

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Pharmacie Industrielle

Intitulé du mémoire

**Formulation d'une émulsion anti-inflammatoire
à base de nouvelles molécules bioactives**

Présenté par :

M^{elle} BOUSMAIL IMENE

M^{elle} KAHIA MADINA

Encadré par :

Dr. Z. CHEURFA

Année universitaire 2019/2020

المخلص

الهدف من هذا العمل هو تحسين صياغة مستحلب بيولوجي ثابت ومتجانس (زيت / ماء) مع تأثير مضاد للالتهابات يعتمد على مشتقات البيرازول: " 1 - (3-امينو-2-بيريديل)-5-هيدروكسي-H1-بيرازول-3-كربوكسيلات الميثيل " و " 1-(3-امينو-2-بيريديل)-5-اكسو-4،5-ثنائي هيدرو-H1-بيرازول-3-كربوكسيلات الايثيل. "، والتي ستكون المفاعلات الحيوية للتركيب التي لها نشاط مضاد للالتهابات.

بدأنا بتركيب الهيدرازونات E- (نيترو-2-بيريديل) هيدرازونو او كز الواسيتات ثنائي الالكيل ، هذه الهيدرازونات تدور تلقائياً عن طريق الهدرجة التحفيزية بمشتقات البيرازول.

تميزت المركبات المُصنَّعة بمقياس الطيف الضوئي لتحويل فورييه (IR) ، والرنين المغناطيسي النووي لبروتون ^1H ، والكربون ^{13}C .

تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات للمنتجات المركبة بواسطة طريقة انتشار الأجار.

كان من المقرر اختبار النشاط المضاد للالتهابات ، مما تسبب في التهاب موضعي في أذن الفئران. تعتمد هذه التقنية على تحديد التأثير المثبط للمستحلب المركب على أساس مشتقات البيرازول

كلمات مفتاحية: الهيدرازونات ، البيرازول ، التدوير الاختزالي ، المستحضر المضاد للالتهابات.

RESUME

L'objectif de ce travail est d'optimiser une formulation d'une émulsion biologique stable et homogène de type (eau /huile) à effet anti-inflammatoire à base de dérivés de pyrazoles : le 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3-carboxylate de méthyle et 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1H-pyrazole-3-carboxylate d'éthyle, qui seront les principes actifs de la formulation ayant une activité anti-inflammatoire.

Nous avons commencé par la synthèse des hydrazones E-(3-nitro-2-pyridyl)hydrazono oxaloacétate de dialkyles; ces hydrazones se cyclisent spontanément par hydrogénation catalytique au dérivés pyrazoles. Les composés synthétisés ont été caractérisés par la spectrophotométrie à transformée de Fourier (IR), la résonance magnétique nucléaire du proton ^1H et du carbone ^{13}C .

L'activité antimicrobienne des produits synthétisés devait être déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

L'activité anti-inflammatoire devait être testée, en provoquant une inflammation locale au niveau de l'oreille des rats. Cette technique repose sur la détermination de l'action inhibitrice de l'émulsion formulée à base de dérivés de pyrazoles

Mots clés : hydrazones, pyrazoles, cyclisation réductive, formulation anti-inflammatoire

ABSTRACT

The objective of this work is to optimize a formulation of a stable and homogeneous biological emulsion of type (water /oil) with anti-inflammatory effect based on pyrazoles derivatives: Methyl 1- (3-amino-2-pyridyl) -5-hydroxy-1H-pyrazole-3-carboxylate and 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-oxo-4,ethyl-5-dihydro-1H-pyrazole-3-carboxylate, which will be the active ingredients of the formulation having anti-inflammatory activity.

We started with the synthesis of the dialkyl hydrazones E-(3-nitro-2-pyridyl) hydrazono oxaloacetate; these hydrazones spontaneously cyclizes by catalytic hydrogenation with pyrazole derivatives. The synthesized compounds were characterized by the infrared Fourier transform spectroscopy (FTIR), nuclear magnetic resonance (NMR) of the proton ^1H and carbon ^{13}C .

The antimicrobial activity of the synthesized products had to be determined by the agar diffusion method.

The anti-inflammatory activity was to be tested, causing local inflammation in the ear of rats. This technique is based on the determination of the inhibitory action of the emulsion formulated based on pyrazoles derivatives.

Key words: hydrazones, pyrazoles, reductive cyclization, anti-inflammatory formulation.

REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord de remercier le bon dieu Allah le tout puissant et miséricordieux pour tous les bienfaits, la force et le courage qu'il nous a accordé durant notre formation ainsi que la volonté, pour dépasser toutes les difficultés rencontrés durant notre cursus universitaire

Ce travail a été encadré par le Dr Zahia Cheurfa au niveau de laboratoire de chimie organique 232 au département de Génie des procédés, université de Blida 1. Nous tenons à adresser nos plus sincères remerciement et notre plus grade reconnaissance à notre promotrice pour son encadrement, ses conseils scientifiques et pour sa disponibilité. Merci de nous avoir soutenue, guidée et encouragée tout au long de ce travail de mémoire

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciement au membre du jury pour avoir examiné ce mémoire, soyez assurés de notre respectueuse considération.

Nous tenons aussi à remercier le Pr. Amel Hadj ziane, responsable d'option pour la qualité de formation apportée durant toutes nos années d'études

Nous remercions Madame Nassima l'ingénieur du laboratoire de chimie organique 232, pour sa gentillesse et sa confiance, ainsi que Monsieur Leutrache Hichem pour ses conseils et son aide durant la période du travail au laboratoire.

Nous tenons aussi à remercier tous les professeurs qui ont contribué à notre formation, avec beaucoup de dévouement et de compétence.

Enfin, on veut exprimer toute nos gratitudees à nos familles qui ont transmis la soif du savoir, de même que la discipline nécessaire pour atteindre nos objectifs.

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|--|
| Résumé | |
| Dédicace | |
| Remerciement | |
| Table des matières | |
| Liste des abréviations | |
| Liste des illustrations, graphiques et tableaux | |

| | |
|-------------------|---|
| INTRODUCTION..... | 1 |
|-------------------|---|

Chapitre 1 : La synthèse des hétérocycles azoté à cinq membres par cyclisation réductive.

| | |
|--|---|
| 1.1 Introduction | 3 |
| 1.2 Réduction des composés nitrés | 3 |
| 1.3 Synthèse d'hétérocycle à 5 membres | 4 |

Chapitre 2 : Intérêt biologique des dérivés de pyrazoles.

| | |
|--|----|
| 2.1 Introduction | 10 |
| 2.2 Les différentes activités pharmacologiques des pyrazoles | 10 |
| 2.2.1 Activité anti-inflammatoire..... | 10 |
| 2.2.2 Activité antibactérienne et antifongique | 11 |
| 2.2.3 Activité anticancéreuse | 12 |
| 2.2.4 Activité antituberculeuse | 13 |
| 2.2.5 Activité anti diabétique..... | 14 |
| 2.2.6 Activité antiviral | 15 |
| 2.2.7 Activité anti-Alzheimer | 17 |
| 2.2.8 Activité anti-malaria..... | 18 |
| 2.2.9 Activité anti-leishmaniose..... | 19 |

| | |
|--|----|
| 2.2.9.1 Définition de la maladie de leishmaniose | 20 |
| 2.3 Application des dérivés de pyrazoles en formulations | 20 |
| 2.4 Conclusion | 21 |

Chapitre 3 : Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| 3.1 Introduction | 22 |
| 3.2 Matériel utilisés | 22 |
| 3.3 Produits utilisé | 22 |
| 3.4 Les solvants utilisés | 23 |
| 3.5 Synthèse des produits de départ | 24 |
| 3.5.1 Préparation de la 2-hydrazino-3-nitropyridine | 24 |
| 3.5.2 Préparation de l'hydrazone (E)-(3-nitro-2-pyridyl)hydrazonooxaloacétate de diméthyle | 24 |
| 3.5.3 Préparation de l'hydrazone (E)-(3-nitro-2-pyridyl)hydrazonooxaloacétate de diéthyle | 25 |
| 3.5.4 Préparation du dérivé de pyrazole : 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3-carboxylate de diméthyle | 25 |
| 3.6 Caractérisation des produits de synthèse | 26 |
| 3.7 Evaluation de l'activité antimicrobienne | 27 |
| 3.7 Formulation d'une émulsion anti inflammatoire | 27 |
| 3.7.1 Protocole de préparation de l'émulsion | 30 |
| 3.8 Caractérisations physico-chimiques du produit fini | 31 |
| 3.9 Détermination de l'activité anti-inflammatoire in vivo | 32 |
| 3.9.1 Principe | 32 |
| 3.9.2 Protocole expérimentale | 32 |

Chapitre 4 : résultats et discussion.

| | |
|---|----|
| 4.1 Introduction | 33 |
| 4.2 Synthèse de la 2-hydrazino-3-nitropyridine | 33 |
| 4.3 Synthèse des hydrazones (E)-(3-nitro-2-pyridyl)hydrazonooxaloacétate de dialkyle... | 34 |
| 4.4 Cyclisation réductive de (E)-(3-nitro-2-pyridyl)hydrazonooxaloacétate de diméthyle | 37 |
| CONCLUSION | 41 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE..... | 43 |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | | |
|---|---|---|
| ATCC | : | American Type Culture Collection |
| Ar | : | Aryle |
| aq | : | Aqueuse |
| Cs ₂ CO ₃ | : | Carbonate de césium |
| DMSO | : | Diméthylsulfoxyde |
| DMF | : | N, N-Diméthylformamide |
| Et | : | Ethyle |
| EtOH | : | Ethanol |
| Et ₃ N | : | Triéthylamine |
| Fe C ₂ O ₄ | : | Oxalate de fer |
| HLB | : | Hydrophiliclipophilic balance (balance hydrophile lipophile). |
| IC ₅₀ | : | Concentration Inhibitrice Médiane |
| ml | : | Millilitre |
| Me | : | Méthyle |
| MeOH | : | Méthanol |
| MW | : | Micro-onde |
| MAO-A | : | Monoamine Oxydase-A |
| MAO-B | : | Monoamine Oxydase-B |
| M.tuberculosis | : | Mycobacterium tuberculosis ou bacille de Koch |
| Na ₂ S ₂ O ₄ | : | Dithionite de sodium |
| PhSH | : | Thiophénole |
| Pd-C | : | Palladium sur Charbon |
| P _f | : | Point de fusion |
| Pd (dba) ₂ | : | Palladium dibenzilidène acétone |
| pH | : | Potentiel d'hydrogène |
| PtO ₂ | : | Platinum Oxide (catalyseur d'Adams) |
| P(OET) ₃ | : | Phosphite de triéthyle |
| rt | : | Rotation |
| SnCl ₂ | : | Chlorure d'étain |
| TEA | : | Triéthylamine |
| THF | : | Tétrahydrofurane |

| | | |
|-------------------|---|-----------------------------------|
| TiCl ₄ | : | Titrachlorure de titane |
| UV | : | Ultraviolet |
| VSV | : | Virus de la stomatite vésiculeuse |
| VIH-1 | : | Virus d'Immunodéficience Humaine |
| δ | : | Déplacement chimique |

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

| | | |
|---------------------|--|----|
| Figure 4.1 : | Mécanisme réactionnel de la synthèse de la 2-hydrzino-3-nitropyridine. | 33 |
| Figure 4.2 : | Spectre IR de la 2-hyrazino-3-nitropyridine | 33 |
| Figure 4.3 : | Synthèse des hydrazones (E)-(3-nitro-2-pyridyl)hydrazonooxaloacétate de dialkyle. | 34 |
| Figure 4.4 : | délocalisation des électrons π dans la molécule de l'acétylène | 35 |
| Figure 4.5 : | Spectre IR de (E)-3-nitro-2-pyridylhydrazonooxaloacétate de méthyle. | 35 |
| Figure 4.6 : | Spectre IR de (E)-3-nitro-2-pyridylhydrazono-oxaloacétate de diéthyle. | 36 |
| Figure 4.7 : | Mécanisme réactionnel de la cyclisation réductive éventuelle menant aux dérivés 4. | 37 |
| Figure 4.8 : | Spectre IR de 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3-carboxylate de méthyle | 38 |
| Figure 4.9 : | Spectre ^1H -RMN de 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3-carboxylate de méthyle. | 39 |
| Figure 4.10: | Spectre ^{13}C -RMN de 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3-carboxylate de méthyle | 39 |

LISTE DES TABLEAUX

| | | |
|----------------------|---|----|
| Tableau 3.1 : | Produits utilisés lors de synthèse. | 22 |
| Tableau 3.2 : | Caractéristiques physicochimiques et l'aspect organoleptique des solvants utilisés. | 23 |
| Tableau 3.3 : | Souches bactériennes utilisées au cours d'évaluation de l'activité antimicrobienne et l'activité antibactérienne. | 27 |
| Tableau 3.4 : | Les produits utilisés en formulation et ses rôles. | 28 |

INTRODUCTION

L'importance des composés hétérocycliques ne peut pas être négligée, ces composés qu'ils soient produits naturels ou molécules conçues, sont responsables d'une étonnante variété de processus biologiques et sont inscrits dans la majorité des produits pharmaceutiques.

Les hétérocycles azotés sont d'une importance particulière dans la conception de médicaments et occupent une position exclusive en tant que source précieuse d'agents thérapeutiques en chimie médicinale. Ces molécules ont reçu une attention croissante au cours des deux dernières décennies. Ils ont contribué au développement de nombreux protocoles de synthèse organique et ont trouvé d'abondantes applications dans les sciences chimiques. [1]

Parmi ces hétérocycles à activité biologique le pyrazole et ses dérivés qui sont des exemples bien connus d'hétérocycles aromatiques contenant deux atomes d'azote adjacents dans leurs cycles à cinq chaînons. Les dérivés du pyrazole sont l'une des classes de composés hétérocycliques les plus actives et possèdent un large domaine d'applications biologiques.

Au cours de la dernière décennie, des études ont rapporté un nombre croissant de données sur les différents dérivés du pyrazole et leurs remarquables activités physiologiques et pharmacologiques ces dérivés peuvent être facilement préparés grâce aux progrès récents de la synthèse en chimie organique. [2]

Dans cette étude, nous visons la formulation d'un produit à usage cutané et la mise en évidence des activités anti inflammatoire et anti cicatrisante, à partir de nouvelles molécules hétérocycliques azotés, doués d'activité biologique qui sont obtenus par cyclisation réductive à partir des composés ortho nitrés aromatiques appropriés.

A cet effet les objectifs suivants sont à réaliser :

1. Synthèse et caractérisation des (E)-(3-nitro-2-pyridyl) hydrazones des esters méthylique et éthylique.
2. Synthèse et caractérisation des dérivés de pyrazoles par cyclisation réductive des (E)-(3-nitro-2-pyridyl) hydrazones des esters méthylique et éthylique.
3. Etude des différentes activités biologiques des dérivés de pyrazoles et la mise en évidence de l'activité anti inflammatoire
4. formulation d'une émulsion cutanée et l'étude de son effet anti-inflammatoire

Ainsi le présent manuscrit est composé :

- **Une partie théorique :** avec un premier chapitre, consacré à une synthèse bibliographique portant sur la synthèse des dérivés de pyrazoles par cyclisation réductive et un deuxième chapitre qui donne un aperçu sur l'intérêt biologique et pharmacologiques des dérivés de pyrazoles.
- **Une partie expérimentale :** qui s'échelonne en plusieurs étapes dont la synthèse des dérivés de pyrazoles par hydrogénation catalytique, l'étude de l'effet antimicrobien et anti inflammatoire de ces dérivés, formulation de l'émulsion et l'étude de son effet thérapeutique et comprend une présentation du matériel et les modes opératoires ainsi que les résultats et la discussions

Et enfin, on terminera par une conclusion et des perspectives pour des travaux ultérieurs.

1.1 Introduction :

Les hétérocycles sont une classe de composés chimiques dans lesquels un atome ou plus d'un carboxyle est remplacé par un hétéroatome tel l'oxygène, l'azote, le phosphore, le soufre etc....

Parmi les hétérocycles les plus étudiés ceux qui ont l'azote comme hétéroatome. Un grand nombre d'hétérocycles azotés est accessible par réaction du groupement nitro en position ortho de différents composés aromatique substitués.

1.2 Réduction des composés nitrés :

Pour la réduction des composés aromatiques nitrés ont été mis en œuvre les méthodes classiques de réduction, tels que le fer dans l'acide acétique [3,4], ou dans l'acide chlorhydrique [5,6], l'étain dans l'acide chlorhydrique [7], le sulfure de sodium [8], le dithionite de sodium [9,10], le zinc dans l'acide acétique [11,12]. Mais l'hydrogénation catalytique sous l'emploi de PtO₂ [13,14], ou Pd/C [15,16], est actuellement la plus utilisée vu qu'elle donne de hauts rendements.

Des méthodes de réduction des composés nitrés par transfert d'hydrogène sont aussi employées [17,18]. Ainsi par exemple les donneurs d'hydrogène catalysés par le palladium comme le cyclohexène [19], l'hydrazine [20,21], le tétrahydruroborate de sodium [22,23], l'acide formique [24], ou bien le formiate d'ammonium [25,26], sont mis en œuvre.

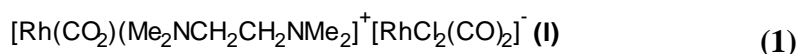
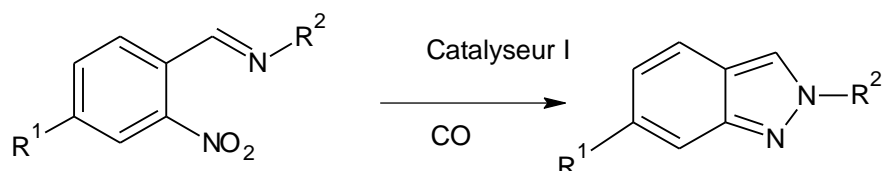
La réduction des composés nitrés par ces méthodes mène jusqu'aux amines primaires. La réduction des composés aromatiques ortho-nitrés appropriés peut mener directement à la formation d'hétérocycles azotés si les produits de réduction réagissent par addition, de condensation ou substitution intramoléculaire avec les autres groupements fonctionnels par formation d'une liaison C-N. Les réactions de ce type sont habituellement désignées comme des cyclisations réductives.

La chimie des cycles aromatiques à cinq chaînons avec deux hétéroatomes ou plus présente des similitudes avec celle des cycles aromatiques à cinq et six chaînons contenant un hétéroatome. [27]

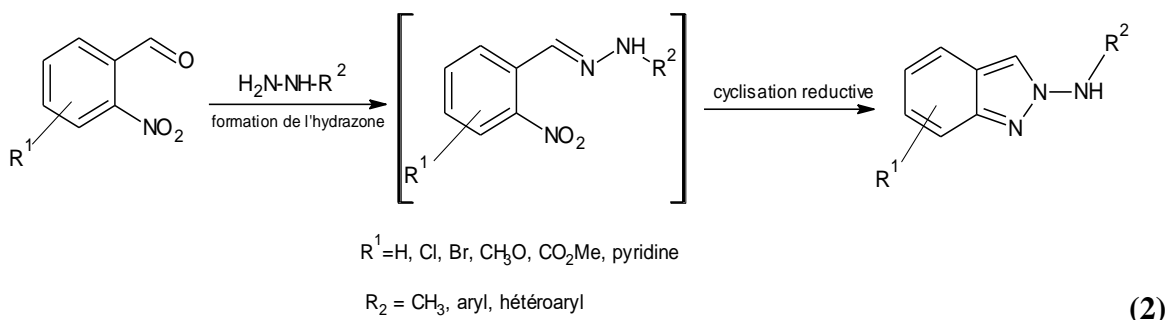
De ce fait nous rapportons dans ce qui suit des exemples choisis de l'utilisation de cette méthode de synthèse d'hétérocycles azotés.

1.3 Synthèse d'hétérocycle à cinq membres :

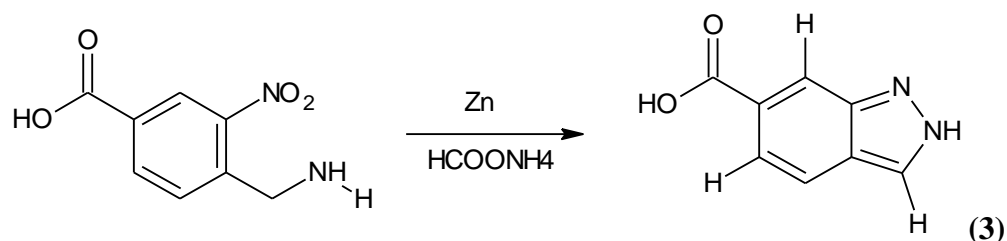
Les complexes ionique diamine rhodium sont utilisés comme catalyseur pour une cyclisation réductive de N-(2-nitroarylidène) amines en présence du monoxyde de carbone pour donner les 2H-indazoles correspondants jusqu'à 75% de rendement. [28] Equation (1)



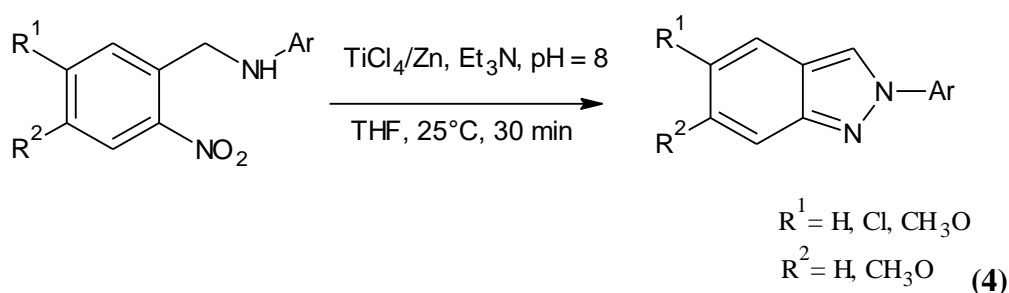
Les dérivés N-substitués-2H-indazol-2-amine ont été obtenu par cyclisation réductive de l'hydrazone correspondant avec des rendements modérés à bons à partir de matériaux de départ facilement disponibles. [29] Equation (2)



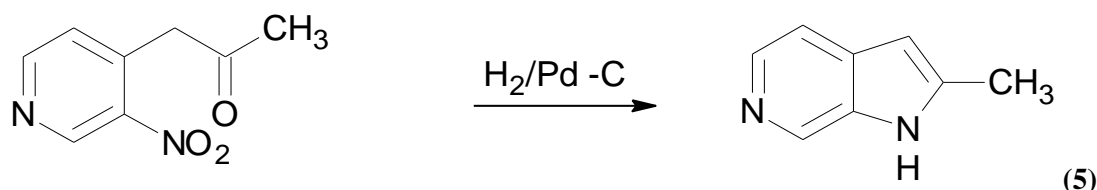
Une méthode nouvelle et efficace pour la synthèse en une seule étape de 2 H-indazole à partir des produits de départ facilement disponibles est décrite. La réaction des 2-nitrobenzylamines avec le formiate d'ammonium en présence du Zinc donne lieu à une réduction partielle en nitrosobenzylamine suivie d'une cyclisation intramoléculaire pour donner le 2H-indazole par la formation de liaisons N-N. [30] Equation (3)



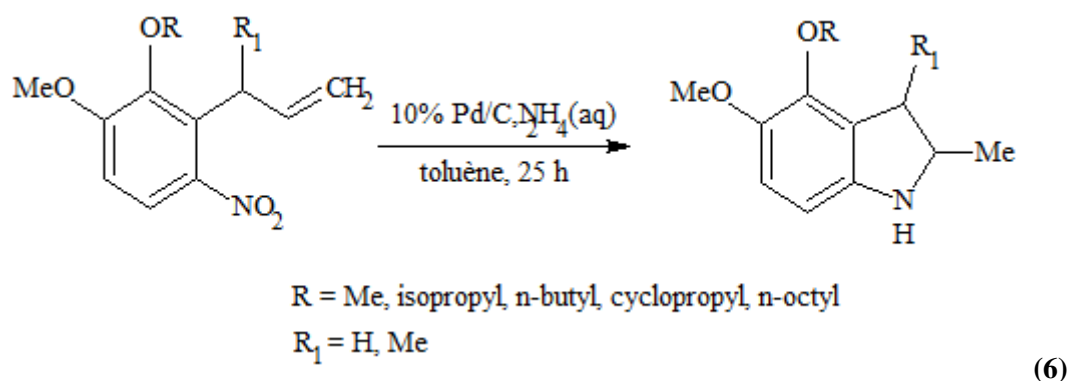
Une synthèse efficace et améliorée de 2H-indazoles par cyclisation réductive de 2-nitrobenzylamines induite par un réactif au titane de faible valence (TiCl_4/Zn) est décrite. Dans cette réaction la triéthylamine (TEA) est utilisée pour contrôler la valeur du pH. Cette méthode présente les avantages de matériaux de départ facilement accessibles, une manipulation commode, un rendement plus élevé, un temps de réaction plus court et une portée de substrat plus large. [31]Equation (4)



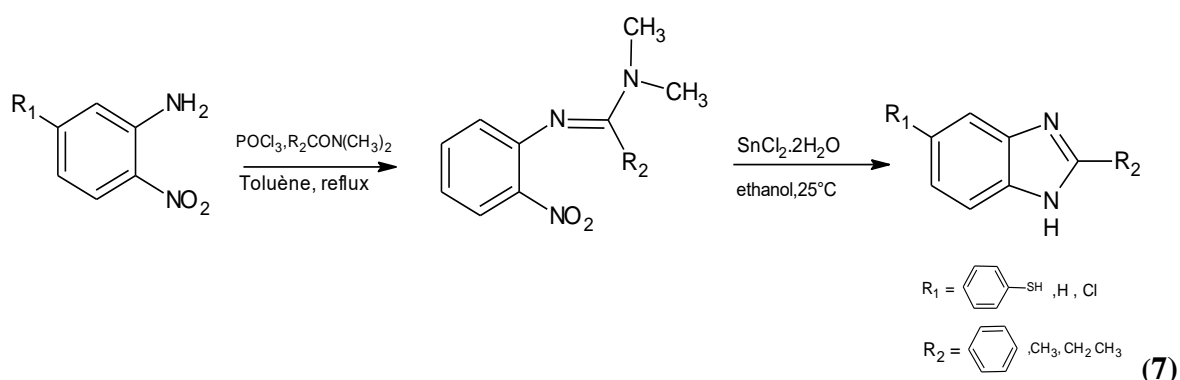
Le 2-méthyl-1H-pyrrolo [2,3-c] pyridine, est obtenue par hydrogénation catalytique à partir de (3-nitro-4-pyridyl) acétone [32]. Equation (5)



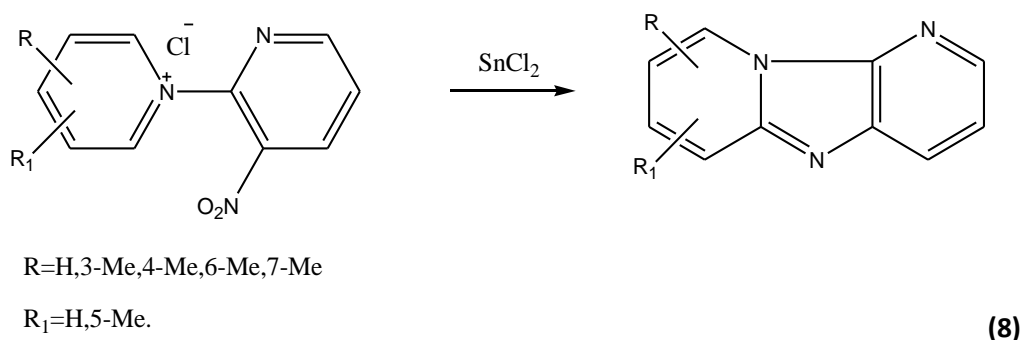
Une synthèse avec un rendement élevé (84%) de 2-méthylindolines oxygénées a eu lieu par une réduction de 2-allylnitrobenzènes avec Pd/C (10%) comme catalyseur, dans une d'une solution aqueuse d'hydrazine (80%) et de toluène à l'ébullition [33]. Equation (6)



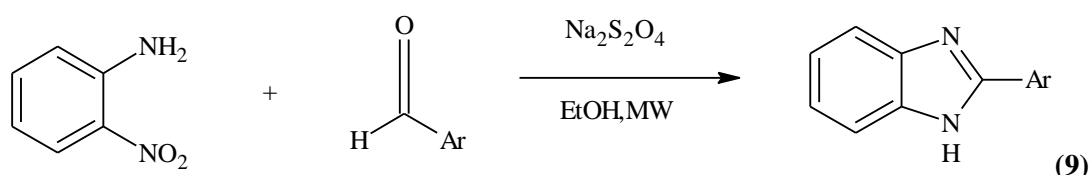
Le chlorure stanneux dihydraté (SnCl_2) est utilisé comme catalyseur efficace dans la cyclisation réductrice de l'aniline 2-nitro-5-substituée conduisant à des dérivés stables 2,5-disubstitués de benzimidazole en excellents rendements avec une bonne pureté et à température ambiante. [34] Equation (7)



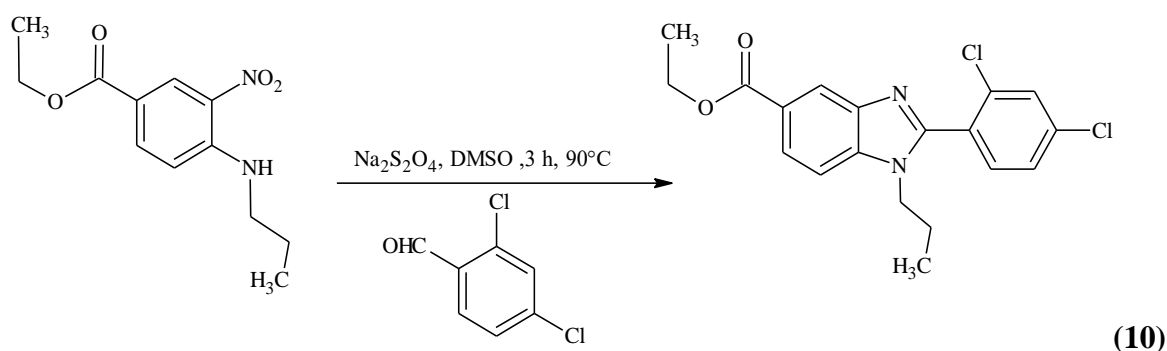
La réduction de N-(3-nitro-2-pyridyl) pyridinium chlorures par SnCl_2 a eu comme conséquence la formation de pyrido [3',2':4,5] imidazo[1,2-a] pyridines [35] Equation (8)



La synthèse du substitué benzimidazole à partir d'o-nitroaniline et d'aldéhydes aryliques en présence de dithionite de sodium comme agent réducteur sous irradiation par micro-ondes est décrite. Les produits ont été obtenus avec d'excellents rendements, des temps de réaction courts et des conditions réactionnelles douces [36]. Equation (9)

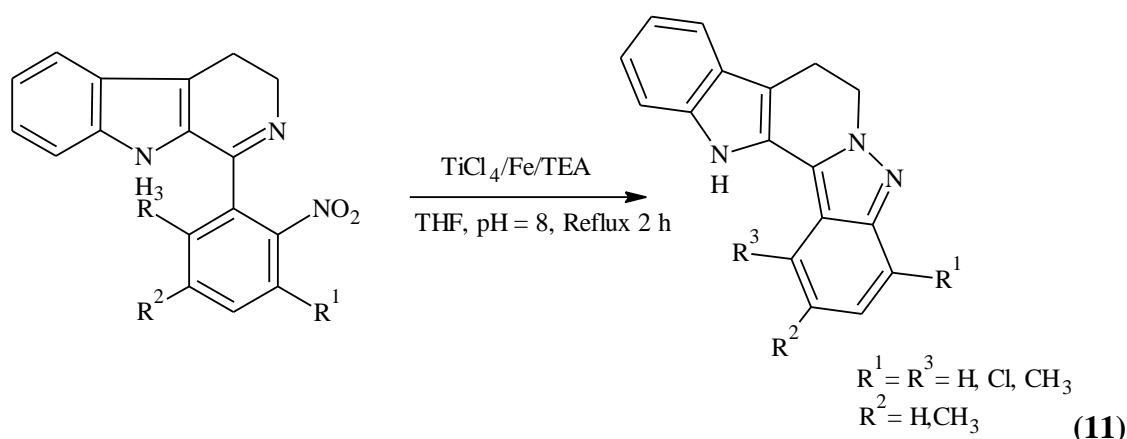


Le noyau nucléique benzimidazole-5-carboxylate a été efficacement synthétisé par une réaction de en une seule étape entre l'éthyl-3-nitro-4-(propylamino) benzoate et le 2,4-dichlorobenzaldéhyde moyennant du dithionite de sodium dans du diméthyle sulfoxyde. Cette réaction a été réalisée sans aucune difficulté, en un temps court avec un excellent rendement. Ce composé a été ciblé pour son activité antimicrobienne et anti-inflammatoire in vitro [37]. Equation (10)

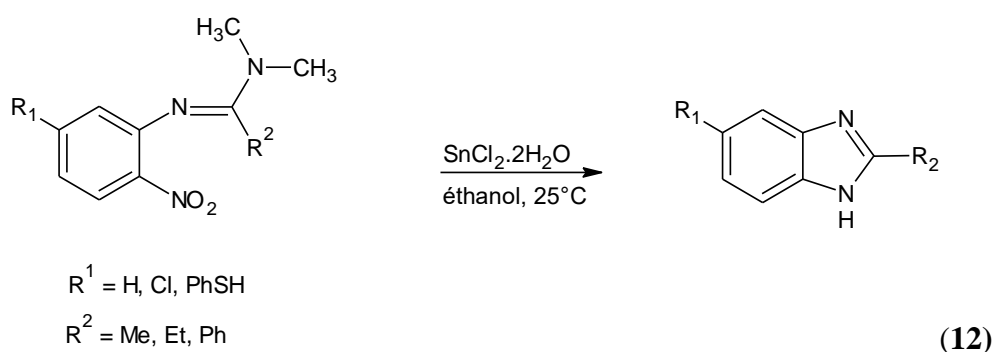


Une méthode douce et efficace pour la préparation du 8,13-dihydro-7*H*-indolo [2',3':3,4] pyrido[1,2-*b*]indazole par cyclisation réductive du 1-(2-nitrophényl)-4,9-dihydro-3*H*-pyrido[3,4-*b*]indoles, par voie du réactif de titane de faible valence, a été développée.

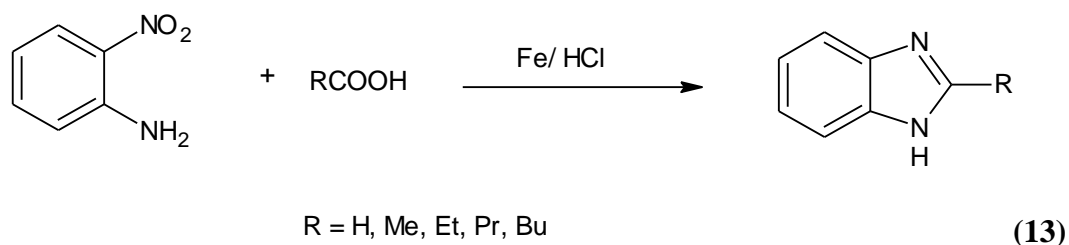
Une formation de liaisons N-N et la réduction sélective de la liaison C-N et du groupe nitro, ont tous deux été facilement réalisés en une seule étape en contrôlant le pH du mélange réactionnel [38]. Equation (11)



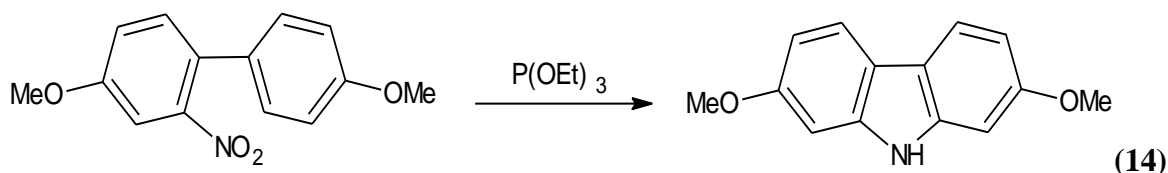
Des dérivés stables 2,5-disubstitués de benzimidazole sont obtenus avec d'excellents rendements et à température ambiante par cyclisation réductive de l'aniline 2-nitro-5-substitués moyennant le chlorure d'étain dihydrate comme agent réducteur [39]. Equation (12).



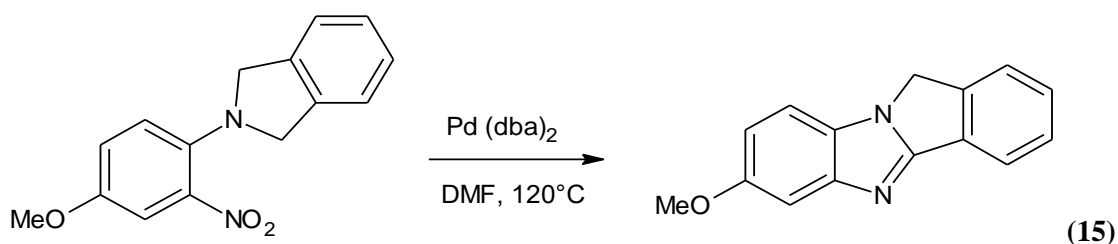
Récemment, de nouveaux dérivés benzimidazoles doués d'une haute activité biologique sont obtenus, avec des rendements variables, à partir de l'ortho-aniline et des acides aliphatiques par cyclisation réductive avec la poudre de fer dans l'acide chlorhydrique. [40]. Equation (13)



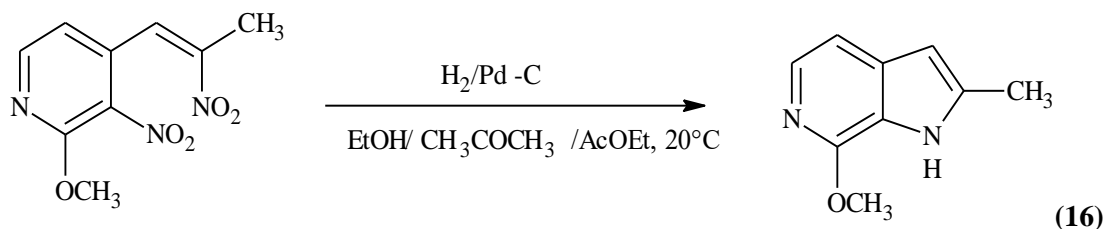
Une synthèse de 2,7-diméthoxy-9*H*-carbazole a été accomplie par cyclisation réductive de 4, 4'-diméthoxy-2-nitrobiphényl par P(OEt)₃ [41]. Equation (14).



Le 7-méthoxy-1*H*-isoindolo [2,1-*a*]benzimidazole est obtenu avec un rendement de 90% par cyclisation réductive avec le palladium dibenzilidène acétone dans le diméthylformamide à 120°C à partir de 2-(4-méthoxy-2-nitrophényl)-2,3-dihydro-1*H*isoindole. [42] Equation (15).



La 7-méthoxy-2-méthyl-1*H*-pyrrolo [2,3-*c*]pyridine est obtenue avec un rendement de 66% à partir de 2-méthoxy-3-nitro-4-(2-nitro-propényl) pyridine par hydrogénation catalytique dans l'éthanol, l'acétone et l'acétate d'éthyle. [43] Equation (16)



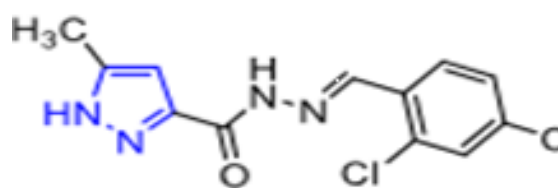
2.1 Introduction :

Le pyrazole et ses dérivés sont considérés comme un échafaudage actif d'importance pharmacologique qui possède presque tous les types d'activités pharmacologiques. [44] En raison de la diversité du potentiel biologique de la fraction pyrazole, ce noyau a attiré l'attention de nombreux chercheurs pour étudier son squelette chimiquement et biologiquement.

2.2 Les différentes activités pharmacologiques des dérivés de pyrazoles :

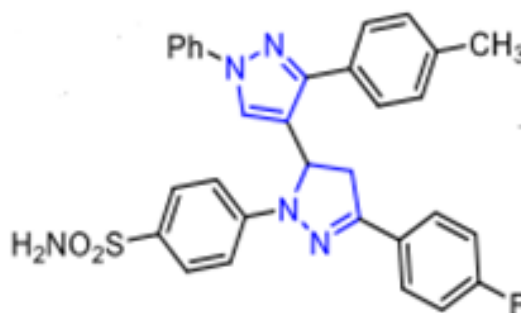
2.2.1 Activité anti-inflammatoire

Karrouchi et al. Ont synthétisé des dérivés de pyrazole-hydrazones et ont évalué leur activité anti-inflammatoire. L'activité anti-inflammatoire de composé 01 à la dose de 100 mg/kg a montré une excellente protection contre l'inflammation (92,59 % d'inhibition)[45].



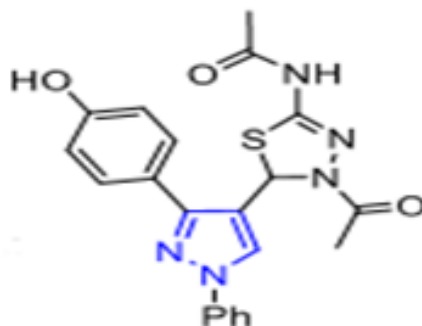
01

Récemment, Sharma et al. Ont synthétisé et évalué les dérivés pyrazolyl-pyrazoline pour leur activité anti-inflammatoire en utilisant le test de l'œdème de patte de rat. Parmi les composés testés, le composé 02 présentait une activité anti-inflammatoire prononcée (32%) [46]



02

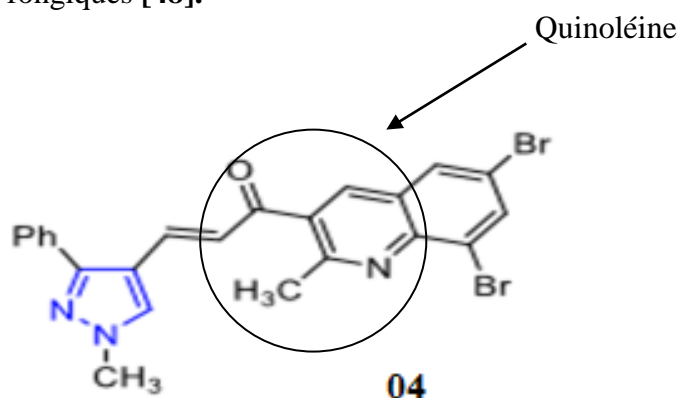
Les dérivés pyrazole 1,3,4-tri-substitués ont été synthétisés et dépistés pour détecter l'activité anti-inflammatoire par la méthode de l'œdème de pattes. Le composé 03 présentait une excellente action anti-inflammatoire (84,2% d'inhibition) par rapport à celle du médicament standard Diclofénac (86,72%). [47]



03

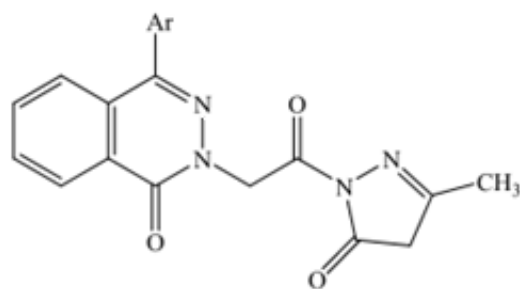
2.2.2 Activité antibactérienne et antifongique

Une série de nouveaux pyrazoles contenant un groupe de quinoléine a été synthétisé et évaluée pour leur activité antibactérienne. Le composé 04 était le plus puissant contre les souches bactériennes et fongiques [48].



04

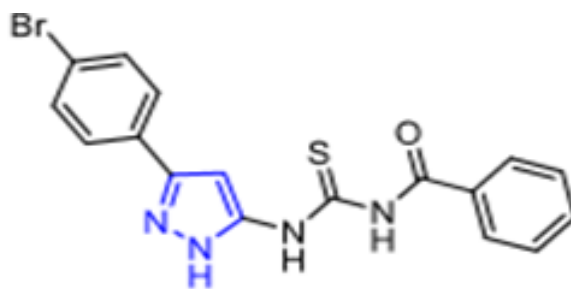
De nouvelles molécules hétérocycliques le composé 05, [49] ont été synthétisées dans le but d'étudier leurs activités antifongique et antimicrobienne. Ces molécules ont montré des résultats positifs.



05

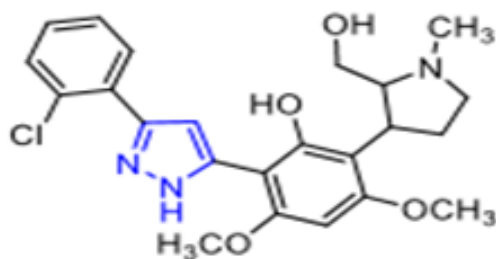
2.2. 3Activité anticancéreuse

Une série de composés de dérivés de pyrazoles substitués ont été synthétisées et évaluées pour leurs effets anticancéreux. Les résultats ont montré que le composé 06 présentait des effets inhibiteurs de croissance significatifs sur les cellules cancéreuses testées. [50]



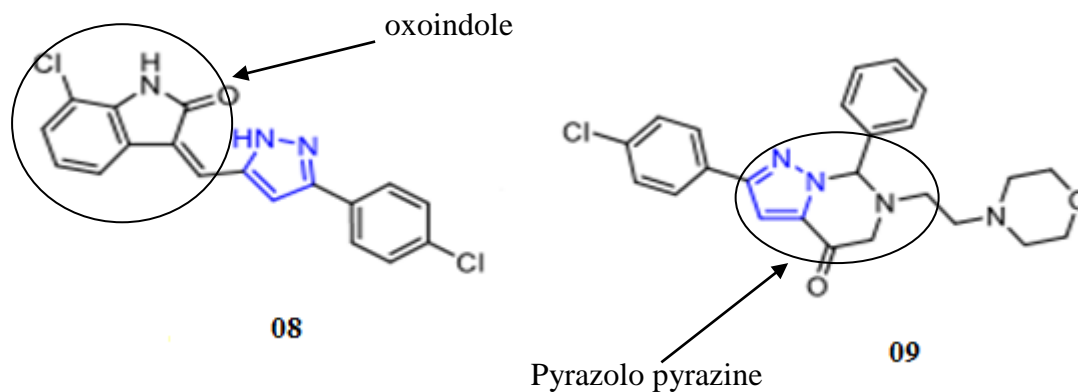
06

Parallèlement, une série de dérivés du 3,5-diarylpyrazole ont été synthétisées et évaluées pour leur activité anticancéreuse (cancer du sein, cancer de la prostate, cancer du poumon, cancer du côlon). Le composé 07 a été identifié comme un puissant agent anticancéreux. [51].



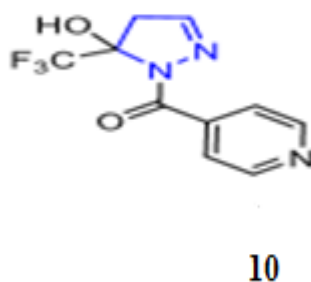
07

Une nouvelle classe de pyrazole-oxoindole a été synthétisée et étudiée pour son activité antiproliférative sur cellules cancéreuses humaines. Parmi les composés actifs le composé 08[52]. Une série de pyrazolo [1,5-a]pyrazine-4(5H)-ones ont été synthétisées et testées pour déterminer leur capacité à inhiber la croissance des cellules cancéreuses. Les résultats ont montrés que le composé 09 exerçait une bonne activité.

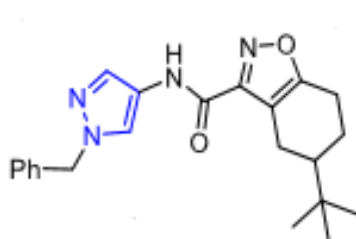
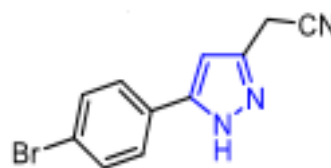


2.2.4 Activité antituberculeuse

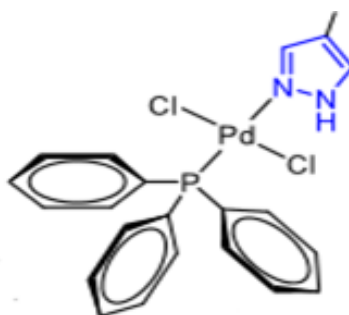
Une série de troissubstitués [5-hydroxy-5-(trifluorométhyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl] (pyridin-4-yl)méthanone ont été synthétisées par Almeida da Silva et al. Et ont été testées pour leur activité antimicrobienne in vitro. Parmi les composés synthétisés, le composé 10 il s'est avéré d'être l'agent le plus actif contre M. tuberculose sensible [53].



Le nouveau composé 11 a affiché une activité maximale [54]. Divers dérivés pyrazolés substitués ont été synthétisés et évalués pour leurs activité anti- antituberculeuse in vitro. Le composé 12 présentait une activité antituberculeuse significative [55].

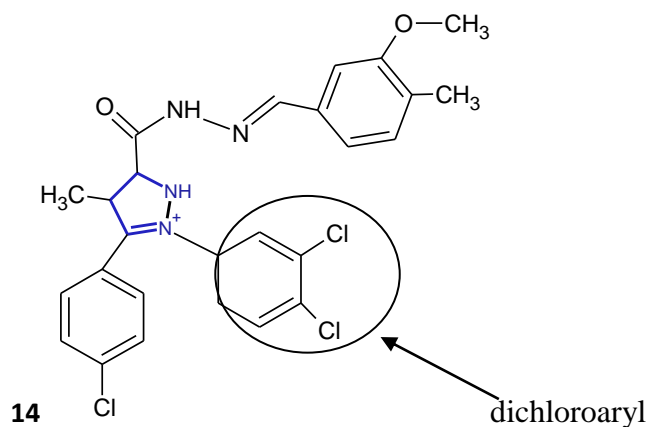
**11****12**

L'évaluation de l'activité antituberculeuse a démontré que le composé 13 affichait une excellente efficacité [56].

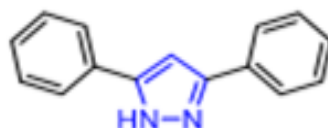
**13**

2.2.5 Activité antidiabétique

Pendant le courant de recherche concernant la synthèse de nouveaux dérivés du 1, 5-dichloroarylpyrazole en tant qu'entités antidiabétiques. Hernández-Vázquez et al. ont synthétisé l'hybride 14, un nouveau composé double qui présentait les deux effets antioxydants antidiabétiques et in vitro. Le produit 14 a un effet anti hyperglycémie [57].

**14**

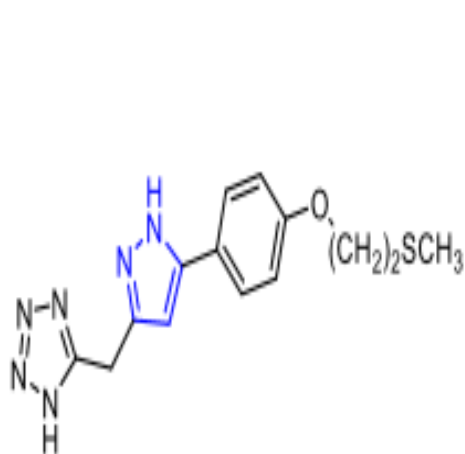
Une nouvelle série de 3,5-diphenyl-1*H*-pyrazolesubstitués a été synthétisée par Cottineau et al. Et évaluée pour leur activité antidiabétique. Les résultats ont indiqué que le composé 15 apparaît comme le meilleur agent hypoglycémique de la série [58].



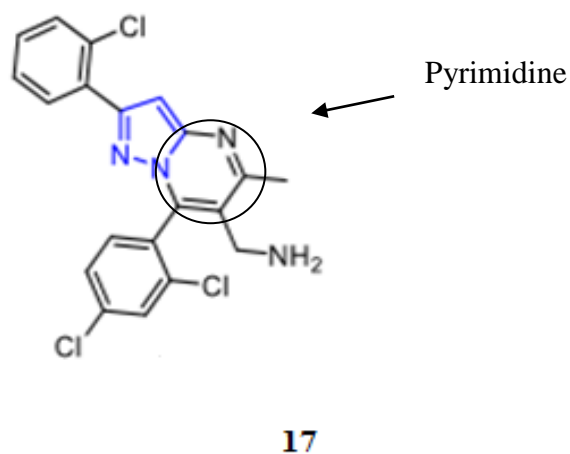
15

Sharon et al. Ont synthétisé une nouvelle série de 5-4-[2(méthylsulfanyl)éthoxy]phenyl-1*H*-pyrazole a été évalué pour leur activité anti-hyperglycémique in vivo. Sur les composés examinés, le composé 6 a montré l'abaissement du glucose à 100 mg/kg [59].

Plusieurs dérivés de pyrazolo pyrimidines ont été synthétisés par Brigance et al. Et évalués comme inhibiteurs de la peptidase-4 dipeptidyle (DPP4). Parmi les composés synthétisés, le composé 17a démontré une excellente sélectivité par rapport à la peptidylpeptidases [60].



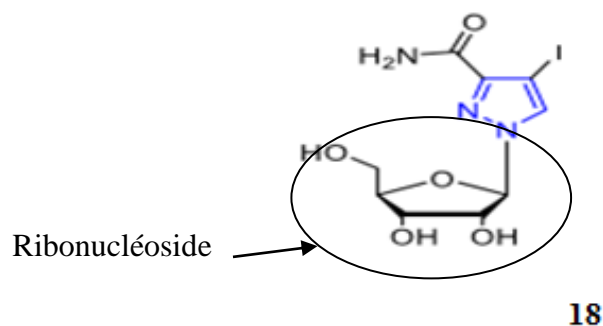
16



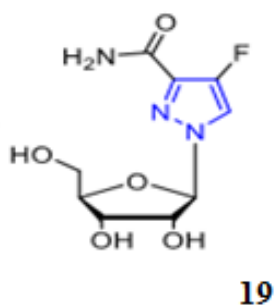
17

2.2.6 Activité antiviral :

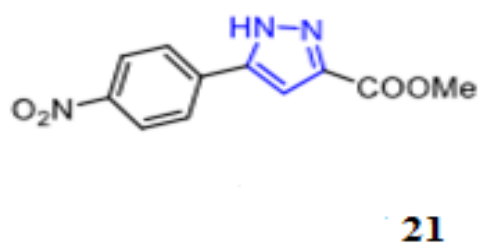
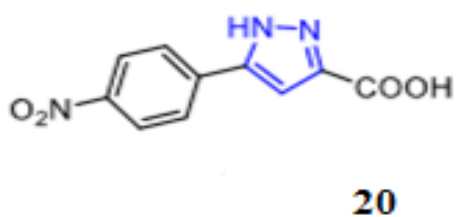
Plusieurs dérivés de ribonucléoside de pyrazole ont été préparés par Manfredini et al. Et testés in vitro pour des activités antivirales, le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV), et le VIH-1. Le nucléoside de pyrazole composé 18 a montré une multiplication sélective et inhibée du VIH-1 dans les cellules gravement infectées. [61]



Un nouveau ribonucléoside fluoropyrazole le composé 19 a été synthétisé et évalué in vitro pour son activité anti-influenza. Il présentait une excellente activité contre la grippe A et B in vitro.[62]

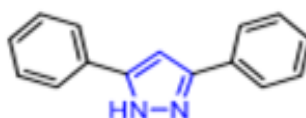


Le meilleur effet antiviral a été démontré par l'acide 5-(4-nitrophényl)-1*H*-pyrazole-3-carboxylique le composé 20 et l'acide 5-(4-nitrophenyl)-1*H*-pyrazole-3-carboxylate de méthyle le composé 21. [63].

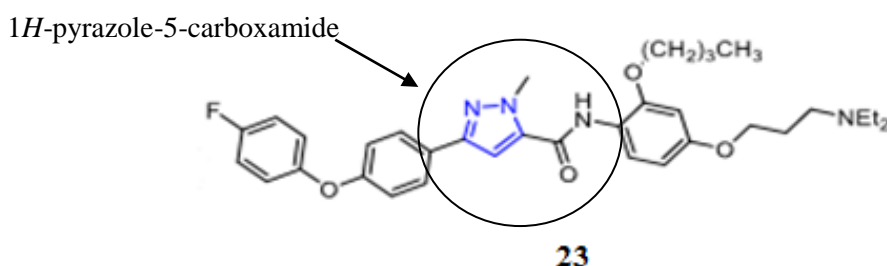


2. 2.7 Activité anti-Alzheimer :

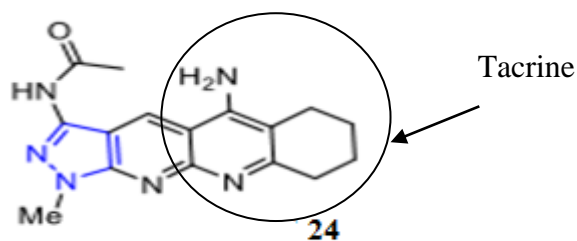
Chimenti et al. Ont préparé une série de pyrazoles 3,5-diaryl et l'ont analysé pour déterminer leurs capacité à inhiber la monoamine oxydase-A (MAO-A) et la monoamine oxydase B (MAO-B) de façon réversible. Plusieurs composés présentent une activité inhibitrice avec des valeurs de concentration dans la gamme nanomolaire. Le composé 22 a montré une bonne activité inhibitrice contre la MAO-A et la MAO-B. [64]

**22**

Dans le but de mettre au point de nouveaux inhibiteurs de récepteurs pour le traitement de la maladie d'Alzheimer, Han et al. Ont synthétisé une série de pyrazole-5-carboxamides et évalué l'activité anti-Alzheimer. Les résultats ont indiqué que les analogues composé 23 les plus actifs présentaient des activités inhibitrices plus élevées, ainsi qu'une solubilité aqueuse favorable [65].

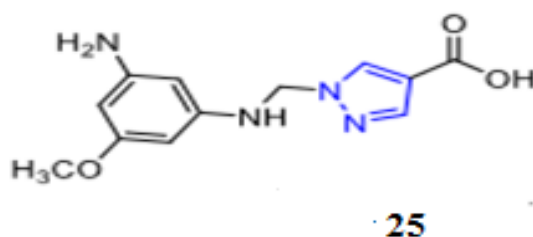
**23**

Une nouvelle série de pyrazolotacrine en tant qu'inhibiteurs de l'acétylcholinestérase a été signalée par Silva et al. Les résultats ont montré que l'analogue le composé 24 était l'inhibiteur le plus puissant de la série, qui inhibait l'enzyme susmentionnée avec une valeur IC50 de 0,069 μ M. [66]

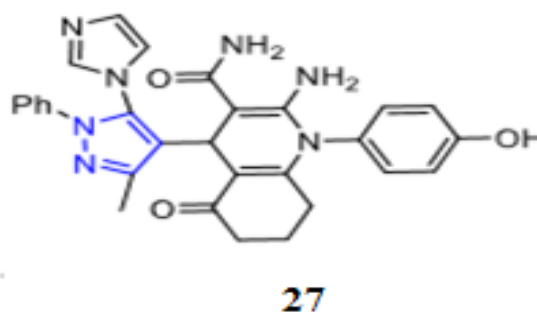
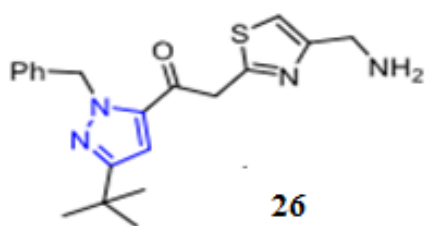


2.2.8 Activité anti-malaria :

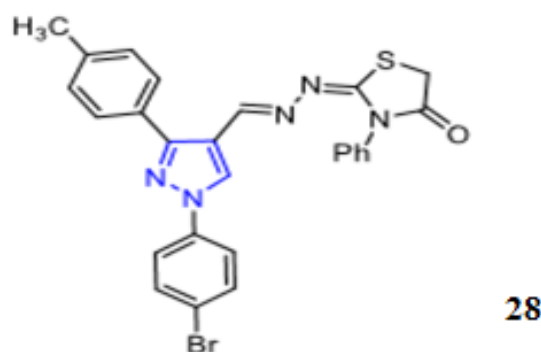
Une série de pyrazoles ont été décrits dans le cadre des efforts déployés pour la synthèse de certains agents antipaludiques puissants. Modification supplémentaire du cycle hétérocyclique pour donner des dérivés aryliques substitués aux dérivés antipaludiques puissants le composé 25. [67]



Le composé 26 a également montré une activité *in vivo* dans le modèle de souris P.berghei [68]. Parmi les composés testés, le composé 27 présentait une excellente activité antipaludique. [69]



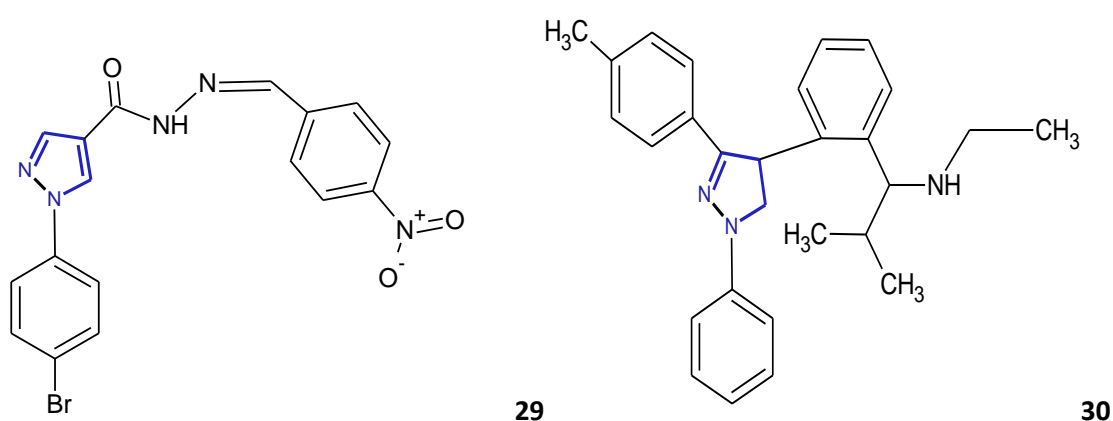
Le composé 28 avait une activité de suppression parasitaire de plus de 90 % de celle du médicament de référence antipaludique, le phosphate de chloroquine, et avait des valeurs IC₅₀ inférieures à celles de la chloroquine. [70]



2.2.9 Activité anti-leishmaniose

Dans le cadre d'un programme d'étude de médicaments anti-Leishmania potentiels. Bernardino et al. ont signalé la synthèse et les activités leishmanicides in vitro de 1H-pyrazole-4-carbohydrazides. Parmi tous les dérivés 1H-pyrazole-4-carbohydrazides, le composé 29a a été trouvé le plus actif contre les espèces *L. amazonensis*, *L. chagasi* et *L. braziliensis*. [71].

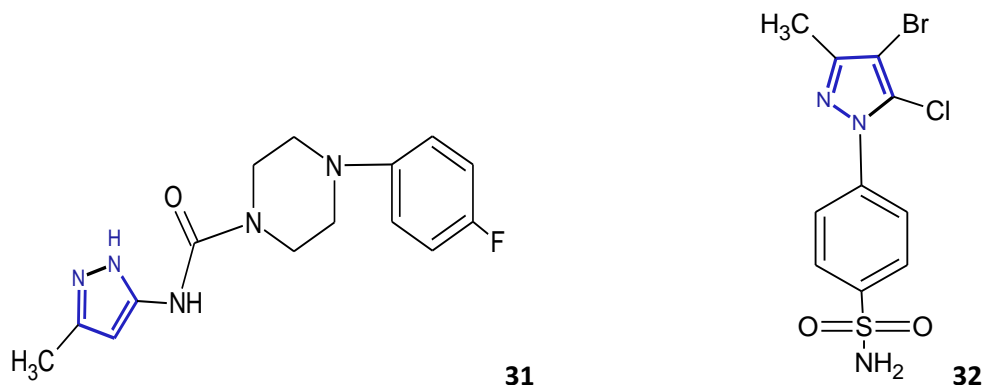
Dardari et al. ont signalé la synthèse et l'activité anti leishmanale d'un nouveau dérivé du pyrazole produit 30. Ce composé a inhibé la multiplication in vitro de *Leishmania* [72].



De plus, le composé 31a a montré des niveaux élevés d'efficacité in vivo supérieure à 90 %, contre *Leishmania infantum*, démontrant ainsi une preuve de concept pour cette série [73].

Une série de 4-(1H-pyrazol-1-yl)-benzènesulfonamides ont été synthétisés et évalués in vitro pour leur profil anti-leishmanial.

Fait intéressant, le composé 32 a montré le meilleur profil actif in vitro contre les formes infectieuses [74].

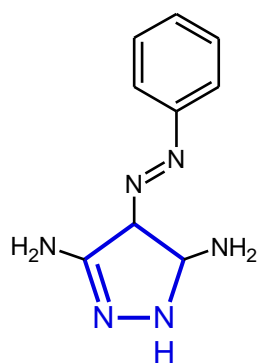


2.2.10 Définition de la maladie de leishmaniose

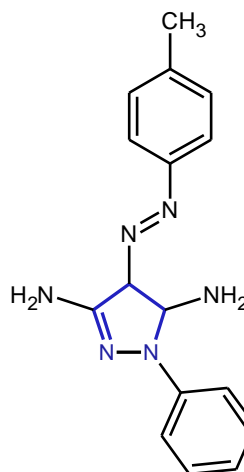
La leishmaniose a été signalée comme l'une des maladies tropicales négligées les plus dangereuses, après le paludisme dans les causes parasitaires de décès. Les gens peuvent transporter certaines espèces de *Leishmania* pendant de longues périodes sans tomber malade, et les symptômes dépendent de la forme de la maladie. Environ 30 espèces différentes de phlébotomes peuvent transmettre ce parasite par leurs piqûres [75]

2.3 Application des dérivés de pyrazoles en formulations :

Les dérivés de pyrazole-1-phényl pyrazole-3,5-diamine, 4-[2-(4-méthylphényl) diazényl] composé 33 et le 1-*H*-pyrazole-3(1),5-diamine, 4-[2-(4-méthylphényl) diazényl] composé 34, ont été synthétisés, caractérisés et encapsulés dans des émulsions liposomales de chitosane pour la finition textile [76].



33



34

Ces composés à base de pyrazole ont été testés pour leur cytotoxicité contre la lignée cellulaire de fibroblastes cutanés et ont montré une toxicité très limitée pour les deux composés. Les potentiels antimicrobiens des tissus de coton traités ont été testés contre les souches bactériennes *E. coli* ATCC 8379 et *Staphylococcus aureus* ATCC [76].

2.4 Conclusion

Cette étude bibliographique est consacrée aux différentes applications pharmacologiques et biologiques des dérivés de pyrazole dans le domaine de santé. Le pyrazole et ses dérivés constituent un domaine précieux pour la découverte de médicaments, et peuvent être facilement préparés grâce aux progrès récents de la chimie médicinale synthétique.

3.1 Introduction :

Dans ce chapitre, nous rapportant en premier lieu les différentes méthodes de synthèse de dérivés de pyrazoles ainsi que leurs différentes méthodes de caractérisations, ensuite on propose une évaluation des activités anti microbienne, anti bactérienne et antifongique en présentant l'utilisation des souches référentielles et enfin on propose quelques méthodes de formulation de l'émulsion anti inflammatoire à partir des produits synthétisés.

3.2 Matériel utilisés

- Les pointes de fusion P_f (°c) sont déterminés à l'aide d'un appareil à plaque chauffante de **FISCHER-JONES** (à lamelles).
- Les spectres infrarouges (IR) sont enregistrés sur un spectromètre à transformateur de Fourier. PARAGON 1000pc.
- Les spectres de résonance magnétique nucléaire(RMN) sont enregistrés sur un spectromètre de la marque BRUKER.AVANCE 300 et 400 MHz

3.3 Produits utilisés

Les produits utilisés dans la synthèse des principes actifs sont résumés dans le tableau suivant.

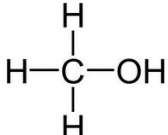
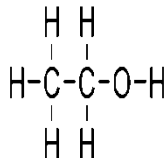
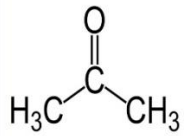
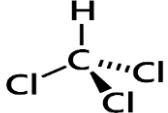
Tableau 3.1 : Produits utilisés lors de la synthèse.

| Produit | Pureté (%) | Fabricant |
|---------------------------------|------------|---------------|
| 2-chloro-3-nitropyridine | 99 | Sigma Aldrich |
| Hydrazine monohydrate | 98 | FLUKA |
| Diméthylacéthylènedicarboxylate | 99 | Sigma Aldrich |
| Diéthylacéthylènedicarboxylate | 99 | Sigma Aldrich |
| Catalyseur Pd/C | 10 | MERCK |

3.4 Les solvants utilisés

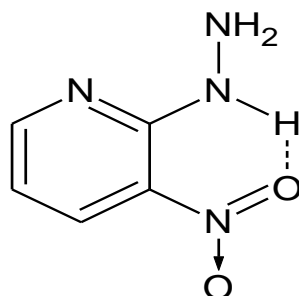
Les solvants utilisés, leurs structures et leurs caractéristiques physico-chimiques sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 3.2 : Caractéristiques physicochimiques des solvants utilisés.

| Solvant | Formule brute | Caractéristiques | Structure chimique |
|-------------|----------------------------------|--|---|
| Méthanol | CH ₃ OH | M=32,04 g/mol Point d'ébullition : 64,7C°. m _v = 792 kg/m ³ Pt = -97,6 C° |  |
| Ethanol | C ₂ H ₅ OH | M= 46, 07 g/mol Point d'ébullition : 78,37C°. m _v = 789 kg/m ³ Pt = -114,1 C° |  |
| Acétone | C ₃ H ₆ O | M= 58,08 g/mol Point d'ébullition : 56C°. m _v = 784 kg/m ³ Pt = -95 C° |  |
| Chloroforme | CHCl ₃ | M=119,38 g/mol Point d'ébullition : 61,2C°. m _v = 1,49 g/cm ³ Pt = -63,5 °C |  |

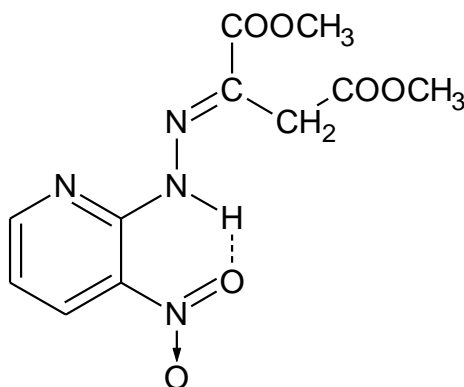
3.5 Synthèse des produits de départ

3.5.1 Préparation de la 2-hydrazino-3-nitropyridine



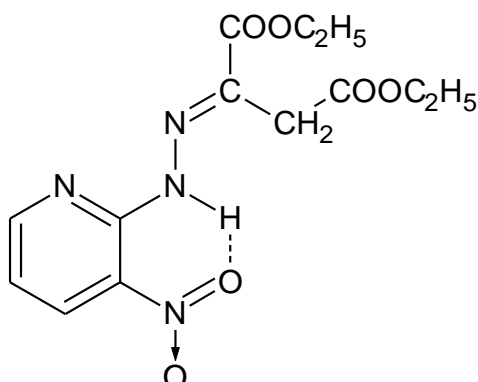
Dans un ballon bicol muni d'un réfrigérant et d'une ampoule à brome on dissout 3 g (0,0186 mole) de 2-chloro-3-nitropyridine dans 30 ml de méthanol et on égoutte 3 ml d'hydrazine monohydrate dissous dans 20 ml de méthanol. Le précipité formé est porté sous reflux pendant quelques instants pour achever la réaction. Après refroidissement à température ambiante, on filtre le précipité formé et on le recristallise dans le méthanol.

3.5.2 Préparation de l'hydrazone (E)-(3-nitro-2-pyridyl)hydrazonoacétate de diméthyle



Dans un erlenmeyer on dissout 3g soit (0,019 mole) de 2-hydrazino-3-nitropyridine dans 50 ml de méthanol et sous agitation on égoutte 3 g de diméthylacéthylènedicarboxylate soit (0,021 mole) dissous dans 10 ml de méthanol. On laisse le mélange réactionnel sous agitation jusqu'à formation d'un précipité. Ce dernier est filtré sous vide et recristallisé dans l'alcool correspondant.

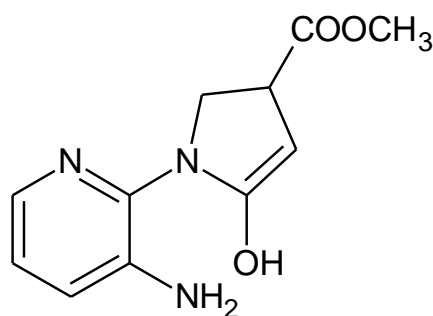
3.5.3 Préparation de l'hydrazone(E)-(3-nitro-2-pyridyl)hydrazonooxaloacétate de diéthyle



Dans diéthylacéthylènedicarboxylate soit (0,021 mole) dissous dans 10 ml d'éthanol. On laisse le mélange réactionnel sous agitation jusqu'à formation d'un précipité. Ce dernier est filtré sous vide et recristallisé dans l'alcool correspondant.

3.5.4 Préparation du dérivé de pyrazoles : 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3-carboxylate de diméthyle

0,003 mole de (E)-3-nitro-2-pyridylhydrazinooxaloacétate de diméthyle est suspendue dans l'alcool correspondant et après ajout de 0,01 g environ de Pd-C comme catalyseur est hydrogéné sous agitation à température ambiante et à pression atmosphérique jusqu'à la fin d'absorption d'hydrogène. Après filtration du catalyseur et évaporation du solvant sous vide dans un évaporateur rotatif, le produit huileux restant dans le ballon se cristallise après quelques instants. Ce dernier est recristallisé dans un peu d'alcool correspondant.



3.6 Caractérisation des produits de synthèse

- **Calcul de rendement**

Le rendement des produits synthétisés est calculé en divisant la masse expérimentale du produit obtenue sur la masse théorique.

$$R\% = \frac{\text{masse expérimentale}}{\text{masse théorique}} \times 100$$

- **Détermination du point de fusion**

C'est la température à laquelle une substance passe de l'état solide à l'état liquide sous la pression atmosphérique. Cette valeur, notée P_f est caractéristique d'un composé et permet d'en vérifier sa pureté, la présence d'impuretés dans le composé entraînant une diminution de la température de fusion.

Ainsi le produit de synthèse doit être sec moulu en poudre fine placé entre deux lamelles en verre est déposé sur une plaque chauffante munie d'un rhéostat et un thermomètre de mesure.

- **Spectrométrie infrarouge (IR)**

L'appareil utilisé est un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier. Pour l'acquisition et le traitement des résultats l'échantillon est analysé sous forme de pastille. Les spectres de transmissions ont été enregistrés dans le domaine correspondant des nombres d'onde compris entre 400 et 4000 cm^{-1} .

- ❖ **Préparation de l'échantillon**

2 mg de produit est mélangé avec 100 mg de dispersif KBr et mis dans un mortier en Agathe. Le mélange est broyé très finement et déposé dans un moule puis soumis à une pression de 8 tonnes pendant 2 à 5 minutes dans une presse pour en faire sortir des pastilles.

- **Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN)**

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) sont enregistrés sur un spectromètre de la marque **BRUKER.AVANCE 300 et 400 MHz**. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm par rapport aux signaux résiduels du diméthyle sulfoxyde deutérié (**DMSO- d_6**).

3.7 Evaluation de l'activité antimicrobienne

Pour notre étude biologique, on devait utiliser les souches référentielles disponibles au niveau du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida. Ces dernières ont été choisis pour leur pouvoir pathogène important les plus répondu sont regroupés dans **le tableau 3.3**

L'activité antimicrobienne des produits synthétisés a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Tableau 3.3 : Souches antimicrobienne utilisées au cours d'évaluation de l'activité antimicrobienne.

| Activité pharmacologique | Micro-organismes | ATCC |
|--------------------------|-----------------------------------|-------|
| Activité antibactérienne | Escherichia coli (Gram-) | 10536 |
| | Pseudomonas eaeruginosa (Gram-) | 9027 |
| | Klebsiellapneumoniae (Gram-) | 1803 |
| | Staphylococcus aureus (Gram+) | 6538 |
| | Bacillus subtilis (Gram +) | 6633 |
| Activité antifongique | Candida albicans (levure) | 10231 |
| | Aspergillus brasilus (moisissure) | |

3.7 Formulation d'une émulsion anti inflammatoire

Il s'agit d'élaborer une émulsion anti-inflammatoire de type E/H présentant une stabilité optimale. La formule qui sert de base au choix des tensioactifs doit être conçue en fonction des propriétés fonctionnelles des ingrédients. Pour choisir le mélange de tensioactifs le plus adapté, le HLB critique d'un des ingrédients de la phase grasse est déterminé. La formule optimale est ensuite établie par calcul. D'autre part, une série d'essais doit permettre d'optimiser les variables de procédé : vitesse, température, ordre d'addition des phases. Les produits proposés pour établir la formulation, sont regroupés dans le **tableau 3.4**.

Tableau3.4 : Les produits proposés en formulation et leurs rôles.

| | Produit | Rôle |
|-----------------------|--|-----------------------------------|
| Phase huileuse | Beurre de karité | Agent hydratante et émollient |
| | Cire d'abeille | Agent émollient |
| | Alcool cétylique | Agent émulsifiant |
| Phase aqueuse | 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3-carboxylate de méthyle | Principe actif |
| | Eau purifié | Base aqueuse |
| | Xanthane | Agent épaississant et émulsifiant |
| | Lécithine | Tensioactif |

Beurre de karité

Le beurre de karité est extrait de l'amande du fruit du karité. Fréquemment utilisé dans l'industrie cosmétique, le beurre de karité est reconnu pour ses propriétés hydratantes et émollientes. En médecine, les crèmes à base de beurre de karité sont recommandées dans les cas d'eczéma, de peaux sèches et de dermatites.

La cire d'abeille

La cire est un ester d'éthylène glycol. Elle sert de facteur de consistance des phases grasses auxquelles elle apporte un caractère occlusif qui réduit la perte en eau de la peau. A faible concentration, elle augmente la consistance des émulsions, à forte concentration, elle stabilise certaines crèmes en leur conférant une grande viscosité, et permet même d'obtenir des préparations de consistance solide. Elle entre dans la composition de certains produits cosmétiques et parapharmaceutiques. [77]

Alcool cétylique

L'alcool cétylique est largement utilisé dans les cosmétiques et les formulations pharmaceutiques comme les suppositoires, les émulsions, les lotions, et les crèmes. Les propriétés émoullientes sont dues à l'absorption et à la rétention de l'alcool cétylique dans l'épiderme. L'alcool cétylique est également utilisé pour ses propriétés d'absorption d'eau dans les émulsions d'eau dans l'huile.

L'alcool cétylique agit comme un émulsifiant faible du type eau-dans-huile, permettant ainsi une réduction de la quantité d'autres agents émulsifiants utilisés dans une formulation. On a également signalé que l'alcool cétylique augmentait la consistance des émulsions eau-huile. [78]

Eau purifiée

C'est le constituant le plus utilisé, pour sa compatibilité, son absence de toxicité, ses propriétés solvants et diluants. Elle doit être distillée et déionisée, car certains ions peuvent causer des effets indésirables :

L'xanthane

La gomme xanthane est largement utilisée dans les formulations pharmaceutiques orales et topiques, les cosmétiques et les aliments comme agent de suspension et de stabilisation. Il est également utilisé comme agent épaississant et émulsifiant. Il est non toxique, compatible avec la plupart des autres ingrédients pharmaceutiques et possède de bonnes propriétés de stabilité et de viscosité sur une large plage de pH et de température.

Lécithine

Les lécithines sont utilisées dans une grande variété d'applications pharmaceutiques, alimentaires, comme agents dispersants, émulsifiants et stabilisants, et sont incluses dans les injections intramusculaires et intraveineuses, les formulations de nutrition parentérale et les produits topiques comme les crèmes et les onguents. Les lécithines sont également utilisées dans les bases de suppositoires pour réduire la fragilité des suppositoires et ont été étudiées pour leurs propriétés d'absorption dans une formulation d'insuline intranasale. Les lécithines sont également couramment utilisées comme composant des formulations de nutrition entérale et parentérale. [78]

3.7.1 Protocole de préparation de l'émulsion

Pour la préparation des émulsions plusieurs protocoles sont proposés ; nous citons dans ce qu'il suit un exemple

Etape 1: Préparation des phases aqueuse et huileuse

Le but de cette étape est de conditionner des phases aqueuse et huileuse avant l'émulsification. La phase huileuse, corps gras parfois pâteux ou même solide, doit être chauffée (entre 70 et 90 °C) afin d'atteindre une viscosité permettant de rendre aisée sa manipulation. Le ou les émulsifiants sont ajoutés durant cette étape. L'opération se déroule dans une cuve agitée munie d'une hélice ou d'une turbine. Pour la phase aqueuse, une turbine ou une hélice peut être utilisée à des températures variant de 30 à 90 °C.

Etape 2 : Mélange et dispersion

La nature de la dispersion créée, dépend de la formulation mais également du mode opératoire et de la façon dont la phase dispersée est introduite dans la phase continue. Cette opération se déroule dans une cuve équipée de mobiles radiaux, dont le rôle consiste en la simple mise en suspension des gouttes, ce qui conduit à une granulométrie relativement élevée (autour de 100 µm). [79]

Etape 3: Homogénéisation

Cette étape est essentielle pour obtenir une émulsion fine et stable. On recherche alors un cisaillement maximal par l'emploi d'une turbine, d'un système rotor-stator (exp : moulin colloïdal), d'un homogénéiseur à haute pression...etc. On peut aussi mettre à profit les phénomènes de cavitation (exemple : ultrasons). [79]

Etape 4: Refroidissement et Finition

Il s'agit d'une étape assez longue ou l'échange thermique constitue souvent le facteur limitant. Le choix du système d'agitation est donc de première importance et la durée de l'étape dépendra de l'efficacité de l'échange thermique. [79]

3.8 Caractérisations physico-chimiques du produit fini

Pour la caractérisation plusieurs paramètres sont à déterminer :

➤ **Propriétés organoleptique**

L'observation macroscopique des émulsions est l'un des tests d'acceptabilité de l'utilisateur. L'examen est pratiqué à l'œil nu sur l'émulsion. Parmi les principaux caractères : la couleur l'aspect physique, la consistance et l'homogénéité de la préparation.

➤ **Le sens d'émulsion**

La méthode aux colorants repose sur le fait qu'une goutte de colorant hydrophile ou lipophile mélangée à une goutte d'émulsion se dissout ou non dans sa phase externe en colorant de façon homogène ou non cette dernière, le colorant utilisé est le bleu de méthylène.

➤ **Examen microscopique**

La microscopie optique est une technique très utile pour l'étude des émulsions, cette méthode permet d'avoir une idée sur la taille des gouttelettes internes souvent de l'ordre d'un micromètre. L'analyse microscopique de l'émulsion formulée s'effectue à l'aide d'un microscope optique.

➤ **Détermination de pH**

La mesure de pH d'émulsion est nécessaire. Elle doit être effectuée à trois reprises en plongeant l'électrode de pH mètre dans la préparation, cette valeur doit se situer entre [5,5- 6] car la peau est légèrement acide, donc cela nous permet de la protéger contre les micro-organismes.

➤ **Contrôle de stabilité**

Une petite quantité d'émulsion doit être introduite dans des tubes à essai, cette dernière doit être soumise à une série de vitesses de centrifugation de 1000 à 4000 tours /minutes pendant 10 minutes.

Après chaque centrifugation, la présence ou non de crémage ou coalescence est notée.

➤ **Etude de viscosité**

Ce test consiste à étudier la variation de la viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement. Les mesures de la viscosité doit être effectuer par un viscosimètre.

3.9 Détermination de l'activité anti-inflammatoire in vivo

L'activité anti-inflammatoire est testée, en provoquant une inflammation locale au niveau de l'oreille de rat.

3.9.1 Principe

Cette technique repose sur la détermination de l'action inhibitrice de notre principe actif sur une inflammation provoquée par une application locale.

3.9.2 Protocole expérimentale

- ✓ Pour notre étude in vivo, il faut utiliser des rats adultes types albinos dont le poids varie entre 180 et 200 g, ces rats ont été élevés à l'animalerie de l'institut Pasteur.
- ✓ Le protocole suivi pour l'induction de l'œdème de la patte des rats est celui décrits par Winter al, (1962).
- ✓ Les traitements et d'eau distillée sont administrés par gavage oral de manière croissante à l'aide d'une sonde de gavage.

4.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous rapportons les résultats obtenues lors de la synthèse des dérivés de pyrazoles, ainsi que leur caractérisation par les différentes méthodes spectroscopiques. Une étude de l'activité anti-microbienne et anti-inflammatoire des produits synthétisés a été programmée mais suite au confinement imposé à cause de la pandémie du Covid-19 le travail n'a pas été réalisé.

4.2 Synthèse de la 2-hydrazino-3-nitropyridine

La 2-hydrazino-3-nitropyridine **1** est accessible à partir de la 2-chloro-3-nitropyridine par une réaction de substitution nucléophile. Dans la 2-chloro-3-nitropyridine l'atome de chlore est facilement substitué à froid par l'hydrazine en un mécanisme en deux étapes (addition/élimination).

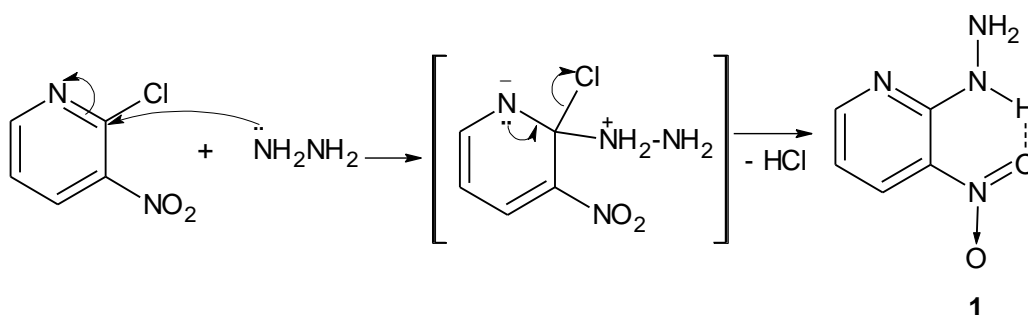


Figure 4.1 : Mécanisme réactionnel de la synthèse de la 2-hydrazino-3-nitropyridine.

Le spectre IR (figure 4.2) montre la présence de deux modes vibrationnels d'élongation à 3298 et 3197 cm^{-1} et du groupement NH_2 . A 1609 apparaissent les bandes d'absorptions caractéristiques du groupement NO_2 .

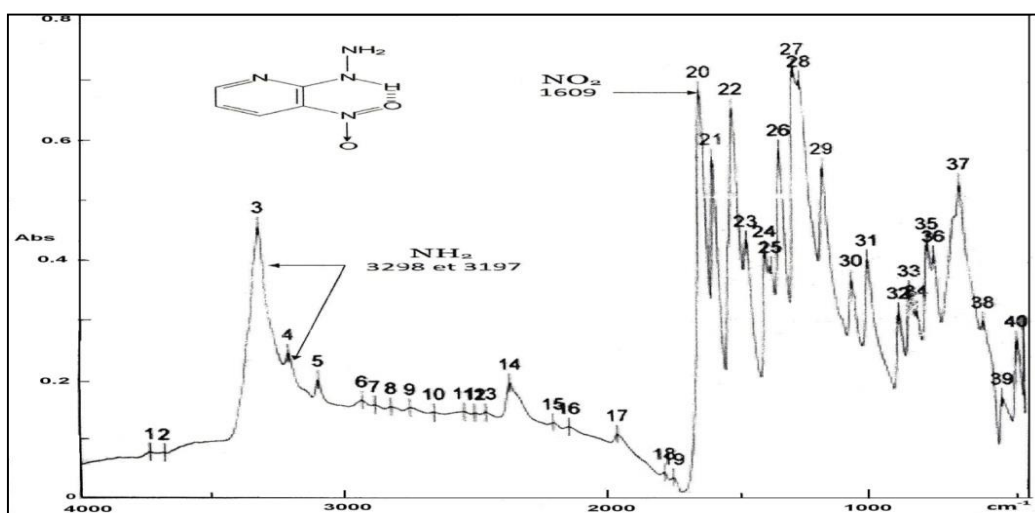


Figure 4.2 : Spectre IR de la 2-hydrazino-3-nitropyridine

Nous avons obtenu le produit **1** dont :

- Formule brute : $C_5H_6N_4O_2$
- Aspect : cristaux orange
- $M = 154 \text{ g/mol}$
- $P_f \text{ mesuré} = 177 - 178 \text{ C}^\circ$
- $R\% = 89 \%$

4.3 Synthèse des hydrazones (E)-(3-nitro-2-pyridyl) hydrazonooxaloacétate de dialkyle :

Les hydrazones des esters de l'acide oxaloacétique **2** et **3** sont accessibles à partir de l'addition nucléophile de la 2-hydrazino-3-nitropyridine sur l'acétylène dicarboxylate de méthyle et d'éthyle (**figure 4.3**).

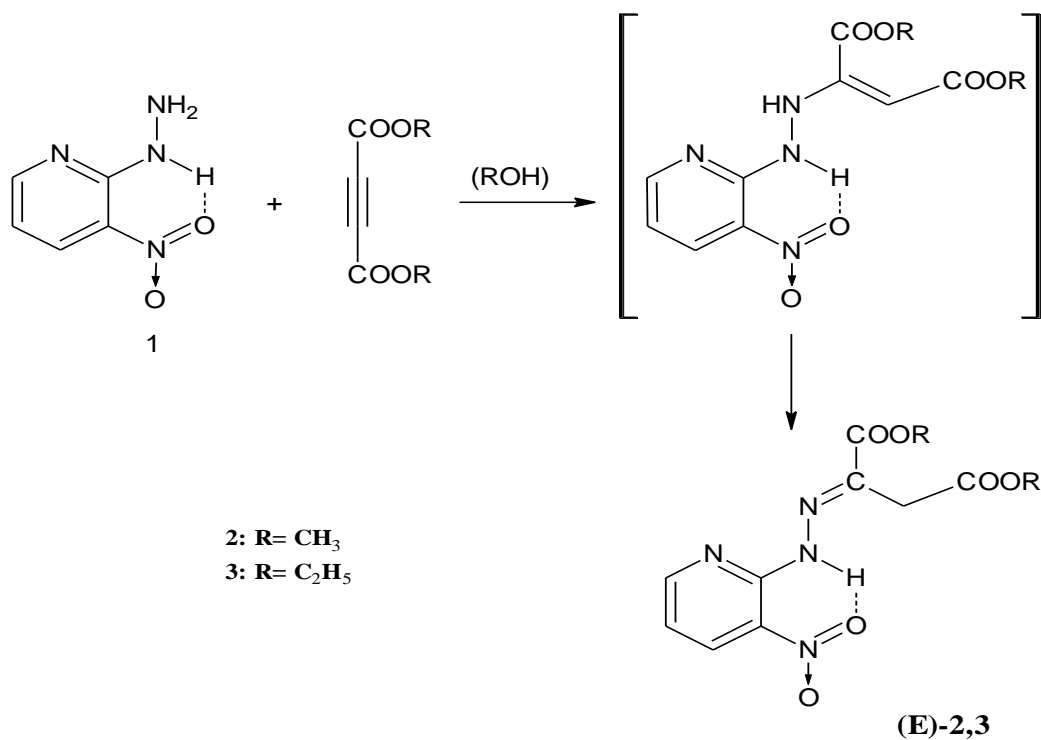


Figure 4.3 : Synthèse des hydrazones (E)-(3-nitro-2-pyridyl)hydrazonooxaloacétate de dialkyle

Une addition nucléophile est plus accessible, du fait de la polarité du groupement carbonyle, la densité électronique des électrons π dans la triple liaison $C\equiv C$ est réduite. La charge partielle positive de l'atome de carbone du groupement $C=O$ se transmettra sur l'atome voisin, ce qui entraînera la délocalisation des électrons π dans tout le système insaturé (**Figure 4.4**).

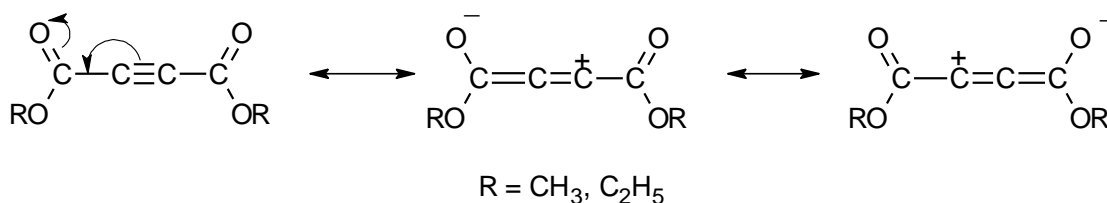


Figure 4.4 délocalisation des électrons π dans la molécule de l'acétylène

Les spectres IR (**figure 4.5 et 4.6**) montrent une absorption du groupement carbonyle à 1750 et 1711 cm^{-1} respectivement 1725 cm^{-1} . A 1597 et 1588 cm^{-1} respectivement apparaissent les bandes d'absorptions caractéristiques du groupement NO_2 . A 3313 et 3308 cm^{-1} respectivement apparaissent deux modes vibrationnels d'élongation des liens NH.

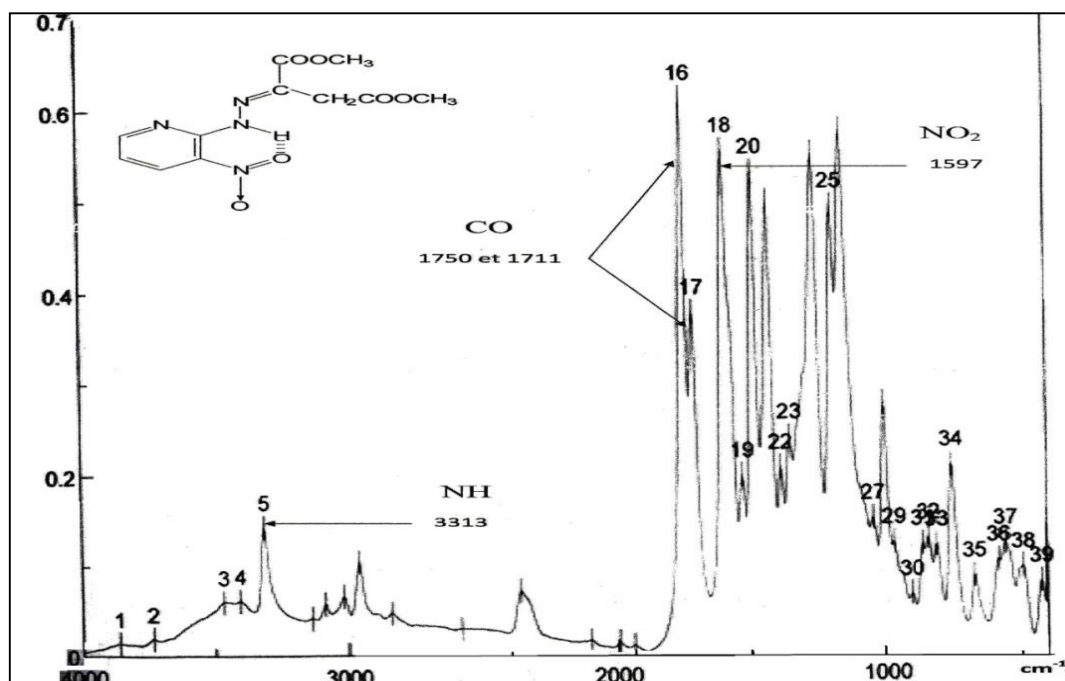


Figure 4.5 : Spectre IR de (E)-3-nitro-2-pyridylhydrazonoacétate de méthyle

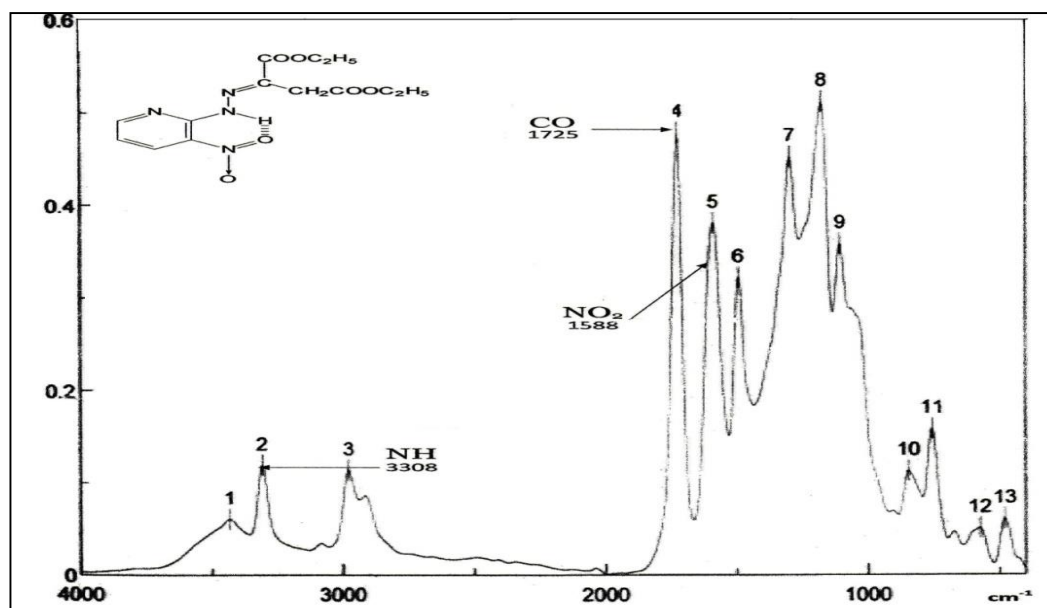


Figure 4.6 : Spectre IR de (E)-3-nitro-2-pyridylhydrazone-oxaloacétate d'éthyle

Nous avons obtenu les produits **2** et **3** respectivement dont :

Produit 2

- Formule brute : $C_{11}H_{12}N_6O_4$
- Aspect : des cristaux jaunes

- $M = 296 \text{ g/mol}$
- $P_{f \text{ mesuré}} = 118\text{-}123 \text{ C}^\circ$
- $R\% = 98.68\%$

Produit 3

- Formule brute : $C_{13}H_{14}N_6O_4$
- Aspect : des cristaux jaunes :

- $M = 324 \text{ g/mol}$
- $P_{f \text{ mesuré}} = 108\text{-}110 \text{ C}^\circ$
- $R\% = 90\%$

Ces hydrazones (E) **2,3** se diffèrent nettement par leurs points de fusion.

4.4 Cyclisation réductive de (E)-(3-nitro-2-pyridyl) hydrazonooxaloacétate de diméthyle :

La cyclisation réductive a eu lieu par hydrogénation catalytique de (E)-(3-nitro-2-pyridyl) hydrazones **2**. Après réduction du groupement nitro, attracteur d'électrons, au groupement amino, donneur d'électrons, le noyau pyridinique s'enrichit en densité électronique. De ce fait le doublet libre sur l'atome d'azote NH sera plus disponible et il s'ensuivrait une attaque nucléophile sur l'atome de carbone approprié avec élimination d'alcool mènerait au dérivé pyrazole 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3-carboxylate de méthyle **4**

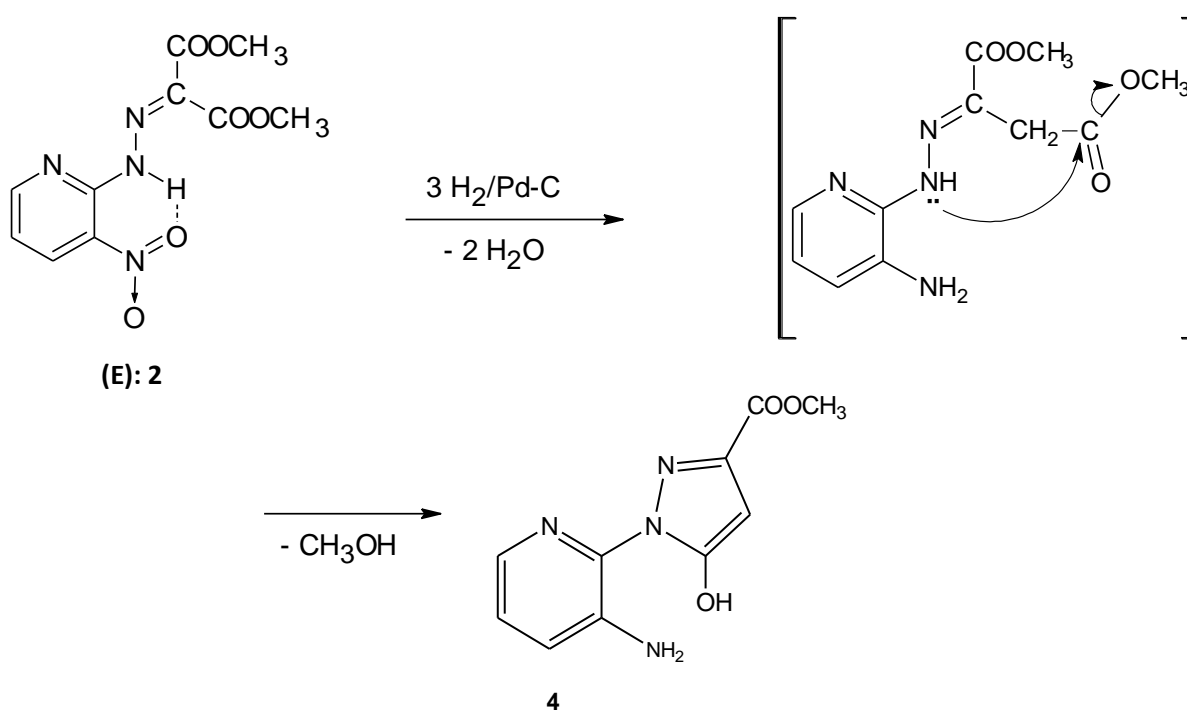


Figure 4.7 : Mécanisme réactionnel de la cyclisation réductive éventuelle menant aux dérivés **4**.

La structure de composé **4** a été déterminée par les méthodes spectroscopiques IR. Le spectre (**figure 4.8**) montre seulement une absorption du groupement carbonyle à 1707 cm^{-1} et le mode vibrationnel d'élongation du lien NH_2 à 3437 et 3326 cm^{-1} .

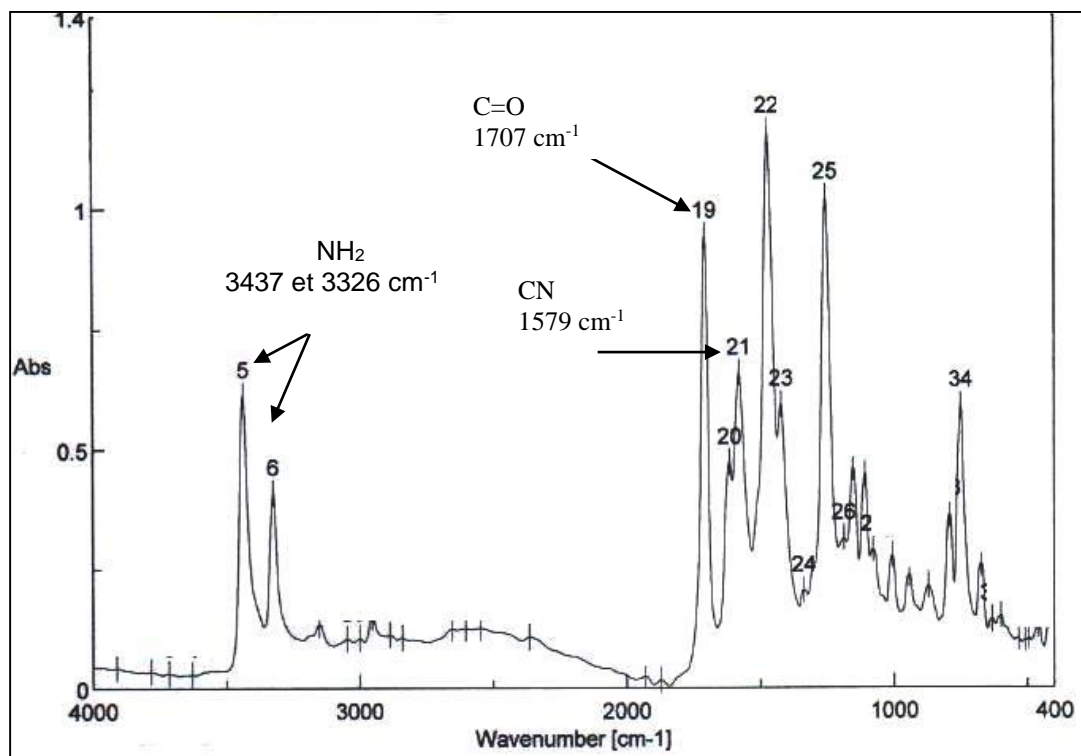


Figure 4.8 : Spectre IR de 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3-carboxylate de méthyle

Le spectre ¹H-RMN, pris dans le DMSO-d₆, (**figure 4.9**) montre à 3,78 ppm un singulet pour le groupement méthoxy. A 5,97 ppm apparaît un singulet du proton oléfinique du composé **4**. Entre 7,19 et 7,73 ppm se trouvent les protons aromatiques du composé **4**. Les protons du groupement NH_2 se trouvent à 3,20 ppm du composé **4**.

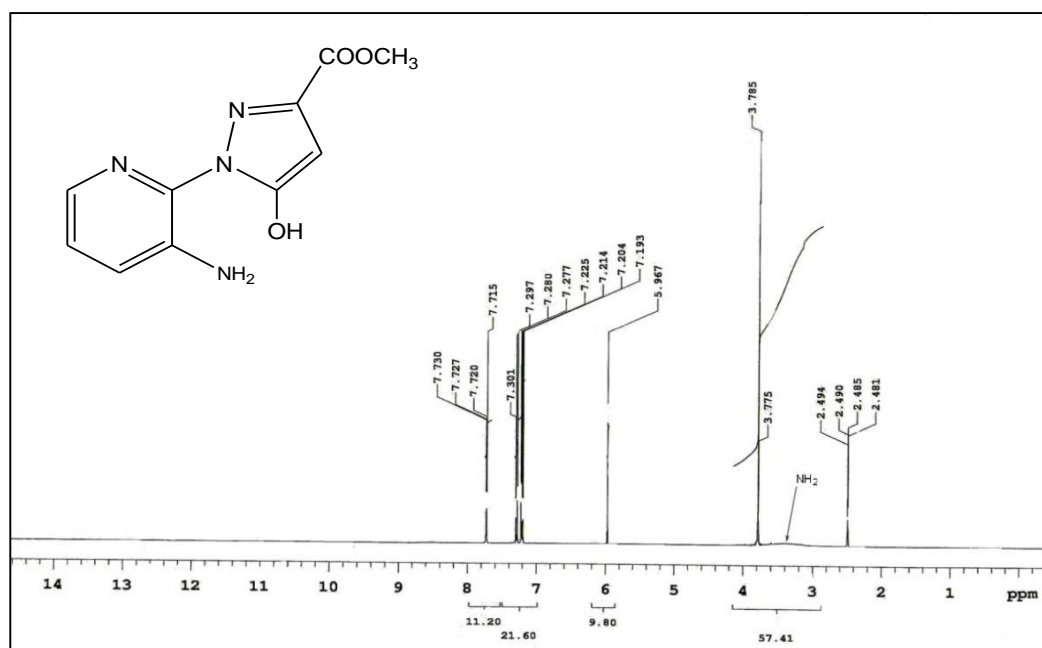


Figure 4.9 : Spectre ¹H-RMN de 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3-carboxylate de méthyle

Dans le spectre ¹³C-RMN, pris dans le DMSO-d₆, (figures 4.10) apparaissent 10 signaux dans leurs domaines d'apparition.

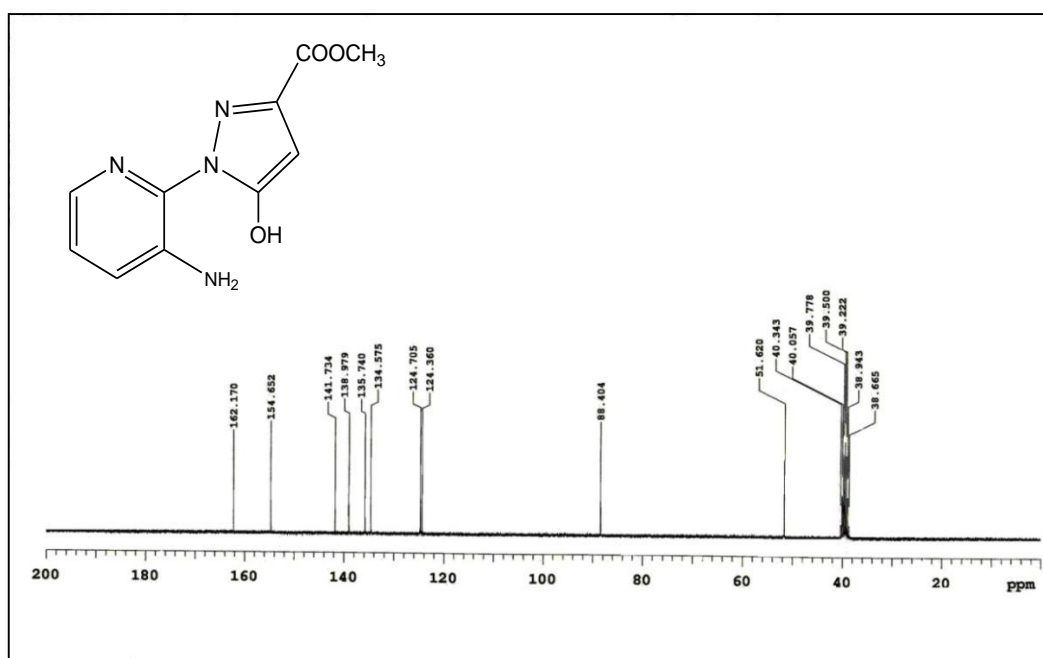


Figure 4.10 : Spectre ¹³C-RMN de 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3-carboxylate de méthyle

Nous avons obtenu les dérivé de pyrazoles **4** dont :

- $C_{10}H_{10}O_3N_4$
- Cristaux jaunes
- $M = 234 \text{ g/mol}$
- $P_f \text{ mesuré} = 208-210 \text{ C}^\circ$
- $R = 42 \%$

CONCLUSION

La chimie des pyrazoles a gagné de plus en plus d'attention en raison de ses diverses propriétés pharmacologiques telles que les antiviraux, les antimicrobiens, les anticancéreux, les anti-inflammatoires, les analgésiques, les activités herbicides, acaricides et insecticides.

Dans cette étude nous avons cherchées à optimiser une formulation d'une émulsion pharmaceutique à base des molécules bioactives les dérivés de pyrazoles : le 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3- carboxylate de méthyle et 1-(3-amino-2-pyridyl) 5-oxo-4, 5 dihydro-1H pyrazol -3- carboxylate d'éthyle

Nous avons préparé les hydrazones E-(3-nitro-2-pyridyl)hydrazones des esters diméthyliques et diéthyliques qui se différencient nettement par leurs points de fusion. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier nous a permis d'identifier les groupements fonctionnels caractéristiques de ces hydrazones

Ils ont montré une absorption du groupement carbonyle à 1750 et 1711 cm^{-1} pour l'hydrazone (E)-(3-nitro-2-pyridyl)hydrazono oxaloacétate de diméthyle respectivement à 1725 cm^{-1} pour l'hydrazone (E)-(3-nitro-2-pyridyl) hydrazono oxaloacétate de diéthyle

La réduction par hydrogénation catalytique de (E)-(3-nitro-2-pyridyl)hydrazono oxaloacétate de diméthyle aboutit à une cyclisation spontanée au 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3- carboxylate de méthyle. Après réduction du groupement nitro au groupement amino une attaque nucléophile du groupement amino sur le groupement carbonyle se trouvant en position favorable conduit à la cyclisation réductive

Le spectre infrarouge montre seulement une absorption du groupement carbonyle à 1707 cm^{-1} et le mode vibrationnel d'élongation du lien NH_2 à 3437 et 3326 cm^{-1} .

Dans les spectres ^1H -RMN et ^{13}C -RMN, pris dans le DMSO- d_6 apparaissent les signaux dans leurs domaines d'apparition

Recommandations : à cause de la crise sanitaire de covid 19 nous n'avons pas pu malheureusement finaliser ce travail de recherche pour le finaliser on doit :

- Tester les produits synthétisés sur des souches anti-bactérienne et anti-fongiques normalisées.

- Optimiser une formulation d'une émulsion anti-inflammatoire à base du principe actif considéré le 1-(3-amino-2-pyridyl)-5-hydroxy-1H-pyrazole-3- carboxylate de méthyle.
- élaborer une préparation à utilisation cutanée de type E/H présentant une stabilité optimale par un choix de tensioactif et des excipients compatibles avec le principe actif proposé
- Le produit fini formulé doit être caractérisé par des analyses physico-chimiques (mesure de pH, analyse du sens de l'émulsion, étude microscopique, contrôle de stabilité et l'étude de viscosité de l'émulsion), pour déterminer la stabilité optimale de l'émulsion.
- L'efficacité de l'activité anti-inflammatoire du produit fini doit être déterminée par une étude toxicologique.
- Le pyrazole obtenu est fonctionnalisé et peuvent s'apprêter à quelques réactions en vue de le cycliser en d'autres hétérocycles. Ils représentent donc un composé de départ pour la poursuite de ce travail en vue d'obtenir de nouveaux systèmes d'hétérocycles azotés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Nagaraju Kerru, Lalitha Gummidi, Suresh Maddila, Kranthi Kumar Gangu and Sreekantha B. Jonnalagadda , A Review on Recent Advances in Nitrogen-Containing Molecules and Their Biological Applications, *Molecules* 2020, 25, 1909
- [2]. Anam Ansari, Abad Ali, Mohd Asif and Shamsuzzaman, Review: biologically active pyrazole derivatives, *New J. Chem.*, 2017, 41, 16-41
- [3]. H. Berrie, G. T. Newbold, F. S. Spring, *J. Chem. Soc.*, 1952, 2042.
- [4]. J. C. E. Simpson, *Chem. Soc.* 1945, 646.
- [5]. C. M. Suter, *J. Chem. Soc.* 1929, 2581.
- [6]. N. J. Leonard, S. N. Boyd, *J. Org. Chem.* 11, 405, 1946.
- [7]. L51. C. King, M. McWhiter, D. M. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* 67, 2089, 1945.
- [8]. G. R. Ramage, G. Trappe, *J. Chem. Soc.* 4406, 1952.
- [9]. K. Fleischer, K. Schranz, 1922, *B.* 55, 3253.
- [10]. H. H. Hodgson, E. R. Ward, *J. Chem. Soc.* 1947, 327.
- [11]. J. R. Sampey, E. E. Reid, *J. Am. Chem. Soc.* 1947, 69, 712.
- [12]. W. E. Kuhs, *Organic. Synthesis*. 1943, Vol. II, 447.
- [13]. N. A. Silk, C. N. Martin, *J. Chem. Res. (S)* 1987, 247.
- [14]. G. Just, Z. Y. Wang, L. Chan, *J. Org. Chem.*, 1988, 53, 1030.
- [15]. B. Kohne, K. Praefcke, *Liebigs Ann. Chem.* 1987, 265.
- [16]. J. George, S. Chandrasekaran, *Synthesis. Commun.* 1983, 13, 495.
- [17]. R. A. Johnstone, A. H. Wilby, D. Entwistle, *Chem. Rev.* 1985, 85, 129.
- [18]. S. Ram, R. E. Ehrenkauf, *Synthesis.* 1988, 91.
- [19]. R. A. Rampulla, R. K. Russel, *Synthesis. Commun.* 1986, 16, 1229.
- [20]. J. G. Westra, *Carcinogenesis.* 1981, 2, 355.

- [21]. C. S. Rondestvedt, T. A. Johnson, *Synthesis*, 1977, 850.
- [22]. M. Petrini, R. Ballini, G. Rosini, *Synthesis*. 1987, 713.
- [23]. R. T. Coutts, *J. Chem. Soc.* 1969, 713.
- [24]. A. A. Banerjee, D. Mukesh, *J. Chem. Commun.* 1988, 1275.
- [25]. S. Ram, R. E. Ehrenkauffer, *Tetrahedron Lett.* 25. 1984, 3415.
- [26]. S. Ram, R. E. Ehrenkauffer, *Synthesis*. 1986, 133.
- [27]. Alan R. Katritzky, Christopher A. Ramsden, John A. Joule, Viktor V. Zhdankin, *Handbook of Heterocyclic Chemistry (Third Edition)* 2010, Pages 473-604
- [28]. Kazumi Okuro, Joanna Gurnham, Howard Alper, *Tetrahedron Letters*, Volume 53, Issue 6, 8 February 2012, Pages 620–622.
- [29]. Jens Schoene, Hassen Bel Abed, Mathias Christmann, Marc Nazaré, *Tetrahedron Letters* online 11 March 2017.
- [30]. Tz-Yi Wu, Sandip Dhole, Manikandan Selvaraju, and Chung-Ming Sun *American Chemical Society*. 2018, 20, 156–163
- [31]. Fang. Sun, Xian. Feng, Xuan. Zhao, Zhi-Bin. Huang, Da-Qing. Shi, *Tetrahedron*, May 2012, vol 68, Issue 20, 3851-3855.
- [32]. A. A. Prokopov and Yakhontov, *Khimiya Geterotsiklicheskhikh Soedinenii*, 11, 1531, 1977.
- [33]. Meng-Yang. Chang, Yi-Chia. Chen, Chieh-Kai. Chan, *Tetrahedron Letters*, March 2014, vol 55, 2876 – 2878.
- [34]. Li-Ping Duan, Qiang Li, Ning-Bo Wu, Dong-Fang Xu, Hao-Bing Zhang, *Chinese Chemical Letters*, Volume 25, Issue 1, January 2014, Pages 155–158
- [35]. Zhi Hua Cui, Xi Dong Wang, Jiang Chao Guo, Wei Guo Chen *Chinese, J. Chemical Letters*. (2012), 1019–1022.
- [36]. Hossein. Naeimi, Nasrin. Alishahi, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, July 2014, vol 20, Issue 4, 2543-2547.
- [37]. Kumar. Vasantha, Guru. Basavarajaswamy, M. Vaishali. Rai, Poojary. Boja, Vinitha R. Pai, N. Shruthi Mahima Bhat, *Bioorganic et Medicinal Chemistry Letters*, April 2015, vol 25, Issue 7, 1420-1426.

- [38]. Wei.Lin, Ming-HuaHu, XianFeng, Cheng-PaoCao, Zhi-BinHuang, Da-QingShi, *Tetrahedron*, August 2013 , vol 69, Issue 32, 6721-6726.
- [39]. Li-Ping Duan, Qiang Li, Ning-Bo Wu, Dong-Fang Xu, Hao-Bing Zhang, *Chinese Chemical Letters*, January 2014, vol 25, Issue 1, 155-158.
- [40]. TkachenkoYu.N, Tsupark E.B. and Pozharkii, A.F, *Chemistry of heterocyclic Compounds*, 2000, Vol 36, N°3, 307.
- [41]. Maxim G.Uchuskin, Natalia V.Molodtsova, Vladimir T.Abaev, Igor V.Trushkov, Alexander V. Butin, *J.Tetrahedron*, 2012, vol 68, 4252-4258.
- [42]. Hubbard J.W, Piegols A.M and Söderberg B.C.G, *Tetrahedron*, 2007, vol 63, 7077.
- [43]. Chen. B, C.Hynes, J.Jr.Pandit, C.R. Zhao, R.Skoumbourdis, A.P.Wu, H. Sundeen, J.E and Leftheris. K, *Heterocycles*, 2001, vol 55, 951-960.
- [44]. *Synthesis and Pharmacological Activities of Pyrazole Derivatives: A Review*
- [45]. Karrouchi, K. Chemlal, L. Doudach, L. Taoufik, J. Cherrah, Y. Radi, S. Fouzi, M.A. Ansar, M. *Synthesis, anti-inflammatory and antioxidant activities of some new pyrazole derivatives. J. Pharm. Res*, 2014, 8, 1171–1177
- [46]. Sharma, P.K. Kumar, S. Kumar, P. Kaushik, P. Kaushik, D. Dhingra, Y. *Synthesis and biological evaluation of some pyrazoly 1-pyrazolines as anti-inflammatory–antimicrobial agents. Eur. J. Med. Chem.* 2010, 45, 2650–2655.
- [47]. Alegaon, S.G. Alagawadi, K.R. Garg, M.K. Dushyant, K. Vinod, D. *1,3,4-Trisubstituted pyrazole analogues as promising anti-inflammatory agents. Bioorg. Chem.* 2014, 54, 51–59.
- [48]. Prasath, R. Bhavana, P. Sarveswari, S. Ng, S.W. Tiekink, E.R.T. *Efficient ultrasound assisted synthesis, spectroscopic, crystallographic and biological investigations of pyrazole-appended quinolinyl chalcones. J. Mol. Struct.* 2015, 1081, 201–210.
- [49]. M. El-Hashash, D. Guirguis, N. Abd El-Wahed, M. Kadhim, *Synthesis of novel series of phthalazine derivatives with antibacterial and antifungal evaluation, Journal of Chemical Engineering & Process Technology*, 2014, 5 (195), 72-78.
- [50]. Nitulescu, G.M. Draghici, C. Missir, A.V. *Synthesis of new pyrazole derivatives and their anticancer evaluation. Eur. J. Med. Chem.* 2010, 45, 4914–4919.

- [51]. Bandgar, B.P. Totre, J.V. Gawande, S.S. Khobragade, C.N. Warangkar, S.C. Kadam, P.D. Synthesis of novel 3,5-diaryl pyrazole derivatives using combinatorial chemistry as inhibitors of tyrosinase as well as potent anticancer, anti-inflammatory agents. *Bioorg. Med. Chem.* 2010, 18, 6149–6155.
- [52]. Kamal, A. Shaik, A.B. Jain, N. Kishor, C. Nagabhushana, A. Supriya, B. Kumar, G.B. Chourasiya, S.S. Suresh, Y. Mishra, R.K. Anthony Addlagatta. Design and synthesis of pyrazole–oxindole conjugate targeting tubulin polymerization as new anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2015, 92, 501–513.
- [54]. M.S. Murty, B. Rao, K. Ram, J.S. Yadav, J. Antony, et al., Synthesis and preliminary evaluation activity studies of novel 4-(aryl/heteroaryl-2-ylmethyl)-6-phenyl-2-[3-(4-substituted-piperazine-1-yl)propyl]pyridazin-3(2H)-one derivatives as anticancer agents, *Medicinal Chemistry Research*, 2012, 21(10), 3161-3169.
- [53]. Almeida, P.E. Ramos, D.F. Bonacorso, H.G. de la Iglesia, A.I. Oliveira, M.R. Coelho, T. Synthesis and invitro antimycobacterial activity of 3-substituted 5-hydroxy-5-trifluoro[chloro]methyl-4,5-dihydro-1H-1-(isonicotinoyl) pyrazoles. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2008, 32, 139–144.
- [54]. Velaparthi, S. Brunsteiner, M. Uddin, R. Wan, B. Franzblau, S.G. Petukhov, P.A. 5-tert-Butyl-Npyrazol-4-yl-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[d]isoxazole-3-carboxamide derivatives as novel potent inhibitors of Mycobacterium tuberculosis pantothenate synthetase: Initiating a quest for new antitubercular drugs. *J. Med. Chem.* 2008, 51, 1999–2002.
- [55]. Maurya, H.K. Verma, R. Alam, S. Pandey, S. Pathak, V. Sharma, S. Srivastava, K.K. Negi, A.S. Gupta, A. Studies on substituted benzoquinazolines, benzoindazoles, pyrazoles, 2,6-diarylpyridines as anti-tubercular agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013, 23, 5844–5849.
- [56]. Da Silva, C. Ribeiro, L.B. Furuno, C.C. da Cunha, G.A. de Souza, R.F. Netto, A.V. Mauro, A.E. Frem, R.C. Fernandes, J.A. Paz, F.A.A. Pyrazolyl Pd (II) complexes containing triphenylphosphine: Synthesis and antimycobacterial activity. *Polyhedron* 2015, 100, 10–16.
- [57]. Hernández Vázquez, E. Ocampo Montalban, H. Cerón Romero, L. Cruz, M. Gómez-Zamudio, J. Hiriart Valencia, G. Villalobos Molina, R. Flores Flores, A. Estrada Soto, S.

Antidiabetic, anti-dyslipidemic and toxicity profile of ENV-2: A potent pyrazole derivative against diabetes and related diseases. *Eur. J. Pharmacol.* 2017, 803, 159–166.

[58]. Cottineau, B. Toto, P. Marot, C.Pipaud, A. Chenault, J. Synthesis and hypoglycemic evaluation of substituted pyrazole-4-carboxylic acids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002, 12, 2105–2108.

[59]. Brigance, R.P. Meng, W. Fura, A.Harrity, T. Wang, A. Zahler, R. Kirby, M.S. Hamann, L.G. Synthesis and SAR of azolopyrimidines as potent and selective dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) inhibitors for type 2diabetes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 20, 4395–4398.

[60]. Sharon, A. Pratap, R.Tiwari, P. Srivastava, A.Maulik, P.R. Ram, V.J. Synthesis and in vivoantihyperglycemic activity of 5-(1H-pyrazol-3-yl) methyl-1H-tetrazoles. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 2115–2117.

[61]. Manfredini, S. Bazzanini, R. Baraldi, P.G. Guarneri, M. Simoni, D. Marongiu, M.E. Pani, A. La Colla, P. Tramontano, E. Pyrazole-related nucleosides. Synthesis and antiviral/antitumor activity of somesubstituted pyrazole and pyrazolo[4,3-d]-1,2,3-triazin-4-one nucleosides. *J. Med. Chem.* 1992, 35, 917–924.

[62]. Storer, R. Ashton, C.J. Baxter, A.D. Hann, M.M. Marr, C.L.P. Mason, A.M. Mo, C.L. Myers, P.L.Noble, S.A.Penn, C.R.et al. The Synthesis and Antiviral Activity of 4-Fluoro-1-β-Dribofuranosyl-1H-pyrazole-3-carboxamide. *Nucleosides Nucleotides* 1999, 18, 203–216.

[63]. Zeng, L.F. Zhang, H.S. Wang, Y.H. Sanchez, T. Zheng, Y.T. Neamati, N. Long, Y.Q. Efficient synthesis and utilization of phenyl-substituted heteroaromatic carboxylic acids as aryl diketo acidisosteres in the design of novel HIV-1 integrase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 4521–4524.

[64]. Chimenti, F. Fioravanti, R. Bolasco, A. Manna, F. Chimenti, P. Secci, D. Befani, O. Turini, P. Ortuso, F. Alcaro, S. Monoamine Oxidase IsoformDependent Tautomeric Influence in the Recognition of 3,5-Diaryl Pyrazole Inhibitors. *J. Med. Chem.* 2007, 50, 425–428.

[65]. Han, Y.T. Kim, K. Choi, G.I. An, H. Son, D. Kim, H. Ha, H.J. Son, J.H. Chung, S.J. Park, H.J.Pyrazole-5-carboxamides, novel inhibitors of receptor for advanced glycation end products (RAGE). *Eur.J. Med. Chem.* 2014, 79, 128–142.

- [66]. Silva, D. Chioua, M. Samadi, A. Carreiras, M.C. Jimeno, M.L. Mendes, E. de los Ríos, C. Romero, A. Villarroya, M. López, M.G. Synthesis and pharmacological assessment of diversely substituted pyrazolo[3,4-b]quinoline, and benzo[b]pyrazolo[4,3-g][1,8]naphthyridine derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 2011, 46, 4676–4681.
- [67]. Domínguez, J.N. Charris, J.E. Caparelli, M. Riggione, F. Synthesis and antimalarial activity of substituted pyrazole derivatives. *Arzneimittel-Forschung* 2002, 52, 482–488.
- [68]. González Cabrera, D. Douelle, F. Feng, T.S. Nchinda, A.T. Younis, Y. White, K.L. Wu, Q. Ryan, E. Burrows, J.N. Waterson, D. Novel orally active antimalarial thiazoles. *J. Med. Chem.* 2011, 54, 7713–7719.
- [69]. Kalaria, P.N. Sataia, S.P. Raval, D.K. Synthesis, characterization and pharmacological screening of some novel 5-imidazopyrazole incorporated polyhydroquinoline derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 2014, 78, 207–216.
- [70]. Bekhit, A.A. Hassan, A.M.M. Abd El Razik, H.A. El Miligy, M.M.M. El-Agroudy, E.J. Bekhit, A.E. D.A. New heterocyclic hybrids of pyrazole and its bioisosteres: Design, synthesis and biological evaluation as dual acting antimalarial-antileishmanial agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2015, 94, 30–44.
- [71]. Bernardino, A.M.R. Gomes, A.O. Charret, K.S. Freitas, A.C.C. Machado, G.M.C. Canto Cavalheiro, M.M. Leon, L.L. Amaral, V.F. Synthesis and leishmanicidal activities of 1-(4-X-phenyl)-N'-[(4-Y-phenyl)methylene]-1H-pyrazole-4-carbohydrazides. *Eur. J. Med. Chem.* 2006, 41, 80–87.
- [72]. Dardari, Z. Lemrani, M. Sebban, A. Bahloul, A. Hassar, M. Kitane, S. Berrada, M. Boudouma, M. Antileishmanial and Antibacterial Activity of a New Pyrazole Derivative Designated 4-[2-(1-(Ethylamino)-2-methyl-propyl)phenyl]-3-(4-methylphenyl)-1-phenylpyrazole. *Arch. Pharm.* 2006, 339, 291–298.
- [73]. Mowbray, C.E. Braillard, S. Speed, W. Glossop, P.A. Whitlock, G.A. Gibson, K.R. Mills, J.E.J. Brown, A.D. Gardner, J.M.F. Cao, Y. et al. Novel Amino-pyrazole Ureas with Potent In Vitro and In Vivo Antileishmanial Activity. *J. Med. Chem.* 2015, 58, 9615–9624,
- [74]. Marra, R. Bernardino, A. Proux, T. Charret, K. Lira, M.L. Castro, H. Souza, A. Oliveira, C. Borges, J. Rodrigues, C. and al. 4-(1H-Pyrazol-1-yl)Benzenesulfonamide

Derivatives: Identifying New Active Anti leishmanial Structures for Use against a Neglected Disease. *Molecules* 2012, 17, 12961–12973.

[75]. de Freitas EO, Leoratti FM, Freire-de-Lima CG, Morrot A, Feijó DF. The contribution of immune evasive mechanisms to parasite persistence in visceral leishmaniasis. *Front Immunol.* 2016.7.153.

[76]. Ahmed Nada, Marwa Al-Moghazy, Ahmed A.F.Soliman, Gehan M.T. Rashwan, Taghreed Hosny Ahmed, Eldawy, Ashraf Abd Elhakim Hasan, Galal Hosni Sayed, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 107, Part A, February 2018, Pages 585-594.

[77]. LACHARME, F, Les produits cosmétiques biologique: labels, composition et analyse critique de quelques formules, thèse doctorat, de l'université de JOSEPH FOURIER, 2004

[78]. Raymond C Rowe, Paul J Sheskey, Marian E Quinn,” *Handbook of Pharmaceutical Excipients* 6^{ème} edition, “the American Pharmacists Association and the Pharmaceutical Press 2009.

[79]. M.Poux et Cancelier (J-P.) *Procédés d'émulsification: Techniques et appareillage* [J 2 153]. *Techniques de l'ingénieur.* 1999.

INTRODUCTION

CHAPITRE 1 :
SYNTHÈSE DES
HÉTÉROCYCLES À CINQ
MEMBRES PAR
CYCLISATION RÉDUCTIVE

CHAPITRE 2 :
INTÉRÊT
PHARMACOLOGIQUE DES
DÉRIVÉS DE PYRZOLES

CHAPITRE 3 :
MATÉRIELS ET MÉTHODES

CHAPITRE 4 :
RÉSULTATS ET
DISCUSSIONS

CONCLUSION



Dédicace

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que Je dédie ce travail :

À mon cher père, l'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui a toujours sacrifié pour ma réussite, qui était toujours convaincu par mes capacités et m'a donné le courage et la confiance que j'ai aujourd'hui, grâce à toi cher papa, je suis devenu ce que je suis aujourd'hui. Que dieu te protège et t'accorde une longue vie.

À ma chère mère, pour son amour, ses prières et ses prédictions qui étaient le secret de mon succès, toujours présente à mes côtés n'a jamais cessé de me soutenir dans le bien ou dans le mal, qui a attendu avec impatience les fruits de sa bonne éducation. Chère maman, que dieu te protège et te garde pour moi.

À mon cher oncle, qui m'a toujours aidé, soutenu tout le long de mon parcours scolaire, il a toujours attendu mon succès. Je te souhaite que du bonheur dans ta vie.

A mon frère Islem, que dieu te protège et t'offre tout le bonheur que tu mérites pour ton avenir.

À mes très chères sœurs, Bouchra et la joie de notre maison ma petite Israa, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je leurs porte

À ma chère promotrice madame Cheurfa, pour sa disponibilité, et sa patience avec nous. Qui n'a pas cessé de nous encourager et nous conseiller précieusement. Nous n'oublierons jamais l'intérêt que vous avez apporté à notre formation. Cette humble dédicace ne saurait exprimer mon grand respect et mon profonde estime.

À ma chère binôme Madina, je te considère plus qu'une amie, je remercie le dieu de m'avoir fait rencontré avec toi, et nous a fait partager ce travail ensemble. Merci d'être à mes côtés tu es précieuse ton amitié restera toujours dans mon cœur. Que dieu te bénie pour moi.

À mes chères copines Kenza et Sirine, mes copines d'enfance, avec qui j'ai partagé les meilleurs moments de ma vie , j'espère que notre amitié continuera tout le long de notre vie.

À toute ma famille sans exception pour tout l'amour qui m'a apporté, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible. Merci.

Imene



Dédicace

Avec l'aide de Dieu, le tout Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A ma mère chérie

La plus belle créature que Dieu à créer sur terre, cette source de tendresse, de patience .Ma mère qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserve et vous accorde la santé, longue vie et bonheur.

A mon cher papa

Qui peut être fier. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes chers frère pour leurs appui et leurs encouragements permanents , je leurs soubaite une vie pleine de bonheur et de prospérité.

A ma sœur et mes deux neveux Abdeljalil et Qussai.

A mes belles sœurs pour leur soutien moral.

A mes adorables petits neveux et nièces : Anes, Haïthem, Douaa et Alaa que dieu vous protège.

A Madame Z.Cheurfa qui n'a pas cessé de nous encourager et nous conseiller, vous êtes un exemple pour moi, ce travail est l'occasion de vous témoigner et d'exprimer ma profonde gratitude.

A mon binôme et ma meilleure amie Imene , je suis très chanceuse de t'avoir dans ma vie, merci d'être à mes côtés tu es une belle personne que je suis fière de la côtoyer, que dieu nous garde l'une pour l'autre.

A toute ma famille : tantes, oncles, cousines, cousins.

A mes chères amies Yasmina, Salima, Maroua, RabilPour les bons moments qu'on a passé ensemble.

A toute ma promotion 2019/2020 « Pharmacie Industrielle ».

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce modeste travail.

Madina

