

## **SYNTHESE ET ETUDE DES RELATIONS STRUCTURE- ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DE NOUVEAUX DERIVES PYRIDAZINIQUES N-ALKYLES**

**H. AL BAY<sup>1</sup>, A. ANAFLOUS<sup>1</sup>, S. ABOURICHA<sup>1</sup>, A. ASAHRAOU<sup>2</sup>, N.E.  
BENCHAT<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> Laboratoire de chimie appliquée et environnement, Département de Chimie, Faculté des Sciences, Oujda, 60000, Maroc.

<sup>2</sup> Laboratoire de Microbiologie appliquée, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Oujda, 60000, Maroc.

\* Correspondance : Email : n\_benchat@yahoo.fr

### **Résumé :**

De nouvelles 5-arylméthyl-2-alkyl-6-méthyl pyridazin-3-ones sont synthétisées et testées pour leur activité antibactérienne et antifongique. La N-substitution du noyau pyridazinique avec des chaînes alkyls longues montre d'intéressantes activités antifongiques.

**Mots clés :** pyridazin-3-one, N-substitution, activité antibactérienne et antifongique, catalyse par transfert de phase (CTP).

### **Summary:**

New 5-arylméthyl-2-alkyl-6-methyl pyridazin-3-ones are synthesized and tested for their antibacterial and antifungal activities. The N-substitution of pyridazinic ring with long-chain alkyls shows interesting antifungal activities.

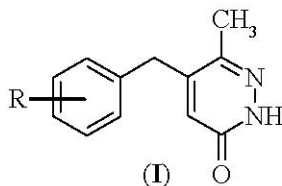
**Key words:** pyridazin-3-one, N-substitution, antibacterial activity, antifungal activity, phase transfer catalysis (PTC).

## Introduction

La progression importante des infections microbiennes et la recrudescence des résistances aux antibiotiques utilisés actuellement incite le monde de la recherche à la découverte de nouvelles molécules actives. Bien que les premières pyridazines aient été obtenues par E. Fisher en 1886, ce n'est que dans les dernières décennies qu'une attention particulière a été consacrée à leur chimie. Les efforts ont été orientés principalement vers l'étude de la réactivité du carbone de la pyridazine, la fonctionnalisation et la synthèse des pyridazines bioactives à visées thérapeutiques ou phytosanitaires.

Dans cette optique nous nous sommes intéressés à la synthèse de nouveaux dérivés de la 5-arylméthyl-6-méthyl pyridazin-3-ones (I), en mettant à profit la grande réactivité de sa fonction lactame vis-à-vis des réactions d'alkylations Couquelet *et al* (1984).

## Chimie



Les réactions de synthèse sont menées dans les conditions de catalyse par transfert de phase (CTP). Nous avons opéré avec le benzène comme solvant en présence d'une solution d'hydroxyde de sodium à 50% et de bromure de tétra-n-butylammonium (BTBA) comme catalyseur. Les agents d'alkylation utilisés sont le sulfate de diméthyle (ou l'iodure de méthyle) ainsi que l'iodure d'éthyle. Dans tous les cas, seul l'atome d'azote de la fonction lactame est affecté, conduisant aux composés N-alkylés. Un résultat analogue est observé lors de l'alkylation de (I) par le 1-fluoro-2,4-dinitrobenzène (schéma 1).

Poursuivant notre travail sur l'étude de la réactivité de dérivés pyridaziniques, il nous a semblé intéressant de les soumettre à l'action des dibromoalcanes, dans les conditions de catalyse par transfert de phase liquide-solide Cherkaoui *et al* (1995), Achour *et al* (1988). Nous avons ainsi utilisé le carbonate de potassium dans le diméthylformamide comme solvant et le BTBA comme catalyseur (schéma 1). Dans tous les cas, nous avons pu isoler les produits normalement attendus avec des rendements appréciables (70% - 90 %). Nous avons ainsi obtenu de nouveaux composés : les 1, n-bis-(5-arylméthyl-6-méthyl-3-oxo-pyridazin-2-yl)-alcanes.

La grande réactivité de la fonction lactame nous a donc permis de préparer de nouveaux dérivés de la pyridazin-3-one.

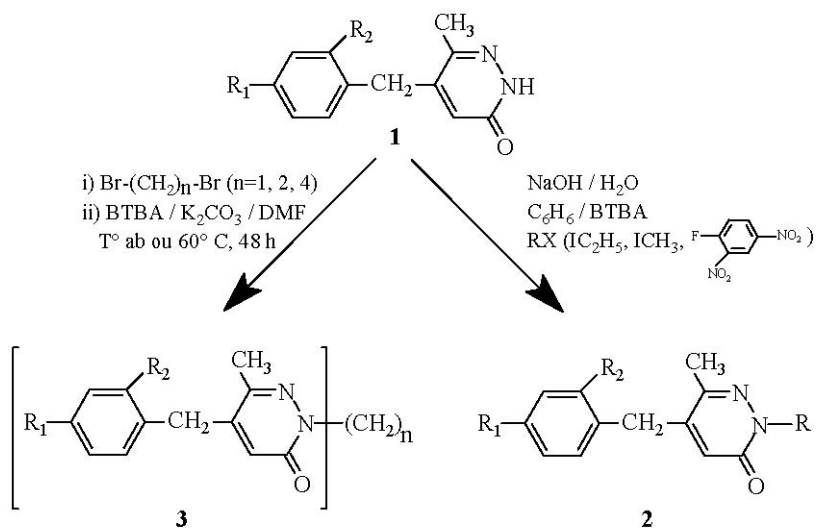


Schéma 1

**Tableau I : Les dérivés de la pyridazin-3-one synthétisés.**

Composés	R	R1	R2	n	Composés	R	R1	R2	n
1 a		H	H	0	1 d		NO <sub>2</sub>	H	0
1 b		NO <sub>2</sub>	H	0	1 e		CH <sub>3</sub>	H	0
1 c		CH <sub>3</sub>	H	0	2 i	CH <sub>3</sub>	H	Cl	0
2 f	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	H	0	2 j	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	0
2 g	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	cl	0	2 k	FDNB*	H	H	0
2 h	CH <sub>3</sub>	H	H	0	3 o		H	Cl	1
3 l		H	H	1	3 p		H	Cl	2
3 m		H	H	2	3 q		H	Cl	4
3 n		H	H	4					

La synthèse des produits (1 a - e) est réalisée selon le mode opératoire décrit dans la littérature Couquelet *et al* (1984).

\* FDNB = 1-fluoro-2, 4-dinitrobenzene.

Les points de fusion ont été mesurés à l'aide d'un banc Kofler et au microscope Reichert à platine chauffante. Les spectres RMN ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker AC 200 à l'U.S.T.L de Montpellier. Les spectres IR ont été enregistrés sur un appareil Jascko. Les spectres de masse ont été réalisés au laboratoire de mesures physiques à l'U.S.T.L de Montpellier. Les analyses élémentaires ont été effectuées par le service central à l'E.N.S de chimie de Montpellier.

### Synthèse de la 5-arylméthyl-2-alkyl (aryl)-6-méthylpyridazin-3-one : (2)

#### Méthode générale

A une solution de 0.01 moles de 5-arylméthyl pyridazin-3-one dans 60 ml de benzène avec 10 ml de soude aqueuse à 50% et 0.001 moles de BTBA, on ajoute lentement 0.011 moles d'iodure d'éthyle, puis on met le mélange sous agitation pendant 24 heures. Après dilution avec l'eau et décantation, la phase organique est lavée par une solution

d'acide chlorhydrique à 10% et séchée sur sulfate de sodium. Le benzène est alors évaporé sous pression réduite et le résidu recristallisé dans un minimum d'éthanol. On obtient le composé (2).

### Synthèse du 1,1-bis-[5'-arylméthyl-6'-méthyl- 3'-oxo-pyridazin-2'-yl]-alcane : (3).

#### Méthode générale

On dissout 0,01 moles de pyridazinone (1) dans 30 ml de diméthylformamide, auxquels on ajoute 0,011 moles de carbonate de potassium. On laisse sous agitation pendant 10 min, puis on ajoute 0,005 moles de dibromoalcane et 0,001 moles de BTBA tout en maintenant l'agitation pendant 24 heures. Le précipité blanc obtenu est filtré, lavé à l'eau plusieurs fois et recristallisé dans l'éthanol. On obtient les composés (3).

Les caractéristiques physico-chimiques des composés (2f-k) et (3l-q) sont rapportées dans le tableau II.

**TABLEAU II. Caractéristiques physico-chimiques des composés synthétisés.**

Composé	IR(cm <sup>1</sup> ) kBr	<sup>1</sup> H RMN δ (ppm)	<sup>13</sup> C RMN δ (ppm)	Solvant
2 f	1660,1590	1,3 (t,3H) ; 2,3 (s,3H) ; 3,9(s,2H); 4,2(q,N-CH <sub>2</sub> -) ; 6,3(s,H <sub>4</sub> ) ; 7,3(m,5H,Ar).		CDCl <sub>3</sub>
2 g	1670,1593	1,2 (t,3H) ; 2,3 (s,3H) ; 3,9(s,2H) ; 4,2 (q,N-CH <sub>2</sub> -) ; 6,3(s,H <sub>4</sub> ) ; 7,3(m,4H,Ar).	13,67(-CH <sub>2</sub> ) ; 19,69(6CH) ; 46,45(N-CH <sub>3</sub> ) ; 160,22(C- <sub>3</sub> )	CDCl <sub>3</sub>

<b>2 h</b>	1663,1591	2,2 (s,3H) ; 3,7 (s, NCH <sub>3</sub> ) ; 3,8(s,2H) ; 6,5 (s, H <sub>4</sub> ) ; 7,3(m,5H,Ar).	19,05(CH <sub>3</sub> ) ; 35,84(7CH) ; 39,53(NCH <sub>3</sub> ) ; 160,43(C- <sub>3</sub> )	CDCl <sub>3</sub>
<b>2 i</b>	1663,1593	2,2 (t,3H) ; 3,7 (s, N-CH <sub>3</sub> ) ; 3,8(s,2H) ; 6,3 (s, H <sub>4</sub> ) ; 7,3(m,4H,Ar).	19,05(CH <sub>3</sub> ) ; 35,78(6CH) ; 39,57(N-CH <sub>3</sub> ) ; 144,50(C- <sub>3</sub> )	CDCl <sub>3</sub>
<b>2 j</b>	1660,1590	2,2 (s,3H) ; 3,72 (s, 3H) ; 3,7(s,3H) ; 3,8(s,2H) ; 6,5 (s, H <sub>4</sub> ) ; 7,3(m,4H,Ar).	19,07(CH <sub>3</sub> ) ; 37,56(6CH) ; 39,48(N-CH <sub>3</sub> ) ; 55,36(OCH <sub>3</sub> ) ; 160,90(C- <sub>3</sub> )	CDCl <sub>3</sub>
<b>2 k</b>	1680,1600	2,3 (s,3H) ; 3,9 (s, 2H) ; 6,6(s,H <sub>4</sub> ) ; 7,3(m,5H) ; 7,9(d,1H) ; 8,5(dd,1H) ; 8,9(d,1H).		CDCl <sub>3</sub>
<b>3 l</b>	1660,1600	2,3 (s,3H) ; 2,3 (s, 6H) ; 2,3(s,4H) ; 3,7(s,4H) ; 6,1(s,2H) ; 6,3 (s,2H <sub>4</sub> ) ; 7,3(m,10H,Ar).		CDCl <sub>3</sub>
<b>3 m</b>	1680,1590	2,2 (s,6H) ; 3,7 (s, 4H) ; 4,6(s,4H) ; 6,3 (s, 2H <sub>4</sub> ) ; 7,3(m,10H,Ar).		CDCl <sub>3</sub>
<b>3 n</b>	1660,1600	1,8 (t,4H) ; 2,3 (s, 6H) ; 3,9(s,4H) ; 4,3(t,4H) ; 6,3(s,2H <sub>4</sub> ) ; 7,3(m,10H,Ar).		CDCl <sub>3</sub>

<b>3 o</b>	1670,1610	2,3 (s,6H) ; 3,7 (s, 4H) ; 6,2(s,2H) ; 6,3 (s, 2H <sub>4</sub> ) ; 7,3(m,8H,Ar).	CDCl <sub>3</sub>
<b>3 p</b>	1660,1600	2,2 (s,6H) ; 3,8 (s, 4H) ; 4,6(s,4H) ; 6,3 (s, 2H <sub>4</sub> ) ; 7,3(m,8H,Ar).	CDCl <sub>3</sub>
<b>3 q</b>	1660,1600	1,9 (t,4H) ; 2,3 (s, 6H) ; 3,9(s,4H) ; 4,2(t,4H) ; 6,3(s,2H <sub>4</sub> ) ; 7,3(m,8H,Ar).	CDCl <sub>3</sub>

s : singulet, t : triplet, m : multiplet, Ar : protons aromatiques.

## Microbiologie

Nous avons soumis cinq de nos produits (**1a**, **1d**, **1e**, **2j** et **2f**) à des tests antibactériens et antifongiques, la méthode utilisée étant la dilution en milieu solide. Les concentrations minimales inhibitrices (**CMI**) sont exprimées en µg/mL Ayadi *et al* (1986), Desvignes *et al* (1979), Fuzellier *et al* (1982), Guérin et Réveillère (1985), Hocart *et al* (1990).

Les tests ont été réalisés sur les souches fongiques suivantes : *Microsporum Canis* (**Mc**), *Microsporum gypseum* (**Mg**), *Microsporum persicolor* (**Mp**), *Trichophyton mentagrophytes* (**Tm**), *Trichophyton rubrum* (**Tr**), *Trichophyton violaceum* (**Tv**), *Candida albicans* (**Ca**), *Candida tropicalis* (**Ct**), ainsi que sur les souches bactériennes suivantes : *Staphylococcus aureus* (**Sa**), *Sarcina lutea* (**Sl**), *Escherichia coli* (**Ec**), *Klebsiella pneumoniae* (**Kp**), *Proteus vulgaris* (**Pv**), *Proteus mirabilis* (**Pm**), *Bacillus subtilis* (**Bs**), et *Bacillus cereus* (**Bc**).

## Résultats et Discussions

### Activité antifongique

Les composés (**1a**) et (**1e**) se sont avérés modérément actifs vis à vis des souches fongiques étudiées et totalement inactifs contre les souches de levures (**Ca**) et (**Ct**). Aucune souche fongique parmi celles étudiées n'a montré de sensibilité au produit (**1d**) même à la dose de 1000 µg/mL. Le composé (**2f**) est celui qui a montré le plus d'activité notamment contre (**Tm**) avec une CMI de 50µg/mL. Il reste cependant inactif contre les levures (**Ca**) et (**Ct**). Le composé (**2j**) présente une activité modérée contre toutes les souches de dermatophytes testées mais il reste également inactif contre les levures.

### Activité antibactérienne

Les composés (**1a**), (**2f**) et (**1e**) présentent une activité très modérée. Parfois ils sont complètement inactifs. Les composés (**1d**) et (**2j**) n'ont montré aucune activité vis-à-vis des souches étudiées.

**Tableau III : Activité antifongique des composés étudiés (CMI en µg/mL)**

Composé	Souche fongique							
	Mc	Mg	Mp	Tr	Tv	Tm	Ca	Ct
<b>1a</b>	300	600	550	400	300	600	>1050	>1050
<b>1d</b>	>1050	>1050	>1050	>1050	>1050	>1050	>1050	>1050
<b>2f</b>	300	300	200	200	450	50	1050	900
<b>1e</b>	1000	750	750	750	750	750	>1050	>1050
<b>2j</b>	500	500	250	250	250	250	>1050	>1050

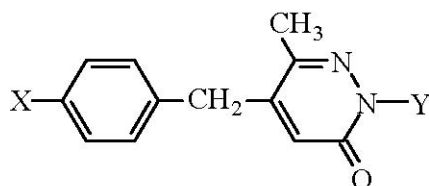
**Tableau IV : Activité Antibactérienne des composés étudiés (CMI en µg/mL)**

Composé	Souche bactérienne							
	Sa	Si	Ec	Kp	Pv	Pm	Bs	Bc
<b>1a</b>	1250	1250	1250	1250	1250	2000	1000	1250
<b>1d</b>	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<b>2f</b>	1250	750	1250	750	1250	>2000	750	750
<b>1e</b>	500	500	>2000	>2000	1250	>2000	500	1250
<b>2j</b>	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000

A partir de ces résultats, plusieurs constatations peuvent être dégagées. La comparaison de l'activité des pyridazinones à celle des substances de référence Mallie *et al* (1999), montre qu'en ce qui concerne l'activité antifongique, la CMI obtenue avec les pyridazinones varie de 50 µg/mL à 1050 µg/mL (cas du composé **2f**), alors que pour les antifongiques de référence, elle est égale à 50 µg/mL (Nystatine, Ketoconazole et Miconazole) et peut atteindre une valeur de 0.1 µg/mL (Econazole). Ainsi, la CMI des pyridazinones est de 1 à 20 fois la CMI maximale des substances de référence.

Les valeurs de CMI des pyridazinones vont de 500 µg/mL (composé **1e**) à une valeur de 2000 µg/ml (composé **1a**). Celles des substances de référence sont comprises entre 0.1 µg/mL (Tétracycline) et 100 µg/mL (Ampicilline, Flucloxacilline, Tétracycline et Erythromycine). Ainsi, la CMI des pyridazinones présente des valeurs 5 à 20 fois plus élevées que celles obtenues avec les substances de référence. D'autre part, en comparant la CMI des pyridazinones, pour l'activité antifongique et antibactérienne, on peut constater que les pyridazinones sont, plus actives sur les champignons que sur les bactéries.

### Relation structure-activité.



En comparant la structure chimique de nos pyridazinones avec celles des principales molécules à activité antifongique ou antibactérienne connues, aucun rapprochement particulier ne peut être fait. D'autre part, en étudiant les activités et les formules chimiques de nos pyridazinones, on peut faire les observations suivantes : Le composé (**1a**) possède une activité antibactérienne et antifongique (antidermatophytes en particulier) certaine. La substitution de cette pyridazinone en position X par un groupement  $\text{NO}_2$  supprime les deux activités (composé **1d**). La substitution en position Y, en particulier par alkylation, renforce l'activité antifongique (les composés **2f** et **2j** possédant l'activité antifongique la plus importante). Ce résultat peut être expliqué par le fait que l'activité antifongique augmente lorsque les molécules perdent quelque peu leur caractère hydrophile Chaumont *et al* (1989). En effet, l'alkylation renforce le caractère lipophile des molécules. En outre, la lipophilie augmente lorsque le nombre de carbones de la chaîne alkylante augmente. Quand l'alkyl en Y est un  $\text{C}_2\text{H}_5$ , l'activité antifongique s'étend aux levures et aux moisissures (composé **2f**). L'alkylation en X en particulier par un  $\text{CH}_3$  semble renforcer l'activité antibactérienne (composé **1e**).

### Conclusion

Les quatre pyridazinones **1a**, **2f**, **1e**, **2g** ont révélé une activité antifongique et antibactérienne certaine, d'intensité variable selon les produits et les souches étudiées. La CMI obtenue avec nos produits présente des valeurs plus élevées que celles des substances de références utilisées, mais ces résultats ne doivent pas être considérés

indépendamment de la très faible toxicité de nos produits. Il semble intéressant de poursuivre ce travail en réalisant l'élargissement de la chaîne carbonée en Y ou de réaliser la synthèse de pyridazin-3-thiones qui conduisent par une réaction SN à des dérivés soufrés.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Achour R. ; Essassi E. M. ; Zniber R. (1988)**, New synthesis of 9-( $\alpha$ -methyl vinyl)-3-methyl-8- triazolo [4,3-a] benzimidazole from 4-methyl-1,5-benzodiazepine-2-one. *Tetrahedron lett.* vol. 29, n 2, pp. 195-198.

**Ayadi A.; Benjilali B.; Tantaoui Elaraki A.; Ihlal M. (1986)**, Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes médicinales et phytothérapie.* Tome XX, n°2, pp 155-167.

**Chaumont J, Millet-Clerc J, Michel D. (1989)**, Antimycotic activity *in vitro* of jasmon and some closely related substances: structure-activity relation *Ann. pharm. fr.* vol. 47, n 3, pp. 157-161.

**Cherkaoui O., Cherkaoui M. Z., Essassi E. M., Zniber R. (1995)**, New S-triazolobenzodiazepine derivative (III) : Synthesis of S-triazolo-4,3-abenzimidazolo-1,2-D1,4benzodiazepines. *Synth. commun.* vol. 25, no7, pp. 1027-1033.

**Couquelet J. D , Couquelet J, Taoufik J. M. (1984)** Stereospecific synthesis of new 5- substituted 6-methyl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-ones. X-Ray assignment study. *J. Heterocyclic chem*, 21, 305-310.

**Desvignes A, Leluan G, Dupeyron C. (1979)**, Determination of antifungal activity *in vitro*, against a strain of dermatophyte. II. Fungicidal activity. *Ann Pharm Fr.* 37 (3-4): 139-42.

**Fischer E. (1886)**, Synthesis von indolderivaten. *Ann. Chem.* 236, 147.

**Fuzellier MC, Mortier F, Lectard P. (1982)**, Antifungal activity of *Cassia alata* L. *Ann Pharm Fr.* 40 (4):357-63 .

- Guérin JC, Réveillère HP. (1985)** Antifungal activity of plant extracts used therapeutically. II. Study of 40 extracts on 9 fungal strains. *Ann Pharm Fr.* 43 (1): 77-81 .
- Hocart MJ, Lucas JA, Peberdy JF. (1990)**, Resistance to fungicides in field isolates and laboratory induced mutants of *Pseudocercospora herpotrichoides*. *Mycol. Res.* 94 (I): pp 9-17.
- Mallie M. ; Jouvert S. ; Lebecq J. C. ; Bastide M. ; Bastide J.-M. (1987)**, *In vitro* antifungal activity of R-14-4767/002, oxiconazole, miconazole and terconazole: Study of MIC and ultrastructural modifications by scanning electron microscopy. *Bull. Soc. fr. mycol. méd.* vol. 16, no2, pp. 263-268.