utilisant le système DEAD/PPH₃ (Conditions B). La synthèse peut également être effectuée, en une seule étape sans isoler et purifier le produit d'addition de Ugi. Dans le tableau 2 ci-dessous, on trouve des exemples représentatifs des 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones produits *via* ces deux méthodes.

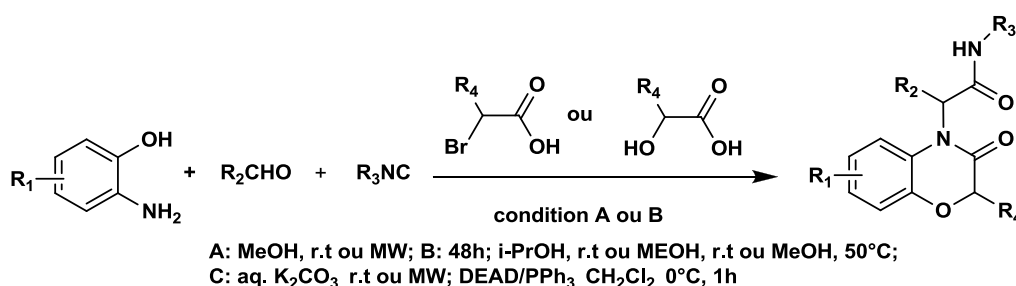


Schéma 2.20: Synthèse de benzoxazin-3(4H)-ones à partir des 2-aminophénols sous différentes conditions.

Tableau 2.1: Synthèse d'une série de benzoxazin-3(4H)-ones sous différentes conditions.

R1	R2	R3	R4	Conditions de réaction	Rdt %	Conditions de réaction	Rdt %
6-CH ₃	Ph	Cy	H	MeOH, Tamb, 29h	–	Tamb, 12h	85(85)*
H	2-FC ₆ H ₄	Cy	H	MeOH, Tamb, 37h	–	Tamb, 9h	95(95)*
6-CH ₃	2-BrC ₆ H ₄	Bn	H	MeOH, Tamb, 168h	–	Tamb, 20min	84(64)*
H	Ph	[4-(BnO)-C ₆ H ₄ (CH ₂) ₂]-	H	MeOH, Tamb, 48h	–	CH ₂ Cl ₂	56
4-Cl	i-Pr	n-Bn	CH ₃	MeOH, Tamb, 48h	45	DEAD/PPh	60
4-Cl	3-BrC ₆ H ₄	n-Bn	H	MeOH, 50°C, 48h	45	0°C, 1h	95

*Les rendements entre parenthèses sont pour les réactions sous chauffage micro-ondes (MeOH, U-4CR: 80°C, 20 min, O-alkylation: 120°C, 15 min).

[47] L. Banfi, A. Basso, L. Giardini, R. Riva, V. Rocca, G. Guanti, *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, 100-109.

Les travaux décrits par Vijay *et al.*^[48] sont parmi les plusieurs travaux décrit dans la littérature sur la synthèse des 1,4-benzoxazinones. Ils ont réalisé la synthèse du composé 3-oxo-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazine-2-carboxylate d'éthyle ci-dessous, par condensation entre le 2-aminophénol et le bromomalonate de diéthyle (Schéma 2.21).

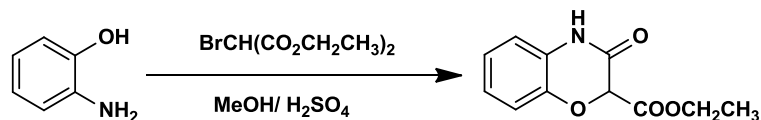


Schéma 2.21: synthèse des 1,4-benzoxazinones substitués en C-2.

De plus, une nouvelle méthode pour la synthèse de nouveaux dérivés 2-alkyl-4-arylméthyl-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones a été proposée par Feng *et al.*^[49] utilisant comme précurseurs les 2-aminophénols, qui subissent une N-alkylation réductrice, pour accéder aux composés N-substitués, qui par condensation avec les 2-bromoalcanoates d'éthyle, donnent les produits isolés désirés (Schéma 2.22).

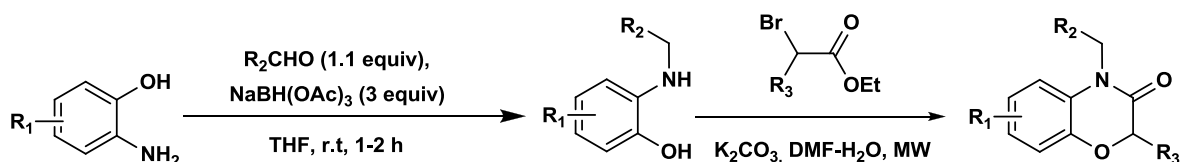


Schéma 2.22: Synthèse des dérivés 2-alkyl-4-arylméthyl-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones à partir de 2-aminophénols comme précurseurs par N-alkylation réductrice.

Une autre approche pour la synthèse du noyau 2H-1,4-benzoxazine-3-(4H)-one dans la dernière étape, après modification des précurseurs 2-aminophénols est représentée dans le schéma 2.23 ci-dessous.^[50]

[48] V.D. Vijay and P.G. Rahul, *Acta. Pol. Pharm. Drug. Research.*, **2012**, 69(2), 247-252.

[49] G. Feng, J. Wu, W.-M. Dai, *Tetrahedron.*, **2006**, 62, 4635-4642.

[50] Z.-T. Piao, L.-P. Guan, L.-M. Zhao, H.-R. Piao, Z.-S. Quan, *Eur. J. Of. Med. Chem.*, **2008**, 43, 1216-1221.

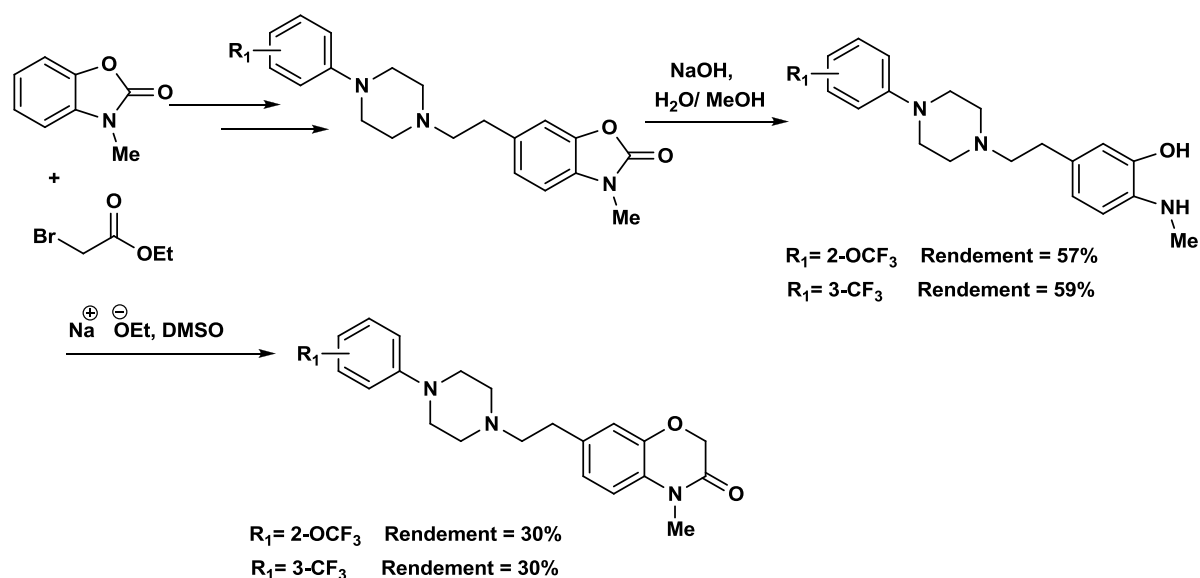


Schéma 2.23: Synthèse du noyau 2H-1,4-benzoxazine-3(4H)-one, après modification de précurseurs 2-aminophénols à partir des benzoxazolinones.

Enfin, de nouveaux composés 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones ont été isolés par Dabholkar *et al.*^[48] Selon cette étude et par une méthode initiée par l'action de l'hydrate d'hydrazine sur l'ester éthylique benzoxazinonique à reflux dans l'éthanol pour donner l'hydrazine carbothiamide correspondant, qui par réaction avec le thiosemicarbazide conduit au composé intermédiaire **A**₁. Une cyclisation intramoléculaire de ce dernier, en présence d'une base (NaOH), d'un acide fort (H₂SO₄) et du malonate de diéthyle a conduit aux produits isolés souhaités respectivement **B**₁, **C**₁ et **D**₁ (Schéma 2.24).

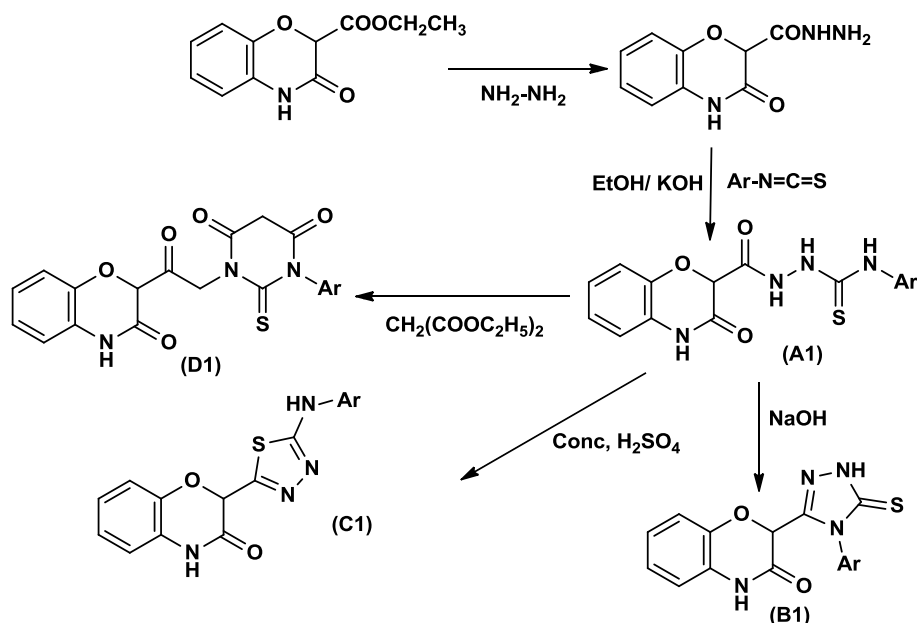


Schéma 2.24: Synthèse de nouveaux dérivés 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones différemment substitués en position 2.

Les 1,4-benzoxazin-3-ones sont obtenus par d'autres types d'enchaînements réactionnels. De la même manière comme dans le cas des dérivés synthétisés à partir de 2-aminophénols, les phénols *ortho*-halogénés sont aussi des précurseurs de choix pour leur synthèse.

2.3.1.c. Synthèse à partir des dérivés 2-halophénols comme précurseurs

Au cours de leurs travaux sur la synthèse des 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones, Zuo *et al.*^[51] ont isolé des 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones à partir des 2-chlorophénols. Le procédé consiste en une réaction « *one pot* » sous micro-ondes, et mettant en jeu les 2-chlorophénols, le chlorure de 2-chloroacétyle et des amines primaires (Schéma 2.25). Les différents substrats dans le N,N-diméthylformamide anhydre en présence du carbonate de césium à une température de 0°C ont ensuite, été soumis à des irradiations micro-ondes à une température de 150°C pendant 18h à 40 minutes. Les produits de la réaction ont été obtenus avec des rendements acceptables (55-88%).

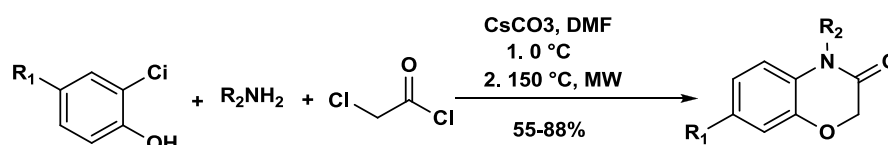


Schéma 2.25: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones *via* un réarrangement de Smiles.

Le mécanisme proposé pour cette réaction (Schéma 2.26), concerne la cyclisation d'un intermédiaire *O*-alkylé *via* un réarrangement de Smiles, en procédant par la formation d'un composé *spiro* qui perd une molécule d'acide chlorhydrique.^[54]

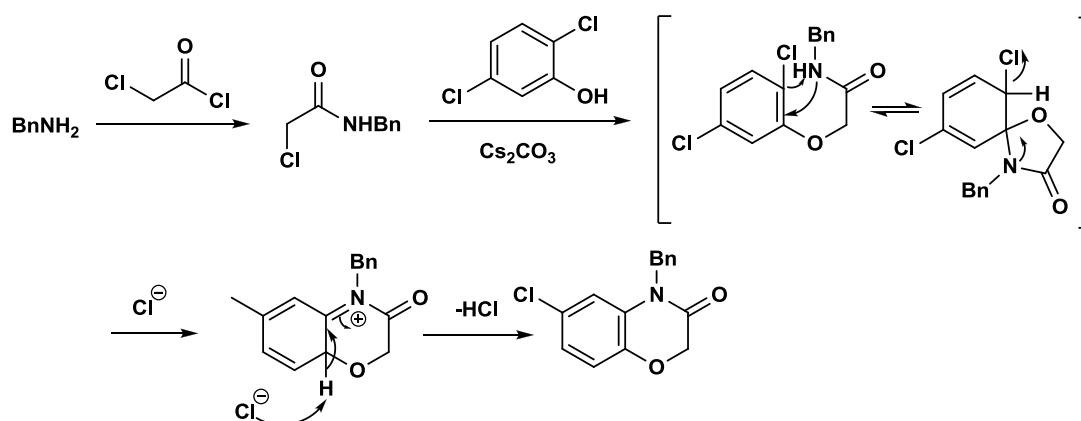


Schéma 2.26: Mécanisme proposé pour la réaction précédente.

[51] H. Zuo, L. Meng, M. Ghate, K.H. Hwang, Y.K. Cho, *Tetrahedron. Lett.*, **2008**, 49, 3827–3830.

De même, Feng *et al.*^[52] ont décrit une réaction catalysée par l'iodure de cuivre (I), engageant les 2-halogénophénols et les 2-chloroacétamides, en présence du diméthylsulfoxyde (DMSO), du carbonate de césium (Cs₂CO₃) et du 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU), sous irradiation micro-ondes à 130°C. La préparation d'une série de 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones convenablement substitués sur l'azote et en position 2 ont été obtenus avec des rendements de modérés à bons (Schéma 2.27).

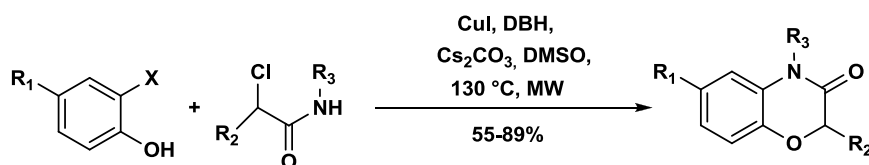


Schéma 2.27: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir des 2-halogénophénols catalysée par l'iodure de cuivre (I).

Dans une étude antérieure similaire,^[53] mettant en évidence l'utilisation du difluorodinitrobenzène afin de synthétiser divers 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones. La procédure de synthèse implique tout d'abord la formation des dérivés intermédiaires du difluorodinitrobenzène en tant que précurseurs non cycliques, suivie d'une cyclisation intramoléculaire, conduisant aux 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones par formation de la liaison 3-4. C'est ainsi que pour l'obtention des précurseurs appropriés, le dérivé 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzène a été soumis à une substitution nucléophile d'un atome de fluor, suivie de la substitution par différents 2-hydroxyacétates du fluor restant. Les intermédiaires précédents ont ensuite été réduits, par utilisation du palladium sur charbon (Pd/C 10%) comme catalyseur, et cyclisés par la suite en leurs 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones souhaités avec des rendements satisfaisants (Schéma 2.28).

[52] E. Feng, H. Huang, Y. Zhou, D. Ye, H. Jiang, H. Liu, *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 2846-2849.

[53] Y. Yuan, G. Liu, L. Li, Z. Wang, L. Wang, *J. Comb. Chem.*, **2007**, 9, 158-170.

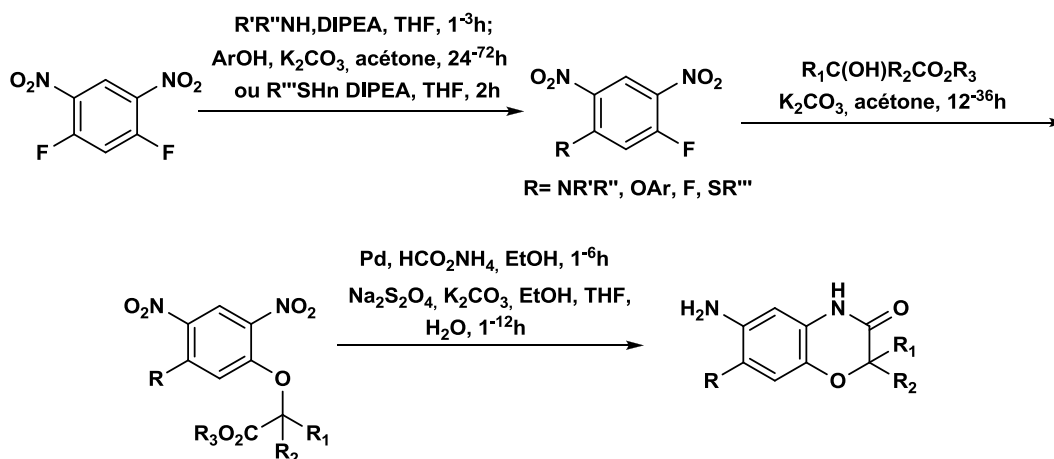


Schéma 2.28: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones à partir du difluorodinitrobenzène en tant que précurseurs.

Dans une autre étude, Chen *et al.*^[54] ont développé une méthode originale et efficace de synthèse en cascade pour ces composés à partir du 2-iodophénol et du 2-chloroacétamide (Schéma 2.29). La réaction a été effectuée sous azote dans le 1,4-dioxane, en utilisant l'iodure de cuivre (I) comme catalyseur, la 1,10-phénanthroline comme ligand et le carbonate de césium comme base. Le produit souhaité a été obtenu avec un rendement de 95%.

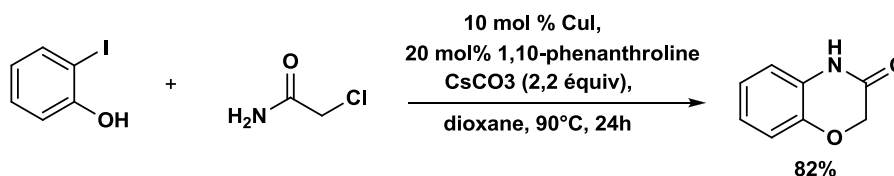


Schéma 2.29: Synthèse en cascade des benzoxazin-3(4H)-ones à partir du 2-iodophénol.

Ylijoki *et al.*^[55] ont proposé une voie simple de synthèse des dérivés 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones, par cyclisation intramoléculaire des 2-haloanilines en présence de Bis(dibenzylidèneacétone)palladium (0) $\text{Pd}(\text{dba})_2$, et en présence d'un ligand Tri-tert-butylphosphonium tétrafluoroborate $[(\text{t-Bu})_3\text{PH}]\text{BF}_4$ riche en électrons et du carbonate de césium comme base (Schéma 2.30).

[54] D. Chen, G. Shen, W. Bao, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 4067-4073.

[55] K.E.O. Ylijoki, E.P. Kündig, *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 10608-10610.

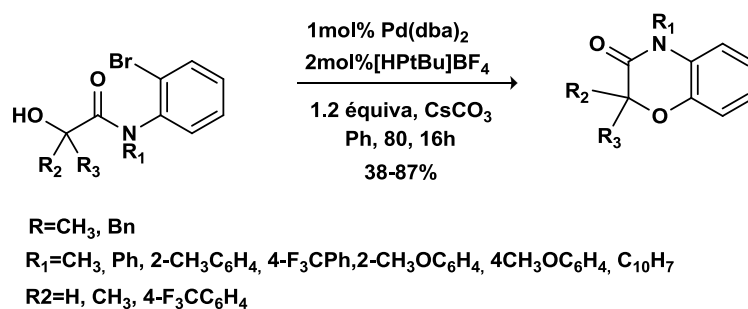


Schéma 2.30: Synthèse de benzoxazin-3(4H)-ones par une cyclisation intramoléculaire du 2-haloaniline dans palladium, et en présence de ligand $\text{Pd}(\text{dba})_2$ et d'un ligand $[(\text{t-Bu})_3\text{PH}]\text{BF}_4$.

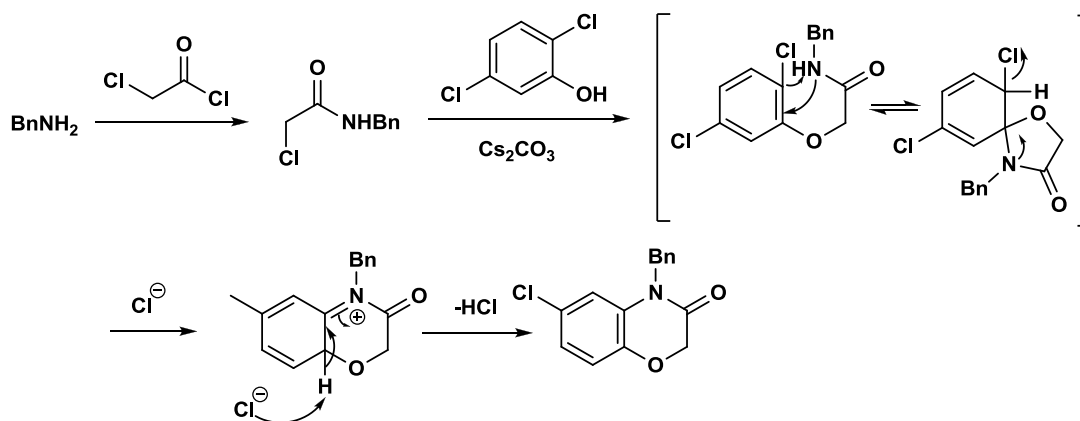


Schéma 2.31: Mécanisme proposé pour la réaction précédente.

2.3.1.d. Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones par voie électrochimique

En 1971, Tallec *et al.*^[56] ont proposé une synthèse des dérivés 1,4-benzoxazinoniques par voie électrochimique sous potentiel contrôlé (Schéma 2.32).

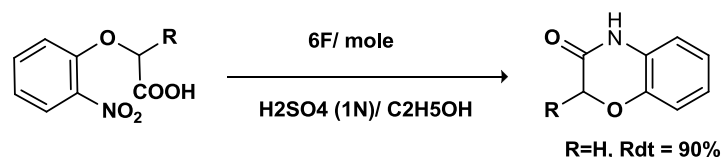


Schéma 2.32: Synthèse des dérivés benzoxazin-3(4H)-ones par voie électrochimique.

2.3.1.e. Autres synthèses

Le groupe de Kikugawa a décrit une voie de synthèse originale à base d'iode hypervalent (Schéma 2.33).^[57] Les *N*-méthoxy-*N*-acylnitrénium et *N*-phthalimido-*N*-acylnitrénium formés *in situ* réagissent en tant qu'électrophiles pour former la liaison C-N du noyau hétérocyclique de la benzoxazinone.

[56] G. Meneran, G. Robic et C. Tallec, *R. A. Acad., serie C*, Paris, 1378, **1971**.

[57] (a) M. Etsuko, S. Takeshi, Y. Kikugawa, *Heterocycles*, **2003**, 59, 149–160; (b) Y. Kikugawa, A. Nagashima, T. Sakamoto, E. Miyazawa, M. Shiiya, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 6739–6744.

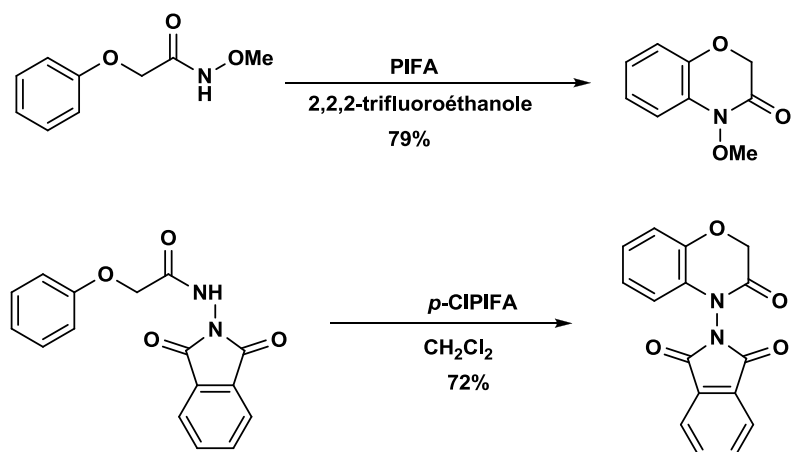


Schéma 2.33: Synthèses de benzoxazin-3(4H)-ones à partir de N-méthoxy-N-acylnitrénium et N-phthalimido-N-acylnitrénium et en présence de l'iode hypervalent.

Comme nous l'avons signalé précédemment, plusieurs stratégies de synthèse décrites dans la littérature mettent en jeu des réactions multi-composant, comme moyen efficace pour l'introduction d'une grande diversité structurale.

2.4. REACTIVITE CHIMIQUE DES 2H-1,4-BENZOXAZIN-3(4H)-ONES

La réactivité chimique de la benzoxazin-3(4H)-one permettent de définir deux principaux types de réactions: on distingue essentiellement, les réactions de substitution au niveau de l'atome d'azote en position 4, en position 2 et les réactions de substitution électrophile sur le noyau aromatique.^[58]

2.4.1. Réduction des 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones: Synthèse des 3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazines

Les 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones sont facilement réduits en leurs 3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazines, par des agents réducteurs forts tels que le lithium aluminium hydride (LiAlH_4)^[59] ou le borane (BH_3)^[60] (Schéma 2.34). Il convient de noter que l'utilisation du trifluorure de bore diéthyl-étherate/borohydride de sodium ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, NaBH_4)^[61] permet une réduction sélective de la fraction lactame benzoxazinonique en présence du groupe ester carboxylique.

[58] J. Ilas, P.S. Anderluh, M.S. Dolenc, D. Kikelj, *Tetrahedron*, **2005**, 61, 7325–7348.

[59] G.R. Madhavan, J. Iqbal, D. Bhuniya, R. Chakrabarti, S.K. Das, *WO. Patent. Appl.*, WO03033456, **2003**.

[60] Y. Matsumoto, R. Tsuzuki, A. Matsuhisa, K. Takayama, T. Yoden, W. Uchida, M. Asano, S. Fujita, I. Yanagisawa, T. Fujikura, *Chem. Pharm. Bull.*, (Tokyo) **1996**, 44, 103–114.

[61] T. Kuroita, M. Sakamori, T. Kawakita, *Chem. Pharm. Bull.*, (Tokyo) **1996**, 44, 756–764.

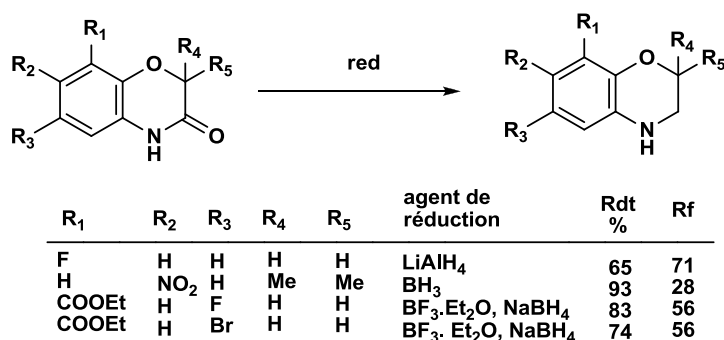


Schéma 2.34: Réduction sélective de la fraction lactame des 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones.

L'utilisation d'un agent réducteur fort, provoque toutefois une réduction concomitante de certains groupes fonctionnels présents dans la molécule, ce qui permet une fonctionnalisation multiple *one-pot*.

L'éthyl-3-oxo-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazine-2-carboxylates est réduit pour donner le dérivé (3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazin-2-yl) méthanol avec le borohydrure de lithium,^[62] le borane^[63] ou le hydride d'aluminium de lithium (Schéma 2.35).^[64]

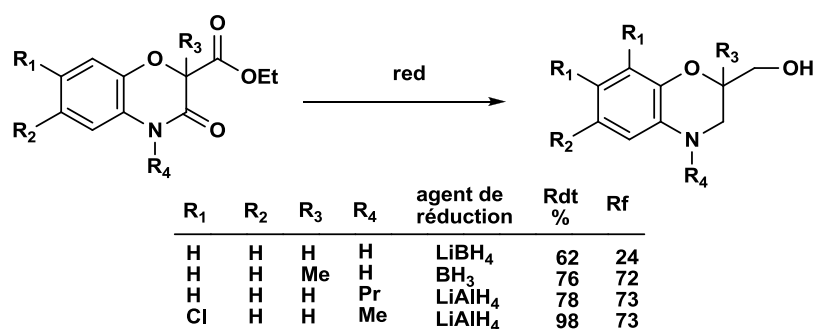


Schéma 2.35: Réduction en présence d'un agent réducteur fort.

2.4.2. Modification des substituants des noyaux 1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones

Bien qu'un substituant en position 4 des 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones puisse être introduit dans un précurseur qui est cyclisé en leurs 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones, une approche plus fréquemment utilisée concernant la N-alkylation de la 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one. Classiquement, l'hydruure de sodium,^{[65],[66]} le fluorure de potassium,^[67] ou

[62] R.E. Mewshaw, D. Zhou, P. Zhou, *US. Patent.*, **2001**, 6, 313-114.

[63] Y. Matsumoto, A. Uchida, H. Nakahara, I. Yanagisawa, T. Shibanuma, H. Nohira, *Chem. Pharm. Bull.*, **2000**, 48, 428-432.

[64] P. Vianello, T. Bandiera, *US. Patent.*, **2004**, 6,750,215.

[65] G. Caliendo, E. Perissutti, V. Santagada, F. Fiorino, B. Severino, D. Cirillo, R. di Villa Bianca, L. Lippolis, A. Pinto, R. Sorrentino, *Eur. J. Med. Chem.*, **2004**, 39 (10), 815-826.

potassium carbonate^[68] sont utilisés pour activer l'azote de l'amide. L'irradiation microonde (MWD)^[68] du mélange réactionnel des composés benzoxazin-3(4H)-ones et halide réduit le temps de la réaction et augmente le rendement du composé benzoxazin-3(4H)-ones correspondant

(Modification des substituants dans l'anneau de 1,4-oxazine des 1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones (schéma 2.36).

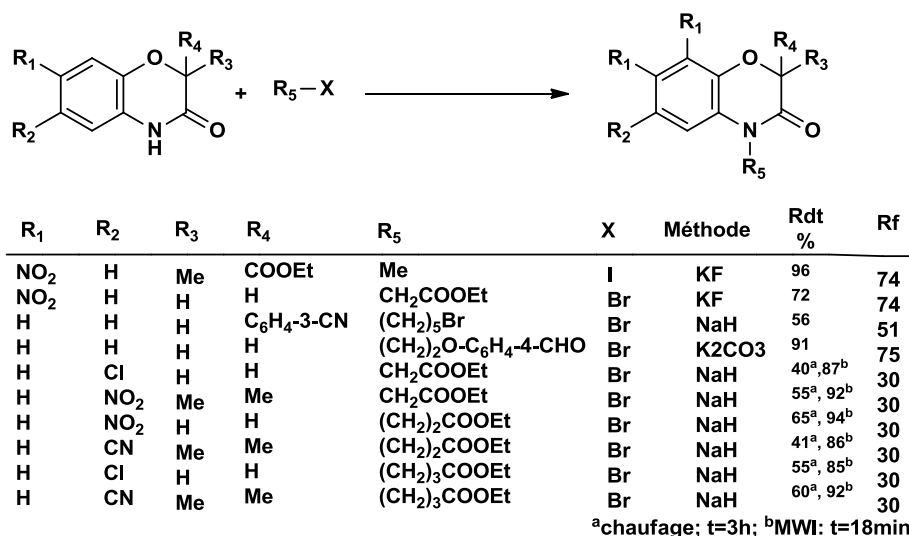


Schéma 2.36: Alkylation des 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones sous irradiation microonde.

Dans la N-alkylation du 3-oxo-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazine-2-carboxylate, par exemple ci-dessous, avec les halides alkyles, les conditions de transfert de phase sont habituellement employées pour produire les dérivés correspondants,^[69] puisque l'utilisation de bases fortes conduit également à l'alkylation en position 2 (Schéma 2.37).^[72]

[66] D.A. Dudley, A.M. Bunker, L. Chi, W.L. Cody, D.R. Holland, D.P. Ignasiak, N. Janiczek-Dolphin, T.B. McClanahan, T.E. Mertz, L.S. Narasimhan, S.T. Rapundalo, J.A. Trautschold, C.A. Van Huis, J.J. Edmunds, *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 4063–4070.

[67] M. Anderluh, J. Cesar, P.S ˇ tefanic ˇ, D. Kikelj, D. Janes ˇ, J. Murn, K. Nadrah, M. Tominc, E. Addicks, A. Giannis, M. Stegnar, M. Sollner-Dolenc, *Eur. J. Med. Chem.*, **2005**, *40*, 25–49.

[68] R.M. Gurram, B.B. Lohray, R. Rajagopalan, S. Kalchar, V.B. Lohray, C. Ranjan, C.B. Ashok, *W. Patent. Appl.*, 0066572, **2000**.

[69] A. Rutar, D. Kikelj, *Synth. Commun.*, **1998**, *28*, 2737–2749.

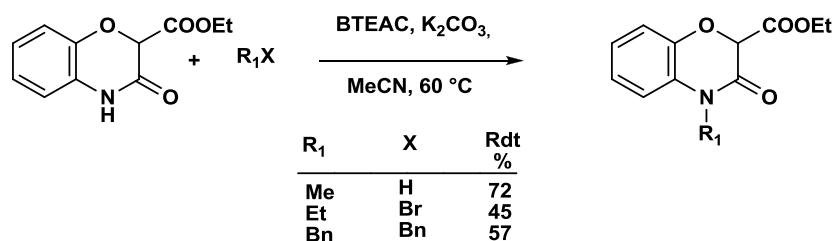


Schéma 2.37: L'alkylation du 3-oxo-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazine-2-carboxylates par halides alkyles.

Cependant, dans l'alkylation des alkyl-3-oxo-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazine-2-carboxylates en position 2,^[72] l'oxydation du carbanion est une réaction concurrente prédominante dans des conditions de réaction oxydative. Ainsi, les dérivés 2-hydroxy peuvent être synthétisés à partir de leurs 3-oxo-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazine-2-carboxylates d'alkyles par oxydation de carbanion^{[70],[71]} (Schéma 2.38).

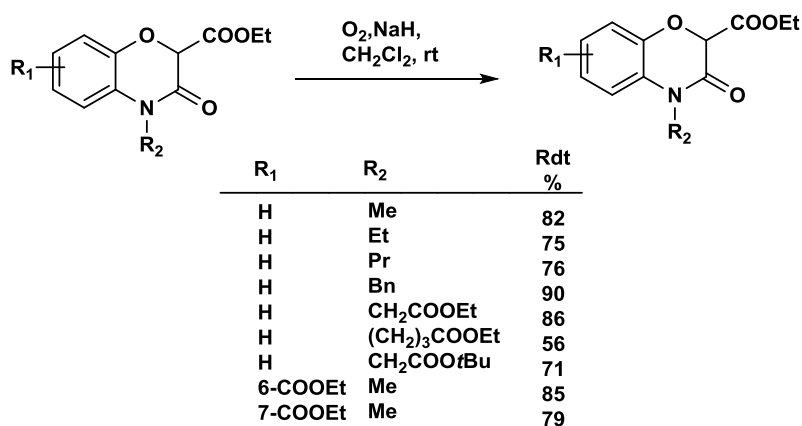
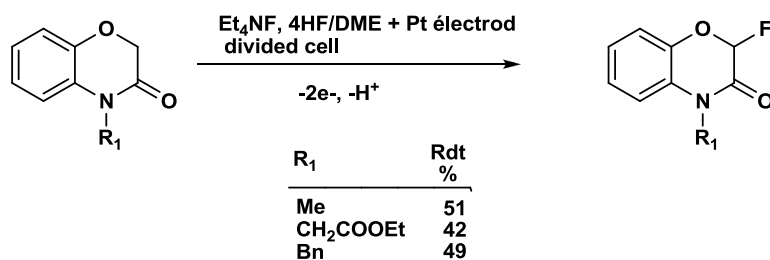


Schéma 2.38: Synthèse des 2-hydroxy-1,4-benzoxazine-2-carboxylate d'alkyles par oxydation de carbanion.

L'introduction du fluor en position 2 des dérivés 2H-1,4-benzoxazin-4(3H)-ones N-substitués, pour donner les composés 2-fluoro correspondants, peut être réalisée par une monofluorination anodique à l'aide d'une cellule divisée (partagée, séparée) contenant Et₄NF.4HF et des plaques électrodes de platine (schéma 2.39).^[72]



[70] P. Stefanic, M. Breznik, N. Lah, I. Leban, J. Plavec, D. Kikelj, *Tetrahedron. Lett.*, **2001**, 42, 5295–5297.

[71] P. Stefanic, K. Turnsek, D. Kikelj, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 7123–7129.

[72] M.R. Shaaban, T. Fuchigami, *Synlett*, **2001**, 10, 1644–1646.

Schéma 2.39: Synthèse des dérivés 2-fluoro-2H-1,4-benzoxazin-4(3H)-ones par une monofluorination.

Le 2-bromo-2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one est transformé en son analogue 2-amino-2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one par traitement avec de l'ammoniac gazeux. Le 2-mercapto-2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one est obtenu à partir du composé bromé avec une procédure en deux étapes, impliquant la formation et le clivage alcalin du bromure de l'istothiouronium correspondant (Schéma 2.40).^[73]

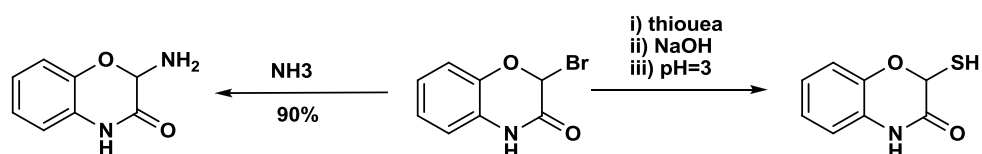


Schéma 2.40: Transformation du 2-bromo-2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one en ses analogues 2-amino et 2-mercapto correspondants.

L'homologation des 3-oxo-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazine-2-carboxylates; par exemple, la transformation de l'ester carboxylique en son ester homologue, un modèle peptidomimétique utile, peut être réalisée par une synthèse modifiée d'Arnsdt–Eisert. L'anhydride mixte préparé à partir d'un dérivé acide avec du chloroformate d'éthyle réagit et le triméthylsilyl diazométhane offrant le dérivé diazoacétyle. Le réarrangement de Wolff de diazocétone, sous irradiations ultrasons dans un milieu basique/Ag⁺, donne l'homologue ester méthylique (schéma 2.41).^[74]

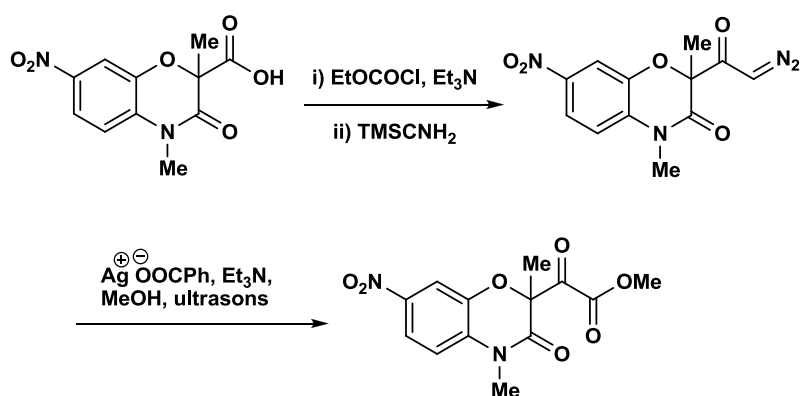


Schéma 2.41: Homologation du 3-oxo-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazine-2-carboxylate en son ester homologue.

Dans une synthèse des antagonistes sélectifs du récepteur de la dopamine D₄ de haute affinité, la 1,4-benzoxazine-3-(4H)-one est transformée en 3-méthoxy-2H-1,4-benzoxazine, en utilisant le sel de Meerwein (tétrafluoroborate de triméthylloxonium). Le composé formé

[73] M. Kluge, D. Sicker, *J. Heterocycl. Chem.*, **1996**, 33, 1623–1626.

[74] J. Cesar, M. Sollner-Dolenc, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 7099–7102.

est condensé avec de l'amine, offrant un intermédiaire, qui est ensuite sélectivement méthylé avec de l'hydruure de sodium/iodure de méthyle pour donner le dérivé N-méthylé (Schéma 2.42).^[75]

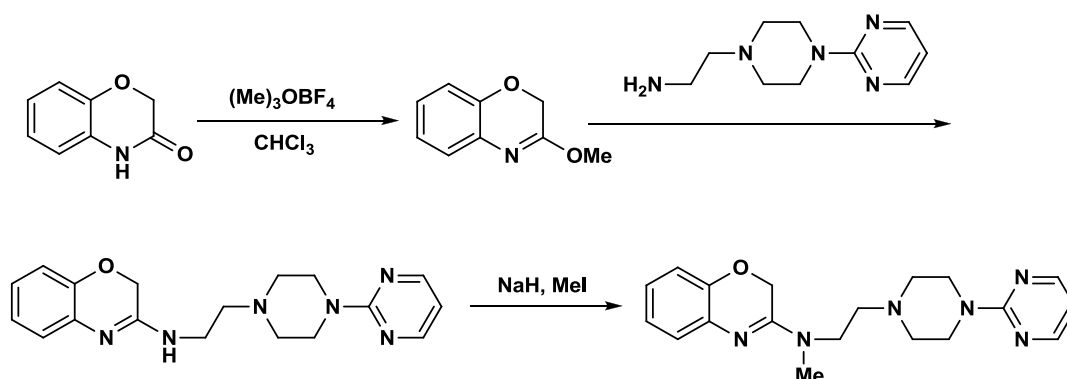


Schéma 2.42: Transformation de la 1,4-benzoxazine-3-one en 3-méthoxy-1,4-benzoxazine, en utilisant un sel de Meerwein.

2.4.3. Modification des substituants dans le cycle aromatique de 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones

Les réactions classiques pour l'introduction de substituants sur le noyau aromatique sont applicables aux composés 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones. L'influence des hétéroatomes cycliques, cependant définit le modèle de substitution.

Généralement, la bromation du 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one avec le brome dans le tétrachlorométhane conduit à la bromation en position 2, produisant le 2-bromo-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one.^[76] La bromation du dérivé 6-acétyl-4-méthyl-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one avec le brome dans l'acide acétique, cependant, se produit sélectivement sur le groupe en position 7 produisant ainsi le produit bromé ci-dessous (Schéma 2.43).^[77]

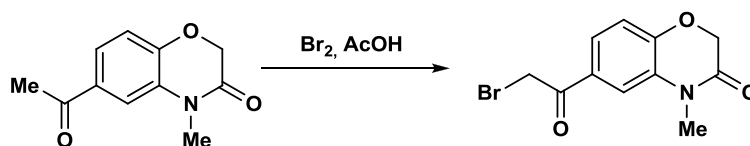


Schéma 2.43: Bromation du 6-acétyl-4-méthyl-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one dans l'acide acétique.

Dans une réaction de la 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one avec la phényliodine (III) bis (trifluoroacétate) (PIFA), un groupe hydroxyle est introduit en position 6, ce qui a pour effet

[75] S.H. Xiao, K. Woodruff, R. Brodbeck, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1997**, 7, 2399–2402.

[76] D. Sicker, B. Praetorius, G. Mann, L. Meyer, *Synthesis.*, **1989**, 211–212.

[77] R. Fringuelli, D. Pietrella, F. Schiaffella, A. Guarraci, S. Perito, F. Bistoni, A. Vecchiarelli, *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10, 1681–1686.

de donner le dérivé 6-hydroxylé correspondant (Schéma 2.44).^[78] Cette procédure est généralement utilisée pour une para hydroxylation des anilides substitués. Cependant, dans le cas des 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones, la participation de l'oxygène cyclique est assez forte pour que le groupe hydroxyle soit incorporé dans la position *mé*ta par rapport à l'atome d'azote du cycle.

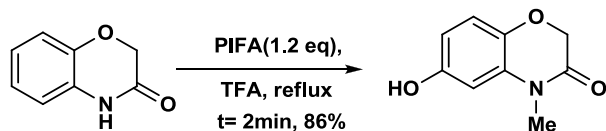


Schéma 2.44: Hydroxylation en position 6 de la benzoxazin-3-(4H)-one.

L'acylation de Freidel–Crafts est une méthode très pratique pour l'introduction de substituants alkyles ou acyles dans le cycle aromatique des 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones. Ainsi, le traitement de la 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one avec le chlorure de chloroacétyle et le chlorure d'aluminium anhydre, conduit au 6-chloroacétyl-2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one; un intermédiaire dans la synthèse d'un inhibiteur sélectif de la COX-2 potentiel (Schéma 2.45).^[79]

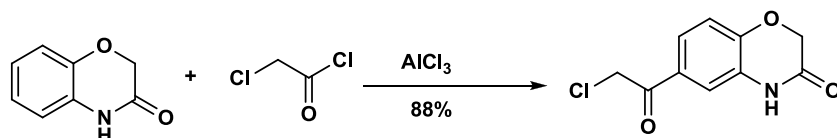


Schéma 2.45: Acylation de Freidel–Crafts du 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones.

Les 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones sont acylés à la position 6 lorsqu'ils sont traités avec l'anhydride phtalique en présence du chlorure d'aluminium anhydre comme catalyseur, produisant les diaryl cétones (Schéma 2.46).^[80]

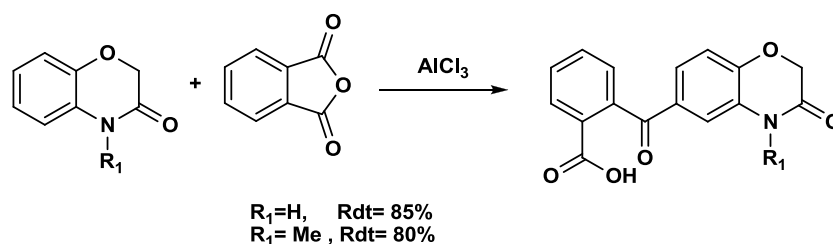


Schéma 2. 46: Acylation de la benzoxazin-3-(4H)-one par l'anhydride phtalique.

Un substituant pyridin-4-yl est introduit en position 6 du 6-bromo-2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one par couplage de Suzuki avec l'acide (pyridin-4-yl)boronique, en utilisant le

[78] N. Itoh, T. Sakamoto, E. Miyazawa, Y. Kikugawa, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 7424–7428.

[79] V.T. Kumar, S.K. Rao, L.V. Narayana, P.K. Dubey, V. Aparna, *Heterocycl. Commun.*, **2003**, 9, 51–56.

[80] K.S. Chowdary, A. Prashant, S.S. Rao, V.S.H. Krishnan, *Heterocycl. Commun.*, **2000**, 6, 477–482.

tétrakis (triphenylphosphine) palladium (0) comme catalyseur, pour offrir le 8-pyridin-4-yl-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one (Schéma 2.47).^[81]

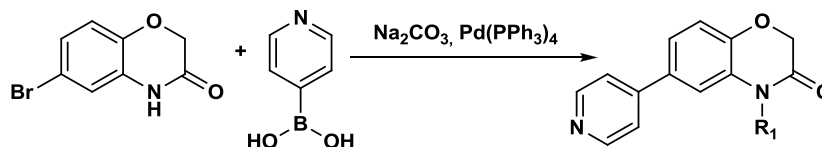


Schéma 2.47: Transformation du 6-bromo-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one en 8-pyridin-4-yl-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one.

Dans les dérivés 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones, des réductions sélectives des substituants ester, cétone et aldéhyde peuvent être effectuées sans réduction concomitante de la portion lactame. Ainsi, l'aldéhyde et la cétone ci-dessous sont réduits efficacement avec le borohydrure de sodium dans le méthanol aux alcools benzylique^[82] et secondaire^[83] correspondants respectivement (Schéma 2.48).

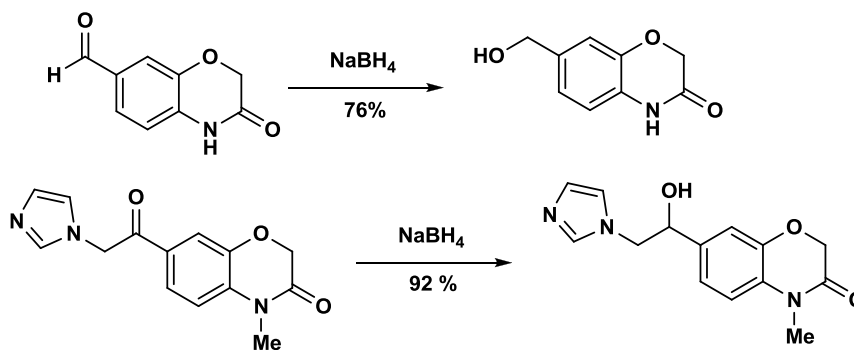


Schéma 2.48: Réductions sélectives des substituants ester, cétone et aldéhyde des dérivés 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones.

2.5. INTERET BIOLOGIQUE DE LA BENZOXAZIN-3(4H)-ONE ET DE SES DERIVES

Les molécules contenant le motif structurale **benzoxazin-3(4H)-one** ont un potentiel important tant sur le plan pharmacologique que chimique, et une vaste gamme d'applications dans plusieurs domaines.^[84] En effet, de nombreuses substances naturelles et synthétiques contenant le noyau 2H-benzoxazin-3(4H)-one ont été fréquemment utilisé comme squelettes appropriés pour la conception de composés biologiquement actifs. La diversité de leur structure (nature, position et nombre d'hétéroatomes, taille et degré d'insaturation du cycle...)

[81] C.N. Johnson, H.K. Rami, K. Thewlis, G. Stemp, M. Thompson, A.K.K. Vong, *US. Patent. Appl.*, **2004/063704**, **2004**.

[82] R. Frechette, M.A. Weidner-Wells, *WO. Patent. Appl.* 9717333, **1997**.

[83] M.R. Shaaban, T. Fuchigami, *Synlett.*, **2001**, *10*, 1644–1646.

[84] F. Halimi, N.K. Sebbar, H. Gueddar, B. Himmi, S. Kitane, E.M. Essassi, *J. Mar. Chim. Heterocycle.*, **2017**.

a fait de ces composés des molécules de choix dans le domaine de la recherche pharmaceutique.

2.5.1. Activités antibactérienne et antifongique

Une étude intéressante sur la conception ainsi que l'évaluation de leurs activités antibactériennes contre les souches bactériennes et fongiques *S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans* respectivement, pour de nouveaux composés dérivés 1,4-2H-benzoxazin-3(4H)-ones a été réalisée par Ozden *et al.* [101] (Figure 2.11).^[85] Les résultats obtenus montrent que les dérivés substitués par le chlore ont présenté une meilleure activité par rapport aux autres dérivés. Par contre, les composés ayant une longue chaîne carbonés alkyle en position 2 du noyau benzoxazinone, ont montré une activité antifongique plus puissante.

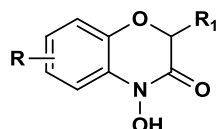


Figure 2.11: Dérivés de la benzoxazinones ayant des activités antibactériennes et antifongiques.

De plus, la synthèse des 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones liées à un noyau imidazole a aussi été décrite par Fringuell *et al.*^[86] L'activité antifongique a éventuellement été examinée, et les résultats obtenus au cours de cette étude ont montré que les composés synthétisés présentaient une bonne activité antifongique (Figure 2.12).

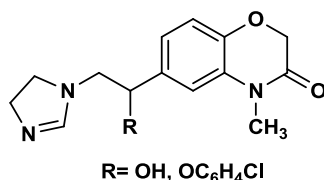


Figure 2. 12: Synthèse des benzoxazin-3(4H)-ones liées à un noyau imidazole à activité antifongique potentielle.

Ravi Teja B *et al.*^[87] ont développées une étude sur la synthèse et l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique pour une nouvelle série de dérivés pyrazolinonique portant le pharmacophore 1,4-benzoxazinone (Schéma 2.49).

[85] S. Ozden, A. Ozturk, H. Goker, N. Altanlar, *M. Farmaco.*, **2000**, *55*, 715-718.

[86] R. Fringuelli, D. Pietrella, F. Schiaffella, A. Guarraci, S. Perito, F. Bistoni, A. Vecchiarilli, *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, *10*, 1681-1686.

[87] B. Ravi Teja, N. Lingaiah, B. Rajeeva, B. Ravi Teja *et al. Int. Res. J. Pharm.*, **2017**, *8*, 23-28.

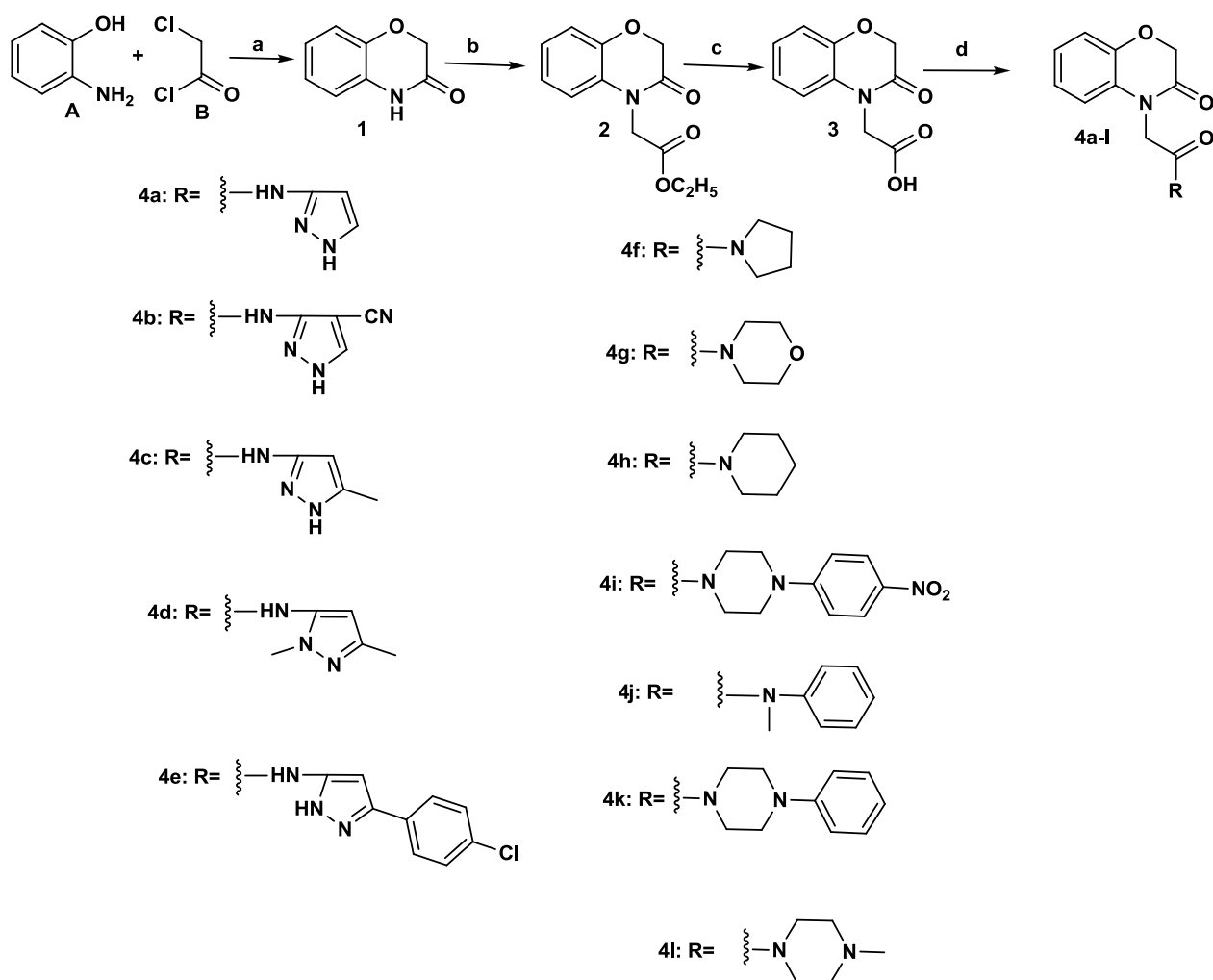


Schéma 2.49: Synthèse et activité antibactérienne-antifongique des pyrazolines-benzoxazin-3(4H)-ones.

À partir des données de l'activité antibactérienne et antifongique, il est clairement conclu que les dérivés benzoxazinoniques synthétisés sont des agents antibactériens modérés à faibles contre les bactéries Gram positive et Gram négative, par rapport à la pénicilline et à la streptomycine comme standards. Les résultats de l'étude sur l'activité antifongique a montré que certains de ces dérivés montrent une activité modérée à significative.

2.5.2. Activités relative aux modulateurs de canaux de potassium

En 1998 Caliendo *et al.*^[88] ont décrit la synthèse et les essais pharmacologiques de certains analogues 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones (Figure 2.13). A travers cette étude, il a été démontré que les modifications structurales tentées peuvent conduire à de nouveaux composés avec une activité d'ouverture de canal de K^+ , tandis que les composés substitués

[88] G. Caliendo, P. Grieco, E. Perissutti, V. Santagada, A. Santini, S. Albrizio, C. Fattorusso, A. Pinto, R. Sorrentino, *Eur. J. Med. Chem.*, **1998**, 33, 957-967.

par un groupement amides en position 4 ont montré une activité modérée, par contre les composés ayant un groupement ester dans la même position ont révélé des propriétés vasorelaxantes intéressantes.

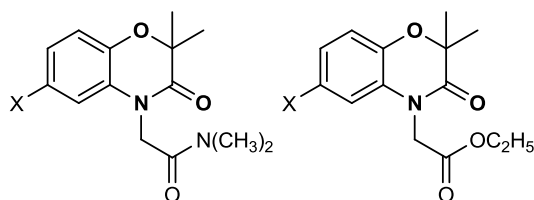


Figure 2.13: Synthèse de certains analogues 1,4-benzoxazin-3(4H)-ones à activité relative aux modulateurs de canaux de potassium.

2.5.3. Activité anticonvulsivante

Une série de 7-benzylamino-2H-1,4-benzoxazine-3(4H)-ones ont été synthétisées en utilisant le 2-amino-5-nitrophénol comme matière première de départ (Figure 2.14).^[89] Leurs activités antiépileptiques ainsi que leur neurotoxicité ont été évaluées. Les résultats obtenus ont montré que le composé 7-(4-fluorobenzylamino)-2H-1,4-benzoxazine-3(4H)-one (R: -CH₂C₆H₄ (*p*-F), R: -H, R: -H) était le plus puissant avec une valeur de ED₅₀ de 31,7 mg/kg.

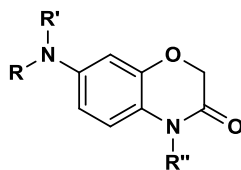


Figure 2.14: Synthèse et activité anticonvulsante de 7-benzylamino-2H-1,4-benzoxazine-3(4H)-ones.

2.5.4. Activités antimicrobiennes and antioxydantes

Dans une étude réalisée par Zidar *et al.*^[90], la condensation entre le 2-[2-(3-méthyl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-oxoethyl]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one avec différents aldéhydes aromatiques, a permis de préparer les divers 2-{2-[3-méthyl-4-(2-méthylbenzylidène)-5-oxo-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]-2-oxoethyl}-2H-1,4-benzoxazine-3(4H)-ones correspondants. Tous les composés synthétisés ont été criblés pour leurs activités antimicrobiennes et antioxydantes *in vitro*.

[89] Z.T. Piao, L.P. Guan, L.M. Zhao, H.R. Piao, Z.S. Quan, *Eur. J. of Med. Chem.*, **2008**, *43*, 1216–1221.

[90] N. Zidar, D. Kikelj, *Tetrahedron.*, **2008**, *64*, 5756–5761.

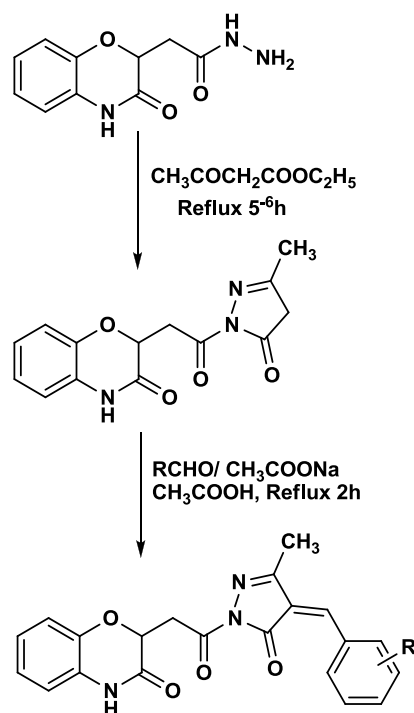


Schéma 2.50: Synthèse et activité et activités antimicrobiennes et antioxydantes *in vitro* des benzylidene-pyrazolo-benzoxazine-3(4H)-ones.

Dans cette étude, les études antimicrobiennes ont révélé que tous les composés testés possédaient une activité antimicrobienne significative. Dans l'étude antibactérienne réalisée, on a trouvé que les dérivés avec le fluor, le méthoxy, le diméthylamino et le substituant triméthoxy sont potentiels. En outre, les composés possédant le fluor et le substituant méthoxy ont montré une excellente activité antifongique. Dans les études antioxydantes, l'excellente activité de piégeage des radicaux libres est attribuée à la présence d'un groupe alkyle attaché au benzoxazine et les dérivés avec le fluor, chlore et le brome ont montré une bonne activité de piégeage des radicaux libres. Donc, cette nouvelle série de benzoxazinylpyrazolo arylidenes synthétisés par l'incorporation de la portion pyrazole dans la structure benzoxazinyl à travers une liaison alkyle peut être considérée comme une avancée prometteuse pour la conception future des agents antimicrobiens et antioxydants efficaces.

En 2013, George Sonia *et al.* ont réalisé une étude sur l'efficacité du pouvoir antioxydant de certains composés 2-{2-[3-méthyl-4-(2-méthylbenzylidène)-5-oxo-4,5-dihydro-1Hpyrazol-1-yl]-2-oxoéthyl}-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones (Figure 2.15). Les tests au DPPH réalisés sur le pouvoir antioxydant ont révélé que certains de ces composés avec les

substituants halogénés (Fluro, Chloro et Bromo) présentent une activité antioxydante importante.^[91]

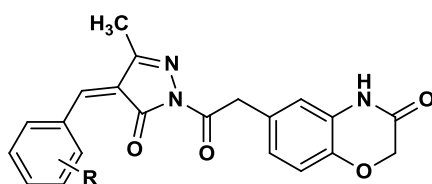


Figure 2.15: Dérivés de 2-{2-[3-méthyl-4-(2-méthylbenzylidène)-5-oxo-4,5-dihydro-1Hpyrazol-1-yl]-2-oxoéthyl}-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones comme agents antioxydants.

D'autres études menées par le groupe de Lovell *et al.*^[92] sur la synthèse des dérivés 2H-benzoxazin-3-(4H)-ones et l'évaluation de leur affinité pour les récepteurs 5-HT_{1B} et 5-HT_{1D}. Plusieurs composés étudiés montrent une sélectivité améliorée sur les récepteurs 5-HT_{1B} et 5-HT_{1D} et un profil pharmacocinétique supérieur chez le rat.

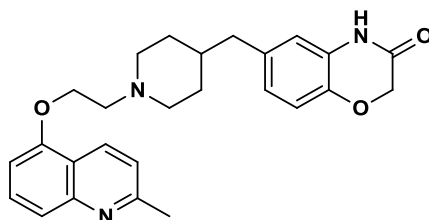


Figure 2.16: Dérivé 2H-benzoxazin-3-(4H)-ones comme agent antagoniste ligands du récepteur 5-HT_{1B} et récepteurs 5-HT_{1D}.

2.5.5. Activité anticancéreuse

Zhou *et al.*^[26] ont synthétisés des nouveaux dérivés de la 6-cinnamoyl-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ones. Les composés cibles de synthèse ont été criblés pour leur activité anticancéreuse. Les résultats obtenus indiquent que ces composés présentent des activités anticancéreuses moyennes vis-à-vis du cancer du poumon A549.

[91] S. George, K.T. Knolin, M.K. Parameswaran, R.T. Kochupappy, *Med. Chem. Res.*, **2014**, 23, 1320–1326.

[92] P.J. Lovell, F.E. Blaney, C.J. Goodacre, C.M. Scott, P.W. Smith, K.R. Starr, K.M. Thewlis, A.K.K. Vong, S.E. Warda and J.M. Watsona, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, **2007**, 17, 1033–1036.

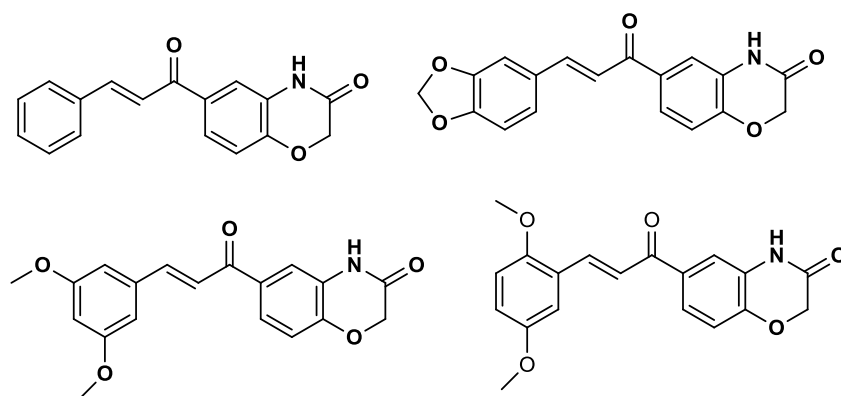


Figure 2.17: Dérivés 6-cinnamoyl-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ones comme agents anticancéreux.

2.5.6. Activité antihypertenseur et anti-arythmique

Compte tenu de l'intérêt thérapeutique potentiel pour cette classe de composés, Kajino *et al.* ont de leur part, synthétisé des dérivés de 2H-1,4-Benzoxazin-3(4H)-ones. Les nouveaux composés synthétisés ont été évalués en tant qu'agents antihypertenseurs.^[93]

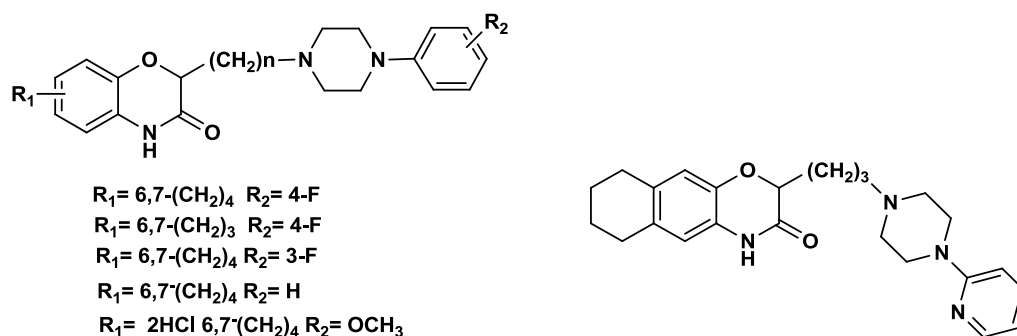


Figure 2.18: Structure des dérivés benzoxazin-3(4H)-ones comme agents antihypertenseurs et anti-arythmiques.

Très récemment, Peng Wang *et al.*^[94] ont développé un nouveau protocole pour la synthèse des dérivés de 2H-1,4-benzoxazine-3(4H)-ones. Cette méthode effectue efficacement une amidation oxydative intramoléculaire des arènes, pour créer des liaisons C-N catalysée par le $Cu[(CH_3CN)_4]ClO_4$ dans des conditions douces, entre la liaison C-N inactive et la fonction N-H de N-(1,3-diphényl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)-2-phénoxyacétamides comme source d'azote (Schéma 2.50). L'approche développée permet la synthèse de divers produits à partir d'un large éventail d'éthers aromatiques avec des rendements modérés à bons, en utilisant des réactifs et des catalyseurs simples et peu coûteux dans des conditions douces, en montrant une bonne chimio et régiosélectivité. Les essais préliminaires de la cytotoxicité sur

[93] M. Kajino, Y. Shibouta, K. Nishikawa, K. Meguro. *Chem. Pharm. Bull.*, **1991**, 39(11), 2896–2905.

[94] P. Wang, F. Liu, Q. Zhong, S.L. Zheng, Y. Chen, G.D. Wang, L.He, *Chin. Chem. Lett.*, **2017**, 28, 1243–1247.

deux lignées de cellules cancéreuses métastatique suggèrent que les benzo[1,4]oxazin-3-(4H)-ones peuvent être considérés comme des modèles utiles pour développer de petite molécule comme agents anticancéreux potentiels.

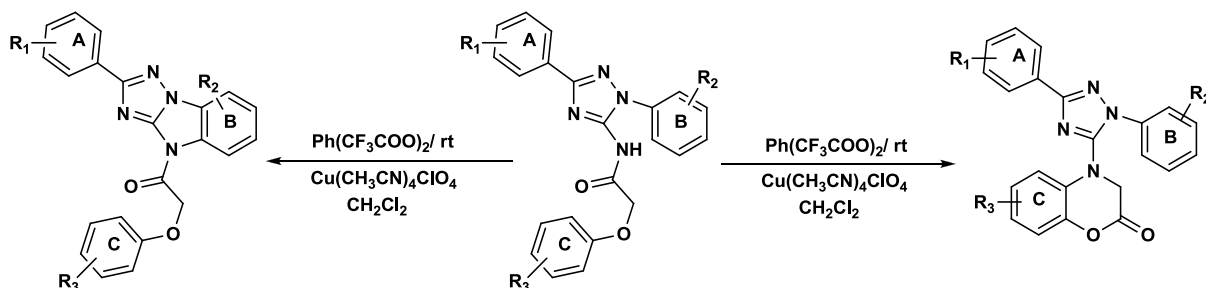


Schéma 2.51: Procédé de synthèse des dérivés du benzo[1,4]oxazin-3-(4H)-ones avec une amidation oxydative sélective.

2.6. CONCLUSION

Les dérivés hétérocycliques synthétiques ou naturelles 1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones sont des composés qui ont montré un grand intérêt au cours des dernières années, en grande partie en raison de leurs diverses applications potentielles dans la conception de nouveaux agents thérapeutiques. Effectivement, ces composés présentent de très nombreuses propriétés pharmacologiques. L'accès à ce type de structure hétérocyclique a suscité l'intérêt de nombreux chimistes organiciens, cherchant toujours à mettre au point des synthèses plus rapides, efficaces et plus respectueuses pour l'environnement.

Dans ce chapitre, nous avons présenté une mise au point bibliographique couvrant les réalisations de synthèse pour les 1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones durant les dernières années. De nouvelles techniques de synthèse, par exemple, la synthèse à l'état solide et l'utilisation des irradiations micro-ondes se sont également avérées utiles dans leur synthèse. Les principaux progrès ont également été réalisés dans l'application des 1,4-benzoxazinones comme plateformes de base pour la conception des composés biologiquement actifs. Les relations structure-activité des dérivés contenant ce motif structural ont indiqué que dans la plupart des cas, ce dernier est essentiel pour l'activité pharmacologique. Enfin, nous avons donné un aperçu sur les diverses voies synthétiques utilisées pour la formation des dérivés benzoxazinoniques biologiquement actifs. Cette revue de littérature s'avère très utile pour le développement d'autres travaux de recherche sur ce genre de structures comme «*Preveligied scaffolds*», et aussi un outil important pour le développement de nouveaux composés qui pourraient être considérés comme meilleurs agents en termes d'efficacité et de sécurité.

CHAPITRE 3
Généralités sur les
hydrazones

Chapitre 3–Généralités sur les hydrazones

Nous rapportons dans ce chapitre les données bibliographiques concernant les principales propriétés chimiques et biologiques, ainsi que les applications les significatives des composés hydrazones.

3.1. INTRODUCTION

Les hydrazones ont acquis un intérêt considérable ces dernières années en raison de leur grande variété de propriétés biologiques et pharmacologiques.^{[1],[2],[3],[4],[5]} Les hydrazones sont des sources importantes pour la synthèse des composés hétérocycliques,^{[6],[7],[8]} et ils sont membres de la famille des bases de Schiff, étudiés de manière exhaustive en raison de leurs propriétés catalytiques dans différents domaines, et en partie pour leurs activités biologiques.^{[9],[10],[11],[12],[13],[14]}

Les hydrazones sont une classe importante de groupes fonctionnels en chimie organique possédant le groupe -NH-N=CH- avec la disponibilité du proton qui aide à leur importance pharmaceutique. Les possibilités de développement des hydrazides ont pris de l'élan après la découverte de l'hydrazide d'acide isonicotinique–**INH**. La remarquable valeur clinique de l'**INH**,^[14] stimule l'étude d'autres hydrazones hétérocycliques possédant des noyaux mono-cycliques comme le furane, le pyrrole, le thiophène et les noyaux bicycliques comme la quinoléine et l'isoquinoléine.

[1] Y. Yang, C.Y. Gao, J.L. Liu, D.W. Dong, *Anal. Methods.*, **2016**, 8, 2863–2871.

[2] L.A. Tatum, X. Su, I. Aprahamian, *Acc. Chem. Res.*, **2014**, 47, 2141–2149.

[3] M. Mohanraj, G. Ayyannan, G. Raja, C. Jayabalakrishnan, *Mat. Sci. Eng. C-Mater.*, **2016**, 69, 1297–1306.

[4] G.L. Goff, J. Ouazzani, *Bioorg. Med. Chem.*, **2014**, 22(23), 6529–6544.

[5] K. Werengowska-Cieciewicz, M. Wisniewski, A.P. Terzyk, S. Furmaniak, *Adv. Cond. Matter Phys.*, **2015**, 619, 219–222.

[6] M. Zora, A. Kivrak, *J. Org. Chem.*, **2011**, 76(22), 9379–9390.

[7] M. Zora, A. Kivrak, C. Yazici, *J. Org. Chem.*, **2011**, 76(16), 6726–6742.

[8] M. Zora, D. Demirci, A. Kivrak, Y. Kelgokmen, *Tetrahedron. Lett.*, **2016**, 57(9), 993–997.

[9] X. Su, I. Aprahamian, *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, 43, 1963–1981.

[10] H.M. Rhoda, K. Chanawanno, A.J. King, Y.V. Zatsikha, C.J. Ziegler, V.N. Nemykin, *Chem.-Eur. J.*, **2015**, 21, 18043–18046.

[11] R.D. Maia, R. Tesch, C.A.M. Fraga, *Expert Opin. Ther. Pat.*, **2014**, 24, 1161–1170.

[12] D.J.R. Lane, T.M. Mills, N.H. Sha_e, A.M. Merlot, R.S. Moussa, D.S. Kalinowski, Z. Kovacevic, D.R. Richardson, *BBA-Rev. Cancer.*, **2014**, 1845, 166–181.

[13] R. Narang, B. Narasimhan, S. Sharma, *Curr. Med. Chem.*, **2012**, 19, 569–612.

[14] M. Bingul, O. Tan, C.R. Gardner, S.K. Sutton, G.M. Arndt, G.M. Marshall, B.B. Cheung, N. Kumar, D.S. Black, *Molecules.*, **2016**, 21 : E916.

3.2. STRUCTURE GENERALE DES HYDRAZONES

Les hydrazones représentent une famille de composés organiques comportant une formule générale, donné par la structure semi-développée ci-dessous (Figure 3.1), où R et R₁ sont généralement des substituant alkyles, aryles, cycloalkyles, hydrogène ou des groupes hétérocycliques.^[15]

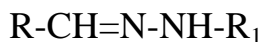


Figure 3.24: Structure générale des hydrazones.

La structure des hydrazones confère au carbone (-CH=N-NH-) à la fois un caractère électrophile, dû à la polarisation de la double liaison, et un caractère nucléophile, dû à la participation et à la conjugaison du doublet non liant de l'azote terminal (=N-NH-). Les deux types de réactivité ont été observés et exploités; suivant les conditions réactionnelles et la nature de l'hydrazone choisi, c'est l'une ou l'autre des propriétés qui s'exprimera. Tandis que les deux atomes d'azote du groupe hydrazone sont nucléophiles, bien que l'azote du type amino (-NH-) soit plus réactif. La caractéristique structurale commune des hydrazones est la présence du groupe azométhine (-CH=N-NH-).^[16] Les deux constituent les centres actifs des hydrazines; ils génèrent les propriétés physico-chimiques caractéristiques des hydrazones.^{[17],[18]}

3.3. SOURCE NATURELLE DES HYDRAZONES

La présence des hydrazones dans les substances naturelles, est une découverte en relation avec leurs propriétés biologiques. Deux exemples sont présentés: des alcaloïdes contenant une fonction hydrazone ont été isolés d'une éponge marine,^[19] et la toxine hémolytique, gyromitrine (acétaldéhyde méthylformylhydrazone) est produite par la fausse morille (Figure 3.2).^[20]

[15] R. Kaplanek, M. Havlik, B. Dolensky, J. Rak, P. Dzubak, P. Konecny, M. Hajduch, J. Kralova, V. Kral, *Bioorg. Med. Chem.*, **2015**, *23*, 1651–1659.

[16] D. Enders, R. Lochman, G. Raabe, *Synlett.*, **1996**, *2*, 126–128.

[17] V. Cere, F. Peri, S. Pollicino, A. Ricci, *Synlett.*, **1999**, *10*, 1585–1587.

[18] M.D. Altintop, A. Ozdemir, G. Turan-Zitouni, S. Ilgin, O. Atli, G. Iscan, Z.A. Kaplancikli, *Euro. J. Med. Chem.*, **2012**, *58*, 299–307.

[19] H. Shimogawa, S. Kuribayashi, T. Teruya, K. Suenaga, H. Kigoshi, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 1409–1411.

[20] D. Michelot, *J. Toxicol. Clin. Exp.*, **1989**, *9*, 83–99.



Eponge marine



Fausse Morille

Figure 3.2: Exemples d'hydrazones des sources naturelles.

3.4. SYNTHÈSE ET PROPRIÉTÉS DES HYDRAZONES

Les hydrazones ont des propriétés communes d'être faciles à préparer, une tendance à la cristallinité, et une meilleure stabilité hydrolytique par rapport aux imines. Les bases de Schiff hétéroaryles possèdent des sites de donneurs supplémentaires en ce qui concerne les bases de Schiff hydrazones, et cela apporte une polyvalence qui les rend de bons agents chélateur.^[21] De plus, ils ont un niveau relativement élevé de tendance à donner une stéréochimie d'un nombre de coordination plus élevés, des propriétés de donneurs neutres ou déprotonés, et une flexibilité fournissant des conformations différentes.^{[12],[16]}

Généralement, ces composés peuvent être formés par une réaction de condensation des hydrazides (-NHNH_2) avec les composés tels que les aldéhydes, les cétones et d'autres composés carbonylés dans des solvants comme l'éthanol, le méthanol, le butanol, le tétrahydrofuran, l'acide acétique glacial, le mélange éthanol-acide acétique glacial.^{[22],[23],[24]}

Les composés hydrazones ne sont pas seulement des intermédiaires de synthèse, mais ils sont aussi des composés organiques très efficaces. En effet, certains composés hydrazones efficaces comme l'Iproniazide et l'Isocarboxazide. L'Iproniazide, comme l'Isocarboxazide est utilisé dans le traitement de la tuberculose (TB) et a également montré un effet antidépresseur (Figure 3.3). Un autre hydrazones efficace est le Nifuroxazide, qui est utilisé comme un antiseptique intestinal.^{[25],[26]} Le dérivé 2-Chloroquinolinyll hydrazone est un anticonvulsivant

[21] D. Enders, J. Schankat, M. Klatt, *Synlett.*, **1994**, 10, 795–797.

[22] M.D. Altintop, A. Ozdemir, G. Turan-Zitouni, S. Ilgin, O. Atli, G. Iscan, Z.A. Kaplancikli, *Euro. J. Med. Chem.*, **2012**, 58, 299–307.

[23] J.C. Coa, W. Castrillon, W. Cardona, M. Carda, V. Ospina, J.A. Munoz, I.D. Velez, S.M. Robledo, *Euro. J. Med. Chem.*, **2015**, 101, 746–753.

[24] R. Kaplanek, M. Havlik, B. Dolensky, J. Rak, P. Dzubak, P. Konecny, M. Hajduch, J. Kralova, V. Kral, *Bioorg. Med. Chem.*, **2015**, 23, 1651–1659.

[25] V.J. Negi, A.K. Sharma, J.S. Negi, V. Ram, *Int. J. Pharm. Chem.*, **2012**, 2 (4), 100–109.

et les hydrazones dérivés de la **Ribavirine** sont des anticancéreux,^[27] les hydrazones de l'indane-1,3-dione sont des anticoagulants à activité antimicrobienne,^[28] et les dérivés 4-arylhydrazono-2-pyrazoline-5-ones ont des activités anti-TB.^[29] Certains hydrazones sont actifs contre le MtbH37Rv à des concentrations entre 0.78-6.25µg/mL.^[30] Une série d'hydrazones ont été rapportés comme ayant des activités antidépressives, sédatives et analgésiques.^[31]

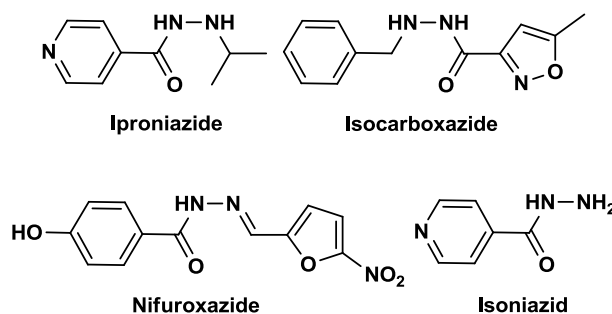


Figure 3.3: Certains composés hydrazones utilisés dans le traitement de la tuberculose.

Lorsqu'ils sont utilisés comme intermédiaires, les produits de leur couplage par exemple, peuvent être synthétisés à l'aide de la composante **hydrogène** actif du groupe azoméline $-\text{CONHN}=\text{CH}-$.^[32] Les N-alkyles hydrazides peuvent être synthétisés par réduction des hydrazones avec le NaBH_4 ,^[33] les 3,4-oxadiazolines substitués peuvent être synthétisés lorsque les hydrazones sont chauffés en présence d'anhydride acétique.^{[34],[35]} Les 2-azétidinones peuvent être synthétisés lorsque les hydrazones réagissent avec le chlorure de l'acide chloro acétique dans la triéthylamine.^[36] Les 4-thiazolidinones sont aussi synthétisés lorsque les hydrazones réagissent avec l'acide thioglycolique/acide thiolactique (Figure 3.4).^[36]

[26] S. Rollas, S.G. Kucukguzel, *Molecules.*, **2007**, *12*, 1910–1939.

[27] W.-Y. Liu, H.-Y. Li, B.-X. Zhao, D.-S. Shin, S. Lian, J.-Y. Miaonovel, *Carbohydrate Res.*, **2009**, *344*, 1270–1275.

[28] S. Jubie, S. Meena, K.V. Ramashesu, N. Jawahar, S. Vijaykumar, *Ind. J. Chem.*, **2010**, *49B*, 1261–1263.

[29] K.S. Guniz, S. Rollasa, H. Erdeniz, M. Kiraz, E.A. Cevdet, A. Vidinc, *Eur. J. Med. Chem.*, **2000**, *35*, 761–771.

[30] K.B. Kaymakçioğlu, E.E. Oruc, S. Unsalan, F. Kandemirli, N. Shvets, S. Rollas, D. Anatholy, *Eur. J. Med. Chem.*, **2006**, *41*, 1253–1261.

[31] R.M. Mohareb, K.A. El-Sharkawy, M.M. Hussein, H.M. El-Sehrawi, *J. Pharm. Sci. & Res.*, **2010**, *2*, 185–196.

[32] N. Ergenç, N.S. Günay, *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, *33*, 143–148.

[33] B.B. Durgun, G. Çapan, N. Ergenç, S. Rollas, *Pharmazie.*, **1993**, *48* (12), 942-943.

[34] H.N. Doğan, A. Duran, S. Rollas, G. ener, Y. Armutak, M. Keyer-Uysal, *Med. Sci. Res.*, **1998**, *26*, 755–758.

[35] R. Kalsi, M. Shrimali, T.N. Bhalla, J.P. Barthwal, *Indian J. Pharm. Sci.*, **2006**, *41*, 353–359.

[36] G. Küçükgüzel, A. Kocatepe, E. De Clercq, F. ahin, M. Güllüce, *Eur. J. Med. Chem.*, **2006**, *41*, 353–359.

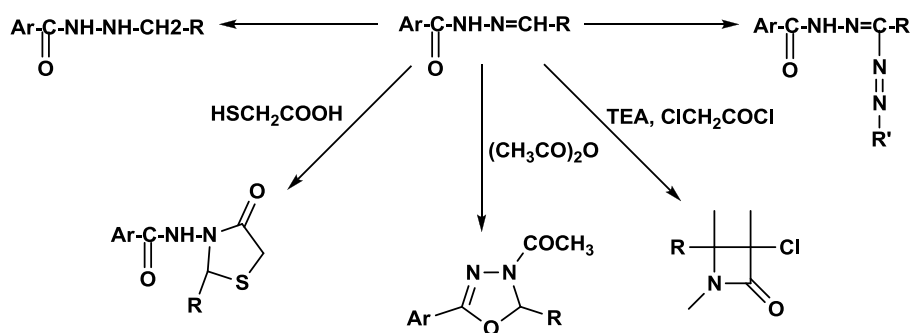


Figure 3.4: Hydrazones comme intermédiaires.

Un certain nombre d'études ont investigués le métabolisme *in-vitro* et *in-vivo* des N-acylhydrazones. Dans les études de métabolisme *in-vitro*, il a été constaté que les hydrazide-hydrazones subissent les réactions hydrolytiques et les noyaux aromatiques subissent des réactions d'hydroxylation aromatique (Figure 3.5).^[38]

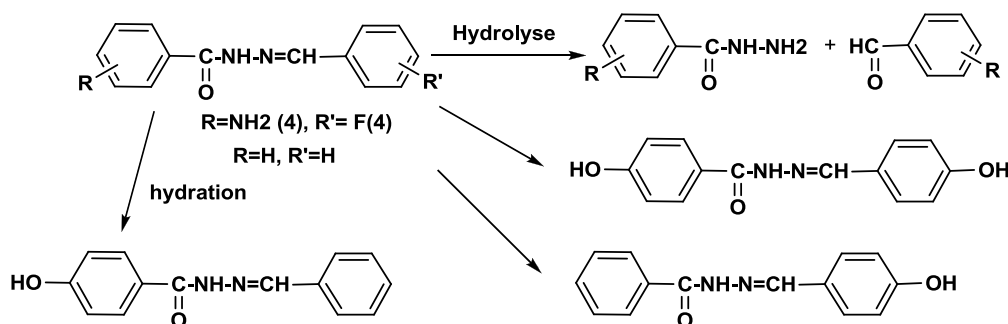


Figure 3.5: Métabolisme *in-vitro* et *in-vivo* des hydrazones.

La synthèse et l'évaluation des activités pharmacologique telles que, antimicrobienne,^{[37],[38]} antifongique,^[39] antitumorale,^{[40],[41]} anti-inflammatoire,^{[42],[43]} analgésique,^[44] antiprolifératif,^[45] et antituberculeuse^{[46],[47]} des dérivés hydrazones ont gagnés une popularité croissante des pharmacochimistes. Ces composés effectuent leurs actions de

[37] G. Gurkok, N. Altanlar, S. Suzen, *Chemotherapy.*, **2009**, 55, 15–19.

[38] H. Shirinzadeh, N. Altanlar, N. Yucel, S. Ozden, S.Z. Suzen, *Naturforsch.*, **2011**, 66, 340–344.

[39] H. Wang, S.X. Ren, Z.Y. He, D.L. Wang, X.N. Yan, J.T. Feng, X. Zhang, *Int. J. Mol. Sci.*, **2014**, 15, 4257–4272.

[40] M.T. Cocco, C. Congiu, V. Lilliu, V. Onnis, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 366–372.

[41] R.C. Montenegro, L.V. Lotufo, M.O. de Moraes, C.D. Pessoa, F.A.R. Rodrigues, M.D.F. Bispo, L.N.D. Cardoso, C.R. Kaiser, M.V.N. de Souza, *Med. Chem.*, **2011**, 7, 599–604.

[42] L. Navidpour, H. Shafaroodi, G. Saeedi-Motahar, A. Sha_ee, *Med. Chem. Research.*, **2014**, 23, 2793–2802.

[43] G. Rajitha, N. Saideepa, P. Praneetha, *Indian J. Chem. B.*, **2011**, 50, 729–733.

[44] S.M. Sondhi, M. Dinodia, A. Kumar, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 4657–4663.

[45] V. Onnis, M. Demurtas, A. Deplano, G. Balboni, A. Baldisserotto, S. Manfredini, S. Paci_co, S. Liekens, J. Balzarini, *Molecules.*, **2016**, 21, E579.

[46] R.B. Pathak, P.T. Chovatia, H.H. Parekh, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, 22, 5129–5133.

[47] V. Singh, V.K. Serivastava, G. Palit, K. Shanker, *Drug. Res.*, **1992**, 42, 993–996.

diverses manières biochimiques, principalement basées sur leurs possibilités d'être des agents chélateurs efficaces,^[48] piègeurs d'ions métalliques,^[49] et pharmacophores inhibiteurs de certaines enzymes clés dans les voies métaboliques avec des facteurs conduisant à la cytotoxicité, qui pourrait être utilisé dans les stratégies pharmacologiques contre de nombreuses maladies.^[50] Quel que soit le mode de fonctionnement qu'ils ont, la plupart des efforts consacrés à ces molécules, sont pour offrir des médicaments alternatifs avec moins de toxicité et d'une activité plus élevée.^{[51],[52]}

En plus de leurs vastes propriétés biologiques, ils se combinent également avec d'autres groupes fonctionnels pour fournir des molécules pharmacologiquement actives potentielles.

3.5. PRINCIPALES PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DES HYDRAZONES

Comme il a été signalé précédemment, l'Isoniazide (INH) est un hydrazide de l'acide isonicotinique à activité inhibitrice *in vivo* très élevée vers *M. tuberculosis* H37Rv. Sah et Peoples ont synthétisé des dérivés hydrazide-hydrazones de l'INH (Figure 3.6) en réagissant l'isoniazide (INH) avec différents aldéhydes et cétones. Ces composés ont été signalés comme ayant une activité inhibitrice chez les souris infectées par diverses souches de *M. tuberculosis*.^[53] Ils ont également montré moins de toxicité chez ces souris que le dérivé INH.^[54] Buu-Hoi *et al.* ont synthétisé quelques hydrazones-hydrazide, qui ont été signalés comme ayant une faible toxicité que les hydrazides en raison du blocage du groupe –NH₂. Ces constatations appuient l'importance croissante de la synthèse des composés hydrazide-hydrazones.^[55]

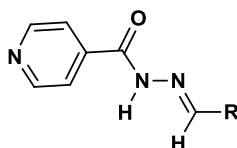


Figure 3.6: Structure de l'Isoniazide (INH).

[48] Y.F. Liu, Q. Teng, J.F. Hu, R.F. Sun, H. Zhang, *Sensor. Actuat. B-Chem.*, **2016**, 234, 680–690.

[49] X. Su, I. Aprahamian, *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, 43, 1963–1981.

[50] S. Rollas, S.G. Kucukguzel, *Molecules.*, **2007**, 12(8), 1910–1939.

[51] M. Sera_ni, D. Del Rio, *Redox Rep.*, **2004**, 9, 145–152.

[52] L.K. MacDonald-Wicks, L.K. Wood, L.G. yGard, M.L.J. *Food Sci. Agric.*, **2006**, 86(13), 2046–2056.

[53] P.P.T. Sah, S.A. Peoples, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **1954**, 43, 513–524.

[54] E.M. Bavin, D.J. Drain, M. Seiler, D.E. Seymour, *J. Pharm. Pharmacol.*, **1954**, 4, 844–855.

[55] P.H. Buu-Hoi, D. Xuong, H. Nam, F. Binon, R. Royer, *J. Chem. Soc.* **1953**, 1358–1364.

Gülerman *et al.*^[56] ont étudié le métabolisme *in vivo* de l'acide 4-fluorobenzoïque ((5-nitro-2-Furyl)-méthylène-hydrazone), un dérivé de l'hydrazone qui est efficace contre le *S. aureus*. Ils ont confirmé la présence du substrat et du métabolite de l'acide 4-fluorobenzoïque dans le sang et les globules sanguins (Figure 3.7).

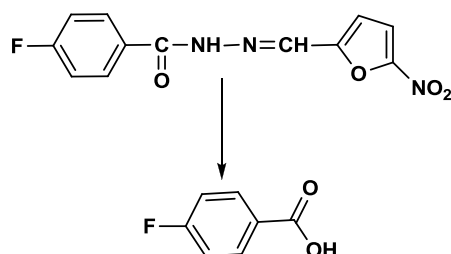


Figure 3.7: Métabolisme *in vivo* de l'acide 4-fluorobenzoïque ((5-nitro-2-Furyl)-méthylène-hydrazone).

Küçükgülzel *et al.*^[57] ont étudié le métabolisme microsomique hépatique *in vitro* de la N-(4-chlorobenzyl)-N'-benzoylhydrazine (CBBAH). L'hydrazone correspondant, à savoir l'acide benzoïque (4-chlorophényl)-méthylènehydrazide, a été détecté comme le principal produit métabolique *in vitro* (Figure 3.8).

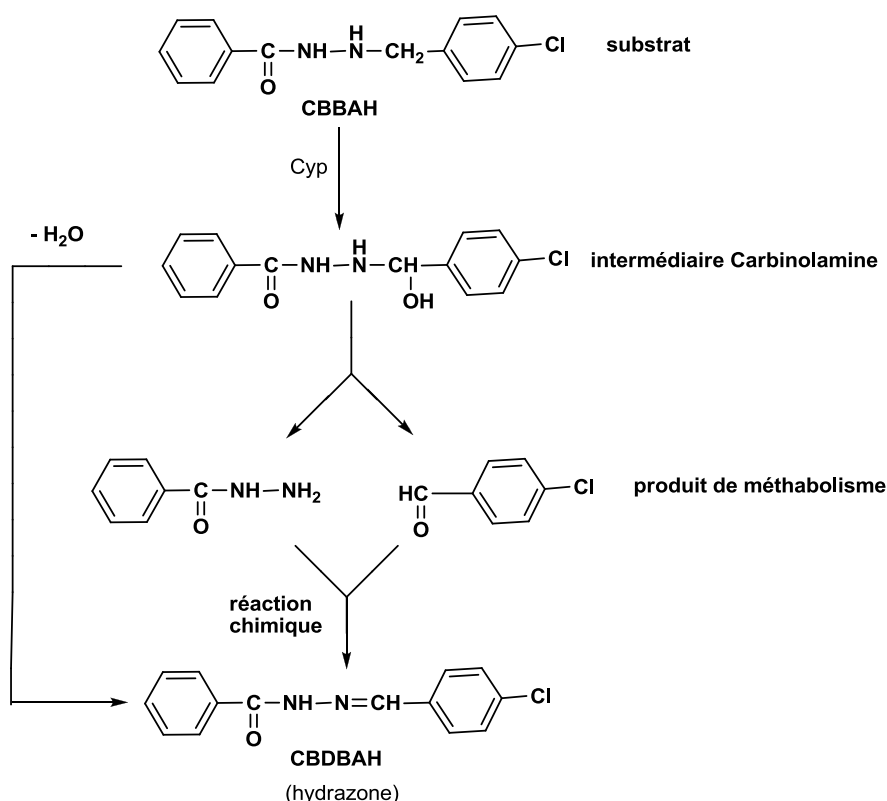


Figure 3.8: Métabolisme microsomique hépatique *in vitro* de la N-(4-chlorobenzyl)-N'-benzoylhydrazine (CBBAH).

[56] N.N. Gülerman, E.E. Oruç, F. Kartal, S. Rollas, *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **2000**, 25, 103–108.

[57] Ş.G. Küçükgülzel, İ. Küçükgülzel, M. Ülgen, *Farmaco.*, **2000**, 55, 624–630.

On sait que les hydrazones (comme l'INH) forment l'acide α -cétoglutarique, et forment des hydrazones avec de la vitamine B₆ et de l'acide pyruvique. Il est cliniquement important de noter que lorsque les patients tuberculeux sont traités avec l'INH, la réaction de ce dernier avec la vitamine B₆ conduit à la formation d'un hydrazone et le développement de la carence en vitamine B₆, donc, les patients qui sont traités avec l'INH devraient être administrés de la vitamine B₆ (Figure 3.9).

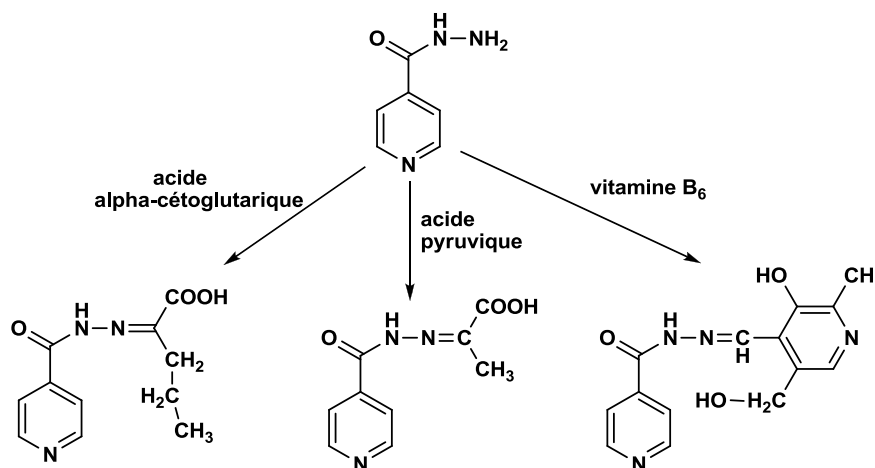


Figure 3.9: Formation des hydrazones dérivés de l'acide α -cétoglutarique, de la vitamine B₆ et de l'acide pyruvique.

3.5.1. Activité anticonvulsivante

L'épilepsie est un trouble neurologique commun et un terme collectif donné à un groupe de syndromes qui impliquent une activité électrique anormale, spontanée, et intermittente dans le cerveau. Selon la fondation de l'épilepsie, l'épilepsie est un trouble chronique caractérisée par des crises récurrentes imprévisibles et non provoquées. C'est le quatrième trouble neurologique le plus fréquent affectant les personnes de tous les âges. Les dérivés hydrazones ont été déclarés comme possédant l'activité anticonvulsive.^[58]

Dimmock *et al.*^[59] ont décrits une série de nouvelles molécules hydrazones et bis-hydrazones, et ils les ont criblés pour des activités anti-convulsivantes. Les composés étudiés ont montré un problème significatif d'activité antiépileptique, et un certain nombre de chercheurs ont prêté attention pour le développement des dérivés d'hydrazone pour la gestion de l'hypertension. Les résultats des études sur les activités biologiques ont révélé qu'en général, les acétylhydrazones fournissait une bonne protection contre les convulsions, alors que les oxamoylhydrazones sont significativement moins actifs (Figure 3.10).

[58] I. Hussain, A. Ali, *J. Phytochemistry. Biochem.*, **2017**, 1, 99-104.

[59] J.R. Dimmock, S.C. Vashishtha, J.P. Stables, *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35, 241–248.

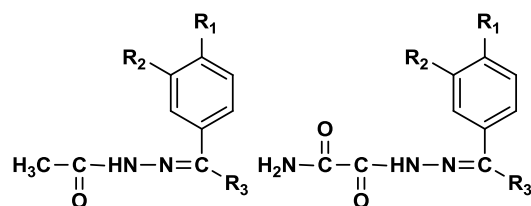


Figure 3.10: Acétylhydrazones et Oxamoylhydrazones anti-convulsivants.

Wagle *et al.*^[60] ont réalisés la synthèse et l'étude de l'activité anticonvulsivante des dérivés hydrazones, et ont constaté que les composés étudiés présentent une activité anticonvulsivante potentielle comparativement au médicament de référence le **Diazépam** (Figure 3.11).

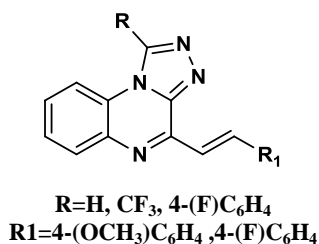


Figure 3.11: Dérivés hydrazones à activité anticonvulsivante.

Ragavendran *et al.*^[61] ont préparé deux séries de phthalimide-GABA anilides/hydrazones, et qui ont ensuite été testés pour des activités neurotoxiques et anticonvulsivantes. Les composés synthétisés possèdent une propriété anticonvulsive. Notamment, le composé le plus active s'est révélé être le composé 4-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)-N-(2,6-diméthylphényl)butanamide (Figure 3.12).

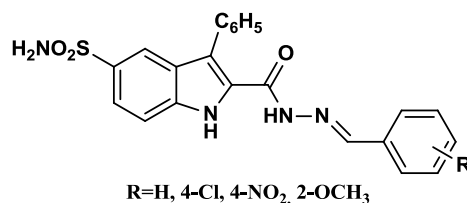


Figure 3.12: L'hydrazone le plus actif.

Sridhard *et al.*^[62] ont synthétisé et criblés des hydrazones de type bases de Schiff et Mannich pour leur activité anticonvulsivante. Les composés ont montré une importante activité anticonvulsivante, et le composé le plus actif observé a été le 3-(4-chlorophénylimino)-5-méthyl-1,3-dihydro-indol-2-one (Figure 3.13).

[60] S. Wagle, A.V. Adhikari, N.S. Kumari, *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, *44*, 1135–1143.

[61] J.V. Ragavendran, D. Sriram, S.K. Patel, I.V. Reddy, N. Bharathwajan, et al, *Eur. J. Med. Chem.*, **2007**, *42*, 146–151.

[62] S.K. Sridhar, S.N. Pamdeya, J.P. Stables, A. Ramesh, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2002**, *16*, 129–132.

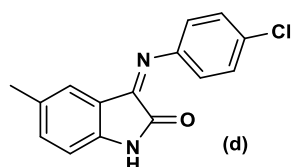


Figure 3.13: Le composé le plus actif 3-(4-chlorophénylimino)-5-méthyl-1,3-dihydro-indol-2-one.

Dimmock *et al.*^[59] ont synthétisés une série d'oxamoylhydrazones, acétylhydrazones et semicarbazones. Dans leur étude pharmacologique, il a été observé que les acétylhydrazones, et semicarbazones (Figure 3.14) offrent des activités anticonvulsivantes prometteuses par rapport aux oxamoylhydrazones.

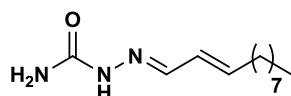


Figure 3.14: Acétylhydrazones et semicarbazones à activité anticonvulsivante prometteuse.

De même, au cours des récentes années, Sanchit *et al.*^[63] ont rapporté la synthèse des hydrazones bases de Schiff pyrimidiniques. Les dérivés hydrazones nouvellement synthétisés présentent une bonne activité anticonvulsivante (Figure 3.15).

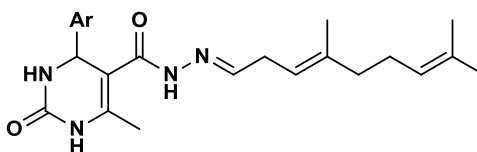


Figure 3.15: Hydrazones bases de Schiff pyrimidiniques à activité anticonvulsivante.

3.5.2. Activité antidépressante

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la dépression est un trouble mental caractérisé par une tristesse persistante et une perte d'activités quotidiennes intéressantes. La dépression a touché 300 millions de personnes dans le monde entier, et est considérée comme une cause principale de suicide. On rapporte qu'un certain nombre de dérivés hydrazones ont une activité antidépressante.

De Souza *et al.*^[64] ont synthétisé un ensemble de sulfamides et d'hydrazones sulphonyle maléimides. Lors de l'évaluation biologique, les composés ont été trouvés pour avoir une activité antidépressante prometteuse. Il est intéressant de noter que le sulphonyl-

[63] S. Srivastav, L. Kanishk, S.N. Pandeya, *World. J. Pharm. Res.*, **2017**, 5, 2101–2108.

[64] K.N.D. Oliveira, P. Costa, J.R. Santin, L. Mazzambani, C. Burger, *et al*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2011**, 19, 4295–4306.

hydrazone est le composé le plus actif que le médicament de référence l'Imipramine (Figure 3.16).

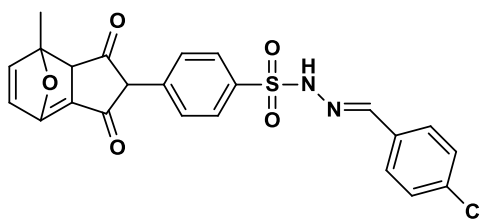


Figure 3.16: Structure du sulfonyl-hydrazone maléimide à activité antidépressante.

De plus, une série de dérivés hydrazones ont été développés et étudiés pour leurs propriétés antidépressantes par Gokhan-Kelekci *et al.*^[65] La plupart des composés ont montré une activité d'inhibition de la MAO (Figure 3.17).

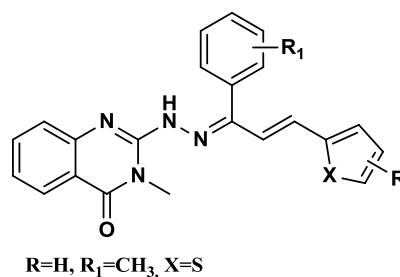


Figure 3.17: Dérivés hydrazones antidépressantes.

Ergec *et al.*^[32] ont étudiés une série de dix arylidenehydrazones et les ont testés pour leurs activités antidépressantes. Les composés résultants ont montré une bonne propriété antidépressante (Figure 3.18).

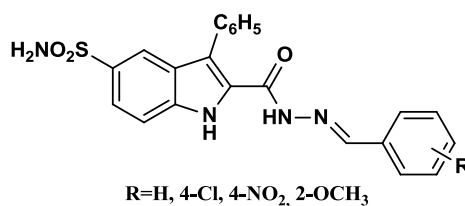


Figure 3.18: Arylidenehydrazides.

Pandeya *et al.*^[66] ont rapporté la synthèse d'une série d'hydrazones de l'acide phénylacétique. Tous les composés présentent une activité antidépressante prometteuse par rapport au produit de référence la Tranylcypromine (Figure 3.19).

[65] N. Gokhan-Kelekci, S. Koyunoglu, S. Yabanoglu, K. Yelekci, O. Ozgen, et al, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, *17*, 675–689.

[66] S.N. Pandeya, H. Manjula, P.N. Singh, *Indian. J. Physiol. Pharmacol.*, **2000**, *44*, 509–510.

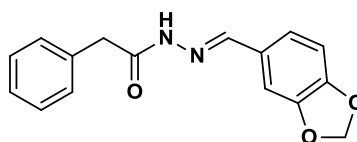


Figure 3.19: Hydrazone de l'acide phénylacétique à activité antidépressante.

3.5.3. Activité anti-hypertensive

Selon l'OMS, l'hypertension également connue sous le nom pression élevée de sang, est une condition dans laquelle les vaisseaux sanguins ont une forte pression persistante. Dans la majorité des cas, la cause est non spécifique/inconnue. L'hypertension à long terme est considérée comme l'un des principaux facteurs de risque des maladies cardiovasculaires. Pour surmonter ce problème de santé qui s'accroît rapidement, un certain nombre de chercheurs ont prêté attention aux dérivés hydrazones pour la gestion de l'hypertension.

Leal *et al.*^[67] ont rapporté la synthèse des N-acylhydrazones à base de safrole. Les composés ont été évalués et ont été jugés d'avoir la caractéristique d'antihypertenseurs (Figure 3.20).

Comme la vasodilatation est l'un des facteurs qui réduit la pression artérielle élevée.

De nouveaux dérivés acylhydrazones ont été conçu, synthétisé et soumis à un criblage vasodilatateur par Silva *et al.*^[68]. Les nouveaux composés ont montré un effet vasodilatateur en agissant directement sur l'endothélium du muscle lisse (Figure 3.20).

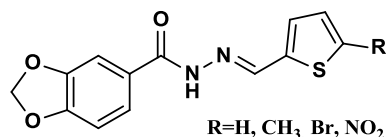


Figure 3.20: acylhydrazones à effet vasodilatateur.

Diana *et al.*^[69] ont réalisé la synthèse d'une série de 3,4-dihydroisoquinoléines substituées en position **1**. Les composés résultants sont testés, et il a été déclaré que l'homologue 1-hydrazino et les hydrazones dérivés de l'acétaldéhyde et de l'acétone correspondants montrent une activité anti-hypertensive (Figures 3.21c₁-c₂).

[67] C.M. Leal, S.L. Pereira, A.E. Kummerle, D.M. Leal, R. Tesch, *Eur. J. Med. Chem.*, **2012**, 55, 49–57.

[68] A.G. Silva, G. Zapata-Sudo, A.E. Kummerle, C.A. Fraga, E.J. Barreiro, *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13, 3431–3437.

[69] D.D. Guy, H.E. Lape, *J. Med. Chem.*, **1977**, 20, 449–452.

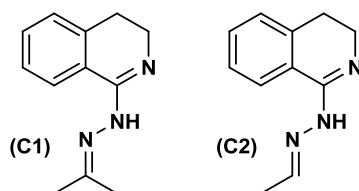


Figure 3.21c₁-c₂: 3,4-Dihydroisoquinolines substituées en position 1 à activité anti-hypertensive.

Bakale *et al.*^[70] ont réalisé la synthèse d'un complexe de Zn (II) des ligands 2-chlorobenzaldéhyde, hydralazine et hydrazine. Les complexes étudiés ont été évalués pour leurs activités anti-hypertensives, et il a été trouvé qu'ils présentaient une activité prometteuse par la production *in situ* de la portion 1,2,4-triazole (Figure 3.22).

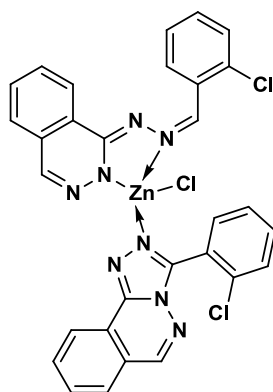


Figure 3.22: complexe de Zn (II) du ligand 2-chlorobenzaldéhyde anti-hypertensives.

3.5.4. Activité antiplaquettaire

L'agrégation plaquettaire joue un rôle vital dans la coagulation du sang et la thrombose. La thrombose est une des principales causes de maladies qui sont considérées comme la cause principale de la mort naturelle.^[71]

Un certain nombre de dérivés hydrazones ont été synthétisés et évalués pour la propriété antiplaquettaire. Une série de structures indoles portant des dérivés hydrazones ont été rapportés par Mashayekhi *et al.*^[72] et ont montré un caractère d'agrégation antiplaquettaire (Figure 3.23a).

[70] R. P. Bakale, G. N. Naik, C. V. Mangannavar, I. S. Muchchandi, I. N. Shcherbakov, et al, *Eur. J. Med. Chem.*, **2014**, *73*, 38–45.

[71] R. Narang, B. Narasimhan, S. Sharma, *Current. Med. Chem.*, **2012**, *19*, 569–612.

[72] V. Mashayekhi, H. M. E. K Tehrani, S. Amidi, F. Koberfard, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **2013**, *61*, 144–150.

Brito *et al.*^[73] ont de leur part, décrit la synthèse et l'activité antiplaquettaire d'un ensemble de dérivés thiénylacylhydrazone, et le composé le plus actif rapporté est le ((2-thienylidène)-3,4-méthylènedioxybenzoyl)hydrazine (Figure 3.23b).

Une série de nouvelles molécules hydrazones de trois familles de dérivés arylsulfonate-acylhydrazone ont été synthétisés par modification structurale des inhibiteurs connus de la thrombine par Lima *et al.*^[74] toutes les trois classes de composés ont montré des activités d'agrégation antiplaquettaires (Figure 3.23c).

Mohebbi *et al.*^[75] ont aussi effectué la synthèse d'une gamme de dérivés aryle (aroyl) hydrazone à base d'indole. Parmi les composés résultants, les dérivés de phénylhydrazone montrent une importante activité antiplaquettaire (Figure 3.23d).

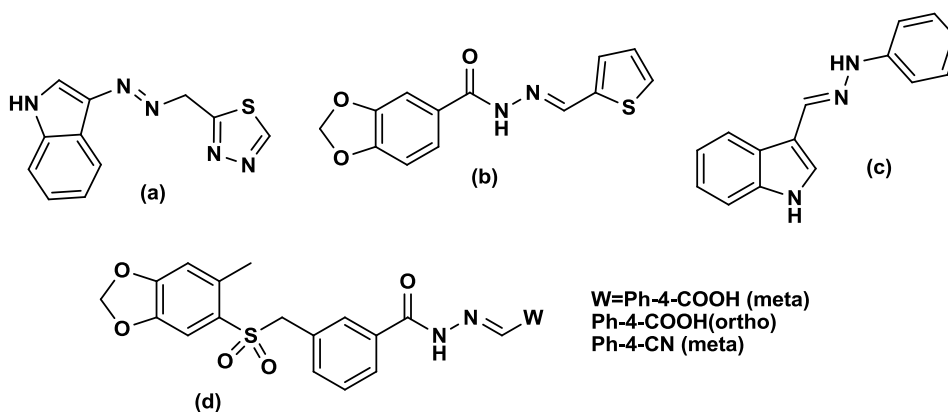


Figure 3.23a-d: Dérivés hydrazones ayant une activité antiplaquettaire.

3.5.5. Activité anticancéreuse

Le cancer est une question brûlante sous investigation qui se réfère à la division cellulaire anormale et incontrôlée et rapide qui peut envahir le tissu voisin (à proximité). En 2015, environ 90.5 millions de personnes étaient porteuses de cancer et voire son nombre augmenté chaque année. Un certain nombre de dérivés hydrazones possédant des propriétés anticancéreuses ont été développés.

[73] F.C. Brito, A.E. Kummerle, C. Lugnier, C.A. Fraga, E.J. Barreiro, *et al.*, *Eur. J. Pharmacol.*, **2010**, 638, 5–12.

[74] L.M. Lima, F.S. Frattani, J.L. Dos Santos, H.C. Castro, C.A. Fraga, *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.*, **2008**, 43, 348–356.

[75] K.H.M.E. Tehrani, M.E. Zadeh, V. Mashayekhi, M.A. Hashemi, F. Kobarfard, F. Yousefi Gharebaghi, S. Mohebbi. Tehrani KHME, V. Mashayekhi, M. Hashemid, F. Kobarfard, F. Gharebaghid, *et al.*, *Iran. J. Pharm. Res.*, **2015**, 14, 1077–1086.

Mohareb *et al.*^[76] ont rapporté la synthèse d'un certain nombre de dérivés hydrazide-hydrazones de la modification du noyau **D** de la prégnénolone. Ces composés ont été évalués pour l'activité anticancéreuse et ont été déclarés très efficace contre le cancer du sein, le cancer du poumon et le cancer du SNC comparé au médicament de référence le **Doxorubicine** (Figure **3.24a**).

De même, Küçükgülzel *et al.*^[77] ont synthétisé une série de dérivés hydrazide-hydrazone du **Flurbiprofen** comme modèle. Les résultats obtenus ont montré que les composés ont une activité significative contre les lignées cellulaires du cancer de la leucémie, et les lignées cellulaires du cancer de l'ovaire (Figure **3.24b**).

Nasr *et al.*^[78] ont développé une série d'hydrazide-hydrazones à base des dérivés coumarine et les bromocoumarines (Figure **3.24c**) et ils ont été rapportés d'avoir une bonne activité anti-tumorale contre le carcinome pancréatique (CP) et carcinome hépatique (CHC).

Savini *et al.*^[79] ont synthétisé une série de nouveaux 3- et hydrazones-5-méthylthiophène-2-carboxaldéhyde a-(N)-hétérocycliques, et les ont étudiés pour une activité anticancéreuse. Le composé N-(4,4-diméthyl-quinoline-2-yl)-N'-(5-méthylthiophène-2-yl)méthylène)-l'hydrazine s'est révélé être l'agent anti-tumoral le plus actif (Figure **3.24d**).

Récemment, Sun *et al.*^[80] ont rapporté un ensemble d'hydrazones phénylalanyles qui ont été évalués pour l'activité anticancéreuse. De nouvelles hydrazones de cette famille ont été efficace contre le cancer gastrique (Figure **3.24e**).

Très récemment, un ensemble de dérivés hydrazones contenant des azole ont été rapportés par Labib *et al.*^[81] et ont été soumis à des tests d'activité anticancéreuse. Les hydrazones synthétisés ont été trouvées efficaces contre le cancer du sein et les lignées cellulaires cancéreuses (Figure **3.24f**).

[76] R.M. Mohareb, F. Al-Omran, *Steroids.*, **2012**, *77*, 1551–1559.

[77] (a) S. Aydın, N.K. Basu, P. Arora, A. Basu, T.T. Talele, *et al*, *Marmara. Pharm. J.*, **2013**, *1*, 26–34. (b) M. Han, H. Bekçi, A. Cumaoglu, Ş.G. Küçükgülzel, *Marmara. Pharm. J.*, **2018**, *22* (4), 559–569.

[78] T. Nasr, S. Bondock, M. Youns, *Eur. J. Med. Chem.*, **2014**, *76*, 539–548.

[79] L. Savini, L. Chiasserini, V. Travagli, C. Pellerano, E. Novellino, *et al*, *Eur. J. Med. Chem.*, **2004**, *39*, 113–122.

[80] K. Sun, J.D. Peng, F.Z. Suo, T. Zhang, Y.D. Fu, *et al*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2017**, *27*, 5036–5039.

[81] M.B. Labib, J.N. Philoppes, P.F. Lamie, E.R. Ahmed, *Bioorganic. chemistry.*, **2017**, *76*, 67–80.

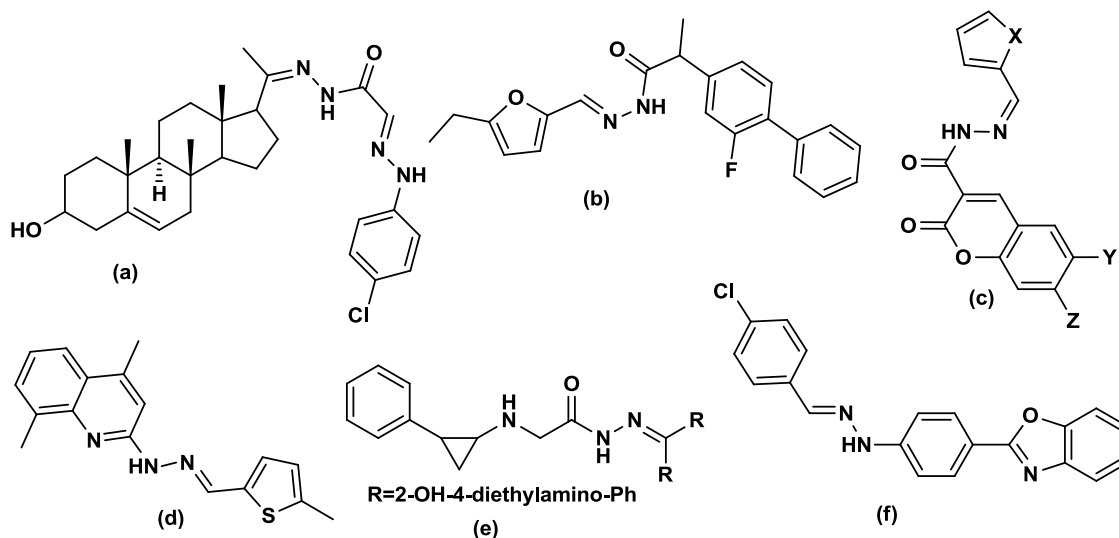


Figure 3.24a-f: Dérivés hydrazones ayant une activité anticancéreuse.

3.5.6. Activité antimicrobienne

L'augmentation de la multi-résistance aux médicaments de l'infection bactérienne au cours des dernières décennies, provoquent une augmentation du risque de complications dans l'antibiothérapie.^[82] Par conséquent, le développement d'antibiotiques nouveaux et efficaces reste un domaine difficile pour les chercheurs. Une variété de dérivés hydrazones ont été conçus, synthétisés et étudiés pour leurs caractéristiques antimicrobiennes. L'hydrazone d'aroyl à base de chloropyrrole rapporté par Rane *et al.*^[85] (Figure 3.25a) est avérée avoir une activité antimicrobienne potentielle vis-à-vis des bactéries Gram négative et Gram positive.

En outre, Kalil *et al.*^[83] ont synthétisé une série de nouveaux dérivés hydrazones, et ils ont rapporté qu'ils possèdent une activité antimicrobienne potentielle (Figure 3.25b).

De plus, Wang *et al.*^[84] ont rapporté l'étude d'un ensemble d'acétyle 5-(2-hydroxyphényl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl-sulfanylhyazones, et qui ont montré une activité antimicrobienne puissante (Figure 3.25c).

Abdel-Wahab *et al.*^[85] ont aussi synthétisé des hydrazones à base d'un noyau imidazole qui présentent une excellente propriété antibactérienne (Figure 3.25d).

[82] H. Bayrak, A. Demirbas, N. Demirbas, S.A. Karaoglu, *Euro. J. Med. Chem.*, **2009**, *44*, 4362–4366.

[83] A.M. Khalil, M.A. Berghot, M.A. Gouda, *Euro. J. Med. Chem.*, **2009**, *44*, 4448–4454.

[84] Y. Wang, L. Yang, Z. Liu, *Chinese. J. Org. Chem.*, **2013**, *33*: 146-154.

[85] B.F. Abdel-Wahab, G.E.A. Awad, F.A. Badria, *Euro. J. Med. Chem.*, **2011**, *46*, 1505–1511.

Raja *et al.*^[86] ont développé un travail sur des hydrazones dérivés de l'acide 4-bromophénoxy acétique et de l'activité antimicrobienne (Figure 3.25e). Les composés ont été trouvés avoir une bonne propriété antibactérienne contre des bactéries Gram positif, Gram négatif et *Mycobacterium*.

De plus, Kumar *et al.*^[87] ont réalisé la synthèse d'une série de 2-chloro-6-méthylquinoléine hydrazones et ont été étudiés leur activité pharmacologique. La plupart des composés synthétisés ont montré un maximum d'activité antibactérienne (Figure 3.25f).

Kale *et al.*^[88] ont synthétisés des dérivés hydrazones bases de Schiff et les ont soumis à un dépistage biologique. Les dérivés hydrazones étudiés révèlent une activité antibactérienne contre *E. coli* et *S. aureus* (Figure 3.25g).

Récemment, M. Krátky *et al.*^[89] ont rapporté une série d'hydrazones dérivées de 4-(trifluorométhyl) benzohydrizide et une investigation subséquente sur l'activité antibactérienne. La plupart de nouveaux hydrazones présentent une meilleure activité antibactérienne (Figure 3.25h).

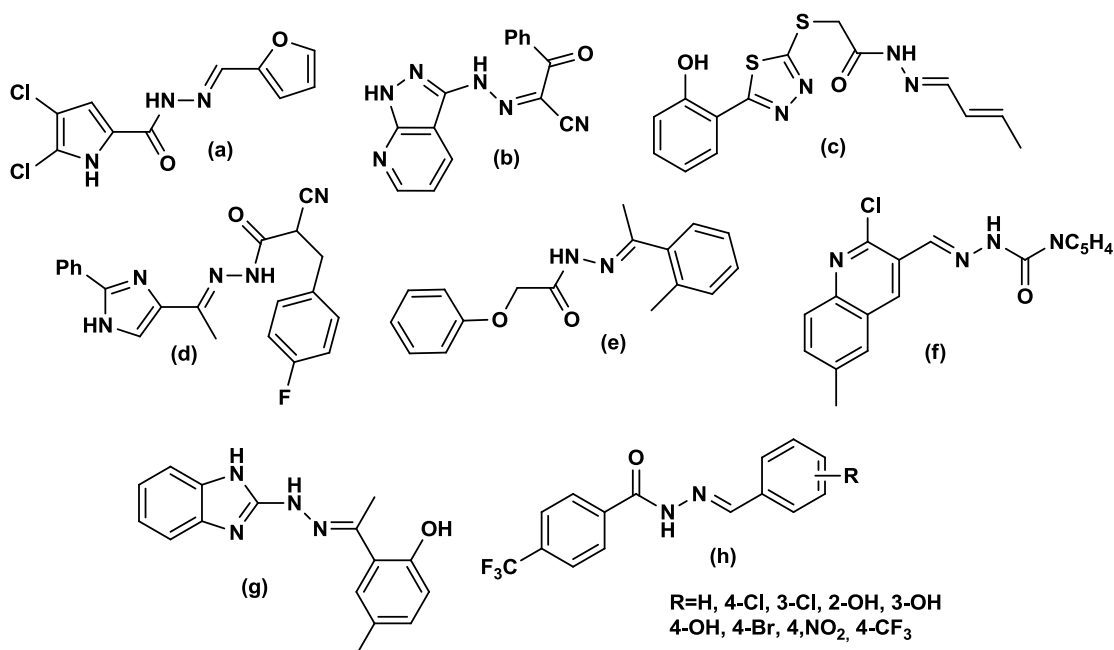


Figure 3.25a-h: Dérivés hydrazones possédant des propriétés antimicrobiennes.

[86] A.S. Raja, A.K. Agarwal, N. Mahajan, S.N. Pandeya, S. Ananthan, *Indian. J. Chem.*, **2010**, 49B, 1384–1388.

[87] S. Bawa, S. Kumar, S. Drabu, R. Kumar, *J. Pharm. Bioallied. Sci.*, **2009**, 1, 27–31.

[88] V.T. Kale, A.S. Burghate, S.A. Wadhwal, *Indo. Am. J. Pharm. Res.*, **2016**, 6, 6404–6410.

[89] M. Krátky, S. Bosze, Z. Baranyai, J. Stolarikova, J. Vinsova, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2017**, 27, 5185–5189.

Une série d'hydrazones synthétisés à partir de divers dérivés du cholestérol ont été évalués pour leurs propriétés antimicrobiennes *in vitro* contre les agents pathogènes humains (**Figure 3.26**). L'activité était fortement dépendante de la structure des différents composés impliqués. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec dérivés du cholestérol tosylhydrazones présentant des activités contre *C. albicans* à une concentration de 1,5 µg/mL.^[90]

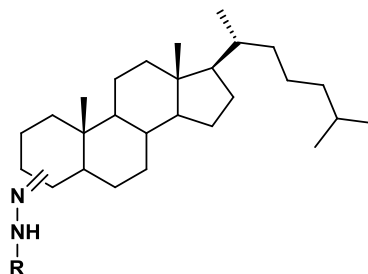


Figure 3.26: Hydrazones synthétisées à partir de divers dérivés du cholestérol antimicrobiens.

3.5.7. Activité antifongique

Le taux de mortalité croissant dans l'infection fongique systémique est attribuable à la forte résistance antifongique des médicaments. Un tel scénario génère l'envie de développer des médicaments antifongiques sûrs et efficaces pour une utilisation clinique. Une série d'hydrazones a été synthétisée à partir d'un couplage d'aldéhydes avec le carbazate de tert-butyle par Casanova *et al.*^[91] Les hydrazones qui en résultent ont été soumis à un dépistage antifongique et l'activité prometteuse a été observée pour la plupart des composés (**Figure 3.27a**).

Altintop *et al.*^[92] ont synthétisé de nouveaux dérivés hydrazones par une réaction addition-élimination de 2-[(1-méthyl-1H-tétrazol-5-yl)thio]] acétohydrazide avec les aldéhydes/cétones aromatiques. Les composés ont ensuite été étudiés et ont été observés comme ayant des antifongiques potentiels (**Figure 3.27b**).

Dans une autre étude, une série de 2-thiazolylhydrazones ont été développées par Chimenti *et al.*^[93], et qui présentent une puissante activité contre diverses espèces de *Candida* (**Figure 3.27c**).

[90] C. Loncle, J. Brunel, N. Vidal, M. Dherbomez, Y. Letourneux, *Eur. J. Med. Chem.*, **2004**, 39, 1067–1071.

[91] B.B. Casanova, M.N. Muniz, T. de Oliveira, L.F. de Oliveira, M.M. Machado, *et al.*, *Molecules*, **2015**, 20: 9229–9241.

[92] M.D. Altintop, A. Ozdemir, G. Turan-Zitouni, S. Ilgin, O. Atli, *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.*, **2012**, 58, 299–307.

[93] F. Chimenti, B. Bizzarri, E. Maccioni, D. Secci, A. Bolasco, *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, 17, 4635–4640.

Ozkay *et al.*^[94] ont synthétisé des dérivés hydrazones à base de benzimidazole, et les ont soumis à des études antifongiques et antibactériennes et des activités antifongiques et antibactériennes significatives ont été observées. Curieusement, un des composés a montré plus d'activité que le médicament standard antifongique le Cétaconazole (Figure 3.27d).

Paola Vicini *et al.*^[95] ont étudiés la synthèse d'un certain nombre d'hydrazones et des hydrazides du 1,2-benzisothiazole. La série de composés a été testée contre les bactéries et les levures et ont été signalés comme de bons agents antibactériens ainsi que la plupart des dérivés hydrazones étaient actifs contre la levure (Figure 3.27e).

En 2017, Kauthale *et al.*^[96] ont synthétisé un ensemble d'hydrazones dérivés du thiazolyne par une synthèse *one pot*. Les composés résultants ont été observés pour posséder d'avoir une activité antifongique modérée à bonne (Figure 3.27f).

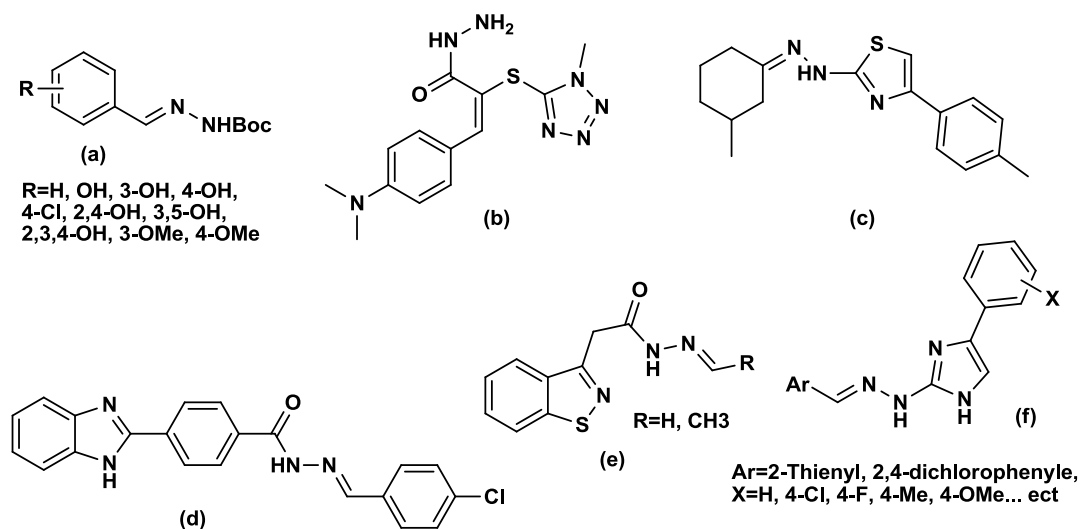


Figure 3.27a-f: Dérivés hydrazones étudiés pour leurs propriétés antifongiques.

3.5.8. Activité anti-inflammatoire et analgésique

L'inflammation se réfère à un terme général couramment utilisé pour une réaction locale aux lésions cellulaires caractérisées par la douleur, la dilatation capillaire, l'œdème, la chaleur, la rougeur et la perte de fonction. À ce jour, un certain nombre de dérivés de hydrazones ont été synthétisés et évalués efficacement pour les activités analgésique et anti-inflammatoire. Il est important de mentionner que la COX-1 et la COX-2 jouent un rôle

[94] Y. Ozkay, Y. Tunali, H. Karaca, I. Isikdag, *Eur. J. med. Chem.*, **2010**, 45, 3293–3298.

[95] P. Vicini, F. Zani, P. Cozzini, I. Doytchinova, *Eur. J. Med. Chem.*, **2002**, 37, 553–564.

[96] S. Kauthale, S. Tekale, M. Damale, J. Sangshetti, R. Pawar, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2017**, 27, 3891–3896.

important dans l'inflammation. Les modifications de la structure de la molécule bioactive parente qui est une pratique courante au fil des ans peut encore renforcer son importance biologique.

Dans cette optique, Barreiro *et al.*^[97] ont synthétisé une série de nouveaux dérivés hydrazones fondés sur la modification structurale du Piroxicam (Figure 3.28a). Les composés résultants ont montré une meilleure activité anti-inflammatoire et antinociceptive, comparativement au médicament standard Piroxicam.

Une série de nouveaux dérivés hydrazones substitués ont aussi été rapportés par Mehtap Gokce *et al.*^[98] et présentant des réactions anti-inflammatoires par rapport au médicament standard l'Indométhacine (Figure 3.28b).

En outre, Sondhi *et al.*^[99] ont synthétisé un certain nombre dérivés de l'amidine et de l'hydrazone et son évaluation a montré des activités anti-inflammatoires et analgésiques prometteuses. (Figure 3.28c).

Des dérivés de la pyrazine N-acylhydrazone synthétisés par Lima *et al.*^[100] ont aussi montré une activité anti-inflammatoire et analgésique (figure 3.28d).

De même Eissa *et al.*^[101] ont rapporté des dérivés hydrazones à base de l'acide anthranilique, et ils ont été testé pour leur activité anti-inflammatoire (Figure 3.28e).

De plus, Barreiro *et al.*^[102] ont développé une étude relative à une série de nouveaux N-acylhydrazone du saffrole naturel, et ils ont été étudiés pour la propriété analgésique. Les composés cibles testés se sont avérés avoir une bonne activité analgésique (Figure 3.28f).

[97] A.S. de Miranda , W.B. Júnior , Y.K.C. da Silva , M.S. Alexandre-Moreira , P. Castro Rde , J.R. Sabino , L.M. Lião , L.M. Lima , E.J. Barreiro, *Molecules*, **2012**, *17*, 14126–14145.

[98] M. Gokce, S. Utku, E. Kupeli, *Euro. J. Med. Chem.*, **2009**, *44*, 3760–3764.

[99] S.M. Sondhi, M. Dinodia, A. Kumar, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*: 4657–4663.

[100] Y.K.C. da Silva, C.V. Augusto, B.M. de Castro, M.G.M. de Albuquerque, A.C. de Queiroz, *et al*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 5007–5015.

[101] S.G. Mohamed, A.A. Eissa, M.H. Khataibeh, *Chem Pharm Bull.*, **2012**, *60*, 290–300.

[102] P.C. Lima , L.M. Lima, K.C.M. da Silva, P.H.O. Léda , A.L.P. de Miranda , C.A.M. Fraga , E.J. Barreiro , *Eur. J. Med. Chem.*, **2000**, *35*, 187–203.

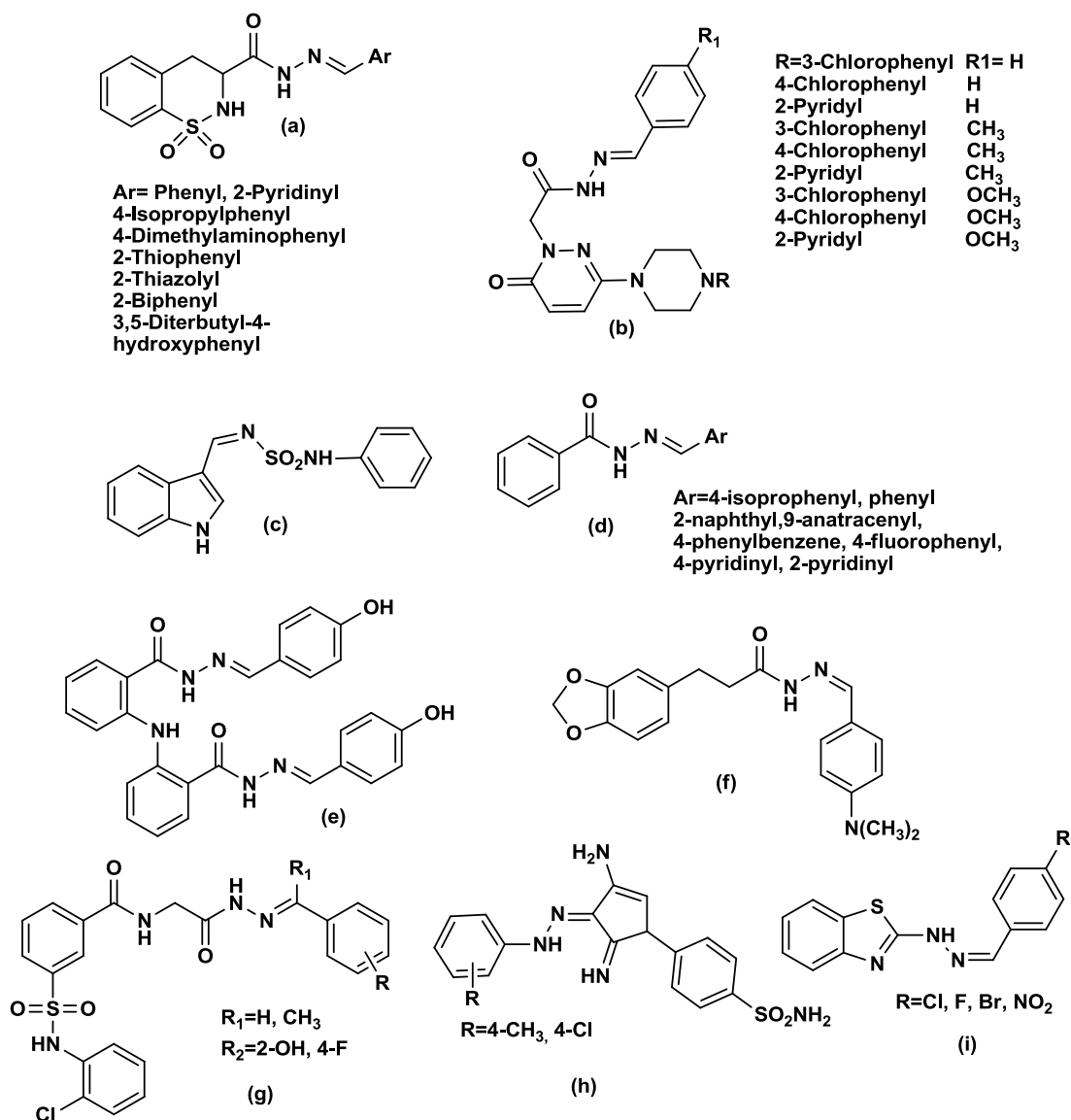


Figure 3.28a-f: Dérivés hydrazones avec des propriétés anti-inflammatoire et analgésique.

3.5.9. Activité antioxydante

Musad *et al.*^[103] ont synthétisés des dérivés hydrazones et les ont examiné et évalué pour leur activité potentielle de piégeage des radicaux libres stables (Figure 3.29). Les composés nouvellement synthétisés ont été criblés pour des activités antioxydantes. Certains composés ont montré une activité antioxydante plus élevée à 10 µg/mL comparativement à la vitamine C.

[103] E.A. Musad, R. Mohamed, B.A. Saeed, B.S. Vishwanath, K.M. Rai, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2011**, *21*, 3536–3540.

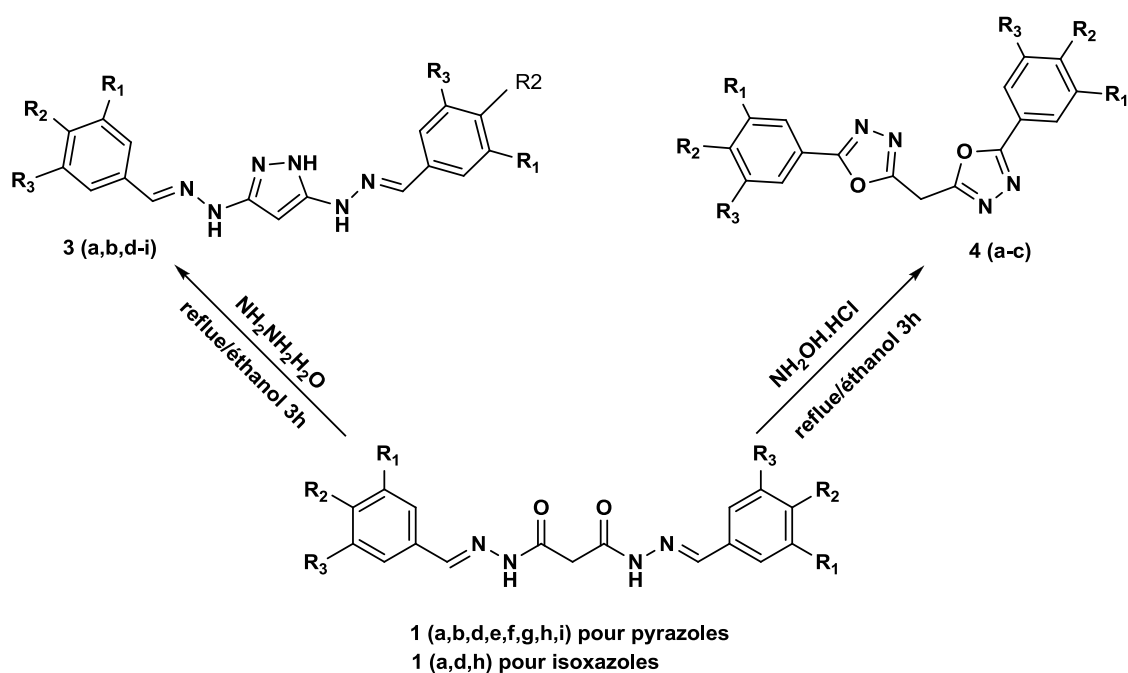


Figure 3.29: Synthèse de 3,5-bis (substitués) pyrazoles et isoxazoles.

D'autre part, Abdel-Wahab *et al.*^[104] ont présenté des études sur les hydrazones à base d'imidazoline comme étant des produits à activité antioxydante prometteuse (Figure 3.30). L'activité antioxydante des nouveaux composés a été examinée. Certains composés synthétisés ont démontré une activité antioxydante puissante.

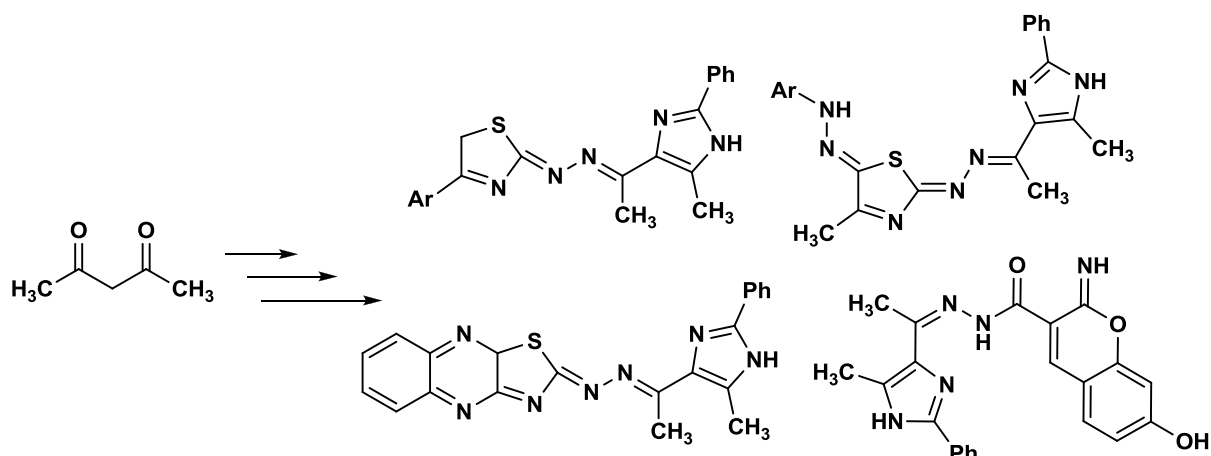


Figure 3.30: hydrazones à base d'imidazoline à activité antioxydante.

3.5.10. Activité antidiabétique

Dans le but de développer de nouveaux composés antidiabétiques potentiels, un ensemble de nouveaux hydrazones hétérocycliques pyrimidyliques a été synthétisé en tant qu'inhibiteurs du glycogène synthase kinase-3 (GSK-3) avec le dérivé le plus active

[104] F.B. Abdel-Wahab, A.E.G. Awad, F.A. Badria, *Eur. J. Med. Chem.*, **2011**, 46, 1505–1511.

présentant une activité nanomolaire faible (Figure 3. 31). Les calculs de mécanique quantique indiquent que des facteurs conformationnels qui pourraient déterminer l'affinité de liaison, la planarité du noyau phényle par rapport au noyau central (C=N) et la conformation de la chaîne hydrazone peuvent être les plus influentes.^[105]

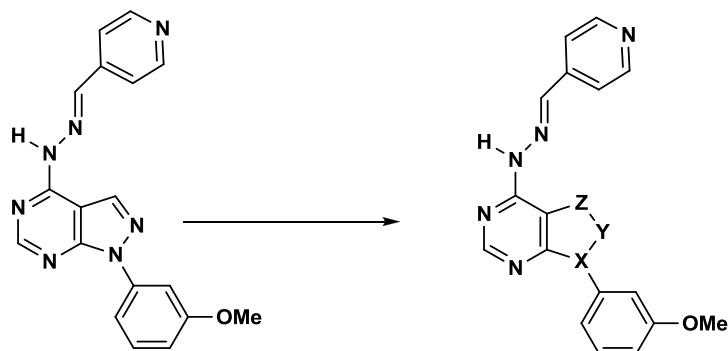


Figure 3. 31: Hydrazones hétérocycliques pyrimidyliques–inhibiteurs de la glycogène synthase kinase-3(GSK-3).

3.5.11. Activité antiproliférative

La synthèse et l'évaluation de l'activité antiproliférative *in vitro* pour une nouvelle série d'hydrazones synthétisées à partir de chalcones (Figure 3.32) ont été rapporté par Kaymakcioğlu *et al.*^[106] Les études cliniques ont prouvé l'activité anticancéreuse des groupes d'hydrazones tautomériques. Ils ont aussi montré moins d'effet secondaire. Cette étude peut être utile pour la découverte de molécules qui sont associées au traitement du cancer.

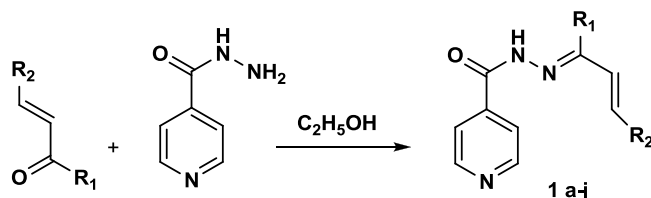


Figure 3.32: Hydrazones synthétisées à partir de chalcones à activité antiproliférative.

3.6. APPLICATIONS DES HYDRAZONES

L'intérêt pour la conception, la synthèse et la caractérisation des hydrazones et de leurs complexes métalliques est en relation avec leurs applications dans différents domaines. Leur facilité de synthèse, des propriétés stériques et électroniques facilement accordable et une bonne solubilité dans les solvants communs améliorent l'intérêt de la recherche dans ce

[105] T.L.Jr. Smalley, A.J. Peat, J.A. Boucheron, S. Dickerson, D. Garrido, F. Preugschat, S.L. Schweiker, S.A. Thomson, T.Y. Wang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 2091–94.

[106] F. Tok, N. Beyhan, Y. Erzurumlu, R. İlhan, P. Ballar, B.K. Kaymakcioğlu, *Marmara. Pharm. J.*, **2016**, 20, 157–163.

domaine. Ils ont des applications larges telles que biologique, médicinale, optique, catalytique et en chimie analytique.

3.6.1. Applications biologiques et pharmaceutiques

Des complexes métalliques d'hydrazones ont été trouvés pour avoir une activité biologique et thérapeutique, et c'est une raison pratique pour l'intérêt continu dans ces matériaux. L'activité biologique des hydrazones peut être influencée par la liaison d'un hydrazide avec des composés carbonylés pharmacologiquement actifs pendant les réactions de condensation. Bon nombre des complexes arylhydrazones des ions métalliques de transition sont connus pour être des modèles efficaces pour élucider les mécanismes d'inhibition enzymatique.^{[107],[108],[109]} Les activités antituberculeuses montrées par certains hydrazones sont comparables à celles des médicaments disponibles pour le traitement de la tuberculose.^{[110],[111]} Il a été constaté que de nombreux dérivés hydrazones possédaient des activités antimicrobiennes^{[112],[113]} et anti-inflammatoires.^[114] Le salicyaldéhyde benzoylhydrazone est un puissant inhibiteur des synthèses de l'ADN et de la croissance cellulaire dans une variété de lignées cellulaires humaines. D'autres études ont révélé que les complexes de cuivre (II) du salicyaldéhyde benzoylhydrazone présentent une activité inhibitrice sensiblement plus grande que le ligand libre lui-même, suggère que les complexes métalliques sont plus biologiquement actifs que les ligands libres.^{[115],[116],[117]}

[107] J.C. Craig, D. Willis, S.D. Rubbo, *J. Edger, Nature.*, **1955**, 176, 34–35.

[108] S. Siemann, D.P. Evanoff, L. Marrone, A.J. Clarke, T. Viswanatha, G.I. Dmitrienko, *Antimicro. Agents Chemother.*, **2002**, 46, 2450–2457.

[109] G. Tamasi, L. Chiasserini, L. Savini, A. Sega, R. Cini, *J. Inorg. Biochem.*, **2005**, 99, 1347–1359.

[110] P.P.T. Sah, S.A. Peoples, *J. Pharm. Sci.*, **1953**, 42, 612–613.

[111] J. Patole, U. Sandbhor, S. Padhye, D.N. Deobagkar, C.E. Anson, A. Powell, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, 13, 51–55.

[112] A.A. El-Sherif, *Inorg. Chim. Acta.*, **2009**, 362, 4991–5000.

[113] N. Filipović, H. Borrmann, T. Todorović, M. Borna, V. Spasojević, D. Sladić, I. Novaković, K. Andjelković, *Inorg. Chim. Acta.*, **2009**, 362, 1996–2000.

[114] A.R. Todeschini, A.L. Miranda, C.M. Silva, S.C. Parrini, E.J. Barreiro, *Eur. J. Med. Chem.*, **1998**, 33, 189–199.

[115] D.K. Johnson, T.B. Murphy, N.J. Rose, W.H. Goodwin, L. Pickart, *Inorg. Chim. Acta.*, **1982**, 67, 159–165.

[116] L. Pickart, W.H. Goodwin, W. Burgua, T.B. Murphy, D.K. Johnson, *Biochem. Pharmacol.*, **1983**, 32, 3868–3871.

[117] E.W. Ainscough, A.M. Brodie, A.J. Dobbs, J.D. Ranford, J.M. Waters, *Inorg. Chim. Acta.*, **1998**, 267, 27–38.

3.6.2. Applications analytiques

Selon Singh *et al.*^[118], plusieurs aroylhydrazones ont des applications à large spectre dans le domaine de la chimie analytique comme agent d'extraction sélective du métal, ainsi que dans la détermination spectroscopique de certains métaux de transition.^{[119],[120]} Beaucoup d'aroylhydrazones ont des propriétés électriques et magnétiques intéressantes,^{[121],[122], [123]} ce qui rend la recherche dans ce domaine encore plus attractive. On rapporte que les dérivés 2-hydroxyacétophénone hydrazones agissent comme inhibiteurs de corrosion pour la dissolution du cuivre dans la solution d'acide nitrique.^[124]

Sasaki *et al.*^[125] a étudié la détermination spectroscopique du fer et du vanadium en utilisant la 2,6-diacétylpyridine bis(benzoylhydrazone) et la 2,6-diacétylpyridine bis(2-hydroxybenzoylhydrazone). Les ions de nickel (II) présents dans les huiles comestibles, matières végétales et dans des échantillons d'alliage peuvent être analysés en utilisant les cinnamaldéhydes-4-hydroxybenzoylhydrazones.^[126]

Les déterminations gravimétriques des ions métalliques peuvent être efficacement réalisées à l'aide de différentes hydrazones. Le salicylaldéhyde phénylhydrazone s'est avéré être le meilleur réactif pour la détermination gravimétrique du cuivre. Les complexes métalliques de la pyridine-2-carbaldehyde-2-pyridylhydrazone ont été utilisés comme indicateurs acido-basiques. En raison de la grande stabilité et les changements de couleur facilement observables certaines des *p*-nitrophénylhydrazones se sont révélés être de meilleurs indicateurs acido-basiques. Certaines dérivés hydrazones peuvent également être utilisées en tant que réactifs de test localisé pour la détermination des métaux de transition.^[36] Les complexes métalliques des hydrazones ont été utilisés comme sondes luminescentes ainsi que capteurs moléculaires.^[127,128]

[118] R.B. Singh, P. Jain, R.P. Singh, *Talanta*, **1982**, 29,77–84.

[119] S. Patel, A.D. Sawant, *Indian J. Chem. Technol.*, **2001**, 8, 88-91.

[120] K.H. Reddy, K.B. Chandrasekhar, *Indian J. Chem.*, **2001**, 40A, 727-732.

[121] N.R. Sumita, D.D. Mishra, R.C. Maurya, N.R. Nageswara, *Polyhedron.*, **1997**, 16, 1825-1829.

[122] M.F. Iskander, T.E. Khalil, R. Werner, W. Haase, I. Svoboda, H. Fuess, *Polyhedron.*, **2000**, 9, 1181-1191.

[123] S.C. Chan, L.L. Koh, P.-H. Leung, J.D. Ranford, K.Y. Sim, *Inorg. Chim. Acta.*, **1995**, 236, 83-88.

[124] A.S. Fouda, M.M. Gouda, S.I.A. El-Rahman, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2000**, 21, 1085-1089.

[125] Y. Sasaki, *Bull. Inst. Chem. Res.*, **1986**, 64, 140–149.

[126] D.G. Krishna, N. Devanna, K.B. Chandrasekhar, *J. P. B. M. S.*, **2010**, 1, 1–5.

[127] M.R. Ganjali, M. Rezapour, S. Rasoolipour, P. Norouzi, M. Adib, J. Braz, *Chem. Soc.*, **2007**, 18, 352–358.

[128] C. Basu, S. Chowdhury, R. Banerjee, H.S. Evans, S. Mukherjee, *Polyhedron.*, **2007**, 26, 3617–3624.

3.6.3. Hydrazones en optique non linéaire

Récemment, des études sur les propriétés optiques non linéaires des matériaux ont recueilli une attention considérable parce qu'elles fournissent des informations précieuses concernant l'analyse structurale de ces matériaux, et pour leur utilisation pratique dans divers dispositifs optoélectroniques. Les composés qui ne sont pas centrosymétriques, planaires et correctement fonctionnalisés avec des groupes de donneurs d'électrons forts et de retraits d'électrons à la position terminale d'un pont, pourraient présenter une non-linéarité moléculaire importante.

Serbutoviez *et al.*^[129] ont établi la pertinence des hydrazones pour l'optique non linéaire quadratique par la mesure des hyperpolarisabilités moléculaires de certains dérivés du phényle hydrazone. Les hydrazones possèdent la capacité d'exhiber la tautomérie amido-iminol, donc sur la coordination au centre métallique par la forme iminol améliore la conjugaison et améliore ainsi la non-linéarité.

Les propriétés optiques non linéaires du second ordre des complexes de cuivre et de palladium des N-salicylidènes-N'-aroylhydrazines ont été étudiées par Cariati *et al.*^[130] et les résultats ont montré que les complexes ont une non-linéarité considérable. La limitation de la puissance optique, un effet optique non linéaire, est intéressante en raison de son application à la protection des yeux et des dispositifs optiques sensibles contre les impulsions laser de haute puissance.

Naseema *et al.*^[131] ont étudié les propriétés optiques non linéaires du troisième ordre de certains hydrazones dérivés de la *p*-tolylxy acétohydrazide, et ont constaté que les composés présentent un comportement de limitation optique à une longueur d'onde donnée.

3.6.4. Applications catalytiques

Dans les complexes métalliques des hydrazones, l'environnement au centre de coordination peut être modifié en attachant différents substituants à la portion hydrazone, et

[129] C. Serbutoviez, C. Bosshard, G. Knöpfle, P. Wyss, P. Prêtre, P. Günter, K. Schenk, E. Solari, G. Chapu, *Chem. Mater.*, **1995**, 7, 1198–1206.

[130] F. Cariati, U. Caruso, R. Centore, W. Marcolli, A. De Maria, B. Panunzi, A. Roviello, A. Tuzi, *Inorg. Chem.*, **2002**, 41, 6597–6603.

[131] K. Naseema, K.V. Sujith, K.B. Manjunatha, B. Kalluraya, G. Umesh, V. Rao, *Optic. Laser Tech.*, **2010**, 42, 741–748.

une gamme utile de propriétés stériques et électroniques essentielles pour la structure, et de la réactivité peuvent ainsi être fournies. Plusieurs des complexes hydrazones montrent une activité catalytique remarquable dans diverses réactions organiques.

Monfared *et al.*^[132] ont étudié les capacités catalytiques de certains complexes oxo- et dioxovanadium (V) des hydrazones tridentées vers l'oxydation de divers hydrocarbures, et ont constaté que les complexes sont des catalyseurs efficaces.^[133] Ils ont trouvé que les complexes de coordination de VO³⁺ avec des dérivés de naphthohydrazone tridentés sont une nouvelle classe de catalyseurs VO³⁺ pour l'oxydation des oléfines.^[134]

3.6.5. Autres applications

Certaines aryldiazones peuvent agir comme herbicides, insecticides, nématocides, rodenticides et régulateurs de croissance des plantes. L'hydraméthylnon est un amidinohydrazone insecticide qui a comme nom commercial *Amdro* pour le contrôle de la rouge fourmi et à utiliser contre les cafards.^[135] Les hydrazones de la 2-méthylphtalazone est un stérilisant efficace contre les mouches domestiques. Beaucoup de composés hydrazones se sont avérés être des inhibiteurs de corrosion efficaces des métaux.

Fouda *et al.*^[130] ont étudié l'effet des dérivés de la 2-hydroxyacétophénone-aryldiazone sur l'inhibition de cuivre et ont constaté que la corrosion est considérablement réduite en présence des composés étudiés.

3.7. Conclusion

En résumé, les dérivés hydrazones représentent un groupe intéressant de composés ayant un large spectre d'activités pharmacologiques. Une variété de composés hydrazones a été conçue, synthétisée et criblés pour leurs propriétés biologiques. La présente revue bibliographique vise à explorer le potentiel d'application dans divers domaines tels que, industrielles, analytique et médicinales. Dans l'état actuel de la demande et la recherche de structures chimiques puissantes, des études de Relation Structure Activité-SAR de nouveaux dérivés hydrazones peuvent conduire au développement de nouvelles molécules

[132] H.H. Monfared, S. Kheirabadi, N.A. Lalami, P. Mayer, *Polyhedron*, **2011**, *30*, 1375–1384.

[133] H.H. Monfared, R. Bikas, P. Mayer, *Inorg. Chim. Acta.*, **2010**, *363*, 2574–2583.

[134] M. Mancka, W. Plass, *Inorg. Chem. Commun.*, **2007**, *10*, 677–680.

[135] J.G. Hollingshaus, *Pest. Biochem. Physiol.*, **1987**, *27*, 61–70.

médicamenteuses avec divers effets thérapeutiques par diverses voies de synthèse, susceptibles de présenter de meilleurs profils sur l'efficacité et de sécurité.

CHAPITRE 4

Résultats et discussion

Chapitre 4–Résultats et discussion

4. SYNTHÈSE DES N-ACYLHYDRAZONES N'-(ARYLIDÈNE)-2-(3-OXO-2H-BENZO[b][1,4]OXAZIN-4(3H)-YL)ACÉTOHYDRAZIDES

Les travaux de recherche que nous avons développés dans le domaine de la chimie hétérocyclique, s'élargissent à l'état actuel au développement de nouvelles procédures et méthodes propres et plus respectueuses de l'environnement.

4.1. INTRODUCTION

Dans ce chapitre nous présentons les résultats obtenus dans le cadre de notre étude, concernant la synthèse de nouvelles molécules susceptibles de présenter des activités pharmacologiques potentielles. Dans cette optique, nos efforts se sont orientés vers la conception et la synthèse de nouveaux composés hétérocycliques azotés-oxygénés basés sur les deux pharmacophores; la benzoxazolin-2(3H)-one et son bioisostère et homologue supérieur à six chaînons la 1,4-benzoxazine-3-(4H)-one comme réactifs de choix de départ pour accéder aux diverses molécules finales désirées. Les travaux personnels que nous avons effectués font l'objectif de ce chapitre, en présentant les voies de synthèses détaillées, la caractérisation des différentes structures et les mécanismes réactionnels proposés.

On doit signaler que l'étude relative aux **N-acylhydrazones benzoxazolinoniques** a été prématurément abandonnée, à cause de la publication de la majorité des résultats obtenus par d'autres auteurs.^[1] Dans la suite de ce manuscrit, nous allons nous intéresser qu'aux dérivés à base de la **1,4-benzoxazine-3-(4H)-one**.

Dans ce contexte, et dans un effort de poursuivre l'étude des relations structure-activité, nous rapportons dans cette étude de recherche, une méthode de synthèse *éco-friendly* efficace, et l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique *in vitro* pour les nouveaux dérivés **N-acylhydrazones benzoxazinoniques** synthétisés.

[1] P. Rohilla, A. Deep, M. Kamra, B. Narasimhan, K. Ramasamy, V. Mani, R.K. Mishra, S.M. Lim, *Drug. Res. (Stuttg)*, **2014**, *64*, 1–5.

4.2. SYNTHÈSE CHIMIQUE

Les dérivés N-acylhydrazones désirés ont été préparés selon la voie générale de synthèse, comme le montre le schéma 4.1 ci-dessous à l'aide de deux méthodes; dans la première on a utilisé le chauffage conventionnel, et dans une deuxième méthode une synthèse assistée par des irradiations ultrasons a été utilisée.

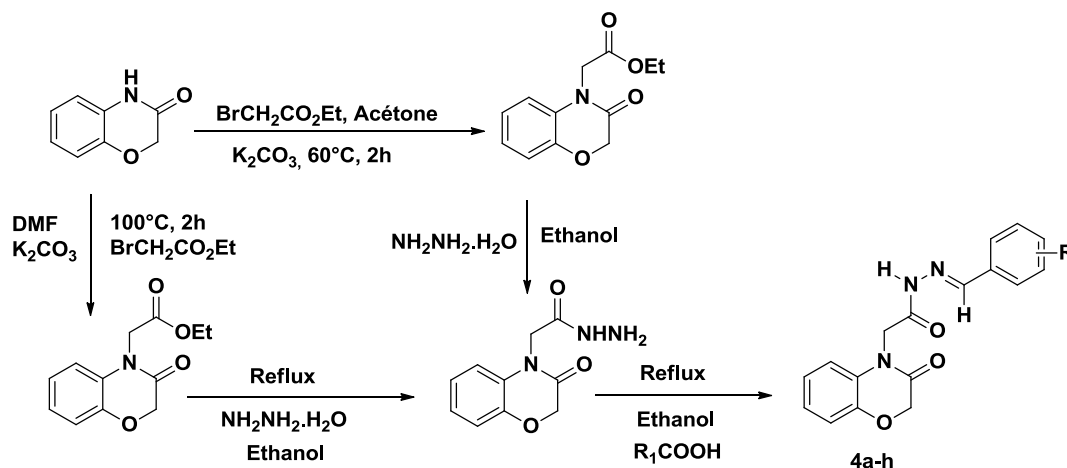


Schéma 4.1: Voie synthétique des composés N-acylhydrazones ciblés. Réactifs et conditions: (Chauffage classique, **A**: méthode **A**): reflux, éthanol absolu, acide acétique glacial, 35 min; (Chauffage sous irradiations ultrasons, **B**: méthode **B**): éthanol absolu, 6–7 min.

4.2.1. Synthèse des produits de départ (matières premières)

Il existe plusieurs méthodes pour la préparation des 1,4-benzoxazine-3-(4H)-ones comme décrit précédemment dans le deuxième chapitre. Ces méthodes diffèrent notablement en fonction des substituants initialement présents sur le noyau aromatique. Le produit de départ, la 1,4-benzoxazine-3-(4H)-one a été préparé selon les procédures rapportées dans la littérature à partir du chlorure de l'acide chloroacétyle et du 2-aminophénol.^{[2],[3],[4]}

4.2.1.1. Synthèse de la 1,4-benzoxazine-3-(4H)-one (1)

Le produit de départ; la 1,4-benzoxazine-3-(4H)-one (**1**) a été préparée selon les procédures rapportées dans la littérature à partir du chlorure de l'acide chloroacétyle et du 2-aminophénol.^[5] Nous avons obtenus le composé souhaité avec un rendement de 86% (Figure 4.1).

[2] E.G. Feng, H. Huang, Y. Zhou, D.J. Ye, H.L. Jiang, H. Liu, *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 2846–2849.

[3] D.B. Chen, G.D. Shen, W.L. Bao, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 4067–4073.

[4] L. He, J. Yu, J. Zhang, X.-Q. Yu, *Org. Lett.*, 2007, 9, 2277–2280.

[5] P. Rajagopalan, *U.S. Patent.*, 4,013,652, **1977**.

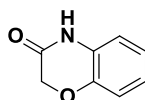


Figure 4.1: Synthèse de la 1,4-benzoxazine-3-(4*H*)-one à partir de chlorure de l'acide chloroacétyle et de l'ortho-aminophénol.

4.2.1.2. Synthèse du 2-(3-Oxo-2H-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acétate d'éthyle (2)

La N-alkylation de la 1,4-benzoxazine-3-(4*H*)-one (**1**) avec le bromoacétate d'éthyle a été réalisée en présence de K_2CO_3 , dans l'acétone pendant 2 heures par chauffage à une température de $60^\circ C$ (méthode **A**, Schéma 4.2) ou dans le DMF, par chauffage à une température de $100^\circ C$ pendant 2 heures (méthode **B**, Schéma 4.2). En appliquant les conditions décrites précédemment pour les deux méthodes, nous avons obtenus le dérivé 2-(3-oxo-2H-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acétate d'éthyle (**2**) avec un rendement de **82%** et **67%** respectivement.

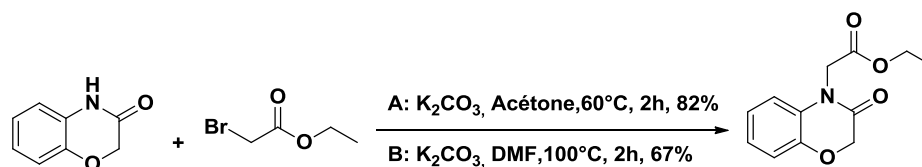


Schéma 4.2: Synthèse du 2-(3-oxo-2H-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acétate d'éthyle dans l'acétone et dans DMF.

Le spectre 1H -RMN du composé (**2**), dans le $(CD_3)_2SO$, montrent clairement la présence d'un triplet à 1.26–1.29 ppm correspondant au 3 protons du groupement CH_3 , un quadruplet à 4.21–4.27 ppm qui intègre pour 2 protons (CH_2) de l'ester éthylique, un signal sous forme d'un doublet à 4.65–4.68 ppm correspondant respectivement à la résonance des protons pour le groupement (CH_2) oxazinonique ($O-CH_2-CON-$) et méthylène $N-CH_2-COO-$, du groupement N -acétate d'éthyle substitué en position 4, et un multiplet se situe entre 6.74–7.26 ppm correspond aux phényles intégrant 4 protons (Figure 4.2).

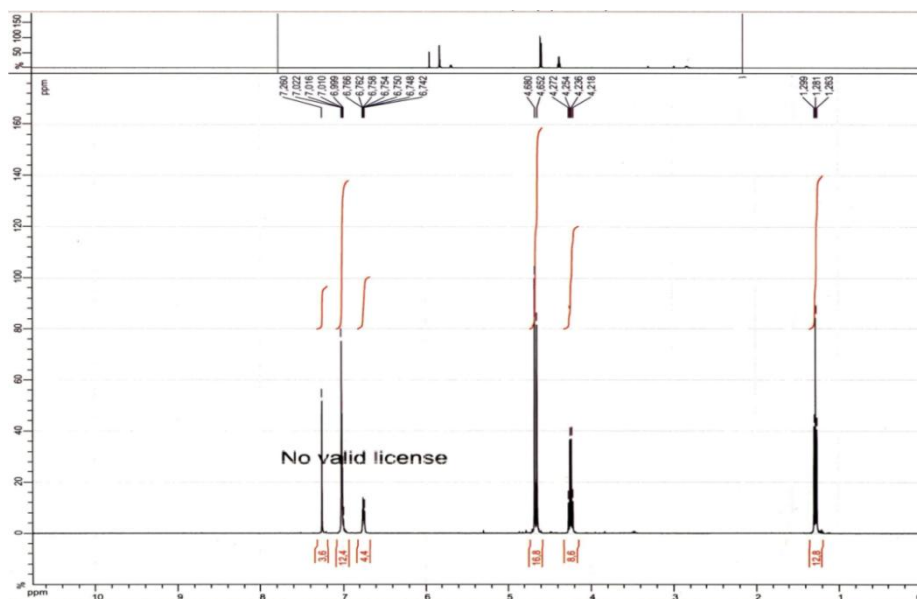


Figure 4.2: Spectre ¹H-RMN du composé 2.

En ¹³C-RMN, on note la présence d'un signal à 167.91 ppm attribuable au groupement caractéristique (C=O_{oxa}) et un signal à 165.04 ppm de (C=O_{ester}), un signal à 14.27 ppm correspondant au groupe méthyle CH₃, et trois signaux à 43.07 ppm, 62.00 ppm, 67.62 ppm des trois groupements CH₂ (Figure 4.3).

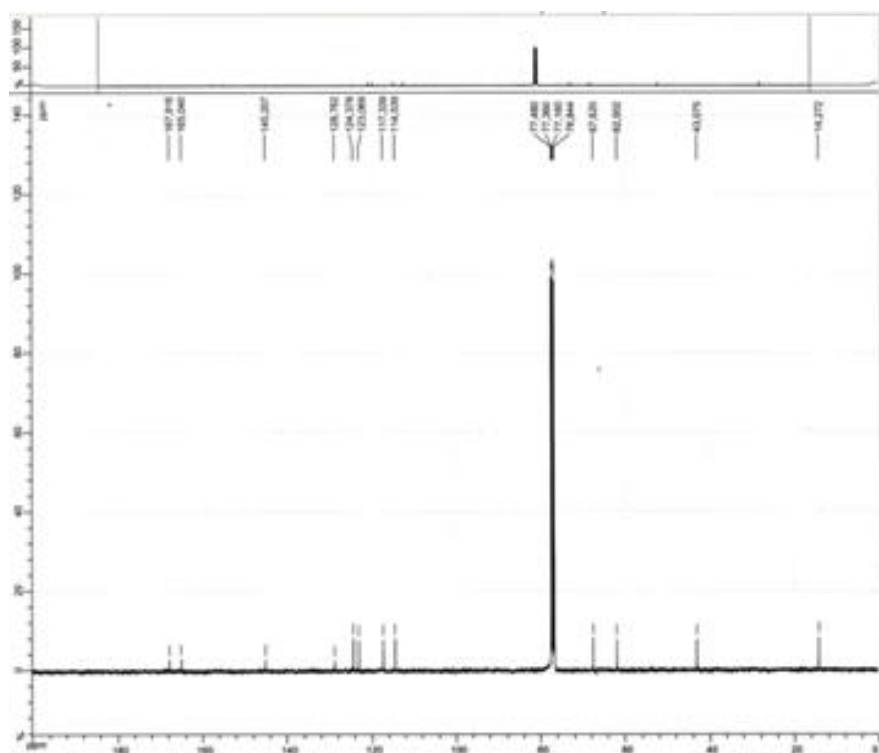


Figure 4.3: Spectre ¹³C-RMN du composé ester (2).

4.2.1.3. Synthèse du 2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acétohydrazide (3)

L'acétohydrazide (3) a été préparé *via* une réaction de condensation entre l'ester (3-oxo-2,3-dihydro-4H-1,4-benzoxazine-4-yl)acétate d'éthyle (2) et l'hydrazine hydrate dans l'éthanol absolu, par chauffage à une température de 80°C pendant 3 heures, avec un bon rendement de 83% (Schéma 4.3).

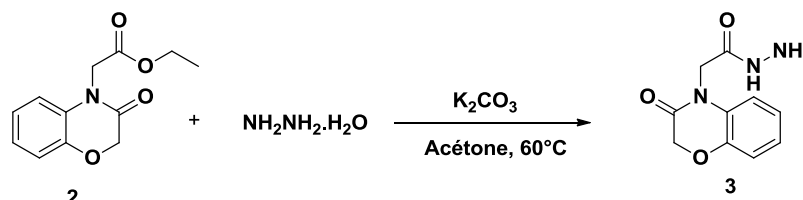


Schéma 4.3: Synthèse de l'hydrazide benzoxazinonique (3).

Le spectre ^1H -RMN du composé acétohydrazide (3) montre clairement la présence d'un signal sous forme d'un singulet vers 8.00 ppm correspondant au proton du groupement N-H ; un doublet qui intègre pour 2 protons (NH_2) à 4.27–4.28 ppm et un multiplet vers 6.89–7.03 ppm correspondant à la résonance de quatre protons CH_{arom} . Ces signaux peuvent être attribués aux protons d'un cycle aromatique (Figure 4.4).

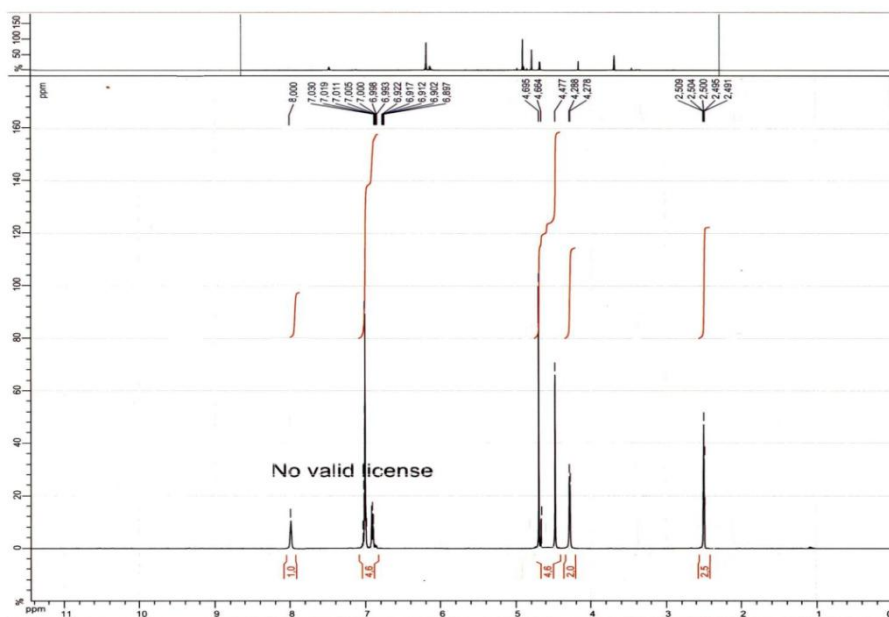


Figure 4.4: Spectre ^1H -RMN du composé hydrazide 3.

La spectroscopie ^{13}C -RMN confirme la structure du produits attendu, par la présence des pics caractéristiques du cycle aromatique vers 115.07–144.43 ppm, et deux signaux à 42.28 ppm et 66.82 ppm des deux groupements CH_2 ; on remarque aussi la présence d'un signal à 165.90 ppm attribuable au groupement carbonyle $\text{C}=\text{O}_{\text{oxazin}}$ caractéristique des

noyaux benzoxazin-3-ones, en plus d'un un signal à 164.12 ppm du groupement carbonyle C=Oamide (Figure 4.5).

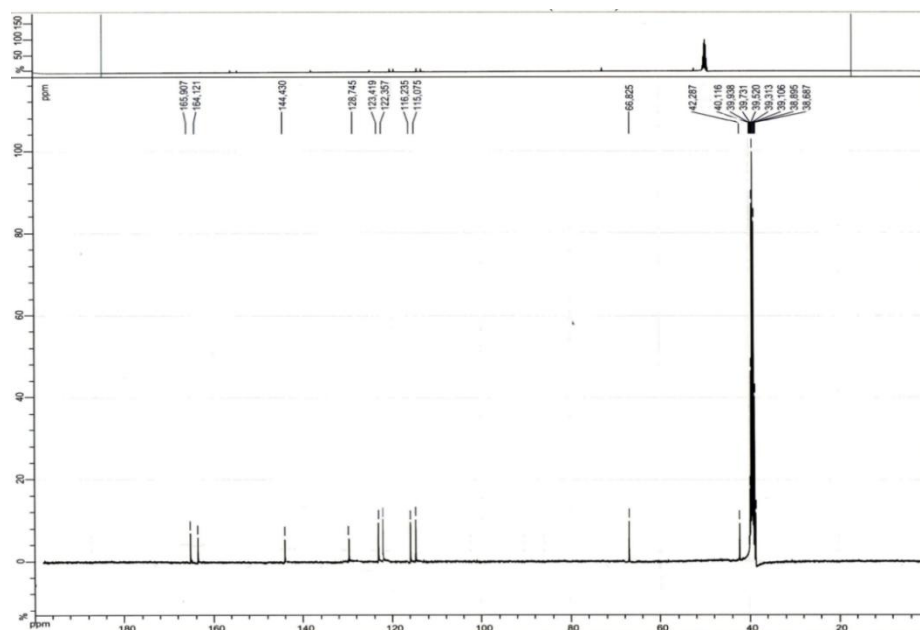


Figure 4.5: Spectre ^{13}C -RMN du composé hydrazide (3).

4.2.1.4. Synthèse des N-acylhydrazones N'-(Arylidène)-2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acétohydrazides (4a-h)

Dans la dernière étape de la stratégie suivie, les composés finaux acylhydrazones benzoxazinoniques (4a-4h) ont été obtenus par condensation de l'hydrazide acide précédent (3) avec les divers aldéhydes aromatiques (Schéma 4.4), dans l'éthanol à reflux avec des rendements variant de 55–88% pendant 35 minutes lors de la synthèse par la méthode conventionnelle. D'autre part, l'utilisation des irradiations ultrasons en absence de catalyseur a entraîné la formation de ces mêmes dérivés benzoxazinonylhydrazones désirés, avec un temps de réaction nettement inférieur (6–7 minutes) et de bons à excellents rendements (60–94%).

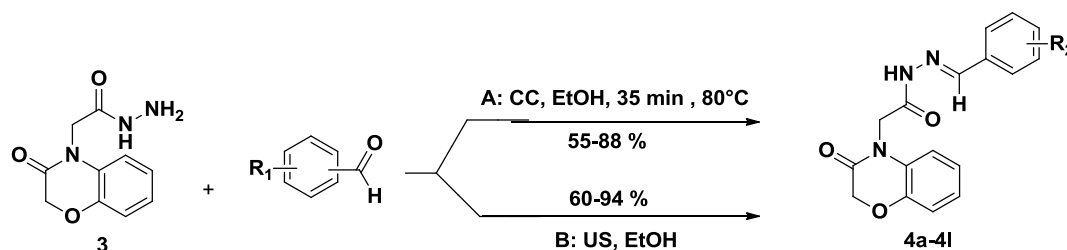


Schéma 4.4: Synthèse des acylhydrazones (4a-4h); A: méthode A, CC: Chauffage conventionnel; B: méthode B, US: Irradiations Ultrasons.

L'étude comparative entre la méthode ultrasonique et le chauffage conventionnel, ainsi que les données physicochimiques des composés synthétisés sont présentées dans le tableau 4.1 ci-dessous.

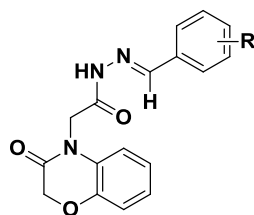


Figure 4.6: Structure des composés de benzoxazinonylacylhydrazones synthétisés.

Tableau 4.1: Étude comparative des composés acylhydrazones synthétisés (Figure 4.6: **4a–4h**).

Composé	R	^a Mp (°C)	CH		US	
			Temps (min)	^b Rdt (%)	Temps (min)	^c Rdt (%)
4a	2-OH	270-271	35	88	6	94
4b	5-Cl,2-OH	290-291	35	74	6	86
4c	3,5-Di-tert-but,2-OH	226-227	35	55	7	60
4d	3,5-Di-tert-but,4-OH	240-241	35	79	6	91
4e	4-OH,3-OCH ₃	276-277	35	68	6	79
4f	2,4,6-OCH ₃	241-242	35	70	7	77
4g	2,5-OCH ₃	182-183	35	75	6	84
4h	3,4,5-OCH ₃	249-250	35	74	6	87

^bPoint de fusion; ^{b,c}Rendement; **CH**: Chauffage conventionnel; **US**: Irradiations ultrasons.

Pour les dérivés N-acylhydrazones préparés (**4a–4h**), nous avons remarqués que le temps de réaction, les rendements et la pureté sont nettement meilleurs, en utilisant les irradiations ultrasons par rapport au chauffage conventionnel. Par conséquent, l'éthanol a été préféré comme solvant dans les deux méthodes (chauffage conventionnel et irradiations ultrasons). Dans tous les cas, la chromatographie sur couche mince (CCM) a été utilisée pour le suivi de la réaction et la caractérisation de la pureté des produits synthétisés.

Dans un second temps, nous avons voulu étudier l'effet de la présence d'un groupement nitro, tant sur la réactivité chimique que sur l'activité biologique en particulier

antimicrobienne. Dans le cas des composés hydrazones dérivés des différents nitrobenzaldéhydes convenablement substitués sur le noyau aromatique par le groupement nitro (*o*, *m* et *p*); le substrat benzoxazinonylhydrazide (**3**) comme dans le cas des dérivés benzaldéhydes précédemment décrits; a été condensé avec les isomères *x*-nitrobenzaldéhydes appropriés dans l'éthanol comme solvant à reflux en présence d'une quantité catalytique d'acide acétique pour donner les dérivés benzoxazinonylacylhydrazones correspondants (**4i–4l**), avec des rendements variant de 72 à 77%, lorsqu'ils sont synthétisés par la méthode conventionnelle d'une part; et d'autre part, l'utilisation des irradiations ultrasons sans catalyseur a permis l'obtention de ces mêmes dérivés en un très peu de temps (6–7 minutes) et avec de bons rendements de 78–83% (Schéma 4.1: **R** = NO₂ (*o*, *m*, *p*) substitués). Le tableau 4.2 présente l'étude comparative des deux méthodes utilisées (chauffage conventionnel et ultrasons), ainsi que les données physicochimiques des composés synthétisés.

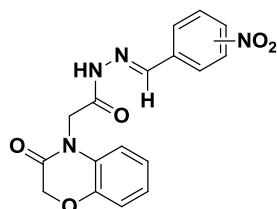


Figure 4.7: Structure des composés Nitro-N-acylhydrazones benzoxazinones synthétisés.

Table 4.2: Étude comparative en termes de rendement et de temps de réaction (méthode A et B) des composés de benzoxazinonylacylhydrazone synthétisés (**4i–4l**, Figure 4.7).

Pro duct	R	^a Mp (°C)	CH		US		^d Mol. F.
			Temps (min)	^b Rdt (%)	Temps (min)	^c Rdt (%)	
4i	2-NO ₂	226-227	35	77	6	80	C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₅
4j	3-NO ₂	281-282	35	75	6	79	C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₅
4k	4-NO ₂	237-238	35	72	7	83	C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₅
4l	4-OH, 3-NO ₂	302-303	35	72	6	78	C ₁₅ H ₁₄ N ₄ O ₆

^bPoint de fusion, ^cRendement isolé; **CH**: Chauffage conventionnel; **US**: Irradiations ultrasons; ^dFormule moléculaire.

Les résultats obtenus pour cette étude et pour les études antérieures développées par notre équipe, confirment la supériorité de la méthode des ultrasons par rapport au chauffage conventionnel.

Dans cette dernière étape de condensation, la réaction est le résultat de l'attaque nucléophile de l'atome d'azote de l'hydrazide sur le carbonyle de l'aldéhyde choisi. Ceci, entraîne la création de la double liaison carbone-azote ($-C=N-$), et la formation de l'acylhydrazone après élimination d'une molécule d'eau selon le mécanisme réactionnel présenté sur la figure 4.8.

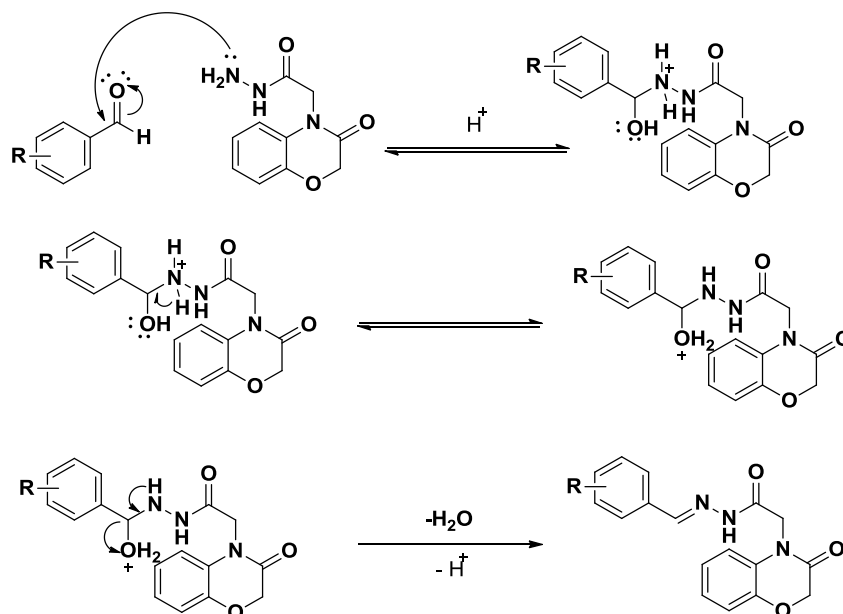


Figure 4.8: Mécanisme de formation de l'acylhydrazone benzoxazinonique par condensation d'aldéhydes et d'hydrazide en présence d'un catalyseur acide.

Enfin, nous rapportons nos résultats des essais tentés pour la préparation de certains acylhydrazones benzoxazinoniques (**4i**: R = 2-NO₂, **4k**: R = 4-NO₂, **4a**: R = (2-OH), **4b**: R = (2-OH, 5-Cl), **4c**: R = (3,5-di-tert-but, 2-OH), **4f**: R = 2,4,6-OCH₃) dans le jus de citron comme solvant sous l'aspect de procédés respectueux de l'environnement avec des rendements que l'on considère comme élevés, qui sont supérieurs aux procédés classiques. Notre nouvelle méthode présente l'avantage de ne nécessiter ni catalyseurs acides ni solvants aromatiques pour la séparation de l'eau azéotropique. Le produit peut être isolé tout simplement par filtration, et il est intéressant de mentionner que les réactions de condensation se produisent très efficacement en présence de jus de citron.

En utilisant cette nouvelle méthodologie, ces réactions ont été achevées en des temps de réaction courts (8–10 minutes) et avec des rendements moyens de 50–68%. Il est intéressant de mentionner que la méthode de la voie verte nécessite des procédures de traitement simples, c'est-à-dire une simple filtration pour isoler les produits formés, car ils sont insolubles dans le jus de citron, et les produits souhaités ont été obtenus avec des

rendements satisfaisants sans purifications complémentaires. Les résultats obtenus concernant le temps de réaction avec jus de citron comme solvant et le rendement en produits, seront présenté ci-dessous dans le tableau 4.3.

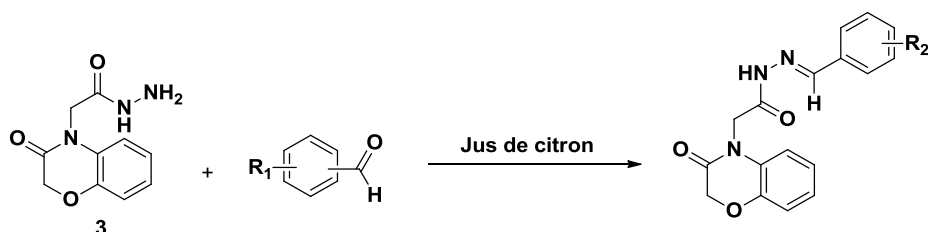
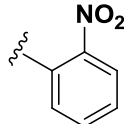
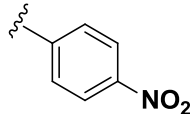
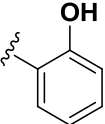
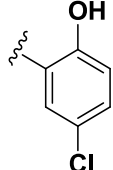
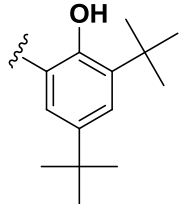
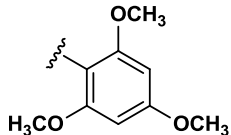


Schéma 4.5: Synthèse des N-acylhydrazones 4a, 4c, 4e, 4f, 4g, 4j dans le jus de citron comme solvant.

Tableau 4.3: Rendements et temps de la synthèse des hydrazones cibles dans le jus de citron.

Composé	R	Méthode C	
		Temps (min)	Rdt (%)
4i		<u>8</u>	56
4k		<u>8</u>	58
4a		10	<u>68</u>
4b		9	57
4c		10	50
4f		<u>8</u>	64

La mise en œuvre de la réaction de condensation **sous ultrasons** et par utilisation du **jus de citron** comme solvant et catalyseur, a permis de développer des voies de synthèse pour les acylhydrazones propres, efficaces et économiques avec des traitements simplifiés.

La synthèse des différents produits N-acylhydrazones par la méthode classique (chauffage classique) a permis de préparer une nouvelle série de N-acylhydrazones benzoxazinoniques avec de bons rendements en un temps moyen de 35 minutes. Les inconvénients de cette méthode sont l'utilisation d'un solvant et d'un catalyseur organique, un chauffage sous conditions conventionnelles, et un temps relativement long, par rapport aux autres méthodes.

De plus, nous avons développés la préparation de ces produits N-acylhydrazones et nous avons ainsi mis en évidence une méthodologie de synthèse propre, en utilisant une synthèse assistée sous irradiation ultrasons et dans le jus de citron dans le cadre de la chimie verte; cette méthode est efficace puisque nous avons obtenus nos produits en un temps très court et de meilleurs résultats concernant les rendements par rapport au chauffage classique.

Donc, l'utilisation des conditions expérimentales que nous avons ainsi déterminés, en utilisant différentes méthodes et voies de synthèse (méthode **A**, méthode **B** et méthode **C**), nous a permis de reproduire avec des rendements acceptables, et qui peuvent être améliorés en jouant sur les conditions expérimentales, toute une série de dérivés acylhydrazones cibles, qui se sont révélés dans tous les cas identiques aux produits obtenus dans le cas de l'utilisation du chauffage classique.

Les structures chimiques proposées pour les composés préparés étaient cohérentes avec leurs données spectroscopiques FT-IR et RMN du ^1H et ^{13}C (détails dans la partie expérimentale).

L'analyse des spectres FT-IR pour les composés synthétisés a montré des bandes d'absorption caractéristiques des groupements fonctionnels présents dans leurs structures chimiques.

L'analyse des spectres FT-IR des composés synthétisés (**4a–4h**) a montré la présence de bandes d'absorption caractéristiques des groupements fonctionnels présents dans les structures proposées de tous ces dérivés. En effet, la disparition de la bande d'élongation C-O à 1153 cm^{-1} et la présence d'une bande forte dans la région 1670 cm^{-1} , en raison de la présence

d'un groupement carbonyle de l'amide $\nu(\text{C}=\text{O})$ caractéristique de la structure hydrazide – CONHNH_2 (Figure 4.9) au lieu d'une bande d'élongation (stretching) $\nu(\text{C}=\text{O})$ à 1738 cm^{-1} correspondante à l'ester éthylique, est une bonne preuve de la présence et la formation dans un premier temps d'un groupe hydrazide – CONHNH_2 , et dans un second temps dans l'étape finale, et formation des dérivés N-acylhydrazones correspondants, en plus de la présence d'une bande d'absorption intense dans la région $1684\text{--}1701\text{ cm}^{-1}$ attribuée à la vibration de valence du groupement azométhine – $\text{N}=\text{CH}$ –. D'autres groupes fonctionnels comme le chlore–Cl (Figure 4.11), OH (Figure 4.10) et CH_3 (Figure 4.12, Figure 4.13) ont également été détectés. D'autre part, pour les N-acylhydrazones dérivés des (*o*, *m*, *p*)-nitrobenzaldéhydes (4i–4l), les fonctions communes les plus importantes sont (Figure 4.14; NO_2 , $-\text{CH}_2-$, $-\text{NH}$ - et COamide, oxazine).

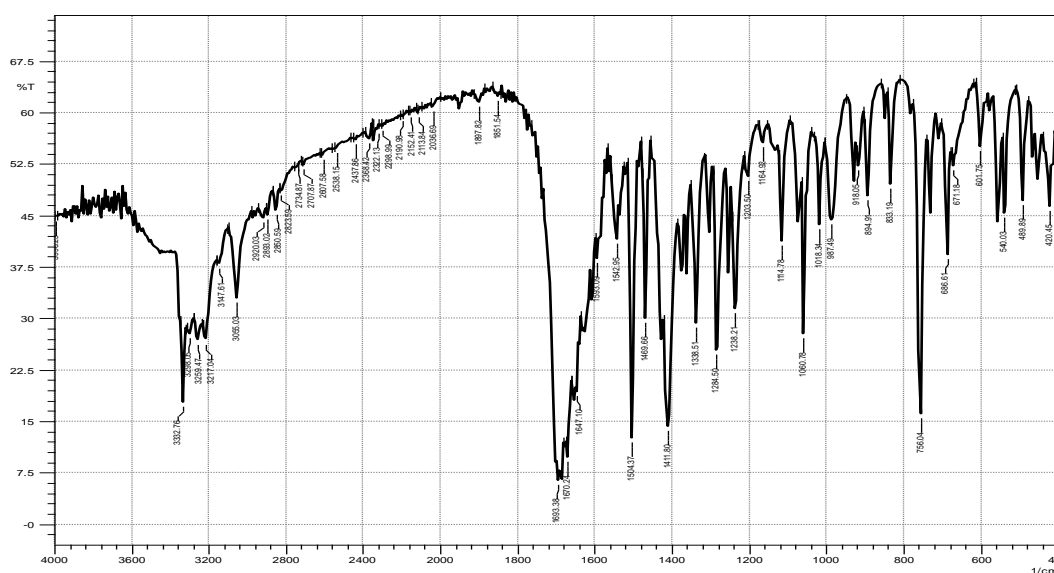


Figure 4.9: Spectre IR du composé hydrazide 3 (– CONHNH_2).

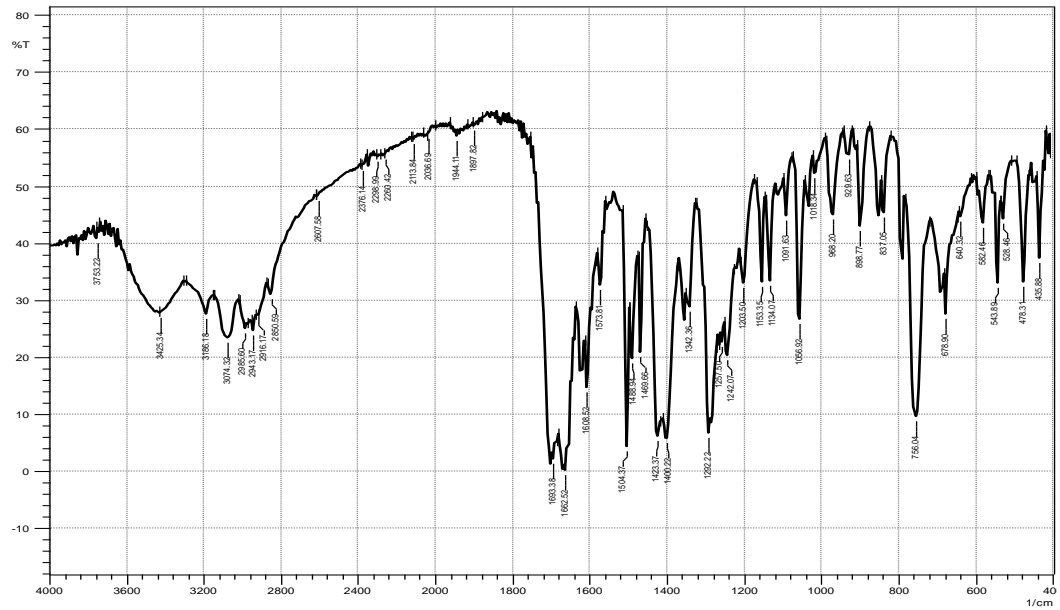


Figure 4.10: Spectre IR du composé **4a-2-OH**.

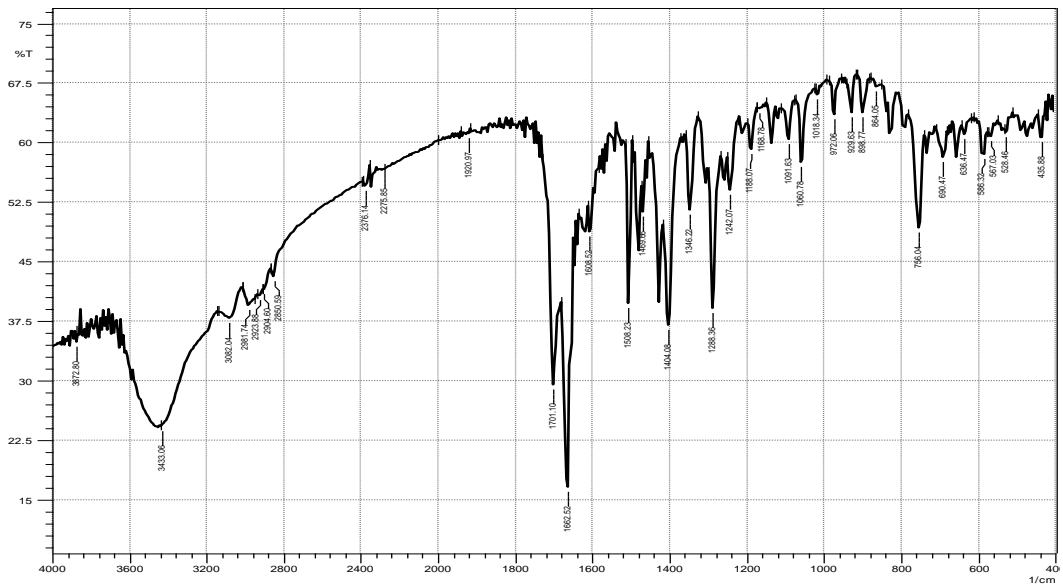


Figure 4.11: Spectre IR du composé **4b-2-OH,5-Cl**.

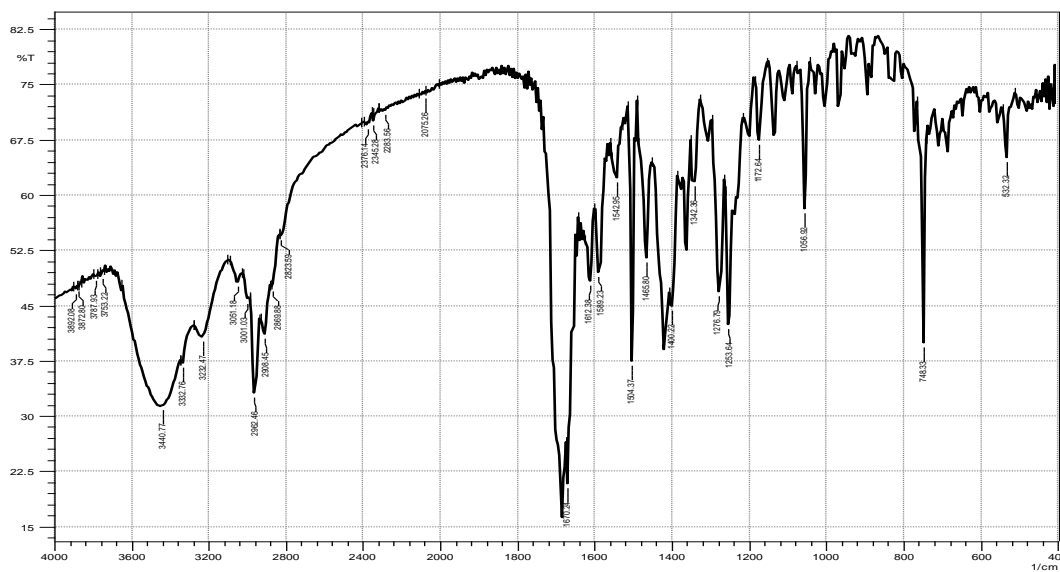


Figure 4.12: Spectre IR du composé **4c-3,5-Ditert** (CH_3).

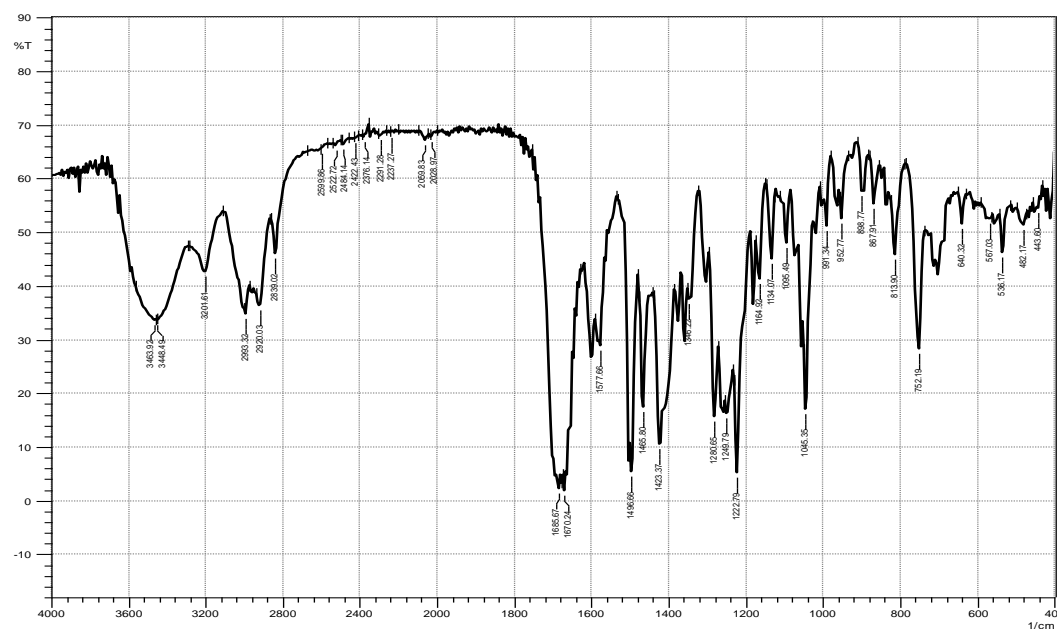


Figure 4.13: Spectre IR du composé **4g-2,5-di-OCH₃** (CH_3).

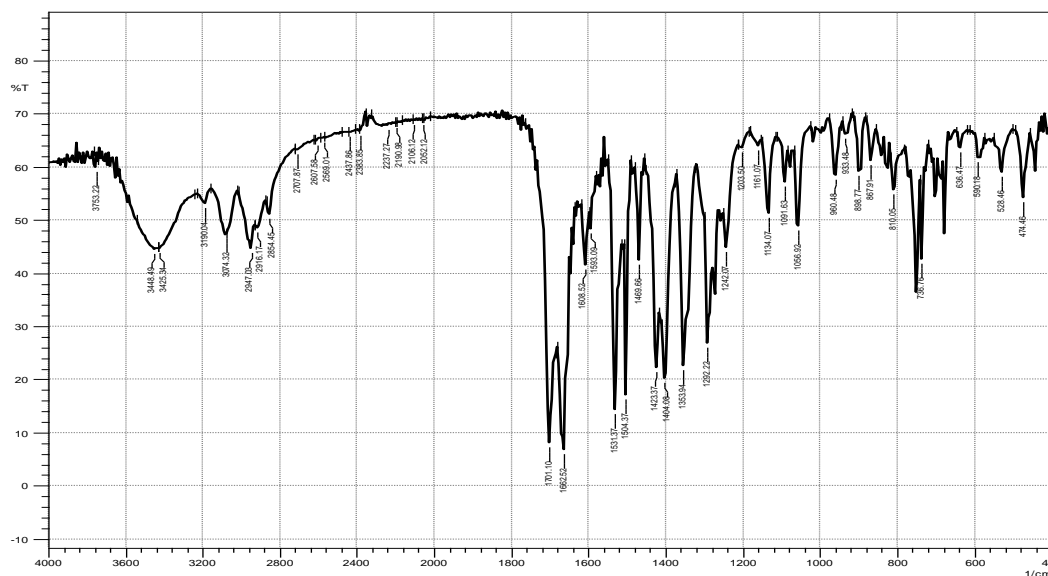


Figure 4.14: Spectre IR du composé **4k-4-NO₂**.

L'analyse des spectres ¹H-RMN de tous les composés étudiés (**4a-4h**) ont révélé la présence de protons aromatiques dans la région de δ 6.13 à 7.99. On a observé des signaux pour les protons du groupe azométhines NH-N=CH- (caractéristique des bases de Schiff N-acylhydrazones) entre δ 8.55–8.88, 9.18–9.28 ppm. Pour certains des composés synthétisés contenant des groupements méthyle, méthoxy et tert-but, leurs spectres RMN présentent un signal sous forme d'un singulet qui intègre pour les protons du groupement CH₃ entre 3.81–3.93 ppm.

Les spectres ¹³C-RMN ont démontré des signaux correspondant aux atomes de carbone du groupe azométhine entre δ =165.00–168.48, 162.75 et 163.45. Les pics à δ =165.05–169.35 ppm ont été attribués au groupe carbonyle C=O du noyau benzoxazinonique. Des signaux pour les carbones du groupement méthylène -CH₂- dans ces composés ont été apparus à 40.79 et 55.95–75.92 ppm selon la nature du composé.

Dans le cas des dérivés (*o*, *m*, *p*)-Nitro-N-acylhydrazone benzoxazinoniques (**4i-4l**); l'interprétation des spectres pour les composés obtenus a donné des résultats satisfaisants, et confirmant ainsi la structure proposée pour les produits obtenus. Dans les spectres ¹H-RMN de ces composés, deux signaux sous forme d'un singulet pour les groupes -CONH- et -N=CH- sont apparus respectivement à δ 8.06–8.51 ppm et δ 8.20–9.53 ppm. En ce qui concerne les spectres ¹³C-RMN, on a remarqué la présence des signaux pour le groupe azométhine -N=CH- dans la plage de δ 165.00–168.48 ppm. De plus, des signaux pour les carbones du groupe méthylène -CH₂- pour ces composés ont été apparus à 55.94–67.66 ppm.

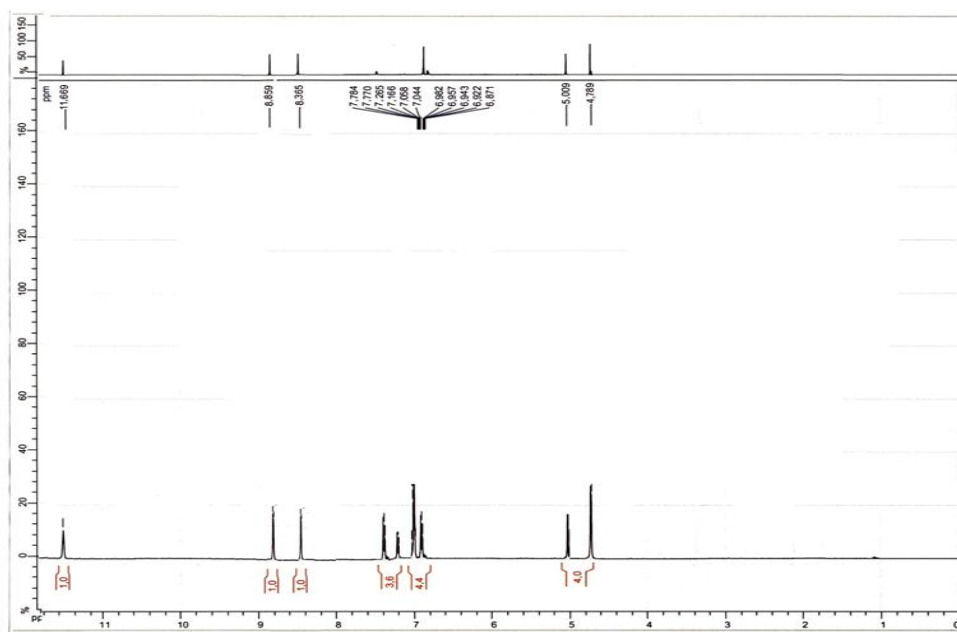


Figure 4.15: Spectre ^1H -RMN du composé **4a-2-OH**.

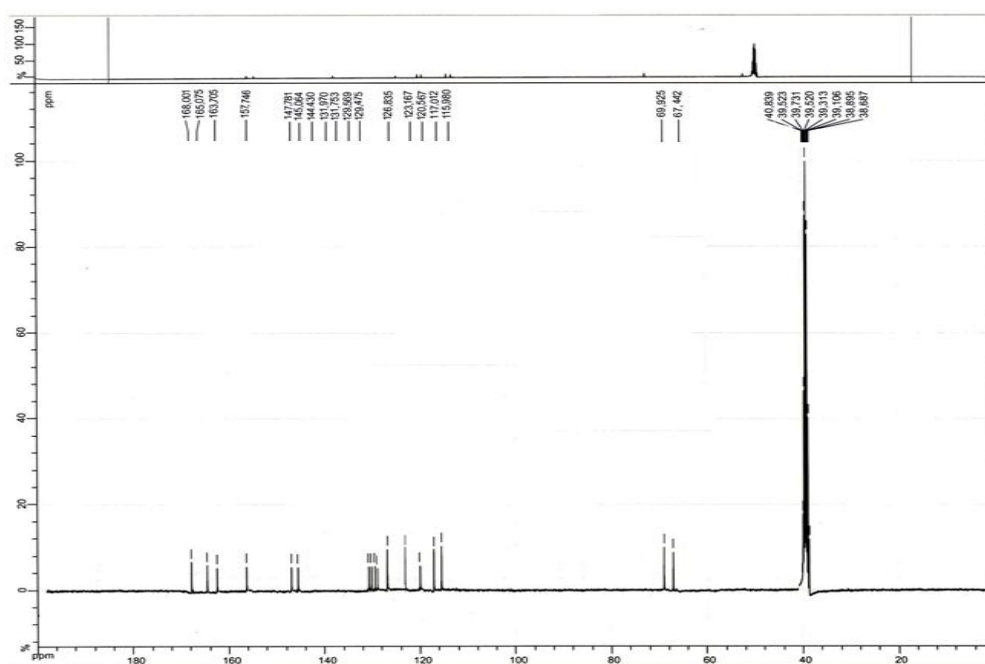


Figure 4.16: Spectre ^{13}C -RMN du composé **4a-2-OH**.

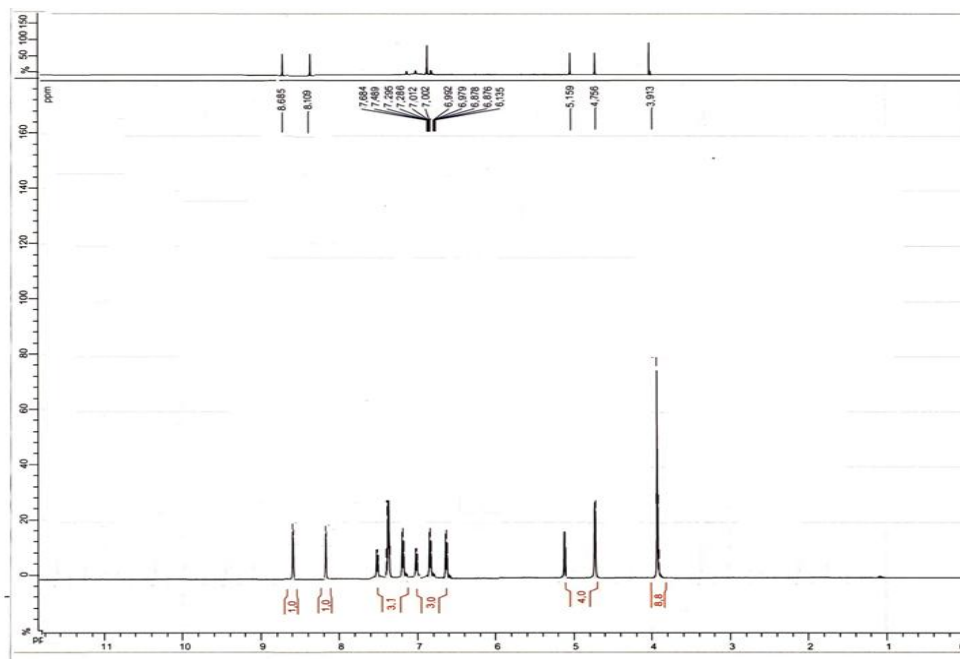


Figure 4.17: Spectre ^1H -RMN du composé **4f**-2,4,6- OCH_3 .

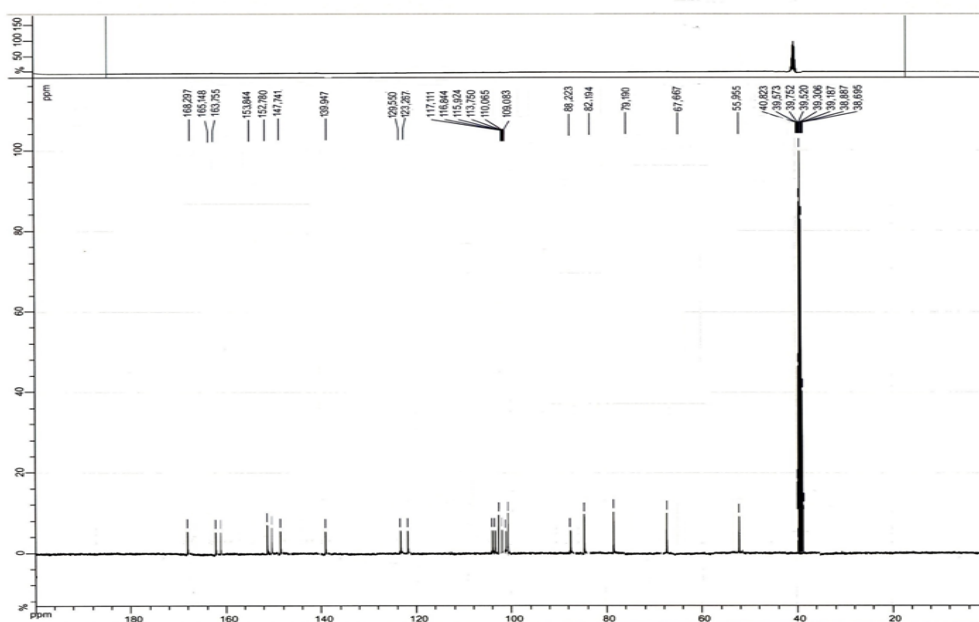


Figure 4.18: Spectre ^{13}C -RMN du composé **4f**-2,4,6- OCH_3 .

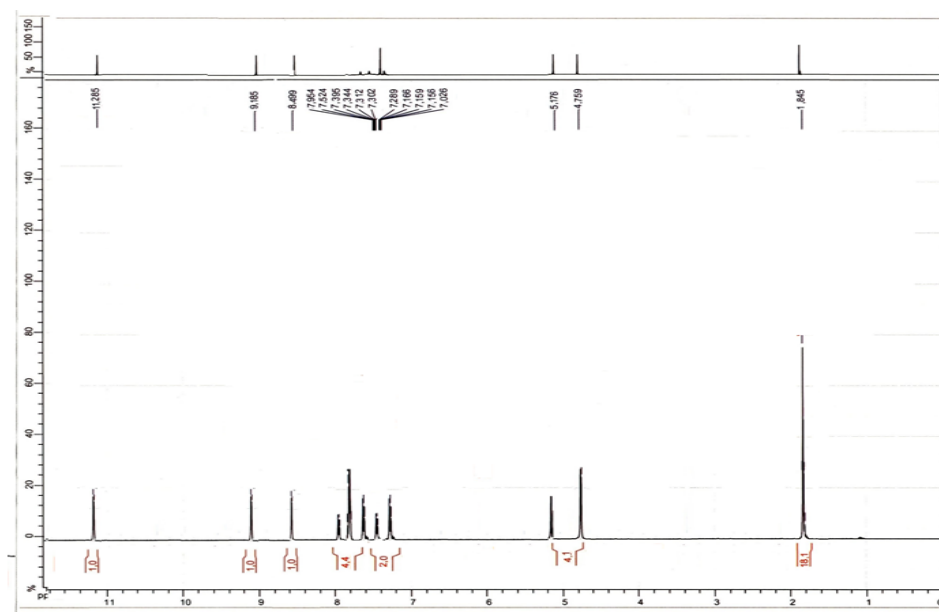


Figure 4.19: Spectre ^1H -RMN du composé **4c**-3,5-Di-tert-but, 2-OH.

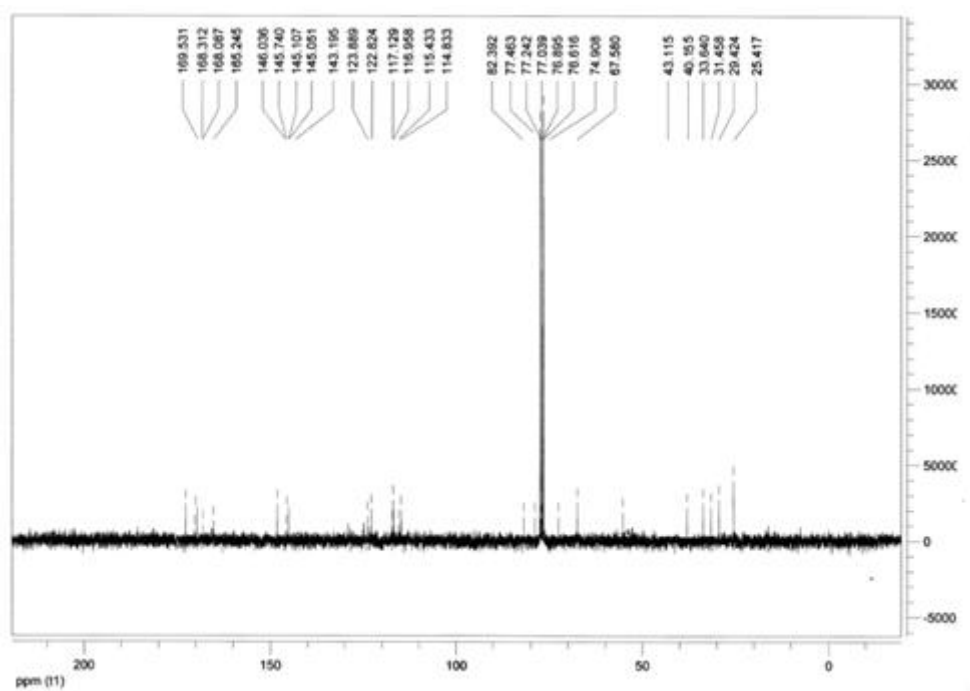


Figure 4.20: Spectre ^{13}C -RMN du composé **4c**-3,5-Di-tert-but,2-OH.

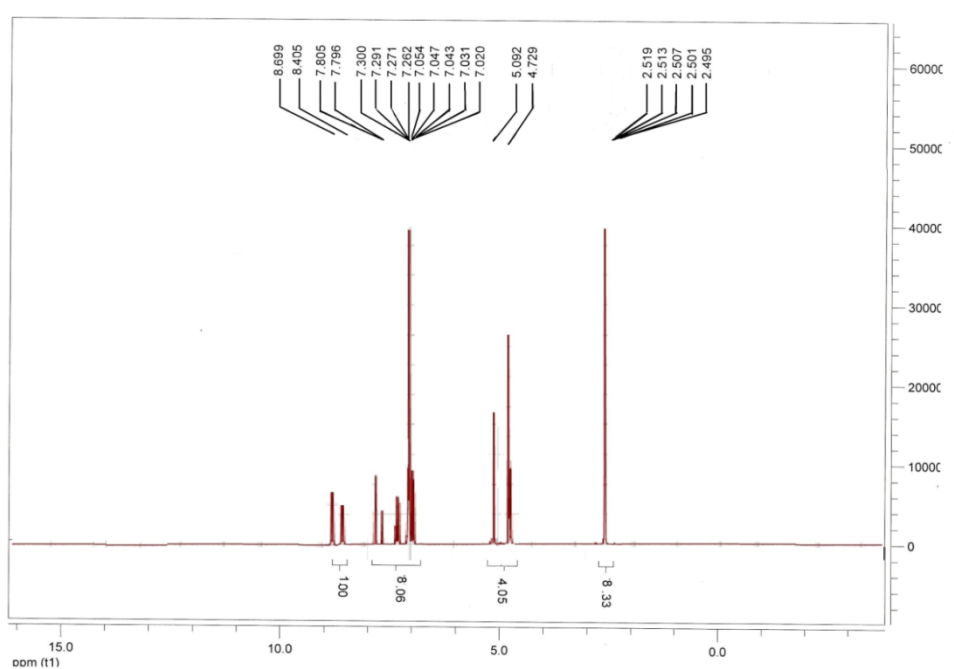


Figure 4.21: Spectre ^1H -RMN du composé **4k**-4- NO_2 .

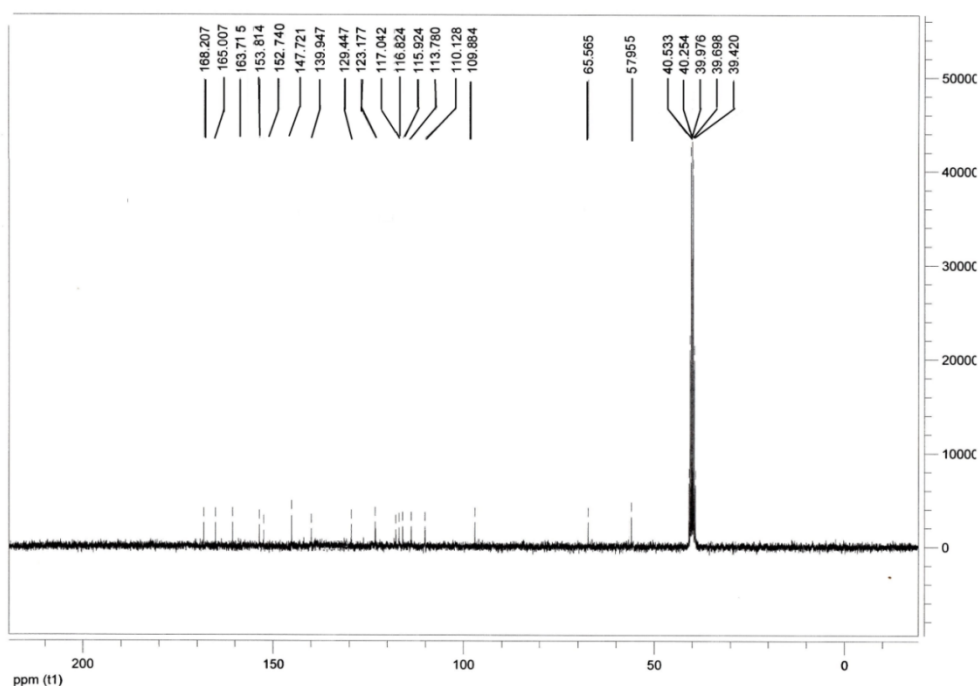


Figure 4.22: Spectre ^{13}C -RMN du composé **4k**-4- NO_2 .

4.2.1.5. Synthèse des complexes des ligands benzoxaziniques

Dans cette partie, nous allons nous focaliser sur de nouveaux ligands résultants de la condensation entre une hydrazide benzoxazinique et des aldéhydes aromatiques contenant un groupement hydroxy (OH) en position 2 de l'aldéhyde. Généralement appelés N-acylhydrazones ces ligands ont montré d'énormes potentialités en terme de complexation vis-

à-vis de centre métalliques. Nous allons tout d'abord présenter la préparation des complexes à partir des N-acylhydrazones correspondants avec quatre sels de métaux de transitions (Plomb, Zinc, Manganèse et Cobalt).

4.3. ÉVALUATION BIOLOGIQUE

Dans cette partie du travail, nous visons à évaluer le pouvoir inhibiteur des produits synthétisés vis-à-vis des agents pathogènes.

4.3.A. Dérivés N-acylhydrazones benzoxazinones

Nous avons synthétisés les dérivés de type N-acylhydrazones ayant un noyau hétérocyclique la benzoxazin-3-one (**4a–4h**), dans le but de développer de nouveaux agents antimicrobiens potentiels, en particulier antibactériens et antifongiques. L'activité antibactérienne et antifongique *in vitro* des composés synthétisés a été évaluée et discutée, en utilisant la méthode de micro-dilution contre deux bactéries **Gram-négative** représentatives (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*), et une bactérie **Gram positive** *Staphylococcus* et une souche fongique *C. albicans*. Les résultats de la concentration minimale inhibitrice (**MIC**), ainsi que la zone des valeurs d'inhibition des composés testés sont présentés dans le tableau **4.4** et le tableau **4.5**. Ils ont révélé que la plupart des composés nouvellement synthétisés présentaient des activités antifongiques prometteuses, alors que de modérée à mauvaise activités antibactériennes ont été observées.

En effet, les composés originaux synthétisés ont été criblés pour leur activité antibactérienne contre les souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* par la méthode de diffusion sur disque. D'après les résultats obtenus, nous avons observés que la souche *Pseudomonas aeruginosa* a développé une résistance contre tous les dérivés synthétisés à une concentration de 50-500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. En outre, la souche *Escherichia coli* a été jugée résistante contre tous les dérivés étudiés sauf pour le composé **4a** avec un groupement hydroxy en position **2** du benzaldéhyde. De plus, il convient de noter que les composés **4b–4h** n'étaient pas actifs contre *Escherichia coli*. La plupart d'entre eux ont été trouvés inactifs contre *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les composés **4a**, **4c**, **4d**, **4e**, **4f** et le composé **4h** aux mêmes concentrations ont également été caractérisés par une activité modérée, tandis que les composés **4b** avec les groupes **5-chloro**, **2-hydroxy**

et le **4g** avec substitution 2,5-diméthoxy sur le noyau aromatique de l'aldéhyde ont été trouvés non actifs contre *Staphylococcus Aureus*.

Dans le cas de l'étude réalisée sur l'activité antifongique; les nouveaux composés préparés ont été criblés pour leur activité antifongique contre *Candida albicans*. À partir des résultats obtenus, il est clair que tous ces composés possèdent une activité antifongique modérée à bonne (MIC 50–500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) contre *Candida albicans* par rapport à l'amphotéricine-B comme médicament standard de référence. Les composés substitués en position **2** par un groupement hydroxy sur le noyau aromatique de l'aldéhyde **4a** (14–24 mm à 50–500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), **4b** avec une substitution de 5-chloro-2-hydroxy (14–22 mm à 50–500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) et **4f** avec une substitution 2,4,6-triméthoxy (10–23 mm à 50–500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) sont apparus comme les produits les plus actifs. Inversement, le composé **4g** avec la substitution 2,5-diméthoxy est totalement inactif contre les souches bactériennes et fongiques.

Tableau 4.4: Activité antibactérienne et antifongique *in vitro* (zone d'inhibition en mm) des composés dérivés acylbenzoxazinones (**4a–4h**).

Bacterial and Fungal species	Concentration ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Compounds						Standards		
		4a	4b	4c	4d	4e	4f	A 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	P 6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	A-B 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$
<i>S. aureus</i>	500	10	–	15	08	11	08	24	22	–
	200	07	–	13	06	09	05			
	100	06	–	07	–	05	04			
	50	05	–	–	–	–	–			
<i>E. coli</i>	500	13	–	–	–	–	–	16	–	–
	200	10	–	–	–	–	–			
	100	08	–	–	–	–	–			
	50	–	–	–	–	–	–			
<i>P. aeruginosa</i>	500	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	200	–	–	–	–	–	–			
	100	–	–	–	–	–	–			
	50	–	–	–	–	–	–			
<i>C. albicans</i>	500	24	22	12	11	23	13	–	–	13
	200	21	20	10	09	20	11			
	100	18	17	09	06	16	08			
	50	14	14	08	05	10	–			

A: Ampicilline, **P:** Pénicilline, **A-B:** Amphotericine-B; –: Non sensible; **IZD:** Diamètre de la Zone d'Inhibition (mm).

4.3.B. Dérivés Nitro-N-acylhydrazones benzoxazinones

Les résultats des tests biologiques des dérivés Nitro-benzoxazinonylhydrazones (**4i–4l**) sont rapportés dans le tableau **4.5** ci-dessous. Il montre les concentrations minimales

inhibitrices (CMI) des composés étudiés, contre une bactérie Gram-positif (*S. aureus*) et deux bactéries Gram-négatives (*E. coli* et *P. aeruginosa*). Le diméthylsulfoxyde (DMSO) utilisé comme solvant n'a pas d'effet antibactérien aux concentrations utilisées jusqu'à 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Les résultats des études *in vitro* ont montré que tous les composés synthétisés présentaient une activité antimicrobienne modérée à bonne contre les champignons. Le composé **4j** a montré l'activité antifongique la plus élevée contre le champignon *Candida albicans* parmi tous les autres acylhydrazones testés. Par comparaison des composés substitués par un groupe nitro sur le noyau aromatique de l'aldéhyde, leur ordre d'activité est le suivant: 3-NO₂ > 2-NO₂ > 4-NO₂. Nous avons observés que la bactérie Gram-négative *Pseudomonas aeruginosa* a développé une résistance contre tous les dérivés synthétisés. Parmi les dérivés criblés, le composé **4j** substitué par un groupement nitro en position 3 (3-NO₂) est apparu comme le plus actif contre les deux souches bactériennes Gram négatif *Escherichia coli* et Gram positif *Staphylococcus aureus* par rapport au médicament standard. Les résultats actuels suggèrent que certains des composés synthétisés ont un effet potentiel pour le développement de nouveaux agents antifongique à base de benzoxazinone.

Tableau 4.5: Activité antibactérienne et antifongique *in vitro* (zone d'inhibition en mm) des composés nitro-acylbenzoxazinones (**4i-4l**).

Bacterial strains	Concentration ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Compds				Standards		
		4i	4j	4k	4l	A (10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$)	P 6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	A-B 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$
<i>S. aureus</i>	500	–	13	10	–	24	22	–
	200	–	11	8	–			
	100	–	08	7	–			
	50	–	06	5	–			
<i>E. coli</i>	500	–	12	–	11	16	–	–
	200	–	09	–	9			
	100	–	08	–	7			
	50	–	07	–	5			
<i>P.aeruginosa</i>	500	–	–	–	–	–	–	–
	200	–	–	–	–			
	100	–	–	–	–			
	50	–	–	–	–			
<i>C.albicans</i>	500	12	14	10	12	–	–	13
	200	08	11	07	09			
	100	06	07	06	05			
	50	03	–	04	03			

A: ampicilline, **P:** pénicilline, **A-B:** amphotéricine-B; –: Non sensible; **IZD:** Diamètre de la Zone d'Inhibition (mm).

4.4. CONCLUSION

En conclusion, nous avons réussi à synthétiser et à caractériser une nouvelle série de nouveaux dérivés N-acylhydrazones biologiquement significatifs à base de benzoxazin-3-one, par condensation entre les différents benzaldéhydes convenablement substitués sur le noyau aromatique et la benzoxazinonylhydrazide sous conditions respectueuses de l'environnement, en utilisant des irradiations ultrasons sans catalyseur ainsi que des méthodes sous chauffage conventionnelle pour donner les produits souhaités. La méthode sous irradiations ultrasons a permis de donner d'excellents rendements pour les composés isolés, en des temps de réaction plus courts, sans catalyseur par rapport aux autres méthodes utilisées. De plus, les activités antimicrobiennes *in vitro* contre les souches bactériennes *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* ainsi que la souche fongique *C. albicans* de ces composés ont été étudiées. Tous ces composés présentaient une activité antifongique remarquable contre *C. albicans*. Ils ont montré une activité antibactérienne modérée contre *S. aureus*, comme bactérie Gram-positive, et la plupart d'entre eux ont été trouvés inactifs contre *E. coli* et *P. aeruginosa*. Ainsi, la présente étude a élargi la possibilité de développer ces dérivés en tant qu'agents antifongiques prometteurs. Par conséquent, on peut conclure que ces composés méritent une étude plus approfondie, et peuvent servir de base pour les modifications chimiques dirigées vers le développement spécifiquement d'une nouvelle classe d'agents antifongiques.

CHAPITRE 5

Partie expérimentale

Remarques générales

☒ Les rendements expérimentaux sont exprimés en pourcentage de produit pur isolé par apport à la quantité de matière première mise en œuvre.

☒ La pureté des produits est systématiquement vérifiée par chromatographie sur couche mince dans les conditions suivantes:

- Support: gel de silice 60 F 254 d'épaisseur 0.2 mm, référence 5735 MERCK.
- Solvant de migration: hexane/acétate d'éthyle (2:8) et acétate d'éthyle/cyclohexane (4:6)
- Révélation: lampe UV ($\lambda = 254$ nm).

☒ Les points de fusion (P_f), exprimés en degré Celsius ($^{\circ}\text{C}$), sont mesurés sur un appareil SMP3 Stuart Scientific et ne sont pas corrigés.

☒ Les spectres infrarouge, notés FT-IR, ont été enregistrés sur un spectromètre de type SCHIMADZU-FTIR 830S, avec des pastilles de bromure de potassium. Les nombres d'ondes sont exprimés en cm^{-1} .

☒ Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire ^1H et ^{13}C pour les composés synthétisés ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker AC 300 (300MHz pour le ^1H et 100MHz pour le ^{13}C) au laboratoire de chimie organique de l'Université d'Oran 1, ou sur un spectromètre Bruker 400 (400MHz ^1H , 100MHz ^{13}C) à l'Université de Montpellier.

☒ Les déplacements chimiques (δ) sont mesurés en partie par million (*ppm*) par rapport au tétraméthylsilane (T.M.S) comme référence interne.

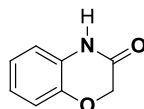
☒ Les constantes de couplage (J) sont exprimées en hertz (Hz) et la multiplicité est représentée de la manière suivante: singulet (s), doublet (d), doublet dédoublé (dd), triplet (t), quadruplet (q), massif (m).

☒ Les expériences par irradiations ultrasoniques ont été effectuées en utilisant un réacteur à FUNGILAB.

5.1. Préparation des matières premières

Les composés 3(4*H*)-benzoxazinone (**1**) et le 2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acétate d'éthyle (**2**), ont été précédemment rapportés et préparés tel que décrits et cités dans la littérature avec quelques modifications mineures. Leurs propriétés physicochimiques et analytiques sont en bon accord avec les données de la littérature.^[1]

5.1.1. Synthèse de la 3(4*H*)-benzoxazinone (**1**)



2-aminophénol:	0.018 mole
Sodium:	0.021 atome/gramme
Ethanol absolu:	72 ml
DMSO:	54 ml
BAE:	0.001mole (1.9 mL)

Modes opératoires pour la préparation de 2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-3(4*H*)-one (**1**)

Remarque: ce produit a été préparé par deux méthodes.

Méthode A

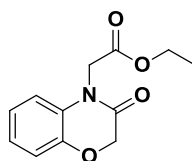
Dissoudre 0.021 atome/gramme de sodium dans 72 ml d'éthanol absolu, ajouter 0.018 mole de 2-aminophénol, chauffer à reflux pendant 30 min, évaporer le solvant, ajouter 54 ml de dimethylsulfoxyde, et additionner goutte à goutte 0.001 mole de bromoacétate d'éthyle, laisser sous agitation à température ambiante pendant 18 heures. Hydrolyser dans 180 ml d'eau froide, acidifier la solution, laisser sous agitation pendant 1 heure, essorer, sécher et recristalliser dans un solvant convenable.

2-aminophénol:	5g (0.045 mol)
TEBA:	10.44g (0.045 mol)
CHCl ₃ :	25 mL
NaHCO ₃ :	15.3g (0.18 mol)
ClCH ₂ COCl:	6.1g (0.054 mol)

[1] T.B. Ravi, N. Lingaiah, B. Rajeeva, *Inter. Research. J. Pharmacy.*, **2017**, 8(3), 23–28.

Méthode B

Dans 25 mL de chloroforme, ajouter (5g, 0.045 mol) d'ortho-aminophénol et (10.44 g, 0.045 mole) de Chlorure de Benzyl Triéthylammonium-TEBA, puis ajouter (15.3 g, 0.18 mole) de l'hydrogénocarbonate de sodium. Le mélange résultant est refroidi dans un bain de glace, ajouter lentement le chlorure de chloroacétyle (6.1 g, 0.054 mol) dans le même solvant sur une période de 20 minutes. Une fois l'addition terminée, le mélange réactionnel est agité à une température de 0-5°C pendant 1 heure, puis chauffé à 55°C pendant 12 heures. Filtrer le précipité obtenu et laver à l'eau jusqu'à neutralité du filtrat et recristalliser le résidu obtenu dans l'éthanol. Le point de fusion est compris entre 232-234°C et le rendement est de 86%. FT-IR (KBr, cm^{-1}): 1704, 2902, 2982, 3134. ^1H -RMN (200 MHz, DMSO-*d*₆, 25°C): δ = 4.4 (s, 2H, CH₂), 6.8 (m, 4H, Ar-H), 10.66 (s, 1H, N-H). ^{13}C -RMN (200 MHz, DMSO-*d*₆, 25°C): δ = 69.9, 112.8, 120.3, 121.2, 126.8, 128.2, 148.2 et 168.2 ppm. HRMS: trouvé pour C₈H₇O₂N [M+H]⁺ est de 150.

5.1.2. Synthèse de 2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acétate d'éthyle (2)**Modes opératoires****Méthode A**

Dans un ballon rodé de 100 mL, introduire (2g, 13 mmol, 1 équivalent) de benzoxazinone et (3.59g, 26 mmol, 2 équivalent) de carbonate de potassium (K₂CO₃) dans une quantité suffisante d'acétone. Agiter pendant 30 minutes à reflux, et puis ajouter (3.34g, 20 mmol, 1.5 équivalent) de bromoacétate d'éthyle. Après 2 heures de chauffage à 60°C, filtrer le solide minéral formé et évaporer le filtrat sous vide, sécher, et recristalliser le résidu obtenu dans l'éthanol.

Méthode B

Dans un ballon rodé de 250 mL, introduire (2g, 13 mmol, 1 équiv.) de benzoxazinone et (0.10g, 14.37 mmol, 1.1 équivalent) de carbonate de potassium (K₂CO₃) dans le DMF, ajouter sous agitation magnétique la bromoacétate d'éthyle (2.67g, 16 mmol, 1.2 équivalent)

goutte à goutte. Le mélange réactionnel est chauffé à 100°C durant 2 heures. Filtrer à chaud, et évaporer le filtrat sous vide, sécher, et recristalliser le résidu dans l'éthanol comme précédemment dans la méthode B.

Remarque: ce produit a été préparé par deux méthodes.

Méthode A

Benzoxazin-3(4 <i>H</i>)-one:	2 g (13 mmol)
Bromoacétate d'éthyle:	3.34 g (20 mmol)
Carbonate de potassium:	3.59 g (26 mmol)
Acétone:	13 mL

Temps de la réaction:	2h
Solvant de recristallisation:	Ethanol
Rendement:	84%
R _f :	0.55 (acétate/cyclohexane - 4:6)
Aspect:	Poudre blanche
Point de fusion:	81-82°C

Poids moléculaire 235.087 g.mol⁻¹ pour C₁₂H₁₃O₄N.

Méthode B

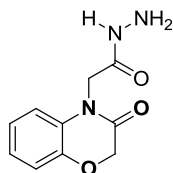
Benzoxazin-3(4 <i>H</i>)-one:	2 g (13 mmol)
Bromoacétate d'éthyle:	2.67 g (16 mmol)
Carbonate de potassium:	0.10 g (14.37 mmol)
DMF:	15 mL

Temps de la réaction:	3 heures
Solvant de recristallisation:	Ethanol
Rendement:	82%
Aspect:	Poudre blanche
R _f :	0.55 (acétate/cyclohexane - 4:6))
Point de fusion:	81-82°C

Poids moléculaire 235.087 g.mol⁻¹ pour C₁₂H₁₃O₄N.

^1H -RMN (400 MHz, DMSO-*d*6): δ = 1.26-1.29 (t, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$, CH_3), 4.21-4.27 (q, 2H, $\text{-CH}_2\text{-CH}_3$, CH_2) 4.65-4.68 (d, 4H, CH_2COOEt , $\text{-NCO-CH}_2\text{O-}$, 2 CH_2) 6,74-7.26 (m, 4H, Ar-H). ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): 167.91 (C=O), 165.04 (C=O), 145.2, 128.76, 124.37, 123.06, 117.33, 114.53 (carbones aromatiques), 67.62 (CH_2), 62.00 (CH_2), 43.07 (CH_2), 14.27 (CH_3).

5.1.3. Synthèse de 2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acetohydrazide (3)



Dans 20 mL d'éthanol absolue, ajouter (2.55g, 11 mmol) du 2-(3-oxo-2H-benzoxazin-4(3H)-yl)acétate d'éthyle et (2.75g, 55 mmol) d'hydrazine hydrate. Le mélange réactionnel est chauffé à 80°C durant 3 heures. Laisser refroidir, filtrer le précipité formé, évaporer le filtrat sous vide et recristalliser le résidu obtenu dans l'éthanol.

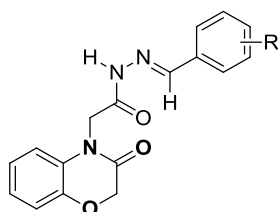
2-(3-oxo-2H-benzoxazin-4(3H)-yl) acétate d'éthyle:	2.55 g (11 mmol)
Hydrazine hydrate:	2.75 ml (55 mmol)
Ethanol absolu:	20 mL
Temps de la réaction:	3 heures
Solvant de recristallisation:	Ethanol
Rendement:	83%
R _f :	0.094 (AE/hexane-2:8)
Point de fusion:	171-173°C
Aspect:	Poudre blanche

Poids moléculaire 221.09 g.mol⁻¹ pour C₁₀H₁₁O₃N₃.

^1H -RMN (400 MHz, DMSO-*d*6): δ = 6.89-7.03 (m, 4H, Ar-H), 8.00 (s, H, N-H), 4.66-4.69 (d, 4H, $\text{CH}_2\text{CONHNH}_2$, $\text{-NCO-CH}_2\text{O-}$, 2 CH_2), 4.27-4.28 (d, 2H, NH_2). ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): 165.9 (C=O), 164.12 (C=O), 144.43, 128.74, 123.41, 122.35, 116.23, 115.07 (carbones aromatiques), 66.82 (CH_2), 42.28 (CH_2).

N-ACYLHYDRAZONES BENZOXAZINONIQUES

5.2. Synthèse des N-Acylhydrazones benzoxazinoniques



5.2.1. Procédure générale pour la préparation des composés N'-benzylidene-2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acetohydrazides (4a-4l)

Méthode conventionnelle (méthode A)

Les composés N-Acylhydrazones ont été préparés par la condensation d'un mélange équimolaire d'aldéhyde aromatique (1 équiv., 0.23 mmol) convenablement substitué sur le noyau aromatique et d'hydrazide (1équiv., 0.23 mmol) dans une quantité suffisante d'éthanol comme solvant, en présence d'une quantité catalytique d'acide acétique glacial (2-3 gouttes). Ensuite, le mélange résultant est chauffé à reflux pendant 35 minutes. Après filtration, le précipité obtenu est rincé avec du éthanol et du méthanol à froid, sécher et recristalliser dans un solvant approprié pour chaque préparation. La pureté des produits a été vérifiée par leurs points de fusion, CCM et RMN (^{13}C et ^1H). Tous les produits préparés ont été obtenu sous forme de produits solides avec de modérés à bons rendements (55-88%).

Méthode des Ultrasons (méthode B)

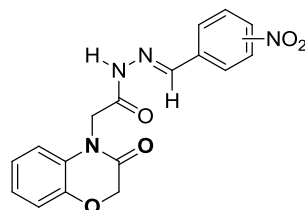
Les composés synthétisés (**4a-4l**) ont été préparés de la même manière que pour le chauffage conventionnel, en traitant un mélange équimolaire d'hydrazide et d'aldéhyde aromatique dans l'éthanol en utilisant un bain Ultrasons. La résultante suspension est par la suite exposée aux irradiations ultrasons, pendant le temps indiqué ci-après pour chaque préparation. La réaction est suivie par CCM, afin de déterminer le temps et la fin de la réaction. Le précipité formé est séché et purifié de la même manière que dans le cas du chauffage classique pour obtenir les dérivés N-Acylhydrazones souhaités. Tous les produits synthétisés (**4a-4m**) ont été obtenus comme produits solides colorés.

Utilisation du jus de citron comme solvant et catalyseur (méthode C)

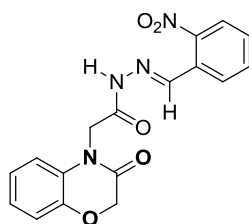
Dans un ballon de 50 mL, une suspension de l'aldéhyde (0.2 mmol) dans une quantité suffisante de jus de citron (5 mL) est laissée sous agitation jusqu'à l'obtention d'une solution

claire. Après 15 minutes d'agitation, 0.2 mmol du dérivé hydrazide (**3**) est ajouté par petite portion. La réaction est suivie par CCM afin de déterminer le temps et la fin de la réaction. Le précipité formé est filtré, séché et purifié de la même manière que dans le cas du chauffage classique pour obtenir les dérivés N-Acylhydrazones benzoxazinoniques souhaités.

5.2.2. Synthèse des dérivés *N'*-[(2,3,4-Nitrophenyl)méthylidene]-2-(3-oxo-2,3-dihydro-4*H*-benzo[3,2-*b*][1,4]oxazin-4-yl)acétohydrazides (**4i-4l**)

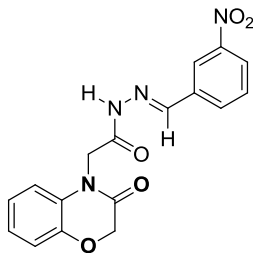


5.2.2.1. Synthèse de *N'*-[(2-Nitrophenyl)méthylidene]-2-(3-oxo-2,3-dihydro-4*H*-benzo[3,2-*b*][1,4]oxazin-4-yl)acétohydrazide (**4i**)



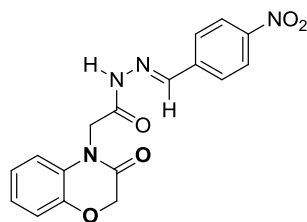
Selon la procédure typique **5.2.1.**, le dérivé N-acylhydrazone **4i** pur a été obtenu sous forme de poudre blanche par réaction entre le 2-nitrobenzaldéhyde et la benzoxazolinonylhydrazide (**3**). Rendement: méthode **A** (77%), méthode **B** (80%); P_f : 226-227°C. IR (KBr, cm^{-1}): 3425.34 ($\nu_{\text{O-H}}$), 3251.76 ($\nu_{\text{N-H}}$), 2985.60 (ν_{CH_2}), 1685.67 ($\nu_{\text{C=Ooxazin}}$), 1608.41 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1566.09 ($\nu_{\text{C=Caromatic}}$), 1338.51 (ν_{NO_2}). $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 4.72 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{CONH-NH-}$, CH_2), 5.08 (s, 2H, $-\text{NCO-CH}_2\text{O-}$, CH_2), 8.06 (s, 1H, CONH-) 8.20 (s, 1H, N=C-CH , azomethine), 7.05-7.96 (m, 8H, Ar-H); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 168.28 (C=O), 165.06 (C=O), 163.72 (N=C), 153.82, 152.75, 147.78, 139.94, 129.45, 123.16, 117.11, 116.84, 115.92, 113.75, 110.12, 109.82 (carbones aromatiques), 67.56 (CH_2), 55.94 (CH_2).

5.2.2.2. Synthèse de *N'*-[(3-Nitrophenyl)methylidene]-2-(3-oxo-2,3-dihydro-4*H*-benzo[3,2-*b*][1,4]oxazin-4-yl)acetohydrazide (**4j**)



Selon la procédure typique **5.2.1.**, le dérivé N-acylhydrazone **4j** pur a été obtenu sous forme de poudre blanche par réaction entre le 3-nitrobenzaldéhyde et la benzoxazolinonylhydrazide (**3**). Rendement: méthode **A** (75%), méthode **B** (79%); P_f : 281-282°C. IR (KBr, cm^{-1}): 3436.91 ($\nu_{\text{O-H}}$), 3082.04 ($\nu_{\text{N-H}}$), 2947.03 (ν_{CH_2}), 1662.52 ($\nu_{\text{C=Ooxazin}}$), 1608.52 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1566.09 ($\nu_{\text{C=Caromatic}}$), 1353.94 (ν_{NO_2}). $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 4.82 (s, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{CONHNNH-}}$, CH_2), 5.06 (s, 2H, $-\text{NCO-}\underline{\text{CH}_2\text{O-}}$, CH_2), 8.51 (s, 1H, NH, CONH-N), 8.78 (s, 1H, $\text{N}=\underline{\text{CH}}$, azomethine), 6,71-7,34 (m, 8H, Ar-H), $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 168.29 (C=O), 165.14 (C=O), 163.75 (N=C), 153.84, 152.78, 147.74, 139.94, 129.56, 123.26, 117.11, 116.84, 115.94, 113.75, 110.06, 109.82 (carbones aromatiques), 67.66 (CH_2), 55.95 (CH_2).

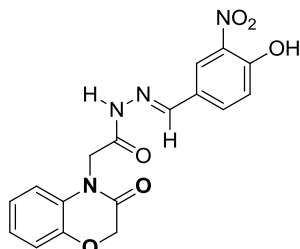
5.2.2.3. Synthèse de *N'*-[(4-Nitrophenyl)methylidene]-2-(3-oxo-2,3-dihydro-4*H*-benzo[3,2-*b*][1,4]oxazin-4-yl)acetohydrazide (**4k**)



Selon la procédure typique **5.2.1.**, le dérivé N-acylhydrazone **4k** pur a été obtenu sous forme de poudre blanche par réaction entre le 4-nitrobenzaldéhyde et la benzoxazolinonylhydrazide (**3**). Rendement: méthode **A** (72%), méthode **B** (83%); P_f : 237-238°C. IR (KBr, cm^{-1}): 3190.04 ($\nu_{\text{N-H}}$), 3074.32 ($\nu_{\text{C=C-H}}$), 2947.03 (ν_{CH_2}), 1662.52 ($\nu_{\text{C=Ooxazin}}$), 1608.52 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1593.09 ($\nu_{\text{C=Caromatic}}$), 1353.94 (ν_{NO_2}). $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 4.72 (s, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{CONHNNH-}}$, CH_2), 5.09 (s, 2H, $-\text{NCO-}\underline{\text{CH}_2\text{O-}}$, CH_2), 8.40 (s, 1H, NH, CONH-N), 8.69 (s, 1H, $\text{N}=\underline{\text{CH}}$, azomethine), 7.02-7,80 (m, 8H, Ar-H), $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 168.20 (C=O), 165.00 (C=O), 163.71(N=C), 153.81, 152.74,

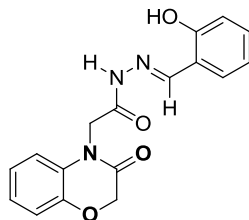
147.72, 139.94, 129.44, 123.17, 117.04, 116.82, 115.92, 113.78, 110.12, 109.88 (carbones aromatiques), 65.56 (CH₂), 57.95 (CH₂).

5.2.2.4. Synthèse de *N'*-[(3-Nitro-4-Hydroxyphenyl)methylidene]-2-(3-oxo-2,3-dihydro-4*H*-benzo[3,2-*b*][1,4]oxazin-4-yl)acetohydrazide (**4l**)



Selon la procédure typique **5.2.1.**, le dérivé N-acylhydrazone **4l** pur a été obtenu sous forme d'un solide jeune par réaction entre le 4-hydroxy-3-nitrobenzaldéhyde et la benzoxazolinonylhydrazide (**3**). Rendement: méthode **A** (72%), méthode **B** (78%); P_f: 302-303°C. IR (KBr, cm⁻¹): 3433.06 (ν_{O-H}), 3240.19 (ν_{N-H}), 3101.32 (ν_{C=C-H}), 2954.74 (ν_{CH2}), 1677.95 (ν_{C=Ooxazin}), 1623.95 (ν_{C=N}), 1535.23 (ν_{C=Caromatic}), 1322.40 (ν_{NO2}). ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*6, δ ppm): 4.72 (s, 2H, CH₂CONHNH-, CH₂), 5.06 (s, 2H, -NCO-CH₂O-, CH₂), 8.11 (s, 1H, NH, CONH-N), 9.53 (s, 1H, N=CH, azomethine), 6.02-7.93 (m, 7H, Ar-H), 11.56 (s, 1H, OH), ¹³C-RMN (100MHz, DMSO-*d*6): δ = 168.48 (C=O), 165.07 (C=O), 163.70 (N=C), 153.73, 152.62, 147.78, 142.53, 139.94, 137.73, 129.53, 123.16, 116.72, 115.94, 114.83, 113.76, 110.12, 109.84 (carbones aromatiques), 67.45 (CH₂), 55.95 (CH₂).

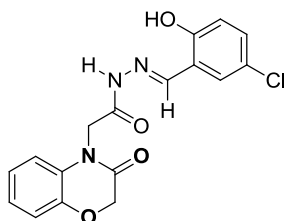
5.2.2.5. Synthèse du dérivé *N'*-(2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide



Selon la procédure typique **5.2.1.**, le dérivé N-acylhydrazone **4a** pur a été obtenu sous forme d'un solide blanc par réaction entre le 2-hydroxybenzaldéhyde et la benzoxazolinonylhydrazide (**3**). Rendement: méthode **A** (88%), méthode **B** (94%); P_f: 270-271°C. IR (KBr, cm⁻¹): 1573 (ν_{NO2}), 1608 (ν_{C=Caromatic}), 1622 (ν_{C=N}), 1693(ν_{C=Ooxazin}), 2850(ν_{CH2}), 2943(ν_{C=C-H}), 3074(ν_{N-H}), 3425 (ν_{O-H}). ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*6, δ ppm):

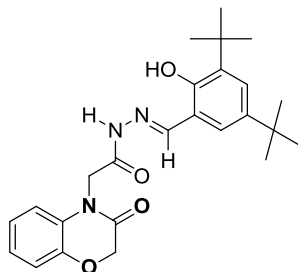
4.78 (s, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{CONHNH-}}$, CH_2), 5.00 (s, 2H, $-\text{NCO-}\underline{\text{CH}_2\text{O-}}$, CH_2), 8.85 (s, 1H, $\text{N}=\underline{\text{CH}}$, azomethine), 8.36 (s, 1H, N-H), 6.87-7.78 (m, 8H, Ar-H), 11.66 (s, 1H, OH), $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, DMSO-*d*6): δ = 168.00 (C=O), 165.07 (C=O), 163.70 (N=C), 157.74, 147.78, 145.06, 144.43, 131.97, 131.75, 129.56, 129.47, 126.83, 123.16, 120.56, 117.01, 115.98 (carbones aromatiques) 67.44 (CH_2), 69.92 (CH_2).

5.2.2.6. Synthèse de *N'*-(5-chloro-2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide (**4b**)



Selon la procédure typique **5.2.1.**, le dérivé N-acylhydrazone **4b** pur a été obtenu sous forme d'un solide blanc par réaction entre le 5-chloro-2-hydroxybenzaldéhyde et la benzoxazolinonylhydrazide (**3**). Rendement: méthode A (74%), méthode B (86%); P_f : 290-291°C. IR (KBr, cm^{-1}): 756, 1701, 1662, 1608, 2981, 3082, 3433. $^1\text{H-RMN}$ ^1H (300 MHz, DMSO-*d*6, δ ppm): 4.77 (s, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{CONHNH-}}$, CH_2), 5.09 (s, 2H, $-\text{NCO-}\underline{\text{CH}_2\text{O-}}$, CH_2), 8.42 (s, 1H, $\text{N}=\underline{\text{CH}}$, azomethine), 8.29 (s, 1H, N-H), 6.91-7.80 (m, 7H, Ar-H), 11.73 (s, 1H, OH), $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, DMSO-*d*6): δ = 168.30 (C=O), 165.05 (C=O), 163.45 (N=C), 155.63, 145.07, 140.31, 131.11, 129.55, 123.93, 123.67, 123.14, 122.49, 118.40, 116.02, 115.98 (carbones aromatiques) 67.44 (CH_2), 75.92 (CH_2).

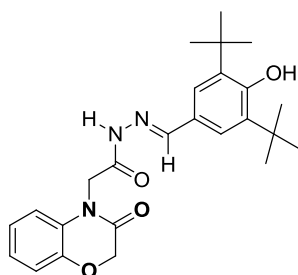
5.2.2.7. Synthèse de *N'*-(3,5-di-tert-butyl-2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide (**4c**)



Selon la procédure typique **5.2.1.**, le dérivé N-acylhydrazone **4c** pur a été obtenu sous forme d'un solide blanc par réaction entre le 3,5-di-tert-butyl-2-hydroxybenzaldéhyde et la benzoxazolinonylhydrazide (**3**). Rendement: méthode A (55%), méthode B (60%); P_f : 226-227°C. IR (KBr, cm^{-1}): 1589, 1612, 1670, 1687, 2908, 2962, 3051, 3232, 3440. $^1\text{H-RMN}$

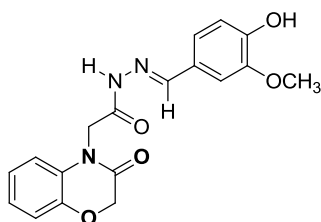
(300 MHz, DMSO-*d*6, δ ppm): 1.84 (s, 18H, 9 CH₃), 4.75 (s, 2H, CH₂CONHNH-, CH₂), 5.17 (s, 2H, -NCO-CH₂O-, CH₂), 9.18 (s, 1H, N=CH, azomethine), 8.49 (s, 1H, N-H), 7.02-7.95 (m, 6H, Ar-H), 11.28 (s, 1H, OH), ¹³C-RMN (100 MHz, DMSO-*d*6): δ = 169.53 (C=O), 168.31 (C=O), 168.08 (N=C), 165.24, 146.03, 145.74, 145.10, 145.05, 143.19, 123.88, 122.82, 117.12, 116.95, 115.43, 114.83 (carbones aromatiques), 82.39 (C), 77.46 (C), 74.90 (CH₂), 67.58 (CH₂), 43.11 (CH₃), 40.15 (CH₃), 33.64 (CH₃), 31.45 (CH₃), 29.42 (CH₃), 25.41 (CH₃).

5.2.2.8. Synthèse de *N'*-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide (**4d**)



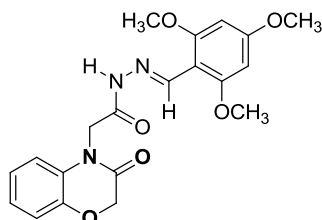
Selon la procédure typique **5.2.1.**, le dérivé *N*-acylhydrazone **4d** pur a été obtenu sous forme d'un solide blanc par réaction entre le 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldéhyde et la benzoxazolinonylhydrazide (**3**). Rendement: méthode **A** (79%), méthode **B** (91%); *P*_f: 240-241°C. IR (KBr, cm⁻¹): 1577.66, 1608.52, 1681.81, 2954.74, 3433.06. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*6, δ ppm): 1.48 (s, 18H, 9 CH₃), 4.79 (s, 2H, CH₂CONHNH-, CH₂), 5.27 (s, 2H, -NCO-CH₂O-, CH₂), 9.28 (s, 1H, N=CH, azomethine), 8.59 (s, 1H, N-H), 7.04-7.99 (m, 6H, Ar-H), 11.28 (s, 1H, OH); ¹³C-RMN (100 MHz, DMSO-*d*6): δ = 169.35 (C=O), 168.21 (C=O), 168.08 (N=C), 165.54, 146.13, 145.47, 145.11, 145.05, 143.13, 123.88, 122.82, 117.19, 116.95, 115.33, 114.83 (carbones aromatiques), 83.39 (C), 77.46 (C), 74.90 (CH₂), 67.58 (CH₂), 43.15 (CH₃), 40.05 (CH₃), 33.64 (CH₃), 31.45 (CH₃), 29.45 (CH₃), 25.47 (CH₃).

5.2.2.9. Synthèse de *N'*-(4-hydroxy-3-methoxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide (**4e**)



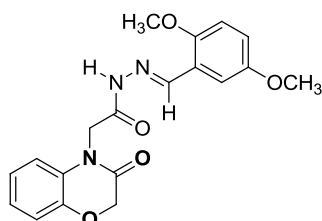
Selon la procédure typique **5.2.1.**, le dérivé N-acylhydrazone **4e** pur a été obtenu sous forme d'un solide blanc par réaction entre le 4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde et la benzoxazolinonylhydrazide (**3**). Rendement: méthode **A** (68%), méthode **B** (79%); P_f: 276-277°C IR (KBr, cm⁻¹): 1570, 1608, 1680, 2956, 3450. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 3.82 (s, 3H, OCH₃), 4.71 (s, 2H, CH₂CONHNH-, CH₂), 5.06 (s, 2H, -NCO-CH₂O-, CH₂), 9.53 (s, 1H, N=CH, azomethine), 8.11 (s, 1H, N-H), 6.82-7.93 (m, 7H, Ar-H), 11.56 (s, 1H, OH), ¹³C-RMN (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 168.01 (C=O), 165.07 (C=O), 163.70 (N=C), 153.54, 149.32, 148.46, 145.08, 144.92, 142.53, 129.58, 125.89, 123.17, 116.93, 115.93, 109.84 (carbones aromatiques), 67.46 (CH₂), 56.04 (CH₂), 40.79 (CH₂).

5.2.2.10. Synthèse de N'-(2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)-N'-(2,4,6-triméthoxybenzylidène)acétohydrazide (**4f**)



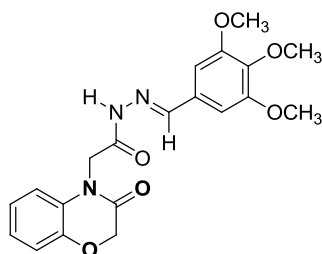
Selon la procédure typique **5.2.1.**, le dérivé N-acylhydrazone **4f** pur a été obtenu sous forme d'un solide blanc par réaction entre le 2,4,6-triméthoxybenzaldéhyde et la benzoxazolinonylhydrazide (**3**). Rendement: méthode **A** (70%), méthode **B** (77%); P_f: 241-242°C. IR (KBr, cm⁻¹): 1573, 1593, 1598, 1612, 1670, 1701, 2962, 3055, 3193. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 3.91 (s, 9H, 3O-CH₃), 4.75 (s, 2H, CH₂CONHNH-, CH₂), 5.15 (s, 2H, -NCO-CH₂O-, CH₂), 8.68 (s, 1H, N=CH, azomethine), 8.10 (s, 1H, N-H), 6.13-7.68 (m, 6H, Ar-H); ¹³C-RMN (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 168.29 (C=O), 165.14 (C=O), 163.75 (N=C), 153.84, 152.78, 147.74, 139.94, 129.55, 123.26, 117.11, 116.84, 115.92, 113.75, 110.06, 109.08 (aromatic carbons), 88.22 (O-CH₃), 82.19 (O-CH₃), 79.19 (O-CH₃), 55.95 (CH₂), 67.66 (CH₂).

5.2.2.11. Synthèse de N'-(2,5-diméthoxybenzylidène)-2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acétohydrazide (**4g**)



Selon la procédure typique **5.2.1.**, le dérivé N-acylhydrazone **4g** pur a été obtenu sous forme d'un solide blanc par réaction entre le 2,5-triméthoxybenzaldéhyde et la benzoxazolinonylhydrazide (**3**). Rendement: méthode **A** (75%), méthode **B** (84%); P_f: 182-183°C. IR (KBr, cm⁻¹): 1598, 1670, 1685, 2839, 2920, 2993, 3201. ¹H-RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 3.81 (s, 6H, 3O-CH₃), 4.64 (s, 2H, CH₂CONHNH-, CH₂), 5.08 (s, 2H, -NCO-CH₂O-, CH₂), 8.55 (s, 1H, N=CH, azomethine), 8.35 (s, 1H, N-H), 7.01-7.64 (m, 7H, Ar-H), ¹³C-RMN (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 168.28 (C=O), 165.08 (C=O), 162.05 (N=C), 113.76, 115.99, 116.92, 117.76, 123.16, 129.56, 137.73, 139.94, 145.08, 152.62, 153.73 (carbones aromatiques), 59.95 (CH₂), 67.45 (CH₂), 109.84 (O-CH₃), 110.12 (O-CH₃).

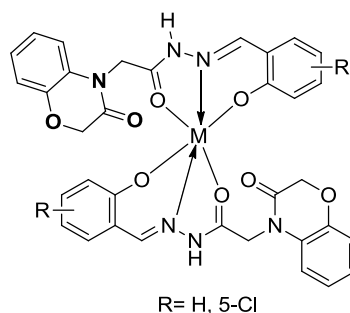
5.2.2.12. Synthèse de N'-(2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)-N'-(3,4,5-triméthoxybenzylidène)acétohydrazide (**4h**)



Selon la procédure typique **5.2.1.**, le dérivé N-acylhydrazone **4h** pur a été obtenu sous forme d'un solide blanc par réaction entre le 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde et la benzoxazolinonylhydrazide (**3**). Rendement: méthode **A** (74%), méthode **B** (87%); P_f: 249-250°C. IR (KBr, cm⁻¹): 1581, 1608, 1677, 2943, 2974, 3186. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm): 3.93 (s, 9H, 3O-CH₃), 4.76 (s, 2H, CH₂CONHNH-, CH₂), 5.17 (s, 2H, -NCO-CH₂O-, CH₂), 8.88 (s, 1H, N=CH, azomethine), 8.11 (s, 1H, N-H), 6.15-7.24 (m, 6H, Ar-H), ¹³C-RMN (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 168.27 (C=O), 165.18 (C=O), 162.75 (N=C), 153.84, 152.78, 147.74, 139.94, 129.55, 123.26, 117.12, 116.84, 115.94, 113.57, 111.06, 109.08 (carbones aromatiques), 88.22 (O-CH₃), 82.19 (O-CH₃), 79.19 (O-CH₃), 59.95 (CH₂), 67.65 (CH₂).

COMPLEXES DES LIGANDS BENZOAZINONIQUES

5.3. PREPARATION DES LIGANDS COMPLEXES METALLIQUES

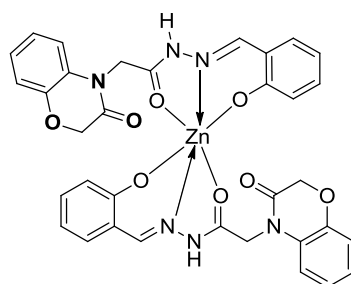


Mode opératoire général

Dans un ballon de 100 mL; les dérivés N-acylhydrazones (1 équivalent) dans une solution de méthanol (5 mL) sous agitation à température ambiante, une quantité de (0.5 équivalent) de sel métallique acétate hydraté de Plomb, Zinc, Manganèse et Cobalt est ajoutée progressivement. L'avancement du mélange réactionnel a été surveillé par CCM (Chromatographie sur Couche Mince) ans l'acétate d'éthyle comme éluant.

5.3.1. Complexes dérivés de 2-hydroxybenzaldéhyde (Salicylaldéhyde)

5.3.1.1. Synthèse du complexe *N'*-(2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide-Zinc (Zn) (4a)



N'-(2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide:

0.1 g (0.30 mmol)

Acétate de zinc dihydrate:

0.032 g (0.15 mmol)

Méthanol:

5 mL

Temps de la réaction:

5 heures

Rendement:

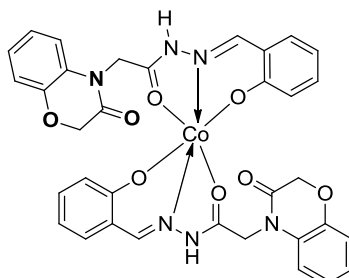
54%

Aspect:

Poudre jaune

Poids moléculaire 713.38 g.mol⁻¹ pour C₃₄H₂₈O₈N₆Zn.

5.3.1.2. Synthèse du complexe *N'*-(2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide-Cobalt (Co) (4b)



N'-(2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide:

0.1 g (0.30 mmol)

Acétate de cobalt tétrahydrate:

0.037 g (0.15 mmol)

Méthanol:

5 mL

Temps de la réaction:

5 heures

Rendement:

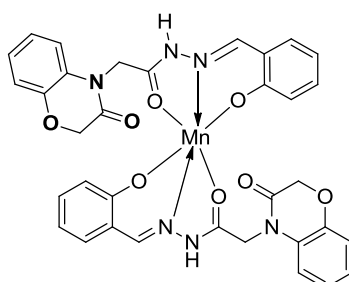
59%

Aspect:

Poudre rouge

Poids moléculaire 706.93 g.mol⁻¹ pour C₃₄H₂₈O₈N₆Co.

5.3.1.3. Synthèse du complexe *N'*-(2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide-Manganèse (Mn) (4c)



N'-(2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide:

0.1 g (0.30 mmol)

Acétate de manganèse tétrahydrate:

0.036 g (0.15 mmol)

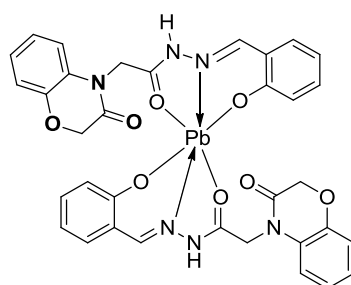
Méthanol:

5 mL

Temps de la réaction:	5 heures
Rendement:	38%
Aspect:	Poudre marron

Poids moléculaire 702.94 g.mol⁻¹ pour C₃₄H₂₈O₈N₆Mn.

5.3.1.4. Synthèse du complexe *N'*-(2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide-Plomb (5d)



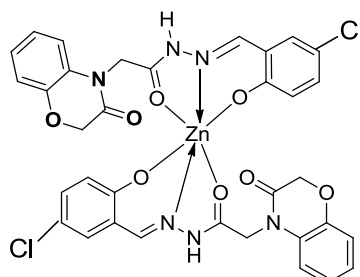
<i>N'</i> -(2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>][1,4]oxazin-4(3 <i>H</i>)-yl)acetohydrazide 2-hydroxybenzaldéhyde:	0.1 g (0.30 mmol)
Acétate de plomb trihydrate:	0.056 g (0.15 mmol)
Méthanol:	5 mL

Temps de la réaction:	5 heures
Rendement:	46%
Aspect:	Poudre blanche

Poids moléculaire 855.2 g.mol⁻¹ pour C₃₄H₂₈O₈N₆Pb.

5.3.2. Complexes dérivés de 5-chloro-2-hydroxybenzaldéhyde

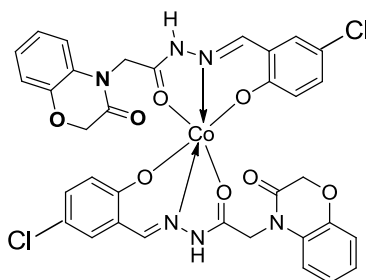
5.3.2.1. Synthèse du complexe *N'*-(5-chloro-2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide-Zinc (Zn) (5a')



<i>N'</i> -(5-chloro-2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>][1,4]oxazin-4(3 <i>H</i>)-yl)acetohydrazide:	0.1 g (0.27 mmol)
Acétate de zinc tétrahydrate:	0.028 g (0.13 mmol)
Méthanol:	5 mL
Temps de la réaction:	5 heures
Rendement:	48%
Aspect:	Poudre jaune

Poids moléculaire 748.83 g.mol⁻¹ pour C₃₄H₂₈O₈N₆ClZn.

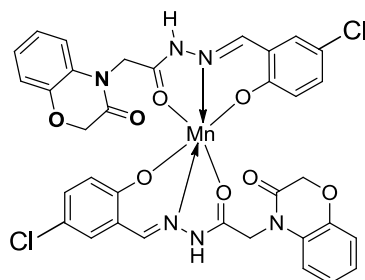
5.3.2.2. Synthèse du complexe *N'*-(5-chloro-2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide-Cobalt (Co) (5b')



<i>N'</i> -(5-chloro-2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>][1,4]oxazin-4(3 <i>H</i>)-yl)acetohydrazide:	0.1 g (0.27 mmol)
Acétate de cobalt trihydrate:	0.032 g (0.13 mmol)
Méthanol:	5 mL
Temps de la réaction:	5 heures
Rendement:	50%
Aspect:	Poudre rouge

Poids moléculaire 742.38 g.mol⁻¹ pour C₃₄H₂₈O₈N₆ClCo.

5.3.2.3. Synthèse du complexe *N'*-(5-chloro-2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide-Manganèse (Mn) (5c')

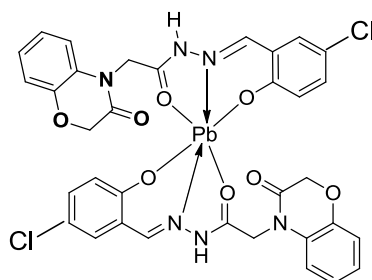


<i>N'</i> -(5-chloro-2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>][1,4]oxazin-4(3 <i>H</i>)-yl)acetohydrazide:	0.1 g (0.27 mmol)
Acétate de manganèse tétrahydrate:	0.031 g (0.23 mmol)
Méthanol:	5 mL

Temps de la réaction:	5 heures
Rendement:	44%
Aspect:	Poudre marron

Poids moléculaire 738.39 g.mol⁻¹ pour C₃₄H₂₈O₈N₆ClMn.

5.3.2.4. Synthèse du complexe *N'*-(5-chloro-2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide-Plomb (Pb) (5d')



<i>N'</i> -(5-chloro-2-hydroxybenzylidene)-2-(3-oxo-2 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>][1,4]oxazin-4(3 <i>H</i>)-yl)acetohydrazide:	0.1 g (0.27 mmol)
Acétate de plomb trihydrate:	0.049 g (0.13 mmol)
Méthanol:	5 mL

Temps de la réaction:	5 heures
-----------------------	----------

Rendement: 56%

Aspect: Poudre blanche

Poids moléculaire $890.65 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ pour $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{O}_8\text{N}_6\text{ClPb}$.

EVALUATION BIOLOGIQUE

5.4. Protocole expérimentale des essais biologiques

Dans un premier temps, les composés étudiés nitrés (**4i–4l**) ont été testés pour leurs activités antibactériennes et antifongiques *in vitro*, contre deux bactéries Gram-positive pathogène (*Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) ainsi qu'une bactérie à Gram négatif (*Escherichia Coli*), et une souche fongique (*Candida albicans*). La concentration minimale inhibitrice (MIC) des composés synthétisés (**4i–4l**) contre toutes les espèces bactériennes et fongiques a été déterminée par la méthode de dilution en série.

Des solutions de stock de composés testés avec des concentrations de 500, 200, 100 et 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ont été préparées dans le DMSO comme solvant. Les solutions de médicaments standards, l'ampicilline et la Pénicilline ont été préparées avec des concentrations de 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ et 6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ respectivement. La concentration minimale inhibitrice a été définie comme la dilution la plus élevée montrant une inhibition complète des souches testées.

La comparaison des CMI (en $\mu\text{g.mL}^{-1}$) des composés et des médicaments standards contre les souches testées est résumée et classée comme: sensible, intermédiaire ou résistante. La zone d'inhibition a été mesurée et enregistrée en millimètres pendant 24 heures à 37°C.

D'autre part, et de la même manière que dans le cas des dérivés nitrés, les composés dérivés des 2-hydroxybenzaldéhydes (**4a–4h**) ont été criblés pour leurs activités antibactériennes et antifongiques *in vitro* contre deux bactéries Gram-négatives pathogènes (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) et une bactérie Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) ainsi qu'une souche fongique (*Candida albicans*). L'ampicilline, la pénicilline et l'amphotéricine-B ont été utilisées comme étalons de référence, et le diméthylsulfoxyde (DMSO) a été utilisé à la fois comme solvant et comme témoin (aucune zone d'inhibition n'a été observée dans le contrôle). La concentration minimale inhibitrice (MIC) de ces composés contre toutes les souches bactériennes et fongiques a été déterminée par la méthode de dilution en série. Des solutions de stock de composés testés avec des concentrations de 500, 200, 100 et 50 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ ont été préparées avec du solvant DMSO. Les solutions de médicaments Standard ampicilline, pénicilline, amphotéricine-B ont été préparées en concentration de 10 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, 6 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ et 20 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ respectivement. La concentration minimale inhibitrice a été définie comme la dilution la plus élevée montrant une inhibition complète des souches testées. La comparaison des CMI (en $\mu\text{g.mL}^{-1}$) des composés puissants et des médicaments standard contre les souches testées est résumée et classée comme

sensible, intermédiaire ou résistante. L'activité a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition en millimètres (mm). La zone d'inhibition a été mesurée en millimètres. Les souches bactériennes ont été incubées pendant 24h à 37°C, et des souches de champignons ont été incubées pendant 48h à 37°C.

5.4.1. Matériel

5.4.1.1. Matériel biologique

Souches utilisées: quatre souches bactériennes ont été testées:

- *Escherichia coli*.
- *Pseudomonas aeruginosa*.
- *Staphylococcus aureus*.
- *Candida albicans*.

5.4.1.2. Matériel chimique

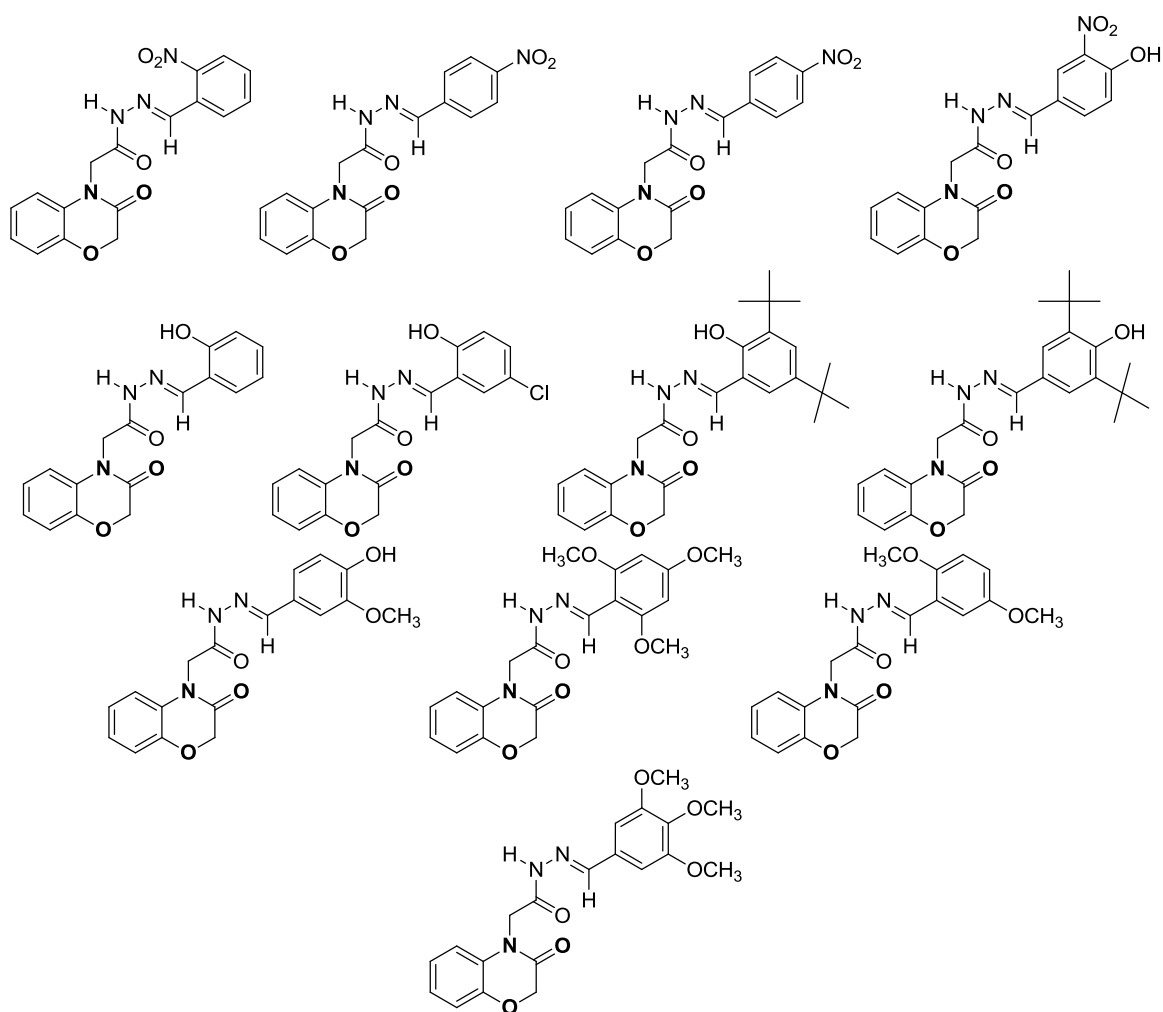


Figure 4.25: Structure des molécules testées.

5.4.1.3. Matériels et produits utilisés

- Un seul solvant a été utilisé dans la réalisation de l'étude antibactérienne à savoir le diméthyle sulfoxyde (DMSO), solvant stérile ne permettant pas la croissance des bactéries.
- Milieu de culture de type Muller Hinton.
- Eau physiologique.
- Les boîtes de pétri, des pinces, des tubes à vis ainsi que des disques neutre de papier absorbant utilisés ont été stérilisés.
- Disques de papier filtre (stérilisés à une température de 200°C pendant 1h).
- Etuve réglable a été utilisée pour la stérilisation du matériel ainsi que pour l'incubation des souches bactériennes.
- Réfrigérateur.
- Pipette pasteur.
- Micro-pipette.
- La mesure des zones d'inhibitions a été réalisée à l'aide d'un pied à coulisse.

Après élaboration, purification et caractérisation des hydrazones benzoxazinoniques par les techniques d'analyse usuelles, nous nous sommes intéressés à tester leur activité antibactérienne. Les produits (**4a–k**) sélectionnés, ont été testés *in vitro*, vis-à-vis de 4 souches bactériennes *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

5.4.1.4. Concentrations utilisées des produits testés

Les produits testés sont solubles dans le DMSO, ce solvant était choisi en se basant sur des études qui ont été faites et décrites dans littérature. Donc, on l'a utilisé comme solvant, puis on a testé sa toxicité (testes préliminaires). La sensibilité aux produits hydrazones cibles a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu solide (méthode des disques) qui permet de déterminer la sensibilité des bactéries à croissance rapide vis-à-vis d'une gamme d'antibiotiques. Elle est basée sur la diffusion des substances à tester selon un gradient de concentration, différentes dilutions des 12 produits 500, 200, 100 et 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

5.4.1.5. Protocole expérimentale

Après dissolution des milieux de culture Muller Hinton dans un autoclave, on le verse dans les boîtes de Pétri on a laissé le milieu jusqu'à ce qu'il soit solide, et on le sèche dans un étuve pendant 15–20 min pour déshumidifier et on a les mets dans le réfrigérateur.

5.4.1.5.1. Préparation de l'inoculum

On dilue dans de l'eau physiologique une fraction du mélange de germe jusqu'à obtention d'une suspension opalescente, on prélève ensuite une fraction de cet échantillon dilué puis on l'étale sur la plus grande surface possible du milieu nutritif, à l'aide d'un instrument d'isolement anse de platine, pipette pasteur.

5.4.1.5.2. Préparation des disques de papier

Les disques sont préparés à partir du papier wattman N°1, déposés avec une pince sur la gélose Muller Hinton à l'aide d'un distributeur ou d'une pince bactériologique stérile, (une fois appliquée le disque ne doit pas être déplacé). Les concentrations sont déposées successivement en valeurs croissantes. 4 essais sont réalisés pour chaque couple souche/molécule.

5.4.1.5.3. Incubation

On laisse incuber les boîtes de Pétri dans une étuve à 37°C, pendant 18 à 24h. Après avoir fait sortir les boîtes, on les examine s'il y a lieu l'apparition d'une ou plusieurs zones d'inhibition. On mesure le diamètre d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse en mm.

5.4.1.5.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La CMI est la concentration minimale d'antibiotique permettant d'inhiber totalement la croissance bactérienne après 24 heures de contact à 37°C.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale et Perspectives

Le principal objectif de ces travaux de thèse, s'intègre parfaitement dans un cadre de continuité et de développement d'un thème de recherche développé au sein du Laboratoire de Synthèse et Biocatalyse Organique-LSBO, concernant la mise au point de méthodologies convenable et appropriées, cherchant toujours à mettre au point des synthèses plus rapides et efficaces pour l'élaboration de nouveaux composés hétérocycliques susceptibles de présenter des propriétés biologiques potentielles, à base du noyau 1,4-benzoxazin-3-ones comme structure privilégiée, ainsi que leur évaluation biologique en particulier antibactérienne et antifongique.

Donc, il pourrait être conclu que la nature ainsi que la position des différents substituant sur le noyau aromatique de l'aldéhyde influe sur la réactivité chimique et par conséquent sur l'activité biologique. Les produits synthétisés pourraient représenter une famille d'agents potentiels pour le développement de nouveaux composés bioactifs. Puis, nous avons présenté des protocoles verts développés dans notre équipe durant les dernières années, ainsi que la contribution des irradiations ultrasons et des extraits des substances naturelles en synthèse organique, afin de mettre au point des procédés plus respectueux à l'environnement.

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous avons développés de nouvelles voies d'accès aux N-acylhydrazones à base de l'hétérocycle 1,4-benzoxazin-3(4H)-one. Ce travail est présenté principalement en deux parties. Au cours de la première partie, nous avons synthétisé et caractérisé de nouvelles molécules de type N-acylhydrazones benzoxazinoniques susceptibles de présenter une activité antibactérienne et antifongique potentielle, et ce, en utilisant d'une part, les conditions du chauffage classique, et d'autre part, des méthodes respectueuses de l'environnement tels que, activation aux ultrasons et sous agitation dans le jus de citron. Ces nouvelles procédures sont plus spécifiquement ciblées; car elles minimisent nettement entre autres, la formation de produits secondaires indésirables, et l'amélioration des rendements, en diminuant considérablement le temps des réactions, tout en optimisant l'efficacité synthétique.

C'est ainsi qu'après avoir passé en revue les différentes méthodes de synthèse les plus significatives rapportées dans la littérature; la réactivité chimique ainsi que les études relatives à l'aspect biologique des hétérocycles à base du pharmacophore 1,4-benzoxazin-3-one choisi

ont été développés. En effet, des modifications structurales réalisées sur cette structure de base ont permis l'élaboration de nouvelles structures à activité biologique potentielle dans plusieurs domaines et en particulier antimicrobiens.

Dans cette optique, nous avons réussi à réaliser une étude concernant la synthèse d'une nouvelle série de composés N-acylhydrazones, dérivés de substrats connus pour leurs propriétés physico-chimiques et biologiques remarquables avec de bons rendements, en appliquant différentes méthodologies efficaces.

Dans un premier temps, et dans le cadre de recherche de nouveaux composés hétérocycliques biologiquement actifs, nous avons ainsi synthétisés et caractérisés avec succès un certain nombre de N-acylhydrazones benzoxazinoniques **4a–4h**, formés à partir d'une réaction de condensation entre le substrat acétohydrazide benzoxazinonique (**3**), qui lui-même a été préparé *via* une réaction de condensation entre l'ester (3-oxo-2,3-dihydro-4H-1,4-benzoxazine-4-yl)acétate d'éthyle (**2**) et l'hydrazine hydrate dans l'éthanol absolu, par chauffage à une température de 80°C pendant 3 heures avec un bon rendement de **83%**, avec divers aldéhydes aromatiques, et en présence d'une quantité catalytique d'acide acétique glacial à reflux dans l'éthanol avec des rendements variant de **55–88%** pendant **35** minutes lors de la synthèse par la méthode conventionnelle. D'autre part, l'utilisation des irradiations ultrasons en absence de catalyseur a entraîné la formation de ces mêmes dérivés benzoxazinonylhydrazones désirés, avec un temps de réaction nettement inférieur (**6–7** minutes) et un bon à excellents rendements (**60–94%**).

A la fin de la première partie, nous rapportons nos résultats des essais tentés pour la préparation de certains N-acylhydrazones benzoxazinoniques (**4i**: R = 2-NO₂, **4k**: R = 4-NO₂, **4a**: R = (2-OH), **4b**: R = (2-OH, 5-Cl), **4c**: R = (3,5-di-tert-but, 2-OH), **4f**: R = 2,4,6-OCH₃) sous l'aspect de procédés dans le cadre des principes de la chimie verte, en utilisant le jus de citron comme solvant et catalyseur avec des rendements que l'on considère comme très acceptables. Notre nouvelle méthode présente l'avantage de ne nécessiter ni catalyseurs acides ni solvants aromatiques pour la séparation de l'eau azéotropique, et le produit peut être isolé simplement par simple filtration. En utilisant ce protocole, ces réactions ont été achevées en des temps de réaction courts (**8–10** minutes) avec des rendements satisfaisants de **50–85%**.

Dans un second temps, nous avons voulu étudier l'effet de la présence d'un groupement nitro couramment trouvés dans les molécules à visée médicinale, sur la réactivité

chimique ainsi que sur l'activité biologique. Dans le cas des composés N-acylhydrazones dérivés des différents nitrobenzaldéhydes convenablement substitués sur le noyau aromatique par les groupements nitro ($R = NO_2$ (*o*, *m*, *p*) substitués); le substrat benzoxazinonylhydrazide (**3**) comme dans le cas des dérivés N-acylbenzoxazinonylhydrazones précédemment décrits; a été condensé avec les isomères (*o*, *m*, *p*)-nitrobenzaldéhydes appropriés dans l'éthanol comme solvant à reflux en présence d'une quantité catalytique d'acide acétique pour donner les dérivés benzoxazinonylacylhydrazones correspondants **4i-4l**, avec des rendements variant de **72-77%**, lorsqu'ils sont synthétisés par la méthode conventionnelle d'une part; et d'autre part, l'utilisation des irradiations ultrasons sans catalyseur a permis l'obtention de ces mêmes dérivés en un très peu de temps (**6-7** minutes) et avec de bons rendements de **78-83%**. Enfin, les résultats obtenus par cette étude et pour les études antérieures développées par notre équipe, confirment la supériorité de la méthode des ultrasons par rapport au chauffage conventionnel. Les méthodes d'analyses spectroscopiques utilisées confirment clairement les structures proposées pour tous les produits synthétisés.

Dans un second volet, nous avons tenté de synthétiser des complexes de Zinc, Cobalt, Nickel et de Plomb des ligands N-acylhydrazones benzoxazinoniques dérivés des aldéhydes substitués en position 2 par un groupement hydroxy (OH). Pour le moment tous les essais que nous avons réalisés ont permis d'accéder à des produits sous forme de solides (poudres). Tous les produits que nous avons obtenus sont pratiquement insolubles dans tous les solvants organiques tels que le DMSO, DMF, éthanol, méthanol et acétone, ce qui ne nous a pas permis de déterminer avec précision les structures des composés complexes synthétisés. De ce fait, une étude analytique et une expérimentation plus poussée et plus approfondie concernant l'identification et l'élucidation structurale des composés étudiés est en cours de réalisation, et elle fera l'objet de la suite de ce travail.

Dans une deuxième partie de notre travail, les composés N-acylhydrazones benzoxazinoniques que nous avons synthétisés ont été évalués pour leurs propriétés biologiques, afin de mettre en exergue leurs propriétés antibactériennes et antifongiques. Effectivement, différentes souches pathogènes à Gram⁺ et à Gram⁻ ont été utilisées lors des tests biologiques.

L'activité antibactérienne et antifongique *in vitro* des composés synthétisés a été évaluée et discutée, en utilisant la méthode de micro-dilution contre deux bactéries Gram négative représentatives (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*), et une bactérie Gram

positive *Staphylococcus* en plus d'une souche fongique *C. albicans*. Les résultats de la concentration minimale inhibitrice (MIC), ainsi que la zone des valeurs d'inhibition des composés testés ont révélé que la plupart des composés nouvellement synthétisés présentaient des activités antifongiques prometteuses, alors que de modérées à mauvaises activités antibactériennes ont été observées.

Les composés finaux synthétisés ont été criblés pour leur activité antibactérienne contre les souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* par la méthode de diffusion sur disque. D'après les résultats obtenus, nous avons observés que la souche *Pseudomonas aeruginosa* a développé une résistance contre tous les dérivés synthétisés à une concentration de 50-500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. En outre, la souche *Escherichia coli* a été jugée résistante contre tous les dérivés étudiés sauf pour le composé 4a avec un groupement hydroxy en position 2 du benzaldéhyde (salicylaldéhyde). De plus, il convient de noter que les composés 4b-4h n'étaient pas actifs contre *Escherichia coli*. La plupart d'entre eux ont été trouvés inactifs contre *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les composés 4a, 4c, 4d, 4e, 4f et le composé 4h aux mêmes concentrations ont également été caractérisés par une activité modérée, tandis que les composés 4b avec les groupes 5-chloro, 2-hydroxy et le 4g avec substitution 2,5-diméthoxy sur le noyau aromatique de l'aldéhyde ont été trouvés non actifs contre *Staphylococcus Aureus*.

Dans le cas de notre étude sur l'activité antifongique; les nouveaux composés préparés ont été criblés pour leur activité antifongique contre *Candida albicans*. À partir des résultats obtenus, il est clair que tous ces composés possèdent une activité antifongique modérée à bonne (MIC 50-500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) contre *Candida albicans* par rapport à l'amphotéricine-B comme médicament standard de référence. Les composés substitué en position 2 par un groupement hydroxy sur le noyau aromatique de l'aldéhyde 4a (14-24 mm à 50-500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), 4b avec une substitution de 5-chloro-2-hydroxy (14-22 mm à 50-500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) et 4f avec une substitution 2,4,6-triméthoxy (10-23 mm à 50-500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) sont apparus comme les produits les plus actifs. Inversement, le composé 4g avec la substitution 2,5-diméthoxy est totalement inactif contre les souches bactériennes et fongiques testées.

Enfin, pour le moment les études relatives aux complexes de ligands N-acylhydrazones benzoxazinoniques dérivés des aldéhydes substitués en position 2 par un groupement hydroxy (OH), pour accéder aux complexes correspondants est à son début, et elle mérite plus

d'investigation au moins sur le volet identification structurale, en mettant en œuvre les méthodes spectroscopiques les plus appropriées et par la suite l'évaluation biologique.

Ainsi, la présente étude a élargie la possibilité de développer ces dérivés en tant qu'agents antifongiques prometteurs. Par conséquent, on peut conclure que ces composés méritent une étude plus approfondie, et peuvent servir de base pour les modifications chimiques dirigées vers le développement spécifiquement d'une nouvelle classe d'agents antifongiques.

L'ensemble des résultats obtenus suggère de nombreuses perspectives: des études d'investigation plus approfondies seront nécessaires dans le but de déterminer et comprendre les mécanismes d'action correspondants à ces composés. Cependant, nous espérons que ces résultats pourraient faire une contribution supplémentaire et une plate-forme solide pour des études futures des **Relations Structures Activités-RSA**, dans le cadre de développement des composés hétérocycliques biologiquement actifs et plus particulièrement des dérivés de la 1,4-benzoxazin-3(4*H*)-one.

ANNEXES

CONVENTIONAL AND ULTRASOUND ASSISTED SYNTHESIS AND ANTIBACTERIAL EVALUATION OF SOME *N'*-(NITRO-SUBSTITUTED BENZYLIDENE)-2(3-OXO-2*H*-BENZO[B][1,4]OXAZIN-4(3*H*)-YL)ACETOHYDRAZIDE

Nawel CHETTIBI¹, Houria BENTOUMI², Messaoud LIACHA^{3*}

An efficient and simple method for the synthesis of some novel benzoxazinonylaceto-hydrazone derivatives has been developed, using conventional heating and ultrasound (US) irradiation, by condensation of benzoxazinonylhydrazone intermediate with various 2,3,4-nitrosubstituted benzaldehydes. The yields as well as reaction times are compared. The structures of the synthesized aceto-hydrazone derivatives were elucidated and characterized on the basis of FT-IR, ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectroscopy. The synthesized compounds were screened for their antibacterial and antifungal activities in vitro. Derivative having nitro group on the 3-position in the aldehyde aromatic ring exhibited the strongest activity for all tested compounds.

Keywords: Benzoxazin-3-(4*H*)-ones, Hydrazides-Hydrazones, Antimicrobial, Green synthesis, Ultrasound irradiation.

1. Introduction

During the last decade, greener and eco-friendly approach as well as synthetic organic chemistry methods have received increasing attention and are often considered as an interesting alternative for conventional heating reactions requiring long term heating [1-3]. Effectively, a large number of organic reactions can be carried out under milder reaction conditions in higher yields, for the synthesis of bioactive heterocyclic compounds under non-conventional methods [4-10]. Recent improvements have been made to these methods, including the use of ultrasound irradiations [11-13].

Benzoxazine derivatives are very important compounds used in organic synthesis for the development of new heterocyclic systems. They have gained considerable attention due to their variety of applications including agricultural and diverse biological properties [14-22]. However, it is interesting to note that the 1,4-benzoxazin-3(4*H*)-one nucleus represents an ideal scaffold for the synthesis of potent antimicrobial agents. Flumioxazine and Thidiazimine are examples of compounds containing a 1,4-benzoxazinone pharmacophore used as

¹ BADJI Mokhtar-Annaba University, Annaba, Algeria, E-mail: Nawelchettibi23@yahoo.fr

² BADJI Mokhtar-Annaba University, Annaba, Algeria, E-mail: houriabentoumi@yahoo.fr

³ BADJI Mokhtar-Annaba University, Annaba, Algeria,

Contact author, E-mail: m_liacha@yahoo.fr

effective herbicides. They are also known to exhibit diverse pharmacological activities in areas related particularly to antimicrobials, antioxidants, anti-inflammatory, plant resistance factors against microbial diseases and insects, antifungal agents, antihypertensive and potassium channel modulating properties [23-33].

Due to the increased interest to the environmentally friendly synthetic reactions, and in continuation of our earlier published data on the synthesis of heterocyclic biologically active compounds [54-58], an attempt was made to develop a more efficient method and novel protocol, for the synthesis of new compounds containing both hydrazide and 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one rings in the same structure. Furthermore, we have investigated the eventual role of the benzoxazinone pharmacophore as well as position of the nitro group in the acetohydrazide subunit, on the chemical and biological activities. Finally, the synthesized compounds were tested for their antibacterial and antifungal activities.

2. Materials and methods

2.1. General

Melting points have been determined in open capillary tubes on electrothermal 9100 melting point apparatus and were uncorrected. The structures of products were confirmed by FT-IR, ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectroscopy. The NMR spectra were measured in solutions on a Bruker AC 300 spectrometer using dimethylsulfoxide-d₆ and chloroform CDCl₃ as solvents with TMS as internal standard, with chemical shifts reported as (*ppm*). Analytical thin layer chromatography was performed with commercial silica gel plates 60 F254 (Merck) and visualized with UV light, using ethylacetate/cyclohexane (8:2, v/v) solvent system as eluent. Ultrasound assisted reactions were carried out using a FUNGILAB ultrasonic bath with a frequency of 40 kHz and a nominal power of 250 W. The reactions were carried out in an open glass tube (diameter: 25 mm; thickness: 1 mm; volume: 20 mL) at room temperature (25°C). Preliminary testing of the antimicrobial activity of newly synthesized compounds was performed by disc diffusion method using Mueller–Hinton agar medium under described standard conditions [59].

2.2. Methods and procedures

2.2.1. Synthesis of ethyl 2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acetate (2)

Method A. A mixture of benzoxazin-3(4H)-one (2g, 13 mmol) and ethyl bromoacetate (3.34g, 20 mmol) in the presence of anhydrous K₂CO₃ (3.59g, 26 mmol) was dissolved in dry acetone and was stirred at 60°C for 2h. The progress

of the reaction was monitored by TLC. After the completions of the reaction, the reaction mixture was filtered and the filtrate evaporated under reduced pressure. The residue obtained was recrystallized from ethanol to give the suitable compound as a white solid.

Method B. Compound **2** was synthesized in the similar manner by a mixture of benzoxazin-3(4*H*)-one (2g, 13 mmol), ethyl bromoacetate (2.67g, 16. mmol), K₂CO₃ (0.10g, 14.37 mmol) in DMF as solvent, and the reaction was stirred at 100°C for 2h. At the end of this period, the mixture was diluted with water. The separated solid formed was filtered, washed repeatedly with water and recrystallized from ethanol to give the desired compound, which is in any point identical to that found by method **A**. The benzoxazinonic ester was used in the next step without further purification.

Compounds **2** (method **A** and method **B**) was obtained as white solid. Yield: method **A** (84%) and method **B** (82%). Mp 81-82°C; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ=1.26-1.29 (t, 3H, CH₂-CH₃, CH₃), 4.21-4.27 (q, 2H, -CH₂-CH₃, CH₂) 4.65-4.68 (d, 4H, CH₂COOEt, -NCO-CH₂O-, 2CH₂) 6.74-7.26 (m, 4H, Ar-H); ¹³C-NMR (100MHz, CDCl₃): 167.91 (C=O), 165.04 (C=O), 145.2, 128.76, 124.37, 123.06, 117.33, 114.53 (aromatic carbons), 67.62 (CH₂), 62.00 (CH₂), 43.07 (CH₂), 14.27 (CH₃).

2.2.2. Synthesis of 2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide (**3**)

A solution of the ethyl 2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetate ester (2.55g, 11 mmol) in absolute ethanol was refluxed with hydrazine hydrate (2.75g, 55 mol) for 3h, monitored by TLC until completion. Solid residue was filtered out and dried to isolate corresponding pure 2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazide. Compound **3** was obtained as white solid. Yield: 83%. Mp: 171-173°C. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ=6.89-7.03 (m, 4H, Ar-H), 8.00 (s, H, NH), 4.66-4.69 (d, 4H, CH₂CONHNH₂, -NCO-CH₂O-, 2CH₂), 4.27-4.28 (d, 2H, NH₂). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 165.9 (C=O), 164.12 (C=O), 144.43, 128.74, 123.41, 122.35, 116.23, 115.07 (aromatic carbons), 66.82 (CH₂), 42.28 (CH₂).

2.2.3. General procedure for the synthesis of N'-(Nitro-Substituted Benzylidene)-2(3-oxo-2H-Benzo[b][1,4]oxazin-4(3*H*)-yl)acetohydrazides (**4a-d**).

A typical procedure has been used for the preparation of the all acetohydrazide derivatives.

Conventional method (method A): Substituted aromatic aldehyde derivatives (1.0 equiv., 0.23 mmol) dissolved in pure ethanol was mixed with a boiling solution of acetohydrazide **3** (50 mg, 0.23 mmol) in the same solvent. The resulting mixture was stirred under reflux conditions for 35 min in the presence of acetic acid as catalyst. After the completion monitored by TLC, using ethylacetate/cyclohexane (8:2, v/v) as eluent, the formed product was filtered off, washed with cold ethanol and then dried. The product was in addition purified by recrystallization from the appropriate solvent.

Ultrasound method (method B): The procedure was similar to that described in conventional method, except that the mixture was placed in an open glass tube and exposed to ultrasound irradiation (40 kHz and nominal power 250 W) at room temperature, under catalyst-free condition for the appropriate time until completion of the reaction (monitored by TLC). The resulting solid was collected by filtration and purified by recrystallization from the appropriate solvent.

2.2.3.1. N'-(2-Nitrobenzylidene)-2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acetohydrazide (**4a**)

Following the typical procedure 2.2.3., pure acetohydrazide **4a** was obtained as white powder by reaction of 2-nitrobenzaldehyde and benzoxazolinonylhydrazide **3**. Yield: method **A** (77%) and method **B** (80%). Mp: 226-227°C. IR (KBr, cm^{-1}): 3425.34 ($\nu_{\text{O-H}}$), 3251.76 ($\nu_{\text{N-H}}$), 2985.60 (ν_{CH_2}), 1685.67 ($\nu_{\text{C=Ooxazin}}$), 1608.41 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1566.09 ($\nu_{\text{C=Caromatic}}$), 1338.51 (ν_{NO_2}). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ =4.72 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{CONH-}$, CH_2), 5.08 (s, 2H, $-\text{NCO-CH}_2\text{O-}$, CH_2), 8.06 (s, 1H, CONH-), 8.20 (s, 1H, N=CH , azomethine), 7.05-7.96 (m, 8H, Ar-H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, DMSO- d_6): δ =168.28 (C=O), 165.06 (C=O), 163.72 (N=C), 153.82, 152.75, 147.78, 139.94, 129.45, 123.16, 117.11, 116.84, 115.92, 113.75, 110.12, 109.82 (aromatic carbons), 67.56 (CH_2), 55.94 (CH_2).

2.2.3.2. N'-(3-nitrobenzylidene)-2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acetohydrazide (**4b**)

Following the typical procedure 2.2.3., pure acetohydrazide **4b** was obtained as white powder by reaction of 3-nitrobenzaldehyde and benzoxazolinonylhydrazide **3**. Yield: method **A** (75%) and method **B** (79%). Mp: 281-282°C. IR (KBr, cm^{-1}): 3436.91 ($\nu_{\text{O-H}}$), 3082.04 ($\nu_{\text{N-H}}$), 2947.03 (ν_{CH_2}), 1662.52 ($\nu_{\text{C=Ooxazin}}$), 1608.52 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1566.09 ($\nu_{\text{C=Caromatic}}$), 1353.94 (ν_{NO_2}). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ =4.82 (s, 2H, CH_2CONH , CH_2), 5.06 (s, 2H, $-\text{NCO-CH}_2\text{O-}$, CH_2), 8.51 (s, 1H, NH, CONH-N), 8.78 (s, 1H, N=CH , azomethine), 6.71-7.34 (m, 8H, Ar-H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, DMSO- d_6): δ =168.29 (C=O), 165.14 (C=O), 163.75 (N=C), 153.84, 152.78, 147.74, 139.94,

129.56, 123.26, 117.11, 116.84, 115.94, 113.75, 110.06, 109.82 (aromatic carbons), 67.66 (CH₂), 55.95 (CH₂).

2.2.3.3. N'-(4-nitrobenzylidene)-2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acetohydrazide (4c)

Following the typical procedure 2.2.3., pure acetohydrazide **4c** was obtained as white powder by reaction of 4-nitrobenzaldehyde and benzoxazolinonylhydrazide **3**. Yield: method **A** (72%) and method **B** (83%). Mp: 237-238°C. IR (KBr, cm⁻¹): 3190.04 (ν_{N-H}), 3074.32 (ν_{C=C-H}), 2947.03 (ν_{CH₂}), 1662.52 (ν_{C=Ooxazin}), 1608.52 (ν_{C=N}), 1593.09 (ν_{C=C aromatic}), 1353.94 (ν_{NO₂}). ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ=4.72 (s, 2H, CH₂CONH-, CH₂), 5.09 (s, 2H, -N-CO-CH₂-O-, CH₂), 8.40 (s, 1H, NH, CONH-N), 8.69 (s, 1H, N=CH, azomethine), 7.02-7.80 (m, 8H, Ar-H). ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ=168.20 (C=O), 165.00 (C=O), 163.71 (N=C), 153.81, 152.74, 147.72, 139.94, 129.44, 123.17, 117.04, 116.82, 115.92, 113.78, 110.12, 109.88 (aromatic carbons), 65.56 (CH₂), 57.95 (CH₂).

2.2.3.4. N'-(4-hydroxy-3-nitrobenzylidene)-2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H) yl)acetohydrazide (4d)

Following the typical procedure 2.2.3., pure acetohydrazide **4d** was obtained as yellow powder by reaction of 4-hydroxy-3-nitrobenzaldehyde and benzoxazolinonylhydrazide **3**. Yield: method **A** (72%) and method **B** (78%). Mp: 302-303°C. IR (KBr, cm⁻¹): 3433.06 (ν_{O-H}), 3240.19 (ν_{N-H}), 3101.32 (ν_{C=C-H}), 2954.74 (ν_{CH₂}), 1677.95 (ν_{C=Ooxazin}), 1623.95 (ν_{C=N}), 1535.23 (ν_{C=C aromatic}), 1322.40 (ν_{NO₂}). ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ=4.72 (s, 2H, CH₂CONH-, CH₂), 5.06 (s, 2H, N-CO-CH₂-O-, CH₂), 8.11 (s, 1H, NH, CONH-N), 9.53 (s, 1H, N=CH, azomethine), 6.02-7.93 (m, 7H, Ar-H), 11.56 (s, 1H, OH). ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ=168.48 (C=O), 165.07 (C=O), 163.70 (N=C), 153.73, 152.62, 147.78, 142.53, 139.94, 137.73, 129.56, 123.16, 116.72, 115.94, 114.83, 113.76, 110.12, 109.84 (aromatic carbons), 67.45 (CH₂), 55.95 (CH₂).

2.3. Biological studies

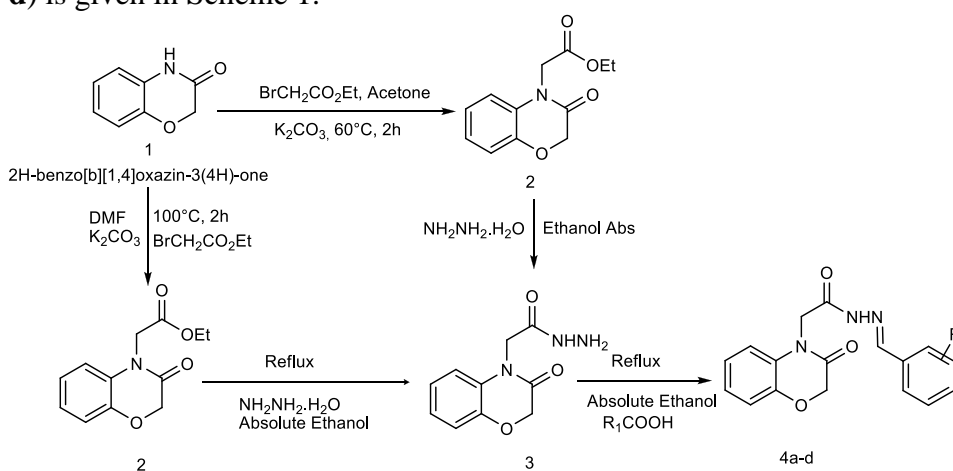
The investigated compounds (**4a-d**) were tested for their *in vitro* antibacterial and antifungal activities, against two pathogenic Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*) as well as one gram negative bacteria (*Escherichia Coli*), and one fungal strain (*Candida Albicans*). The minimum inhibitory concentration (MIC) of compounds (**4a-d**) against all bacterial and fungal species was determined by serial dilution method. Stock solutions of tested compounds with 500, 200, 100 and 50 µg.mL⁻¹ concentrations were prepared with DMSO solvent. The solutions of standard drugs, Ampicillin and Penicilin were prepared in concentration of 10 µg.mL⁻¹ and

6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ respectively. The minimum inhibitory concentration was defined as the highest dilution showing complete inhibition of the tested strains. The comparison of the MICs (in $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) of potent compounds and standard drugs against tested strains are summarized and classified as sensitive, intermediate or resistant. The zone of inhibition was measured and recorded in millimeters for 24h at 37°C.

3. Results and discussions

3.1. Chemistry

The general synthetic strategy leading to the synthesis of target compounds (**4a-d**) is given in Scheme 1.



Scheme 1: Synthesis of the target hydrazone-hydrazones. Reagents and conditions: **A:** method **A**, reflux, absolute ethanol, glacial acetic acid, 35 min; **B:** method **B**, absolute ethanol, 6-7 min.

The starting material, 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one (**1**) was prepared according to the reported procedures using 2-aminophenol and chloroacetylchloride. Treatment of 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one with ethyl bromoacetate under strongly alkaline conditions in $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{Acetone}$, gave the corresponding N(4)-substituted product ethyl 2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acetate (**2**) as a white solid; spectral data are consistent with the assigned structure but the melting point 81°C was surprisingly very different from that described previously, and was not within the acceptable limits. Ravi Teja B and coworkers [23] reported the melting point of this material to be 176°C, which is 95° higher than the melting point of the product we obtained by an alternate methods. Although we have verified it several times, we obtained same value. Although we have verified it several times, we obtained same value. The acid hydrazone (**3**) was prepared by the reaction of ethyl 2-(3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-yl)acetate and hydrazine hydrate in ethanol, which produced a 83% yield. The benzoxazinonylhydrazone (**3**) was condensed with the

appropriate nitrobenzaldehyde isomers in ethanol as solvent to give the corresponding benzoxazinonylaceto-hydrazide derivatives (**4a-d**), with yields ranging from 72 to 77%, when synthesized by conventional method in absolute ethanol at reflux in presence of catalytic amount of acetic acid. On the other hand, the use of ultrasound irradiation under catalyst-free condition has resulted in the formation of these aceto-hydrazide derivatives in very short times (6-7 minutes) and good yields (78-83%). The comparative study for ultrasound and conventional heating as well as physicochemical data of the synthesized compounds are presented in Table 1.

Table 1

Comparative study in terms of yield and reaction period for ultrasound and conventional heating and physicochemical data of the synthesized benzoxazinonylaceto-hydrazide compounds (4a-d).

Product	R	^a Mp (°C)	CH		US		^d Mol. F.
			Time (min)	^b Yield (%)	Time (min)	^c Yield (%)	
4a	2-NO ₂	226-227	35	77	6	80	C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₅
4b	3-NO ₂	281-282	35	75	6	79	C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₅
4c	4-NO ₂	237-238	35	72	7	83	C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₅
4d	4-OH,3-NO ₂	302-303	35	72	6	78	C ₁₅ H ₁₄ N ₄ O ₆

^aMelting point; ^bIsolated yield; CH: Conventional heat; US: Ultrasound irradiation; ^dMolecular formula.

For the preparation of aceto-hydrazide derivatives (**4a-d**), reaction time and yields are much better by using ultrasound irradiation compared to conventional heating, and results were compared and presented in Table 1. Therefore, acetic acid was preferred as solvent for all further conventional heating. Thin layer chromatography (TLC) was used for the purity characterization of the desired synthesized products, and their structures were identified and confirmed on the basis of FT-IR and proton as well as carbon-13 nuclear magnetic resonance.

The spectra of the obtained compounds gave satisfactory results and confirmed the proposed structure for the obtained products. In the ¹H-NMR spectra of compounds (**4a-d**), two singlet signals for -CONH and N=CH groups appeared at δ 8.06-8.51 ppm and δ 8.20-9.53 ppm, respectively.

As for the ¹³C-NMR spectra, signals for N=C group were found in the range of δ 165.00-168.48 ppm. Signals for methylene group carbons in these compounds were appeared at 55.95-67.66 ppm.

3.2. Antimicrobial activities

The results of the screening tests of benzoxazinoylhydrazones (**4a–d**) were reported in Table 2, which showed the minimum inhibitory concentrations (MICs) of the studied compounds, against one Gram-positive bacteria (*S. aureus*) and two Gram negative bacteria (*E. coli*, *P. aeruginosa*). The dimethylsulfoxide solvent has no antibacterial effect at the used concentration up to 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Table 2

Antimicrobial activity *in vitro* of compounds 4a-d: Inhibition zone diameter in millimeter.

Bacterial and fungal species	Concentration ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Compounds				A (10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Standards	
		IZD (mm)					P 6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	A-B 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$
		4a	4b	4c	4d			
<i>S. aureus</i>	500	–	13	10	–	24	22	–
	200	–	11	8	–			
	100	–	08	7	–			
	50	–	06	5	–			
<i>E. coli</i>	500	–	12	–	11	16	–	–
	200	–	09	–	9			
	100	–	08	–	7			
	50	–	07	–	5			
<i>P.aeruginosa</i>	500	–	–	–	–	–	–	–
	200	–	–	–	–			
	100	–	–	–	–			
	50	–	–	–	–			
<i>C.albicans</i>	500	12	14	10	12	–	–	13
	200	08	11	07	09			
	100	06	07	06	05			
	50	03	–	04	03			

A: Ampicillin, P: Pénicillin, A-B: Amphotericin-B; –: No sensitivity; IZD: Inhibition zone diameter (mm).

The *in vitro* studies results showed that all the synthesized compounds showed moderate to good antimicrobial activity against fungi. The compounds **4b** showed the highest antifungal activity against fungi *Candida albicans* among all the tested acetohydrazides. Compared the compounds with different NO₂-substituted position on the benzene ring, their activity order was 3-NO₂>2-NO₂>4-NO₂. It was observed that Gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* has developed resistance against all the synthesized derivatives. Among the screened samples, compound 3-NO₂ substituted derivative **4b** has emerged as most active against both tested Gram negative *Escherichia coli* and Gram positive bacteria *Staphylococcus aureus* compared to the standard drug. The present results suggest that some of the title compounds are potential for the development of novel potential benzoxazinone antimicrobial agents.

4. Conclusions

In this present study, the effects of ultrasonic irradiations on the formation of benzoxazinonylaceto-hydrazone derivatives with potential biological activities have been explored. Thus, a significant procedure to prepare some novel 2,3,4-nitrosubstituted aceto-hydrasidines under ultrasound irradiations and conventional heating methods without catalyst was reported, these Nitrobenzoxazinone analogues were evaluated for their *in vitro* antimicrobial activities. The results obtained, showed that the ultrasound irradiations procedure confirmed notable superiority compared to conventional synthetic protocol, and affords excellent yield of the isolated product, shorter reaction time and mild condition reactions. The antimicrobial screening results revealed that the prepared compounds showed moderate to good antimicrobial activity. Compounds **4b** showed the highest antifungal activity against fungi *Candida albicans*. Gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* has developed resistance against all the synthesized derivatives. Among the screened samples, compound **3-NO₂** substituted derivative **4b** has emerged as most active against both tested Gram negative *Escherichia coli* and Gram positive bacteria *Staphylococcus aureus*. The present results suggest that some of the title compounds are potential for the development of novel potential benzoxazinone antimicrobial agents.

REFERENCES

- [1]. G. V. Ambulgekar, S. D. Samant, A. B. Pandit, "Oxidation of alkylarenes using aqueous potassium permanganate under cavitation: comparison of acoustic and hydrodynamic techniques", *Ultrasonics Sonochemistry*, **vol. 12**, no. 1-2, 2005, pp. 85–90
- [2]. A. V. Chate, U. B. Rathod, J. S. Kshirsagar, P. A. Gaikwad, K. D. Mane, P. S. Mahajan, M. D. Nikam, C. H. Gill, "Ultrasound assisted multicomponent reactions: A green method for the synthesis of N-substituted 1,8-dioxo-decahydroacridines using β -cyclodextrin as a supramolecular reusable catalyst in water", *Chinese Journal of Catalysis* **vol. 37**, no. 1, 2016, pp. 146–152
- [3]. F. Alonso, I. P. Beletskaya, M. Yus, "Non-conventional methodologies for transition-metal catalysed carbon-carbon coupling: a critical overview, Part 1: The Heck reaction", *Tetrahedron*, **vol. 61**, no. 50, 2005, pp. 11771–11835
- [4]. A. Sharma, P. Appukkuttan, E. Van der. Eycken, "Microwave-assisted synthesis of medium-sized heterocycles", *Chemical Communications*, **vol. 48**, no. 11, 2012, pp. 1623–1637
- [5]. M. M. Mojtahedi, M. S. Abaee, "Ultrasound applications in synthetic organic chemistry, in: D. Chen, S. K. Sharma, A. Mudhoo (Eds.), *Handbook on Applications of Ultrasound Sonochemistry for Sustainability*", CRC Press, New York, 2012, pp. 281–322
- [6]. G. Cravotto, P. Cintas, "Power ultrasound in organic synthesis: moving cavitation chemistry from academia to innovative and large-scale applications", *Chemical Society Review*, *Chem. Soc. Rev.* **vol. 35**, no. 2, 2006, pp. 180–196
- [7]. T. J. Mason, "Ultrasound in synthetic organic chemistry", *Chemical Society Reviews*, **vol. 26**, no. 6, 1997, pp. 443–451
- [8]. M. Nüchter, B. Ondruschka, A. Jungnickel, U. Müller, "Organic processes initiated by non-classical energy sources", *J. Phys. Org. Chem.* **vol. 13**, no. 10, 2000, pp. 579–586
- [9]. D. E. Crawford, Solvent-free sonochemistry: Sonochemical organic synthesis in the absence of a liquid medium, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, **vol. 13**, no. 1, 2017, 1850–1856
- [10]. S. Puri, B. Kaur, A. Parmar, H. Kumar, Applications of Ultrasound in Organic Synthesis-A Green Approach, *Current Organic Chemistry*, **Vol. 17**, no. 16, 2013, pp. 1790–1828

- [11]. S. Tangestaninejad, M. Moghadam, V. Mirkhani, H. Kargar, "Efficient and selective hydrocarbon oxidation with sodium periodate under ultrasonic irradiation catalyzed by polystyrene-bound Mn (TPyP)", *Ultrasonics Sonochemistry*, **vol. 13**, no. 1, 2006, pp. 32–36
- [12]. G. Cravotto, M. Beggiato, A. Penoni, G. Palmisano, S. Tollari, J. M. Leveque, W. Bonrath, "High-intensity ultrasound and microwave, alone or combined, promote Pd/C-catalyzed aryl–aryl couplings", *Tetrahedron Letters*, **vol. 46**, no. 13, 2005, pp. 2267–2271
- [13]. G. Cravotto, G. Palmisano, S. Tollari, G. M. Nano, A. Penoni, "The Suzuki homocoupling reaction under high-intensity ultrasound", *Ultrasonics Sonochemistry*, **vol. 12**, no. 1-2, 2005, pp. 91–94
- [14]. M. Šmist, H. Kwiecień, M. Krawczyk, "Synthesis and antifungal activity of 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one derivatives", *Journal of environmental science and health B.*, **vol. 51**, no. 6, 2016, pp. 393–401
- [15]. N. Matzanke, W. Lowe, S. Perachon, P. Sokoloff, J. C. Schwartz, H. Stark, "Heterocyclic congeners of PD 128,907 with a partially hydrogenated benzomorpholine moiety as potential dopamine D3-receptor ligands", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **vol. 34**, no. 10, 1999, pp. 791–798
- [16]. S. Sebillé, P. de Tullio, S. Boverie, M. H. Antoine, P. Lebrun, B. Pirotte, "Recent developments in the chemistry of potassium channel activators: the cromakalim analogs", *Current Medicinal Chemistry*, **vol. 11**, no. 9, 2004, pp. 1213–1222
- [17]. B. C. Das, A. V. Madhukumar, J. Anguiano, S. Mani, "Design, synthesis and biological evaluation of 2H-benzo[b][1,4] oxazine derivatives as hypoxia targeted compounds for cancer therapeutics", *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **vol. 19**, no. 15, 2009, pp. 4204–4206
- [18]. M. Šmist, M. Krawczyk, H. Kwiecień, "Synthesis and antifungal activity of 2 H -1,4-benzoxazin-3(4 H)-one derivatives", *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, **vol. 51**, no. 6, 2016, pp. 393–401
- [19]. M. Z. Huang, F. X. Luo, H. B. Mo, Y. G. Ren, X. G. Wang, X. M. Ou, M. X. Lei, A. P. Liu, L. Huang, M. C. Xu, "Synthesis and herbicidal activity of isoindoline-1,3-dione substituted benzoxazinone derivatives containing a carboxylic ester group", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **vol. 57**, no. 20, 2009, pp. 9585–9592
- [20]. H. B. Borate, S. R. Maujan, S. P. Sawargave, M. A. Chandavarkar, S. R. Vaiude, V. A. Joshi, R. D. Wakharkar, R. Iyer, R. G. Kelkar, S. P. Chavan, S. S. Kunte, "Fluconazole analogues containing 2H-1,4-benzothiazin-3(4H)-one or 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one moieties, a novel class of anti-Candida agents", *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **vol. 20**, no. 2, 2010, pp. 722–725
- [21]. R. Fringuelli, D. Pietrella, F. Schiaffella, A. Guarraci, S. Perito, F. Bistoni, A. Vecchiarilli, "Anticandida albicans properties of novel benzoxazine analogues", *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **vol. 10**, no. 6, 2002, pp. 1681–1686
- [22]. G. Caliendo, P. Grieco, E. Perissutti, V. Santagada, A. Santini, S. Albrizio, C. Fattorusso, A. Pinto, R. Sorrentino, "Synthesis, biological activity and conformational study of 1,4-benzoxazine derivatives as potassium channel modulators", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **vol. 33**, no. 12, 1998, pp. 957–967
- [23]. T. B. Ravi, N. Lingaiah, B. Rajeeva, "Synthesis and antimicrobial activity of novel series of pyrazoline derivatives bearing 1,4-benzoxazinone", *International Research Journal of Pharmacy*, **vol. 8**, no. 3, 2017, pp. 23–28
- [24]. G. Sonia, K. K. Thachil, M. K. Parameswaran, R. T. Kochupappy, "Synthesis of some benzoxazinyl pyrazolone arylidenes as potent antimicrobials and antioxidants", *Medecinal Chemistry Research*, **vol. 23**, no. 3, 2014, pp. 1320–1326
- [25]. Y. Matsumoto, W. Uchida, H. Nakahara, I. Yanagisawa, T. Shibamura, H. Nohira, "Novel Potassium Channel Activators. III. Synthesis and Pharmacological Evaluation of 3,4-Dihydro-2H-1,4-benzoxazine Derivatives: Modification at the 2 Position", *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **vol. 48**, no. 3, 2000, pp. 428–432
- [26]. S. Alper-Hayta, E. Aki-Sener, B. Tekiner-Gulbas, I. Yildiz, O. Temiz-Arpaci, I. Yalcin, N. E. Altanlar, "Synthesis, antimicrobial activity and QSARs of new benzoxazine-3-ones", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **vol. 41**, no. 12, 2006, pp. 1398–1404
- [27]. V. T. kumar, S. K. Rao, L. V. Narayana, P. K. Dube, V. Aparna, "Synthesis of 6-(5-oxo-4-phenyl-2,5-dihydrofuran-3-yl)-2H-1,4- benzoxazin-3(4H)-one as potential non-steroidal anti-inflammatory agents (NSAIDS)", *Heterocyclic Communications*, **vol. 9**, no. 1, pp. 51–56

- [28]. *M. LARGERON, B. LOCKHART, B. PFEIFFER, M. B. FLEURY*, "Synthesis and in vitro evaluation of new 8-amino-1,4-benzoxazine derivatives as References neuroprotective antioxidants", *Journal of Medicinal Chemistry*, **vol. 42**, no. 24, 1999, pp. 5043–5052
- [29]. *S. WAHIDULLA, J. J. BHATTACHARJEE*, "Benzoxazinoids from *Acanthus ilicifolius*", *Journal of the Indian Institute of Sciences*, **vol. 81**, no. 4, 2001, pp. 485–489
- [30]. *H. M. NIEMEYER*, "Hydroxamic acids (4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones) defence chemicals in Graminae", *Phytochemistry*, **vol. 27**, no. 11, 1988, pp. 3349–3358
- [31]. *G. THUILLIER, J. LAFOREST, P. BESSIN, J. BONNET, J. THUILLIER*, "Synthèse et activité pharmacologique de dihydro-2,3 benzoxazine-1,4-ones-3-substituées en position 4", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **vol. 10**, no. 1, 1975, pp. 37–42
- [32]. *M. KAJINO, K. MIZUNO, H. TAWADA, Y. SHIBOUTA, K. NISHIKAWA, K. MEGURO*, "Synthesis and biological activities of new 1,4-benzothiazine derivatives", *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **vol. 39**, no. 11, 1991, pp. 2888–2895
- [33]. *G. CALIENDO, P. GRIECO, E. PERISSUTTI, V. SANTAGADA, A. SANTINI, S. ALBRIZIO, C. FATTORUSSO, A. PINTO, R. SORRENTINO*, "Synthesis, biological activity and conformational study of 1,4-benzoxazine derivatives as potassium channel modulators", *European journal of medicinal chemistry*, **vol. 33**, no. 12, 1998, pp. 957–967
- [34]. *S. ROLLAS, Ş. G. KÜÇÜKGÜZEL*, "Biological activities of hydrazone derivatives", *Molecules*, **vol. 12**, no. 8, 2007, pp. 1910–1939
- [35]. *S. BALA, G. UPPAL, A. KAJAL, S. KAMBOJ, V. SHARMA*, "Hydrazones as promising lead with diversity in bioactivity-therapeutic potential in present scenario", *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **vol. 18**, no. 1, 2013, pp. 65–74
- [36]. *A. GURSOY, N. TERZIOĞLU, G. OTUK*, "Synthesis of some new hydrazide-hydrazones, thiosemicarbazides and thiazolidinones as possible antimicrobials", *European journal of medicinal chemistry*, 1997, **vol. 32**, no. 9, 753–757
- [37]. *W. W. WARDAKHAN, N. N. EL-SAYED, R. M. MOHAREB*, "Synthesis and anti-tumor evaluation of novel hydrazide-hydrazone derivatives", *Acta Pharmaceutica*, **vol. 63**, no. 1, 2013, pp. 45–57
- [38]. *P. ÇIKLA-SÜZGÜN, D. ÖZSAVCI, Ö. BİNGÖL-ÖZAKPINAR, A. ŞENER, Ö. ÇEVİK, S. ÖZBAŞ-TURAN, J. AKBUĞA, F. ŞAHİN, Ş. G. KÜÇÜKGÜZEL*, "Synthesis, cytotoxicity, and pro-apoptosis activity of etodolac hydrazide derivatives as anticancer agents", *Archiv der Pharmazie-Chemistry in Life Sciences*, **vol. 346**, no. 5, 2013, pp. 367–379
- [39]. *Ş. G. KÜÇÜKGÜZEL, D. KOÇ, P. ÇIKLA, D. ÖZSAVCI, Ö. BİNGÖL-ÖZAKPINAR, P. MEGA-TİBER, O. ORUN, P. ERZİNCAN, S. S. ERDEM, F. ŞAHİN*, "Synthesis of Tolmetin Hydrazide-Hydrazones and Discovery of a Potent Apoptosis Inducer in Colon Cancer Cells", *Archiv der Pharmazie-Chemistry in Life Sciences*, **vol. 348**, no. 10, 2015, pp. 730–742
- [40]. *K. B. KAYMAKÇIOĞLU, E. E. ORUÇ, S. UNSALAN, F. KANDEMIRLI, N. SHVETS, S. ROLLAS, D. ANATHOLY*, "Synthesis and characterization of novel hydrazidehydrazones and the study of their structure - antituberculosis activity", *European journal of medicinal chemistry*, 2006, **vol. 41**, no. 11, 1253–1261
- [41]. *D. D. MUKHERJEE, N. M. KUMAR, M. P. TANTAK, A. DAS, A. GANGULI, S. DATTA, D. KUMAR, G. CHAKRABARTI*, "Development of novel bis(indolyl)-hydrazide-hydrazone derivatives as potent microtubule-targeting cytotoxic agents against A549 lung cancer cells", *Biochemistry*, **vol. 55**, no. 21, 2016, pp. 3020–3035
- [42]. *C. M. MOLDOVAN, O. ONIGA, A. PÂRVU, B. TIPERCİUC, P. VERİTE, A. PÎRNĂU, O. CRIŞAN, M. BOJÎŢĂ, R. POP*, "Synthesis and anti-inflammatory evaluation of some new acyl-hydrazones bearing 2-aryl-thiazole", *European journal of medicinal chemistry*, **vol. 46**, no. 2, 2011, pp. 526–534
- [43]. *R. M. MOHAREB, K. A. EL-SHARKAWY, M. M. HUSSEIN, H. M. EL-SHRAWI*, "Synthesis of hydrazide-hydrazone derivatives and their evaluation of antidepressant, sedative and analgesic agents", *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **vol. 2**, no. 4, 2010, pp. 185–196
- [44]. *L. POPIOLEK, U. KOSIKOWSKA, M. WUJEC, A. MALM*, "Synthesis and antimicrobial evaluation of new Schiff base hydrazones bearing 1,2,4-triazole moiety", *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, **vol. 189**, no. 11, 2014, pp. 1611–1623
- [45]. *L. POPIOLEK, A. BIERNASIUK*, "synthesis and in vitro antimicrobial activity of hydrazide-hydrazones of 2-substituted acetic acid", *Chemical Biology and Drug Design*, **vol. 88**, no. 11, 2016, pp. 873–883
- [46]. *L. POPIOLEK, A. BIERNASIUK*, "synthesis and in vitro antimicrobial activity of hydrazide-hydrazones of 2-substituted acetic acid", *Saudi Pharmaceutical Journal*, **vol. 25**, no. 11, 2017, pp. 1097–1102

- [47]. Ş. G. Küçükgülzel, E. E. Oruç, S. Rollas, F. Şahin, A. Ozbek, "Synthesis, characterisation and biological activity of novel 4-thiazolidinones, 1,3,4-oxadiazoles and some related compounds", *European journal of medicinal chemistry*, **vol. 37**, no. 3, 2002, pp. 197–206
- [48]. L. C. Tavares, J. J. Chiste, M. G. Santos, T.C. Penna, "Synthesis and biological activity of nifuroxazide and analogs. II.", *Bollettino chimico farmaceutico*, **vol. 138**, no. 8, 1999, pp. 432–436.
- [49]. A. Masunari, L. C. Tavares, "A new class of nifuroxazide analogues: Synthesis of 5-nitrophenederivatives with antimicrobial activity against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*", *Bioorganic & medicinal chemistry*, **vol. 15**, no. 12, 2007, pp. 4229–4236
- [50]. M. R. Shiradkar, K. K. Murahari, H. R. Gangadasu, T. Suresh; C. A. Kalyan; D. Panchal; R. Kaur; P. Burange; J. Ghogare; V. Mokale; M. Raut, "Synthesis of new S-derivatives of clubbedtriazolyl thiazole as anti-*Mycobacterium tuberculosis* agents", *Bioorganic & medicinal chemistry*, **vol. 15**, no. 12, 2007, pp. 3997–4008
- [51]. K. A. Metwally, L. M. Abdel-Aziz, E. S. M. Lashine, M. I. Hussein, R. H. Badawy, "Hydrazones of 2-aryl-quinoline-4-carboxylic acid hydrazides: synthesis and preliminary evaluation as antimicrobial agents", *Bioorganic & medicinal chemistry*, **vol. 14**, no. 24, pp. 8675–8682
- [52]. S. Rollas, N. Gulerman, H. Erdeniz, "Synthesis and antimicrobial activity of some new hydrazones of 4-fluorobenzoic acid hydrazide and 3-acetyl-2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazolines", *Il Farmaco*, **vol. 57**, no. 2, 2002, pp. 171–174
- [53]. S. Ersan, S. Nacak, R. Berkem, "Synthesis and antimicrobial activity of N-[(α -methyl)benzylidene]-(3-substituted-1,2,4-triazol-5-yl-thio)acetohydrazides", *Il Farmaco*, **vol. 53**, no. 12, 1998, pp. 773–776
- [54]. K. Seddiki, W. Yahia, M. Liacha, A. Defant, D. Sighel, I. Mancini, Microwave-assisted synthesis of new imide- and formamide-derivatives of 2(3*H*)-benzoxazolinones and 2(3*H*)-benzothiazolinones, *ARKIVOC*, **vol. part iv**, 2017, pp. 315–329
- [55]. H. Chabane, Y. Adjeroud, M. Liacha, Convenient synthesis and characterization of some novel benzothiazolone-based Schiff bases as potential pharmaceutically active agents, *Organic Communications*, **vol. 10**, no. 1, 2017, pp. 24–31
- [56]. H. Chabane, M. Messarah, M. Liacha, Comparative study for the synthesis of new generation of 2(3*H*)-benzothiazolones as antioxidant agents, *Der Pharma Chemica*, **vol. 8**, no. 15, 2016, pp. 20–26
- [57]. H. Chabane, Y. Adjeroud, M. Liacha, Microwave-assisted and conventional synthesis of new nitrobenzaldehyde-Schiff base ligands derived from benzothiazolone with potential catalytic properties: A comparative study, *PhytoChem & BioSub Journal*, **vol. 10**, no. 2, 2016, pp. 73–78
- [58]. Y. Adjeroud, H. Chabane, M. Liacha, "comparative study of conventional and microwave-assisted synthesis of novel 6-(arylideneamino)benzo[d]oxazol-2(3*H*)-ones with potential antibacterial activity", *Revue Roumaine de Chimie*, **vol. 61**, no. 2, 2016, pp. 111–117
- [59]. A. H. Collins, *BT Microbiological Methods*, 2nd ed., Butterworth, London 1976, pp. 235–237