

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département des Sciences de la Matière



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Chimie
Domaine : Sciences de la matière
Filière : Chimie
Spécialité : Chimie macromoléculaire
Thème

Synthèse et Application des Nouveaux Hétérocycles

Présenté Par :

- 1) Mr. AZZAOUI Welid
- 2) Melle. KEDDAR Rania

Devant le jury composé de :

Pr. BELARBI Lahcene	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr. RAMDANI Nassima	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examineur
Dr. KIBOU Zahira	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2020/2021

Dédicace

Dieu je vous remercie...

A mes très chers parents Kenza et Kouider, pour leur encouragement, tendresse, amour et soutien durant mes études ; vous trouverez ici le fruit de vos sacrifices, et je souhaite avoir pu réaliser l'un de vos rêves par ce travail

A mes frères et mes sœurs et leurs enfants

A tous mes amis

A toute ma famille

A tous ceux qui me sont chers ;

Pour leur présence à tout moment,

Pour le soutien qu'ils m'ont apporté,

Avec toute mon affection et ma reconnaissance.

Je dédie ce travail

MERCI.

Dédicace

Dieu je vous remercie. . . .

*A mes très chers parents Leïla et Omar pour leur encouragement,
tendresse, amour et soutien durant mes études : vous trouvez ici le fruit
de vos sacrifices, et je souhaite avoir pu réaliser l'un de vos rêves par ce
travail.*

A mon frère Mohamed et mes sœurs Fatima et Sara

A ma grande mère Fatiha et ma tante Fatima

A tous mes amis

A toute ma famille

A tous ceux qui me sont chers ;

Pour leur présence à tous moment

Pour le soutien qu'ils m'ont apporté,

Avec toute mon affection et ma reconnaissance.

Je dédie ce travail

MERCI.

Remerciements

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique (LCSCO) de l'Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen, sous la direction de Monsieur CHOUKCHOU-BRAHAM Noureddine, Professeur à l'Université de Tlemcen de m'avoir accueillie au sein du laboratoire de Catalyse et pour ses encouragements et sa disponibilité qui m'ont permis de mener à terme ce travail.

Nous tenons tout d'abord nous remercions notre encadreur, Madame KIBOU Zahira Maître de Conférences « A » à l'université de Ain Témouchent qui a bien voulu accepter de diriger ce travail avec ses précieux conseils, ses encouragements et qui avait manifesté un intérêt particulier pour le mener à terme.

Nous exprimons également, toute ma reconnaissance à Monsieur BELARBI Lahcene, Professeur à l'Université de Belhadj Bouchaib Ain Témouchent, d'avoir accepté de présider ce jury.

Nous tenons à remercier Madame RAMDANI Nassima, Docteur à l'université de Belhadj Bouchaib Ain Témouchent pour sa présence au jury.

Nous remercions également Madame BERRICHI Amina Docteur à l'université de Belhadj Bouchaib Ain Témouchent de nous avoir guidés tout au long du mémoire.

Nous remercions encore Monsieur HASSAIN Rhida maître de recherche (CRAPC) pour son aide, ses encouragements et ses conseils.

Nous n'oublions pas de remercier tous les enseignants qui ont déployés tous leurs efforts pour assurer notre formation.

Nos sincères remerciements, de tout cœur vont droit à nos très chers parents, pour leur soutien tout au long de ce travail.

Sommaire

ABREVIATION.....	1
INTRODUCTION GENERALE.....	4
PRESENTATION DU SUJET.....	5
Références bibliographiques.....	7
CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
PARTIE I : SYNTHÈSE DE NOUVEAUX HÉTÉROCYCLES	
I- Introduction.....	8
I.1.Les activités biologiques des hétérocycles azotés.....	9
II. Synthèse des 2-aminopyridine.....	10
II.1.Propriétés biologiques des 2-aminopyridine.....	10
II.2.Synthèses décrites en littératures des 2aminopyridines.....	11
III. Cyclisation en pyridopyrimidines.....	13
III.1.Les pyridopyrimidines.....	13
III.2.Les pyrido [2,3-d] pyrimidines.....	14
III.3.Synthèses décrites dans la littérature de pyrido [2,3-d] pyrimidines.....	16
IV. Réactions multicomposants (MCR)	
IV.1.Introduction.....	21
IV.2.Historique.....	21
VI. Conclusion.....	22
Références bibliographiques.....	23

PARTIE II : FLUORESCENCE MOLECULAIRE

I. Définition de la fluorescence.....	26
II. Historique.....	27
III. Principe de la fluorescence.....	28
IV. Facteurs influençant la fluorescence.....	30
V. Les fluorophores.....	32
VI. Instrumentation.....	35
VI.1. Fluorimètre.....	35
VI.2. Principe de fluorimètre.....	36
VII. Utilisation de la fluorescence.....	37
VIII. Application de la fluorescence.....	37
IX. Etude fluorescence des quelques pyridopyrimidines décrite en littérature.....	39
X. Conclusion.....	42
Références bibliographiques.....	43

CHAPITRE II : RESULTAT ET DISCUSSION

PARTIE I : SYNTHESSES DE NOUVEAUX HETEROCYCLES

I. Synthèses des 4-amino [2,3-d] pyrimidines.....	45
I.1. synthèses des 4-amino [2,3-d] pyrimidines à partir des formamidines.....	45
I.1.1. Mécanisme de formation 4-aminopyrido [2,3-d] pyrimidines à partir de formamidines.....	47
I.2. Synthèse en one pot à partir des 2-aminopyridine.....	47
I.2.1. Mécanisme de formation des 4-aminopyrido [2,3-d] pyrimidines en one pot....	49
II. Conclusion.....	50
Références bibliographiques.....	51

PARTIE II : FLUORESCENCE MOLECULAIRE

I. Etude de fluorescence sur nos pyrido [2,3-d] pyrimidines.....	52
I.1. Effet de concentration sur la fluorescence du pyrido [2,3-d] pyrimidines.....	53
I.2. Effet du solvant sur la fluorescence du pyrido [2,3-d] pyrimidine.....	56
II. Conclusion.....	60

CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

PARTIE I : SYNTHESSES DE NOUVEAUX HETEROCYCLES

I. Synthèse des arylidenemalononitriles.....	61
II. Synthèse des 2-aminopyridines.....	64
III. Synthèse des formamidines.....	70
IV. Synthèse des pyrido [2,3-d] pyrimidines.....	71

PARTIE II : FLUORESCENCE MOLECULAIRE

I. Etude de fluorescence sur nos pyrido[2,3-d] pyrimidines.....	77
I.1.Appareillage.....	77
I.2.Matériels.....	77
I.3.Mode opératoire.....	78
I.3.1. Effet de concentration sur la fluorescence du pyrido [2,3-d]pyrimidine.....	78
I.3.2. Effet du solvant sur la fluorescence du pyrido [2,3-d] pyrimidines.....	79
CONCLUSION GENERALE.....	83

ABBREVIATIONS

ABREVIATIONS

Unités :

°C : degré Celsius

cm : centimètre

éq : nombre d'équivalents

h : heure

Hz : hertz

mg : milligramme

min : minute

mL : millilitre

mol : mole

Mmole : millimole

ppm : partie par million

Réactifs :

(NH₄)₂CO₃ : carbonate d'ammonium

DBU : 1,8-diaabicyclo[5,4,0]undèn-7-ène

DMF-DEA : N,N-diméthylformamide diéthylacétal

DMF-DMA : N,N-diméthylformamide diméthylacétal

H₂SO₄ : acide sulfurique

HCONH₂ : formamide

KOH : hydroxyde de potassium

LiClO₄ : perchlorate de lithium

NaCl : chlorure de sodium

NaH : hydrure de sodium

NH₄OAc : acétate d'ammonium

Pd(PPh₃)₄ : Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0)

PhOPh : phénoxybenzène

POCl₃ : trichlorure de phosphoryle

Solvants :

ACN : acétonitrile

Ac₂O : anhydride acétique

AcOEt : acétate d'éthyle

AcOH : Acide Acétique

DCM : dichlorométhane

DMF : diméthylformamide

DMSO : diméthylsulfoxyde

EtOH : éthanol

HCl : acide chlorhydrique

HCN : cyanure d'hydrogène

MeOH : méthanol

THF : tétrahydrofurane

TMS : tétraméthylsilane

Groupements chimiques :

R : allyle

Ar : aryle

Et : éthyle

Me : méthyle

OAc : acétate

Ph : phényle

Chromatographie et spectroscopie :

CCM : chromatographie sur couche mince

d : doublet

IR : infrarouge

m : multiplet

J : constante de couplage

PH : potentiel hydrogène

PF : point de fusion

RMN ¹³C : résonance magnétique nucléaire du carbone 13

RMN ¹H : résonance magnétique nucléaire du proton

Autres :

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

aq : Aqueux

BODIPY : bore-dipyrométhène

cat : catalyseur

coll. : collaborateurs

DHFR : dihydrofolates réductases

IRM : imagerie par résonance magnétique

M.O : micro-ondes

MCR : réaction multicomposant

PK: protéine kinase

Rdt : rendement

t.a : température ambiante

TK : tyrosine kinase

ϵ : le coefficient d'extinction molaire

ϕ : le rendement quantique

Δ : chauffage

INTRODUCTION GENERALE

I. Introduction générale

Les hétérocycles forment de loin la plus grandes des divisions classiques de la chimie organique et son immense importance biologique et industrielle, la majorité des produits pharmaceutiques et des produits agrochimiques biologiquement actifs sont hétérocycliques¹.

Les hétérocycles sont des composés chimiques très intéressants dans les recherches scientifiques en raison de leurs potentialités d'application dans différents domaines, pour cela leur synthèse est devenue un sujet très important.²

Les composés hétérocycliques présentent une classe de composés dans les quels un atome de carbone ou plus d'un composé cyclique est remplacé par un atome hétérogène comme l'oxygène, l'azote, le phosphore, le soufre,...etc.

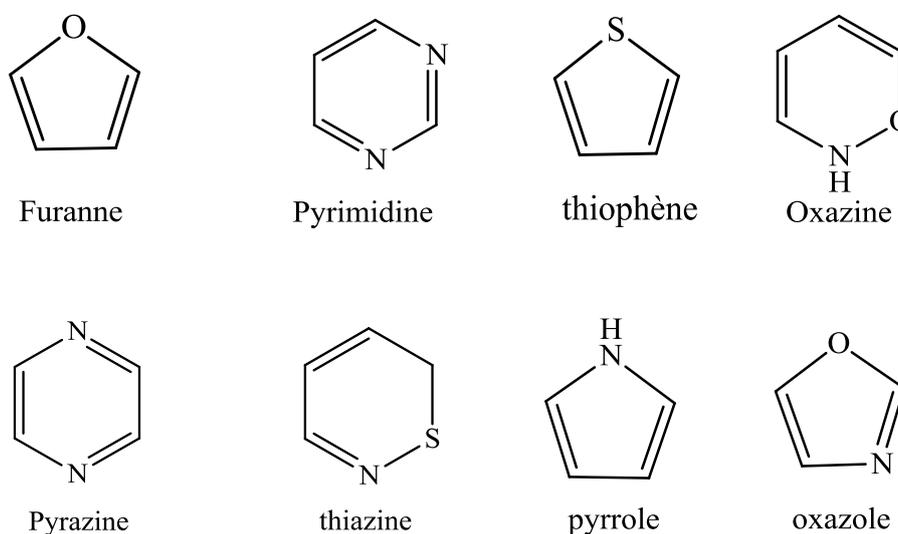


Figure 01 : Structures de quelques hétérocycles.

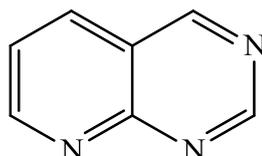
Les hétérocycles les plus courants contiennent de l'azote ou de l'oxygène. Un très grand nombre de substances naturelles biologiquement actives sont des composés hétérocycliques. Ces derniers peuvent être classés en deux grandes catégories :

-  Les hétérocycles aromatiques
-  Les hétérocycles saturés³

II. Présentation du sujet

De nombreuses équipes de recherche en chimie organique s'intéressent à la synthèse des hétérocycles, particulièrement les hétérocyclique azotés ou l'atome d'azote est présente dans de nombreuses composés naturelles d'intérêt biologique

Notre intérêt s'est porté sur la synthèse des pyrido [2,3-d] pyrimidines et leur application dans le domaine de la fluorescence moléculaire.



pyrido[2,3-d]pyrimidine

Figure 02 : Structure moléculaire du pyrido [2,3-d] pyrimidine

Dans notre travail, nous décrivons deux nouvelles voies de synthèse, pour la préparation des nouveaux hétérocycles azotés tels que les pyrido [2,3-d] pyrimidines. La première voie représente une attaque nucléophile d'amines primaire (hydrazine) sur les formamidines.

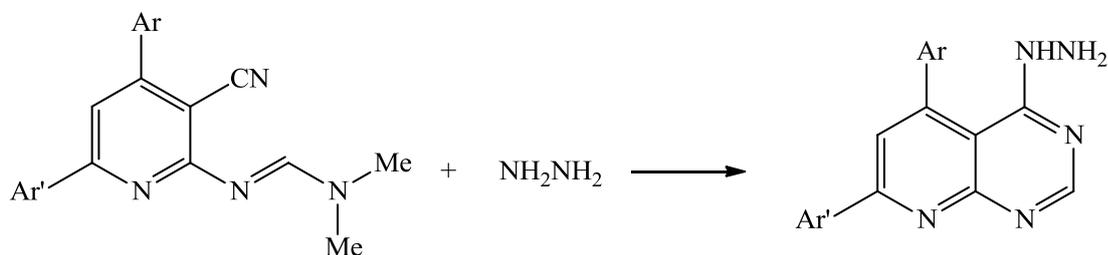


Schéma 01 : synthèse des pyrido [2,3-d] pyrimidines à partir de formamidines.

La deuxième voie repose sur l'utilisation d'une nouvelle réaction multicomposant (MCR) sans solvant dans des conditions modérées en utilisant le 2-aminopyridines et ses dérivés en tant que précurseurs principaux.

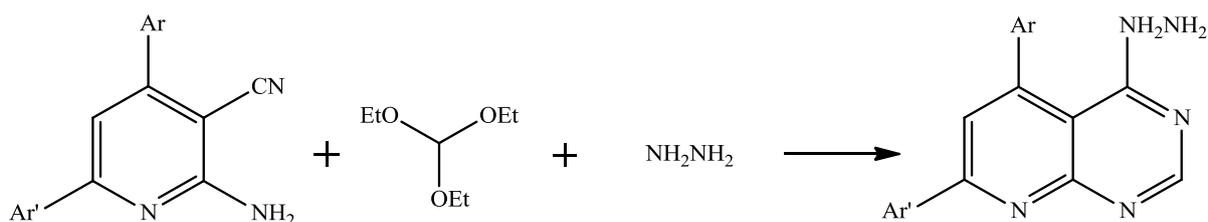


Schéma 02 : synthèse des pyrido [2,3-d] pyrimidines en « one pot ».

Ce manuscrit s'articulera autour de trois chapitres. Après une présentation de la chimie des hétérocycles particulièrement les composés hétérocycliques azotés et leur propriétés biologiques, tels que les pyrido [2,3-d] pyrimidines, une présentation de la Spectroscopie de fluorescence moléculaire et ces critères.

Quatre composés de la série synthétisée ont été soumis à une étude fluorescence, dans le cadre de la recherche de nouvelles sondes fluorescentes dans le domaine de la biologie.

Références bibliographiques

1. Katritzky, A. R., Introduction: heterocycles. ACS Publications: 2004.
2. HABCHI, A. Synthèse des hétérocycles azotés à cinq chaînons dérivés de l'acide sorbique et détermination de leurs activités biologiques. Mémoire de magister, Université des sciences et de la technologie d'Oran, 2013.
3. FERHAT Khadidja, Z. B., mémoire master Synthèse Et Caractérisation Des Molécules Hétérocycliques Bioactives Université Mohamed Khider de Biskra, 2020.

CHAPITRE I
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE I : Synthèse de Nouveaux Hétérocycles

I. Introduction

Les hétérocycles azotés sont présents dans un très grand nombre de composés naturels et synthétiques, ce qui fait de ces motifs des cibles de choix en chimie organique. En effet, ces composés se retrouvent dans de nombreuses structures biologiquement actives¹.

L'atome d'azote est présent dans de nombreuses molécules naturelles d'intérêt biologique. De très nombreuses méthodes ont été mises au point pour accéder aux composés azotés, notamment des composés hétérocycliques².

Dans ce cadre, plusieurs composés hétérocycliques contenant un ou plusieurs atomes d'azote tels que : les purines, les quinazolines, les ptéridines et les pyridopyrimidines sont aujourd'hui commercialisés sous forme de médicaments. Nous citerons par exemple :

- Le gefitinib, qui possède une structure quinazolinique, est un inhibiteur des récepteurs de la tyrosine kinase utilisé pour le traitement du cancer du poumon³.
- La prazosine et l'alfuzosine qui sont des antagonistes possédant une charpente quinazoline, sont utilisées comme antihypertenseurs voire pour le traitement de l'hypertrophie bénigne de la prostate⁴.
- Les purines constituent également le motif basique des nucléosides antiviraux, tels que la didanosine et l'abacavir, qui sont tous les deux des médicaments antirétroviraux⁵.

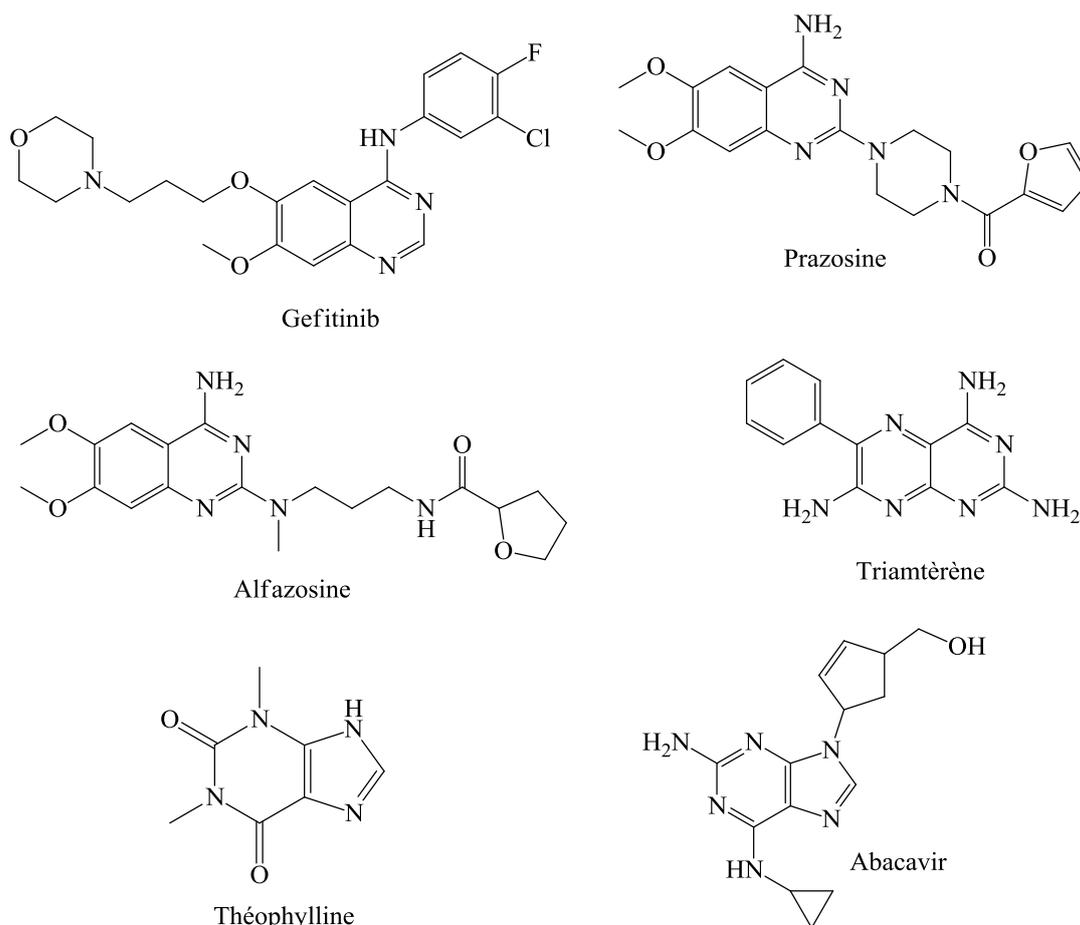


Figure 03: Exemple de médicaments possédant un noyau bicyclique azoté.

I.1. Les activités biologiques des hétérocycles azotés

Les hétérocycles azotés constituent plus que la moitié des composés organiques connus ce qui les rend d'une très grande importance vis-à-vis leur activité biologique et leur application dans divers domaines. Ils sont présents dans une classe importante de composés naturels tels que les vitamines, les aminoacides, les hormones, les alcaloïdes et les antibiotiques. Ils sont aussi largement répandus dans les produits pharmaceutiques, les herbicides, les fongicides, les insecticides, les colorants³.

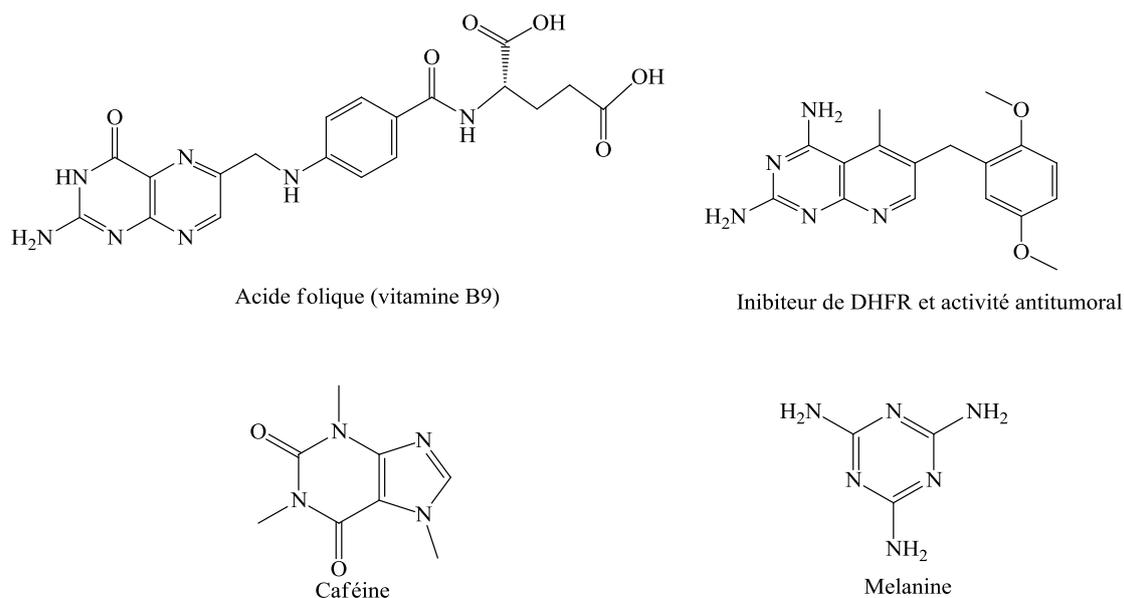
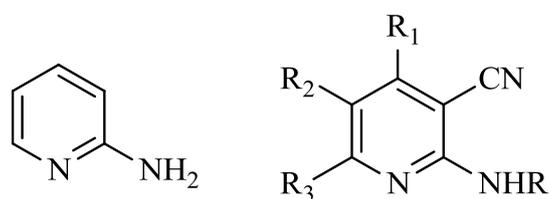


Figure 04. Exemple de composé bioactif possédant un noyau bicyclique azoté

II. Synthèse des 2-aminopyridine

Les 2-aminopyridines sont des hétérocycles aromatiques appartenant à la famille des amidines hétérocycliques⁶. Ces structures sont utilisées comme « briques moléculaires » pour la construction de molécules originales ou de composés biologiquement actifs.



2-aminopyridines

Figure 05: Structures générales des 2-aminopyridine

II.1. Propriétés biologique des 2-aminopyridines

Les 2-aminopyridines possèdent des propriétés thérapeutiques variées. Ils présentent des activités antibactériennes⁷, anti-inflammatoires⁸, et anti-tuberculose⁹, anti-tumorale (inhibiteur d'Arora A Kinase)¹⁰, ainsi des activités herbicides¹¹. Ainsi qu'en 2012 une nouvelle activité anti-cancéreuse¹² a été trouvée pour ce genre de dérivées.

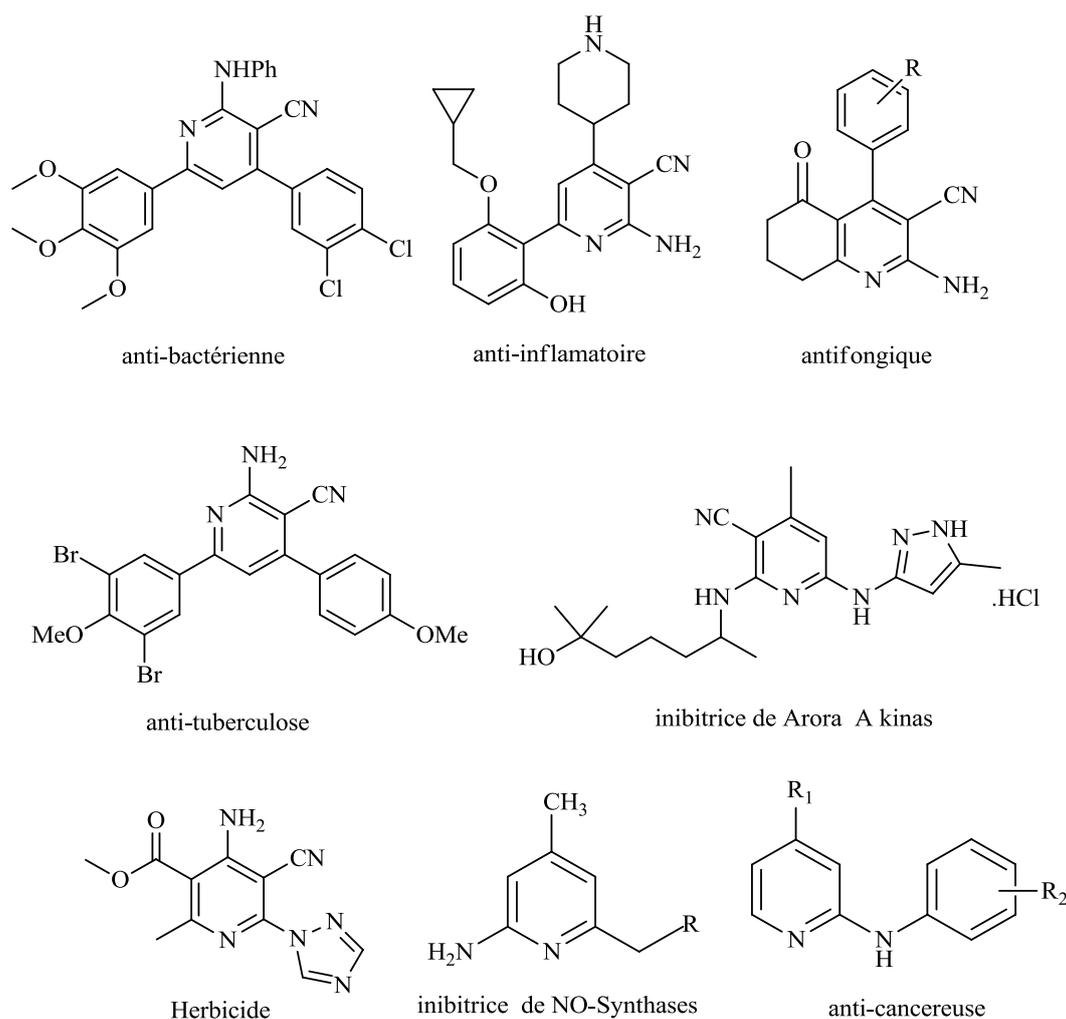


Figure 06: Activités biologiques de quelques dérivés des 2-aminopyridines.

II.2. Synthèses décrites en littérature des 2-aminopyridines

De nombreuses méthodes de synthèse ont été développées dans la littérature pour permettre la préparation des 2-aminopyridines du fait de l'intérêt que présentent ces composés dans le domaine de la chimie pharmaceutique, l'agrochimie et la chimie de coordination¹³, nous présenterons quelques synthèses décrites dans la littérature pour la préparation des 2-aminopyridines.

En 1993, El-Tawel et coll.¹⁴ ont décrit une nouvelle synthèse des 2-aminopyridines en utilisant les arylméthylènemalononitriles et le malononitrile en présence de sodium métallique au reflux du dioxane (Schéma 03).

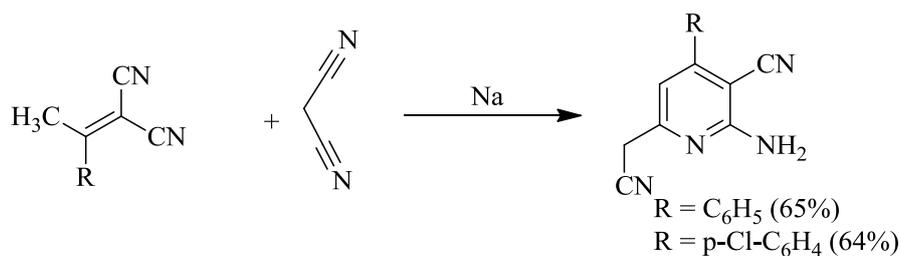


Schéma 03: Synthèse d'El-Tawel.

En **2003**, Shintani et coll.¹⁵ ont préparé des dérivés de 3-cyano-6-(2-hydroxyphényl)-pyridines différemment substitués par une réaction à trois composants (le malononitrile, un aldéhyde aromatique et un composé carbonylé) en présence d'acétate d'ammonium. Cette réaction est portée au reflux de benzène (Schéma 04) :

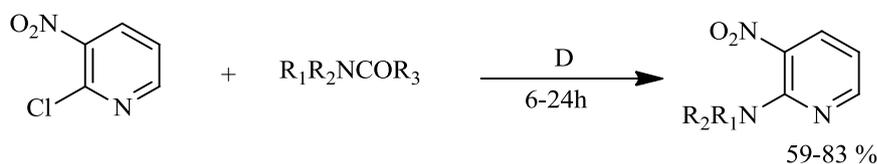


Schéma 04: Synthèse de Shintani.

En **2005**, le groupe Abd el-Aziz¹⁶ a décrit une autre méthode de synthèse des 2-aminopyridines en utilisant un acide de Lewis à une basse température (-30°C) dans le THF comme solvant, les rendements obtenus varient entre 36 et 78% (Schéma 05).

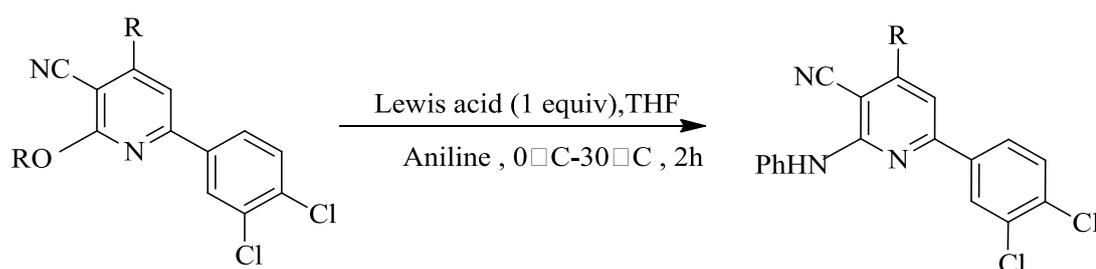


Schéma 05 : Synthèse d'Abd el-Aziz.

Une autre synthèse a été proposée en **2007** par Jiang et coll.¹⁷. Selon une réaction multicomposant à partir de la chalcone comme précurseur principal, du malononitrile, et des amines primaires dans le diméthylformamide comme solvant organique (Schéma 06). La

réaction s'effectue sous irradiation micro-ondes pour fournir différentes aminopyridines avec des rendements qui varient entre 65-80%.

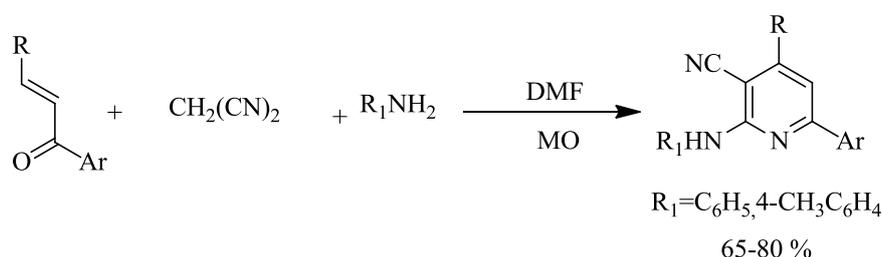


Schéma 06 : Synthèse de Jiang.

En **2010**, Kodimuthali ¹⁸ et coll. ont préparé les 3-nitro-2-aminopyridines à partir de 2-chloro-3-nitropyridine comme hétérocycle et différentes amides substitués (Schéma 07).

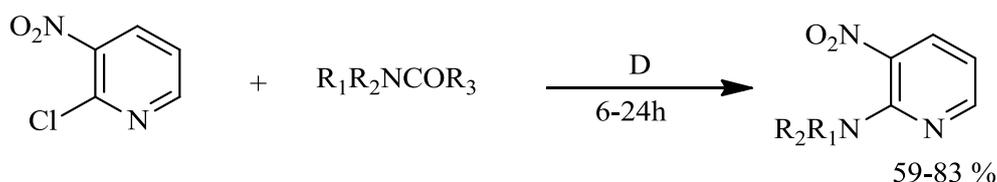


Schéma 07 : Synthèse de Kodimuthali.

III. Cyclisation en pyridopyrimidines

III.1. Les pyridopyrimidines

Se sont des structures possédant un noyau bicyclique azoté à l'origine de l'élaboration d'un nombre important de médicaments, tandis que d'autres produits appartenant à ces mêmes familles, sont soumis par plusieurs équipes de recherche de par le monde à différentes études, tant sur le plan chimique, biologique¹⁹.

Permet les hétérocycles azotés les plus connus sont : les pyridopyrimidines ils sont largement étudiés par plusieurs équipes de recherches au centre d'un nombre important de programmes de découverte de nouveaux médicaments.

Sachant qu'il existe quatre(4) isomères possibles dans cette famille, leur classification est basée sur la position de l'atome d'azote dans le cycle pyridine.⁶

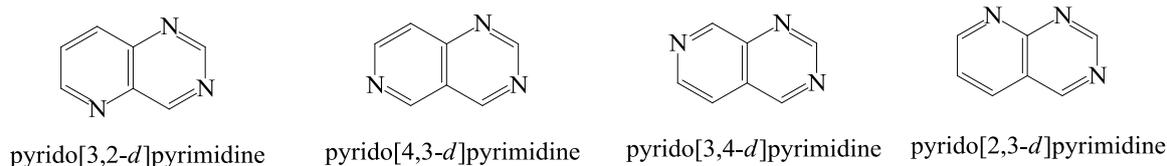


Figure 07: Structures isomères possibles pour les pyrido [2,3-*d*] pyrimidines.

Dans notre travail, nous sommes intéressés à la famille des pyrido[2,3-*d*] pyrimidines.

III.2. Les pyrido [2,3-*d*] pyrimidines

Les pyrido [2,3-*d*] pyrimidines constituent une classe de composés intéressants en chimie organique, ce qui fait que ce système est associé à un très large éventail d'activités biologiques, ils présentent de nombreuses applications dans plusieurs domaines.

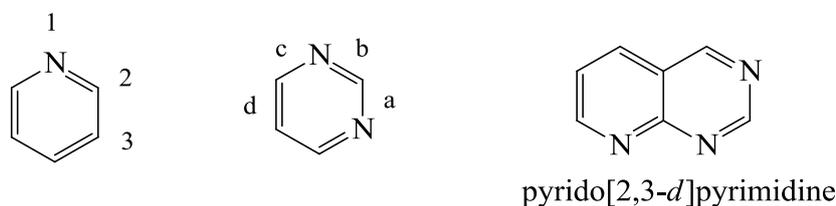


Figure 08 : Structure générale des pyrido [2,3-*d*] pyrimidines.

À commencer par l'inhibition des kinases, En effet plusieurs familles de kinases présentent une particulière sensibilité aux pyrido [2,3-*d*]pyrimidines, parmi elles figurent les tyrosine kinases²⁰ et en particulier les dihydrofolates réductases (DHFR)²¹, l'adénosine kinase²².

Les pyrido[2,3-*d*]pyrimidines sont également dotées d'une activité anti-tumorale²³, antiallergique²⁴, anti-fongiques²⁵ anti-virale²⁶, anti-bactérienne²⁷, anti-hypertensive²⁸, anti-inflammatoire²⁹. De plus ces systèmes pyrimidinique sont présents dans les bases puriques de l'ADN +et l'ARN³⁰.

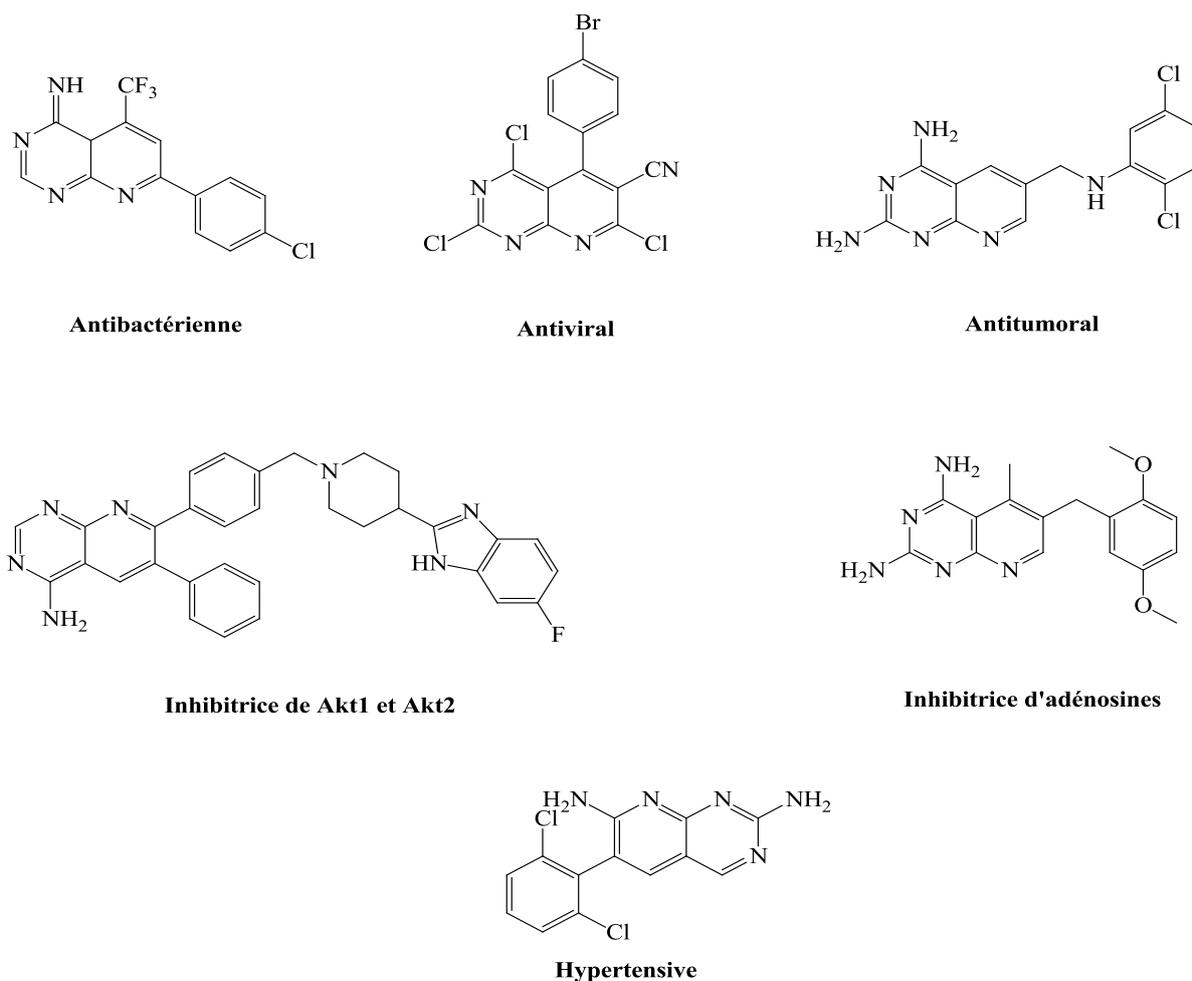


Figure 09: Activités biologiques de quelque dérivé de pyrido [2,3-*d*] pyrimidine.

La synthèse des pyrido [2,3-*d*] pyrimidines peut être effectuée selon deux méthodes convergentes : par fusion du noyau pyridinique sur le cycle pyrimidine préformé ou par fusion du motif pyrimidinique sur une pyridine déjà existante (Schéma 08).

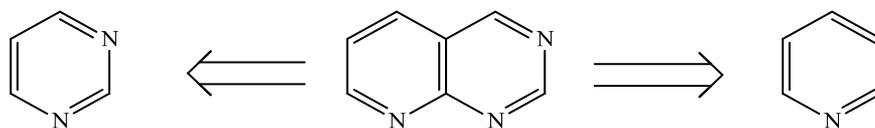


Schéma 08 : Analyse rétrosynthétique pour accéder aux pyrido [2,3-*d*]pyrimidines.

III.3. Synthèses décrites dans la littérature de pyrido [2,3-*d*] pyrimidines

Il existe de nombreuses synthèses des pyrido [2,3-*d*] pyrimidine décrite dans la littérature, au niveau de cette partie nous citons quelques synthèses les plus représentatives.

En **1962**, R. Bernetti et ses coll.³¹ ont préparé les 2-amino-4-hydroxy-6-nitropyrido [2,3-*d*] pyrimidines à partir du 2-nitromalonaldéhyde. Le produit désiré est obtenu avec un rendement de 75% (Schéma 09).

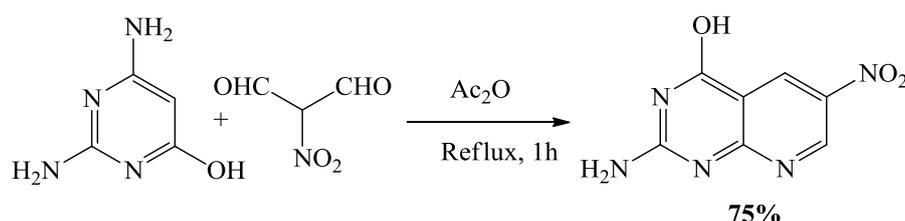


Schéma 09 : Synthèse de R. Bernetti.

En **1997** par James M. Hamby³² et ses coll. ont synthétisées le 1-[2-amino-6-(2,6-dichlorophényl)pyrido[2,3-*d*]pyrimidine-7-yl]-3-tert-butylurée dérivés des pyrido [2,3-*d*] pyrimidine « un inhibiteur de la tyrosine kinase » largement actif, à partir de la condensation d'aldéhyde avec un arylacétonitrile dans un milieu basique à reflux. Les rendements de cette réaction étaient généralement compris entre 50 et 80 % (Schéma 10).

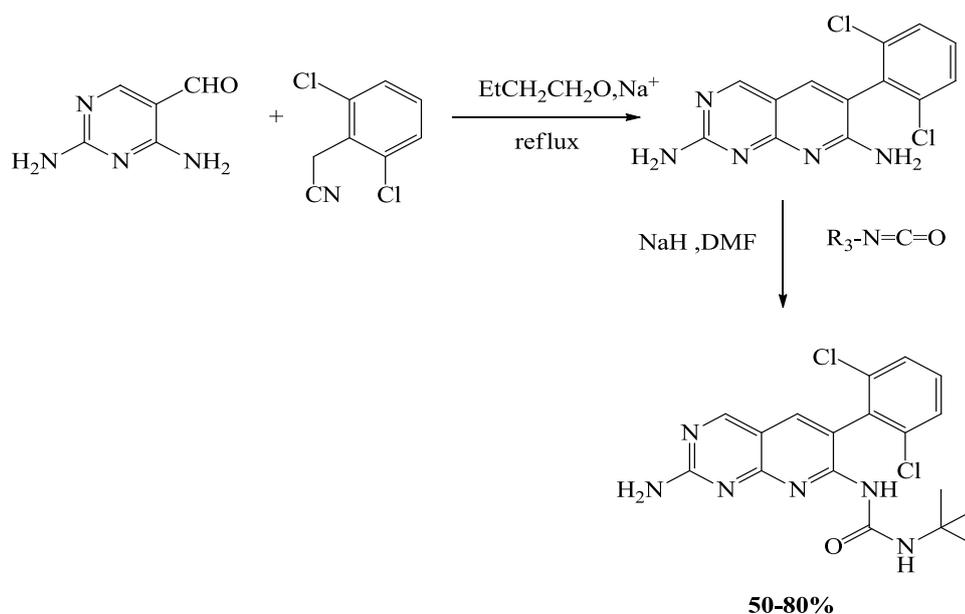


Schéma 10 : Synthèse de James M. Hamby.

En **2001**, Ch-H.Lee et coll.²² ont synthétisé la 7-(4-(diméthylamino)phényl)-6-arylpyrido[2,3-*d*]pyrimidin-4-amine en utilisant la réaction de Suzuki à partir de la 5-iodopyrimidin-4,6-diamine et les dérivés de l'acide borique en présence de Tétrakis(triphénylphosphine) palladium comme catalyseur. Ils ont obtenu le produit désiré avec des rendements de 45% et 86% selon la nature du groupement R (Schéma 11).

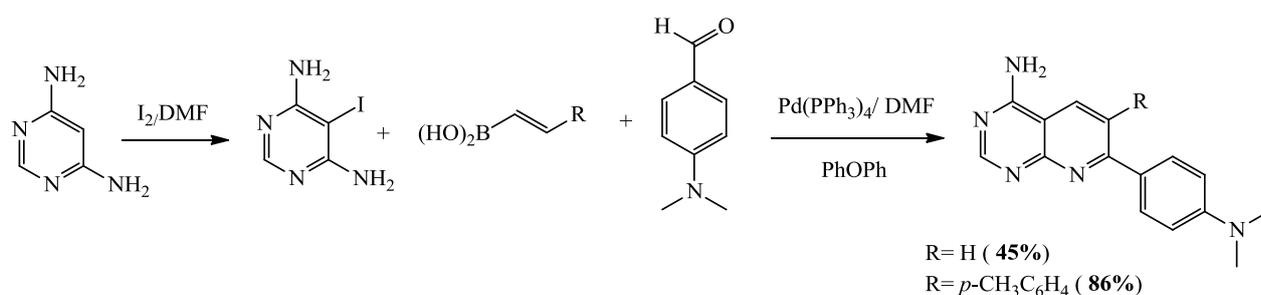


Schéma 11 : Synthèse de Ch-H. Lee.

En **2003**, A. Rosowsky et coll.³³ ont décrit une synthèse de la 2,4-diaminopyrido [2,3-*d*]pyrimidine à partir du bromomalondialdéhyde en présence d'acide chlorhydrique dans l'éthanol. Ils ont obtenu le produit désiré avec un rendement de 44% (Schéma 12).

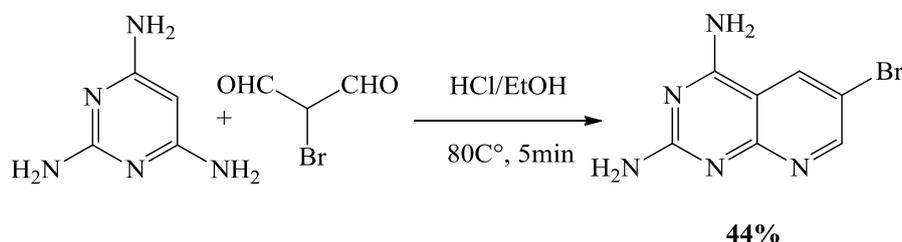


Schéma 12 : Synthèse d'A. Rosowsky.

Dans la même année, R.J. Perner et coll.³⁴ ont obtenu la 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidine à partir du 2-aminopyridine et l'acétate de formamidine dans l'acide acétique en présence de diglyme (diméthyletherde l'éthylène glycol), à 155°C, avec un rendement de 97% (Schéma 13).

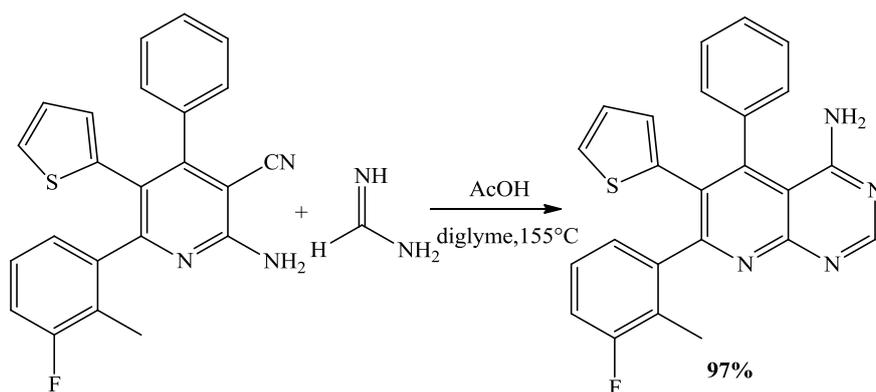


Schéma 13 : Synthèse de R.J. Perner.

En 2005, G.Lavecchia et coll.³⁵ ont proposé une synthèse de la *N*-butyl-2-chloropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-4-amine, en faisant réagir l'acide 2-aminonicotinique avec l'urée pour donner la 2,4-pyrido[2,3-*d*]pyrimidin-2,4-diol qui a été transformé en 2,4-dichloropyrido[2,3-*d*]pyrimidine en utilisant le trichlorure de phosphore, ensuite une réaction de ce dernier avec la butylamine en présence de NaH comme base dans le THF à 0°C donne le produit désiré avec un rendement de 85% (Schéma 14).

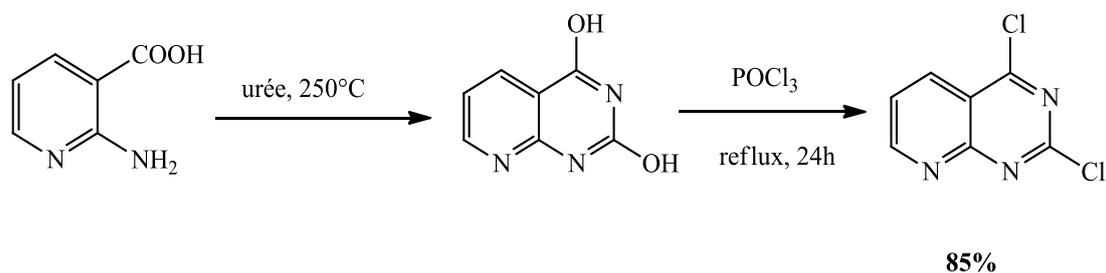


Schéma 14 : Synthèse de G. Lavecchia.

En 2009, J.S. Debenham et coll.³⁶ ont décrit une simple approche de synthèse de la 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidine qui utilise le 2-chloro-6-(2-chlorophényl)-5-(4-chlorophényl)-nicotibonitrile avec les dérivés d'acétamidine en présence de DBU (1,8-diazabicyclo[5.4.0]-undéc-7-ène) dans le DMF. Les rendements trouvés varient entre 50 - 66% (Schéma 15).

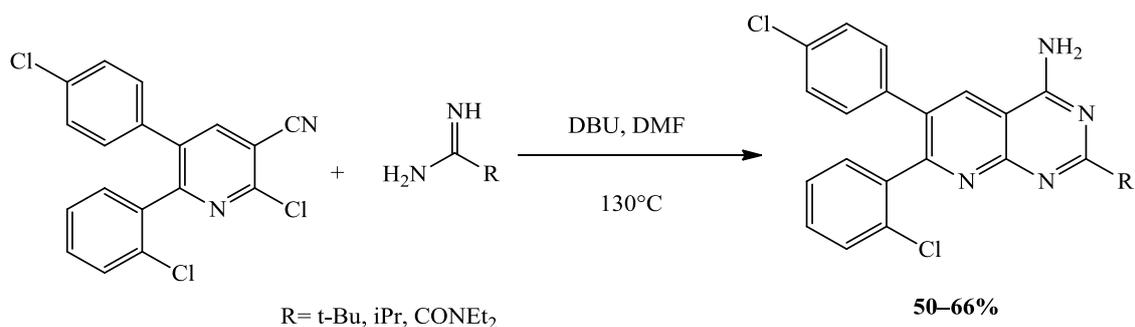


Schéma 15 : Synthèse de J.S. Debenham.

En **2013**, le groupe de A.S. Saundane³⁷ a synthétisé la 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidine en utilisant les 2-aminopyridines et le formamide à reflux pendant 6h. Les rendements sont compris entre 58-79% (Schéma 17).

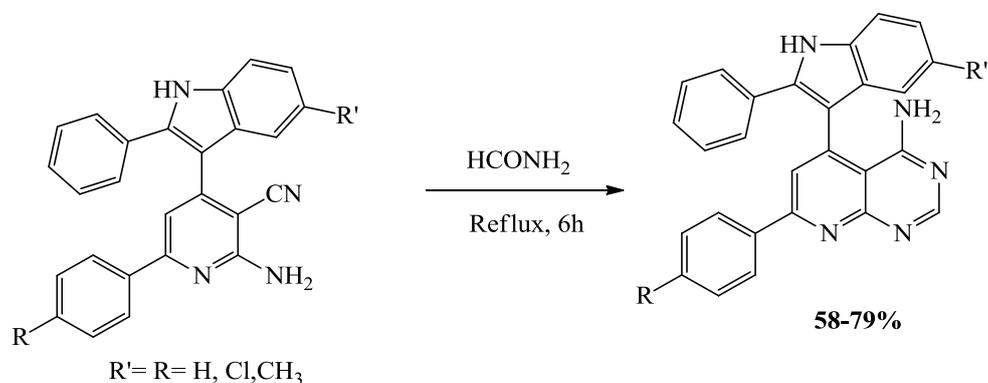


Schéma 16 : Synthèse d'A.S. Saundane.

En **2015**, Fatima Belhadj et ses coll³⁸ ont réalisés une synthèse de nouveaux dérivés de la pyrido[2,3-*d*]pyrimidine à partir d'une aminopyridine et DMFDMA sans solvant pendant 3h à 100°C à fin de former un formamidine qui se réagit avec une amine primaire pour obtenir un dérivé de pyrido[2,3-*d*]pyrimidine (amino- pyrido[2,3-*d*] pyrimidine 4-substituées) avec des rendement élevés environ 80% à 95%. Ces nouveaux composés hétérocycliques fusionnés d'importance biologique et pharmaceutique (schéma 17).

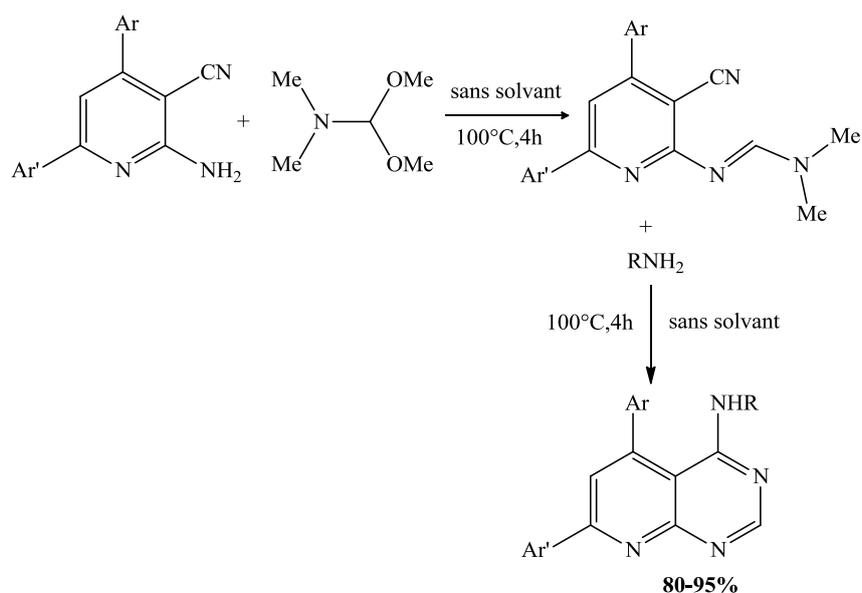


Schéma 17 : Synthèse de Fatima Belhadj.

Récemment, en 2020 A. Medjdoub³⁹ et ses collaborateurs, ont effectué la synthèse d'une nouvelle dérivé de Pyrido [2,3-d] pyrimidine à partir de 2-amino-4-(4-chlorophenyl)-3-cyano-6-(3-methoxyphenyl) pyridine et le *N,N*-diméthylformamide diméthylacetal DMFDMA à 100 °C pendant 4h (93%) pour obtenir le composé *N'*-(4-(4-chlorophenyl)-3-cyano-6-(3-methoxyphenyl)pyridin-2-yl)-*N,N*-diméthyl-formamidine ce dernier se régisse avec cyclohexylamine pour obtenir le 4-(*N*-benzylamino)-5-(4-chlorophényl)-7-(3-methoxyphenyl) Pyrido[2,3-*d*]-pyrimidine à 100 °C pendant 4h (75%) (Schéma 19).

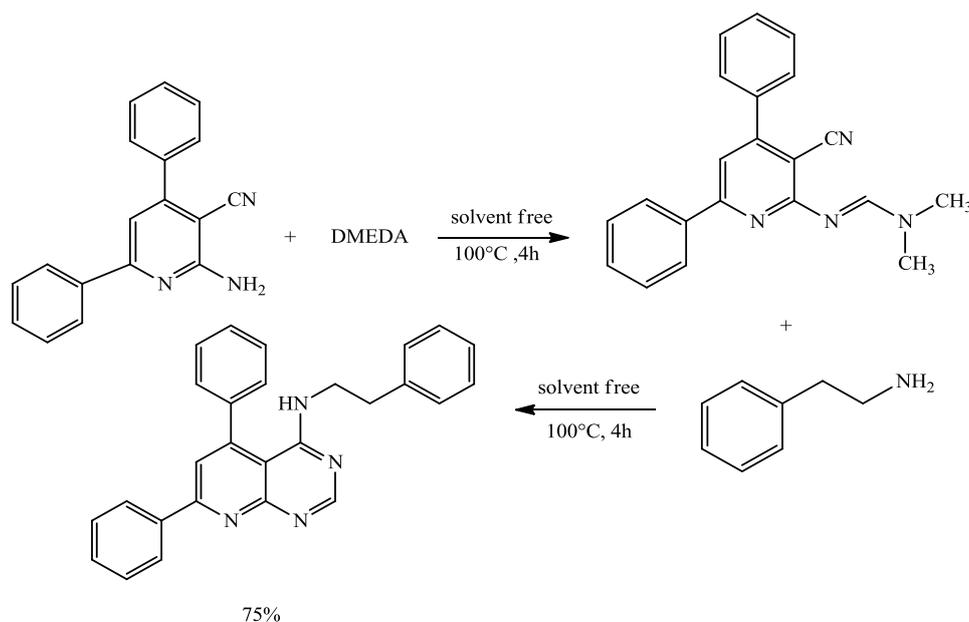


Schéma 18: Synthèse d'A. Medjdoub.

IV. Les réactions multicomposant (MCR)

IV.1. Introduction

Les réactions multicomposant (MCR)⁴⁰ sont définies comme des processus permettant de réaliser en une opération synthétique au moins trois réactifs qui participent à la structure finale du produit obtenus. Ces réactions sont efficaces et permettent d'accéder rapidement à des molécules polyfonctionnalisées ce type de réaction constitue une nouvelle voie de synthèse organique à partir des réactifs commerciaux mettant en jeu des réactions simples et des procédés sans risque à l'environnement.

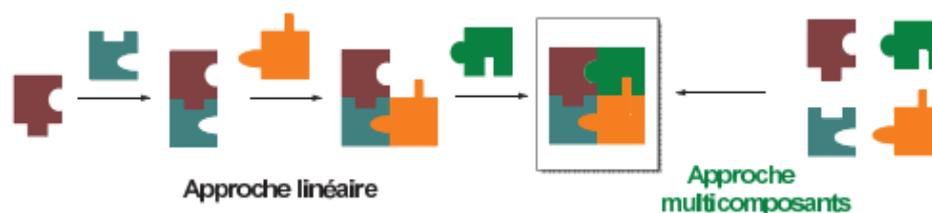


Figure 10 : Principe de réactions multicomposant.

IV.2. Historique

Historiquement la première MCR a été réalisée par Strecker en **1850**, la synthèse de l'aminonitrile à partir de la condensation de l'acide cyanhydrique et l'ammoniaque avec une cétone. Cet intermédiaire peut être hydrolysé et conduire à un aminoacide.

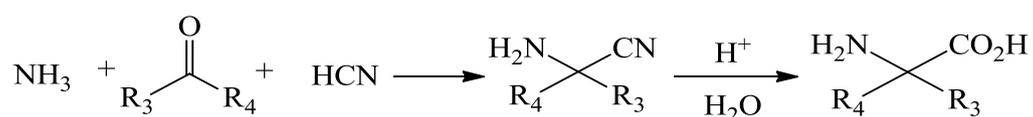


Schéma 19 : Synthèse de Strecker par réaction multicomposant (1850).

En **1882**, la synthèse de dihydropyridines décrite par Hantzsch est réalisée entre deux molécules de β -cétoster et un aldéhyde dans l'ammoniaque.

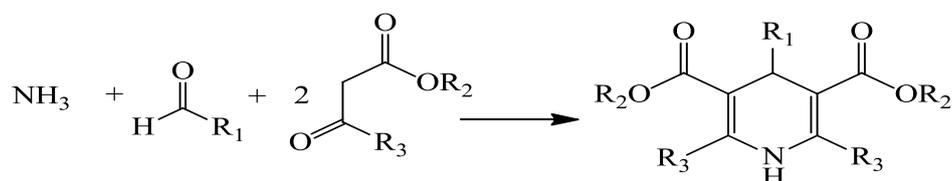


Schéma 20 : Synthèse de Hantzsch par réaction multicomposant (1882).

En 1959 Ugi a diversifié la MCR à quatre composants qui met en jeu un acide carboxylique, une amine, un aldéhyde et un isonitrile pour former un α -amidoamides.

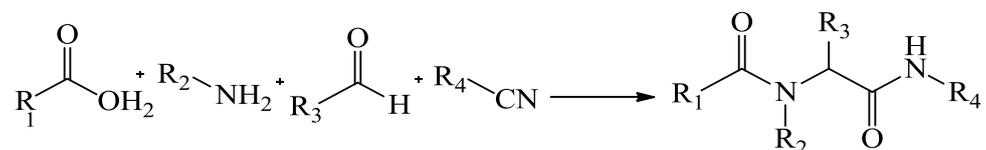


Schéma 21 : Synthèse d'Ugi par réaction multicomposant (1959).

VI. Conclusion

D'après cette étude bibliographique, nous constatons que les produits les plus utilisés comme point de départ pour la synthèse des pyrido[2,3-d]pyrimidines sont les dérivés d'aminopyridine selon des réactions classiques par étape.

A travers ce chapitre, nous avons passé en revue quelques critères de la chimie verte utilisés en chimie organique tels que : les réactions sans solvants, les micro-ondes et les réactions multicomposant.

Références bibliographiques

1. Régnier, S., Synthèse efficace d'hétérocycles azotés par activation d'amides engendrée par l'anhydride trifluorométhanesulfonique. 2017.
2. KIBOU, Z. Nouvelle voie de synthèse d'hétérocycles azotés dans des conditions de "chimie verte": application à la synthèse des 2-aminopyridines et des 2-pyridones. Mémoire de magister. 2009.
3. Shen, Z.; He, X.; Dai, J.; Mo, W.; Hu, B.; Sun, N.; Hu, X., An efficient HCCP-mediated direct amination of quinazolin-4 (3H)-ones. *Tetrahedron* 2011, 67 (9), 1665-1672.
4. Katsouri, L.; Vizcaychipi, M. P.; McArthur, S.; Harrison, I.; Suárez-Calvet, M.; Lleo, A.; Lloyd, D. G.; Ma, D.; Sastre, M., Prazosin, an α 1-adrenoceptor antagonist, prevents memory deterioration in the APP23 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging* 2013, 34 (4), 1105-1115.
5. Bisset, L. R.; Lutz, H.; Böni, J.; Hofmann-Lehmann, R.; Lüthy, R.; Schüpbach, J., Combined effect of zidovudine (ZDV), lamivudine (3TC) and abacavir (ABC) antiretroviral therapy in suppressing in vitro FIV replication. *Antiviral research* 2002, 53 (1), 35-45.
6. Bourotte, M. Synthèse d'inhibiteurs de protéines kinases: approches pharmacochimiques. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur, 2004.
7. Alaa, A.-M.; El-Subbagh, H. I.; Kunieda, T., Lewis acid-promoted transformation of 2-alkoxypyridines into 2-aminopyridines and their antibacterial activity. Part 2: remarkably facile C–N bond formation. *Bioorganic & medicinal chemistry* 2005, 13 (16), 4929-4935.
8. Manna, F.; Chimenti, F.; Bolasco, A.; Bizzarri, B.; Filippelli, W.; Filippelli, A.; Gagliardi, L., Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic 4, 6-disubstituted 3-cyano-2-aminopyridines. *European journal of medicinal chemistry* 1999, 34 (3), 245-254.
9. Yahyazadeh, A.; Abbaspour-Gilandeh, E.; Aghaei-Hashjin, M., Four-Component Synthesis of 2-Amino-3-Cyanopyridine Derivatives Catalyzed by Cu@ imineZCMNPs as a Novel, Efficient and Simple Nanocatalyst Under Solvent-Free Conditions. *Catalysis Letters* 2018, 148 (4), 1254-1262.
10. Beteringhe, A.; Racuciu, C.; Balan, C.; Stoican, E.; Patron, L. In Molecular docking studies involving transitional metal complexes (Zn (II), Co (II), Cu (II), Fe (II), Ni (II) with cholic acid (AC) as ligand against Aurora A kinase, *Advanced Materials Research, Trans Tech Publ*: 2013; pp 236-240.
11. Dongre, R. S.; Bhat, A. R.; Meshram, J. S., Anticancer activity of assorted annulated pyrimidine: a comprehensive review. *Am. J. PharmTech Res* 2014, 4 (1), 138-155.
12. Zhang, F.; Zhao, Y.; Sun, L.; Ding, L.; Gu, Y.; Gong, P., Synthesis and anti-tumor activity of 2-amino-3-cyano-6-(1H-indol-3-yl)-4-phenylpyridine derivatives in vitro. *European journal of medicinal chemistry* 2011, 46 (7), 3149-3157.
13. Ma, H.-R.; Wang, Y.-Y.; Liu, P.; Li, D.-S.; Shi, Q.-Z.; Lee, G.-H.; Peng, S.-M., Synthesis, characterization and crystal structures of 2, 4-di (2-aminopyridine)-6-methylpyrimidine (dapmp), [Cu (dapmp) Cl₂] and [Cu (dapmp)(CH₃COO) 2]· H₂O. *Polyhedron* 2005, 24 (2), 215-220.
14. Elagamey, A. G. A.; El-Taweel, F. M. A.-A.; Khodeir, M. N. M.; Elnagdi, M. H., Nitriles in heterocyclic synthesis. The reaction of polyhydric naphthalenes, 4-methylcoumarin-3-carbonitrile, and alkylidenemalononitrile with methylenemalononitrile. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 1993, 66 (2), 464-468.
15. Shintani, T.; Kadono, H.; Kikuchi, T.; Schubert, T.; Shogase, Y.; Shimazaki, M., Efficient synthesis of 3-cyano-6-(2-hydroxyphenyl) pyridines by multi-component condensations on beads. *Tetrahedron Letters* 2003, 44 (35), 6567-6569.

16. BELHADJ, F. Nouvelle voie de synthèse d'hétérocycles azotés dans les conditions de* la chimie verte*: Application à la synthèse des bis 2-aminopyridies.
17. Villoutreix, B. O.; Renault, N.; Lagorce, D.; Sperandio, O.; Montes, M.; Miteva, M. A., Free resources to assist structure-based virtual ligand screening experiments. *Current Protein and Peptide Science* 2007, 8 (4), 381-411.
18. Kodimuthali, A.; Mungara, A.; Prasunamba, P. L.; Pal, M., A simple synthesis of aminopyridines: Use of amides as amine source. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2010, 21 (8), 1439-1445.
19. Dehbi, O.; Tikad, A.; Bourg, S.; Bonnet, P.; Lozach, O.; Meijer, L.; Aadil, M.; Akssira, M.; Guillaumet, G.; Routier, S., Synthesis and optimization of an original V-shaped collection of 4-7-disubstituted Pyrido [3, 2-d] pyrimidines as CDK5 and DYRK1A inhibitors. *European journal of medicinal chemistry* 2014, 80, 352-363.
20. Le Corre, L.; Girard, A.-L.; Aubertin, J.; Radvanyi, F.; Benoist-Lasselin, C.; Jonquoy, A.; Mugniery, E.; Legeai-Mallet, L.; Le Merrer, Y., Synthesis and biological evaluation of a triazole-based library of pyrido [2, 3-d] pyrimidines as FGFR3 tyrosine kinase inhibitors. *Organic & biomolecular chemistry* 2010, 8 (9), 2164-2173.
21. Gangjee, A.; Adair, O.; Queener, S. F., Pneumocystis carinii and Toxoplasma gondii Dihydrofolate Reductase Inhibitors and Antitumor Agents: Synthesis and Biological Activities of 2, 4-Diamino-5-methyl-6-[(monosubstituted anilino) methyl]-pyrido [2, 3-d] pyrimidines. *Journal of medicinal chemistry* 1999, 42 (13), 2447-2455.
22. Lee, C.-H.; Jiang, M.; Cowart, M.; Gfesser, G.; Perner, R.; Kim, K. H.; Gu, Y. G.; Williams, M.; Jarvis, M. F.; Kowaluk, E. A., Discovery of 4-amino-5-(3-bromophenyl)-7-(6-morpholino-pyridin-3-yl) pyrido [2, 3-d] pyrimidine, an orally active, non-nucleoside adenosine kinase inhibitor. *Journal of medicinal chemistry* 2001, 44 (13), 2133-2138.
23. Gangjee, A., Pyrrolo pyrimidine and furo pyrimidine derivatives. Google Patents: 1999.
24. Bennett, L. R.; Blankley, C. J.; Fleming, R. W.; Smith, R. D.; Tessman, D. K., Antihypertensive activity of 6-arylpyrido [2, 3-d] pyrimidin-7-amine derivatives. *Journal of medicinal chemistry* 1981, 24 (4), 382-389.
25. MADKOUR, H. F.; SALEM, M. I.; Abdel-Rahman, T.; Azab, M., Reactions of 5-(p-anisyl)-2-methyl-7-(p-tolyl)-4H-pyrido-[2, 3-d][1, 3] oxazin-4-one. *Heterocycles (Sendai)* 1994, 38 (1), 57-69.
26. GUILLAUMET, G.; ROUTIER, S.; AKSSIRA, M.; AADIL, M.; KIRSCH, G.; El Mestafa, E.; TROIN, Y., Synthèse de nouveaux dérivés pyridopyrimidiniques, imidazopyridiniques et imidazopyridaziniques. Evaluation de leurs propriétés biologiques.
27. Lahiri, S. D.; Kutschke, A.; McCormack, K.; Alm, R. A., Insights into the mechanism of inhibition of novel bacterial topoisomerase inhibitors from characterization of resistant mutants of Staphylococcus aureus. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2015, 59 (9), 5278-5287.
28. Piper, J. R.; McCaleb, G. S.; Montgomery, J. A.; Kisliuk, R. L.; Gaumont, Y.; Sirotnak, F. M., Syntheses and antifolate activity of 5-methyl-5-deaza analogs of aminopterin, methotrexate, folic acid, and N10-methylfolic acid. *Journal of medicinal chemistry* 1986, 29 (6), 1080-1087.
29. Gangjee, A.; Vidwans, A.; Elzein, E.; McGuire, J. J.; Queener, S. F.; Kisliuk, R. L., Synthesis, antifolate, and antitumor activities of classical and nonclassical 2-amino-4-oxo-5-substituted-pyrrolo [2, 3-d] pyrimidines. *Journal of medicinal chemistry* 2001, 44 (12), 1993-2003.
30. Shen, Z.; Dai, J.; Xiong, J.; He, X.; Mo, W.; Hu, B.; Sun, N.; Hu, X., 2, 3-Dichloro-5, 6-dicyano-1, 4-benzoquinone (DDQ)/tert-Butyl Nitrite/Oxygen: A Versatile Catalytic Oxidation System. *Advanced Synthesis & Catalysis* 2011, 353 (16), 3031-3038.

31. Bernetti, R.; Mancini, F.; Price, C. C., Pyrido [2, 3-d] pyrimidines from Malonaldehydes I. *The Journal of organic chemistry* 1962, 27 (8), 2863-2865.
32. Hamby, J. M.; Connolly, C. J.; Schroeder, M. C.; Winters, R. T.; Showalter, H. H.; Panek, R. L.; Major, T. C.; Olsewski, B.; Ryan, M. J.; Dahring, T., Structure– activity relationships for a novel series of pyrido [2, 3-d] pyrimidine tyrosine kinase inhibitors. *Journal of medicinal chemistry* 1997, 40 (15), 2296-2303.
33. Rosowsky, A.; Chen, H.; Fu, H.; Queener, S. F., Synthesis of new 2, 4-diaminopyrido [2, 3-d] pyrimidine and 2, 4-diaminopyrrolo [2, 3-d] pyrimidine inhibitors of *Pneumocystis carinii*, *Toxoplasma gondii*, and *Mycobacterium avium* dihydrofolate reductase. *Bioorganic & medicinal chemistry* 2003, 11 (1), 59-67.
34. Perner, R. J.; Gu, Y.-G.; Lee, C.-H.; Bayburt, E. K.; McKie, J.; Alexander, K. M.; Kohlhaas, K. L.; Wismer, C. T.; Mikusa, J.; Jarvis, M. F., 5, 6, 7-trisubstituted 4-aminopyrido [2, 3-d] pyrimidines as novel inhibitors of adenosine kinase. *Journal of medicinal chemistry* 2003, 46 (24), 5249-5257.
35. Lavecchia, G.; Berteina-Raboin, S.; Guillaumet, G., Selective bifunctionalization of pyrido [2, 3-d] pyrimidines in positions 2 and 4 by SNAr and palladium-catalyzed coupling reactions. *Tetrahedron Letters* 2005, 46 (35), 5851-5855.
36. Debenham, J. S.; Madsen-Duggan, C. B.; Wang, J.; Tong, X.; Lao, J.; Fong, T. M.; Schaeffer, M.-T.; Xiao, J. C.; Huang, C. C.-R.; Shen, C.-P., Pyridopyrimidine based cannabinoid-1 receptor inverse agonists: Synthesis and biological evaluation. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 2009, 19 (9), 2591-2594.
37. Saundane, A. R.; Vijaykumar, K.; Vaijinath, A.; Walmik, P., Synthesis, antimicrobial and antioxidant activities of some new indole derivatives containing pyridopyrimidine and pyrazolopyridine moieties. *Medicinal Chemistry Research* 2013, 22 (2), 806-817.
38. Belhadj, F.; Kibou, Z.; Cheikh, N.; Choukchou-Braham, N.; Villemin, D., Convenient access to new 4-substituted aminopyrido [2, 3-d] pyrimidine derivatives. *Tetrahedron Letters* 2015, 56 (44), 5999-6002.
39. Medjdoub, A.; Belhadj, F.; Merzouk, A. S.; Hamed, Y. B.; Kibou, Z.; Choukchou-Braham, N.; Merzouk, H., In vitro peripheral blood mononuclear cell proliferation, cytokine secretion and oxidative stress modulation by pyrido [2, 3-d] pyrimidines. *Chemical Papers* 2020, 74 (3), 903-913.
40. Mondière, A. Réactions multicomposants et applications: synthèse de cyclopent [b] indoles et pyrrolo [1, 2-a] indoles: synthèse diastéréosélective de lignanes tétrahydrofuraniques trisubstitués. Université Claude Bernard-Lyon I, 2010.

PARTIE II : La Fluorescence Moléculaire**I. Définition de la fluorescence**

La fluorescence moléculaire est un phénomène qui appartient à la grande famille de la luminescence, plus particulièrement à la photoluminescence. Elle est basée sur les phénomènes de l'excitation et de l'émission qui correspond à l'absorption de photons par une molécule de type fluorophore ou fluorescente. cet phénomène physique est classifié dans l'ensemble des phénomènes de luminescence comprenant la photoluminescence (fluorescence, phosphorescence) et les autres types de luminescence (chimiluminescence, bioluminescence...)¹

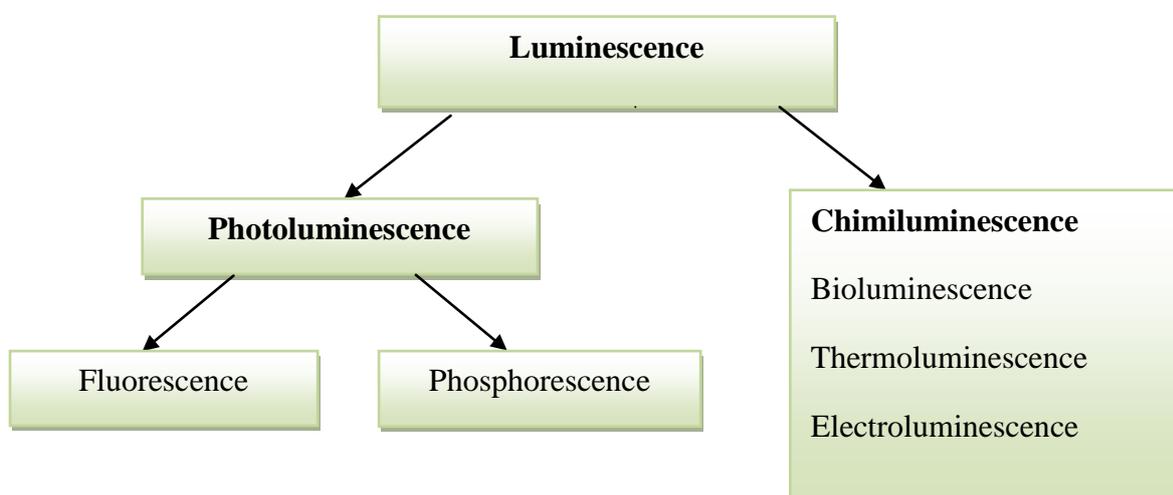


Figure 11 : Les familles de la luminescence.

La photoluminescence est une émission lumineuse de photons par une molécule qui a été irradiée par un faisceau lumineux globalement dans une gamme de longueur d'onde s'étalant du visible à l'ultraviolet. La photoluminescence inclus deux processus: la fluorescence et la phosphorescence, qui dépendent de la nature des états fondamentaux et excités de la molécule considérée.²

La classe de luminescence est déterminée par la nature de la source d'énergie portant le composé excité. Classe de luminescence correspondante (figure 12) :

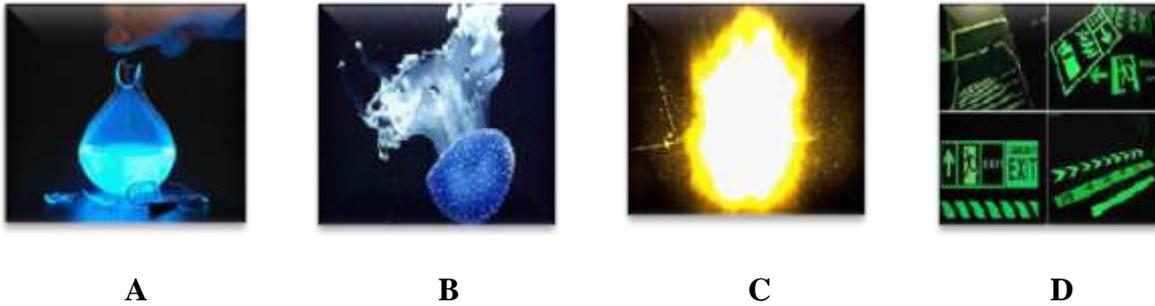


Figure 12: Les différentes classes de luminescence.

A : Chimiluminescence, dans le cas où l'énergie est rapportée par une réaction chimique

B : Bioluminescence, émission de la lumière issue à des réactions enzymatiques

C : Thermoluminescence, c'est le cas où l'énergie est rapportée par un phénomène thermique

D : Photoluminescence, suite à l'absorption d'un ou de plusieurs photons

II. Historique :

le physicien allemand Wiedeman a inventé le terme luminescence en **1888** (luminescenz) et comme le mot lumière il vient du latin (lumen), il indique l'émission de lumière « un rayonnement électromagnétique visible ultraviolet ou infrarouge » qui n'est pas d'origine purement thermique par opposition à l'incandescence³ (lumière chaude).

Il existe de nombreux phénomènes luminescents dans la nature tel que phénomènes naturels, les végétaux, les champignons et les animaux marins vivants émettant de la lumière la nuit.⁴



Figure 13 : Les animaux marins fluorescents.

La première publication de la fluorescence a été faite par Monardes N., en **1565**, qui a décrit l'observation de l'émission de lumière par une infusion de bois.⁵

. En **1845**, John Frederick William Herschel a découvert une solution de quinine fluorescente. que l'on attribue l'introduction du terme de fluorescence en **1853**⁵. Il avait alors

observé qu'une solution de sulfate de quinine sous illumination UV émettait une lumière de longueur d'onde supérieure. Plus tard les premières mesures de luminescence apparaissent : phosphoroscope élaboré par E. Becquerel en **1859**, et construit par L. J Duboscq, analyses fluorimétriques et synthèses de fluorophores, conçue par Baeyer en **1871**.

En **1920**, la microscopie de fluorescence a été développée par les premiers marquages vitaux pour les bactéries et les protozoaires. En **1980**, nous avons connu le développement des nanoparticules fluorescentes semi-conductrices : quantum dots «point quantique».⁶

III. Principe de la fluorescence

La fluorescence repose sur le principe que lorsqu'une substance est excitée par une source lumineuse, des photons sont absorbés par celle-ci. Suite à cette absorption de lumière par la substance, ses électrons deviennent excités et peuvent passer d'un niveau d'énergie inférieur (état fondamentale) vers un niveau d'énergie supérieur (état excité). Dès que la molécule est dans l'état excité, il existe de nombreuses voies permettant le retour à l'état fondamental. Il y'a deux sorte de transition, transition radiative implique l'émission de photon et transition non-radiatives⁷. C'est ce phénomène qui est appelé fluorescence. Le nombre de photons libérés lors du processus de fluorescence est proportionnel à la quantité d'électrons ayant passé de l'état fondamentale à l'état excité, qui est proportionnelle à la concentration de la substance excitée.

Le diagramme de Perrin-Jablonski⁸ permet d'illustrer le phénomène de fluorescence et l'ensemble des processus possibles lors de l'excitation d'une molécule sans interaction avec d'autres molécules, excepté le solvant, à partir de son état fondamental électronique S_0 : absorption, conversion interne, fluorescence, croisement inter système et phosphorescence. Chaque niveau d'énergie est divisé en plusieurs niveaux d'énergie vibrationnelle (V_0, V_1, V_2, \dots).

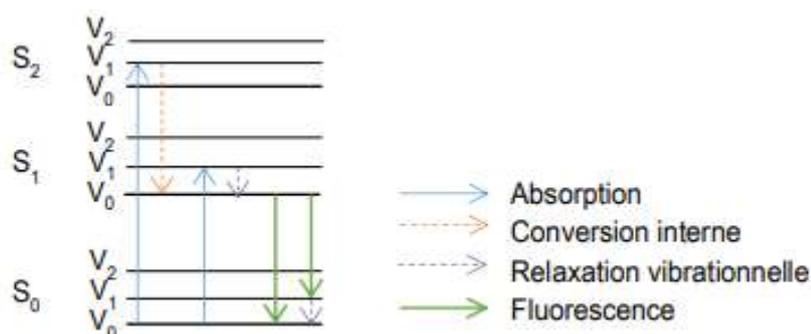


Figure 14 : le diagramme de Perrin-Jablonski.

Sur le diagramme de Jablonski⁹, les principales désexcitations radiatives d'une molécule sont représentées. Les états électroniques sont notés S_0 (fondamental), S_1 , S_2 pour le premier et deuxième état électronique excité.

Divers niveaux vibrationnels sont associés à chaque état électronique et les processus d'absorption et d'émission sont symbolisés par des flèches pleines alors que les relaxations vibrationnelles et conversions inter systèmes sont représentées par des flèches pointillée.

IV.FACTEURS INFLUENÇANT LA FLUORESCENCE

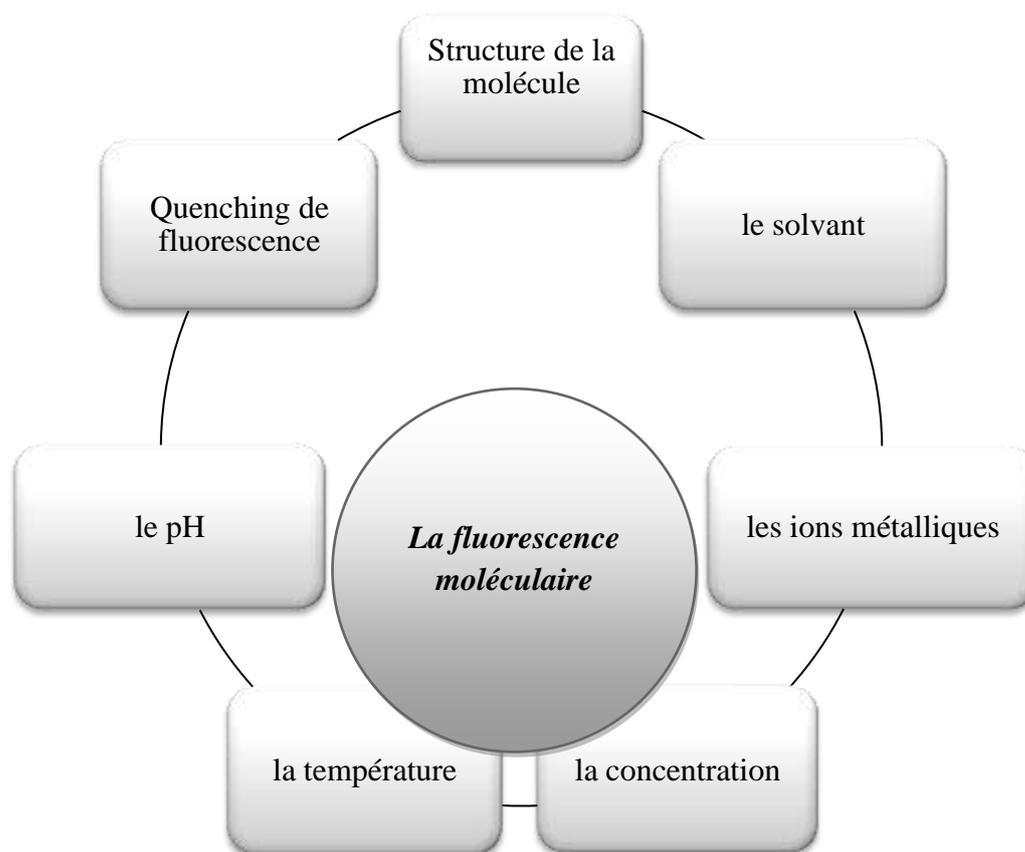


Figure 15 : Les facteurs influençant la fluorescence

IV.1.L'influence de la structure moléculaire¹⁰

Les composés aromatiques de masse moléculaires importants fluorescents dans des domaines de longueur d'ondes élevées. Par contre, les composés aliphatiques, fluorescent dans les longueurs d'ondes basses. La présence de groupes substituant donneurs d'électrons (-OH, -OR, -NH₂, -NR, -NR₂) augmente la probabilité de fluorescence d'une molécule. A l'inverse, Les groupes substituant électro attracteurs (-COOH, -NO₂) réduisent la probabilité de fluorescence d'une molécule

IV.2. L'influence du solvant¹¹

La polarité du solvant a une grande influence sur les propriétés d'émission d'un fluorophore car il peut modifier les niveaux d'énergie de la molécule. Cette polarité est extrêmement visible dans le cas de molécules qui subissent un transfert de charge intramoléculaire durant l'excitation. Dans ces molécules qui sont du type donneur-accepteur conjugué les orbitales HOMO et LUMO sont distantes et lors du passage à l'état excité le transfert d'un électron entraîne une modification du moment dipolaire qui est fréquemment

plus élevé dans l'état excité que dans l'état fondamental. Dans le cas d'un milieu polaire, l'état excité n'est alors plus en équilibre avec le solvant, il s'opère donc une réorganisation des molécules du solvant autour du fluorophore excité. Le solvant peut avoir pour effet de modifier les niveaux énergétiques des molécules. il peut favoriser ou au contraire inhiber la fluorescence. Par exemple la quinoléine n'est pas fluorescente en milieu apolaire alors qu'elle est fluorescente en milieu polaire

IV.3. L'influence du pH¹²

La fluorescence est sensible aux pH à cause de la protonation ou la déprotonation de groupes fonctionnels de fluorophores au niveau de la l'intensité des spectres d'excitation ou d'émission, ou bien au niveau de leur rendement quantique par rapport aux autres processus non radiatifs. Les acides faibles et les bases faibles sont dissociés ou non selon le pH du milieu réactionnel. La modification de structure qui résulte de la variation du pH retentit sur la fluorescence.

IV.4. L'influence de la température

L'augmentation de la température est favorisé par une augmentation du mouvement thermique des molécules et de la probabilité de collision entre eux à l'état excité. et donc l'intensité de fluorescence par contre la diminution de la température augmente le rendement quantique d'un fluorophore ce qui accroît la probabilité de conversions internes et diminue donc l'efficacité de fluorescence.

IV.5. L'influence des ions métalliques

La présence des ions métalliques peut modifier certaines propriétés photophysiques du fluorophore Les cations des métaux de transition colorés absorbent de l'énergie et inhibent la fluorescence. Des déplacements spectraux en émission (et/ou en absorption), des modifications du rendement quantique de fluorescence permettent alors de déterminer la concentration des ions dans le milieu d'étude.

IV.6. L'influence de la concentration

L'intensité de la fluorescence dépend de la concentration du fluorophore en solution¹³, l'augmentation de nombre de collisions entre les molécule de soluté et les effets de filtre interne qui favorisent la réduction de l'intensité de la fluorescence par augmentation de l'épaisseur de la solution traversée par la radiation excitatrice .A fortes concentrations et

surtout de dimérisation (d'addition de deux éléments pour constituer un dimère) ou d'agrégation vont modifier les propriétés spectrales et l'efficacité de la fluorescence.

IV.7. Quenching de fluorescence

L'extinction de fluorescence ou « quenching » Il est du à l'absorption de la radiation émise par la substance elle-même ou self-quenching ce qui diminue le rendement quantique et donc la diminution de l'intensité de fluorescence causée par des échanges énergétiques entre les molécules de l'échantillon. Ces échanges énergétiques peuvent être d'origine statique ou dynamique ou issue d'effets de filtres internes.

L'extinction de fluorescence statique due à une formation de complexes intermoléculaires avec d'autres molécules du milieu. La molécule fluorescente ainsi complexée, ne peut plus émettre de la fluorescence.

L'extinction de fluorescence dynamique se produit lorsque l'état excité d'une molécule est désactivé par contact ou collision avec d'autres molécules de l'échantillon. L'effet de filtre interne est la résultante d'une perte ou diminution du signal de fluorescence pour des matrices de forte densité optique ou présentant une grande turbidité¹⁴ Il est possible d'éliminer ce phénomène en diluant l'échantillon .

V .Les Fluorophores

V.1. Définition

Les Fluorophores sont des composés de différentes natures : composés organiques, inorganiques, organométalliques. capables d'émettre de la lumière de fluorescence après excitation, ce molécules sont des composés aromatique ou des composés possédant des systèmes conjugués⁷

Les fluorophores les plus utilisés sont les dérivés de la fluoresceine¹⁵ de la rhodamine, de la série des BODIPY (bore-dipyrométhène), des cyanines polyméthines¹⁶ le bromure d'éthidium et l'iodure de propidium¹⁷ dont beaucoup sont commerciales (figure 16).

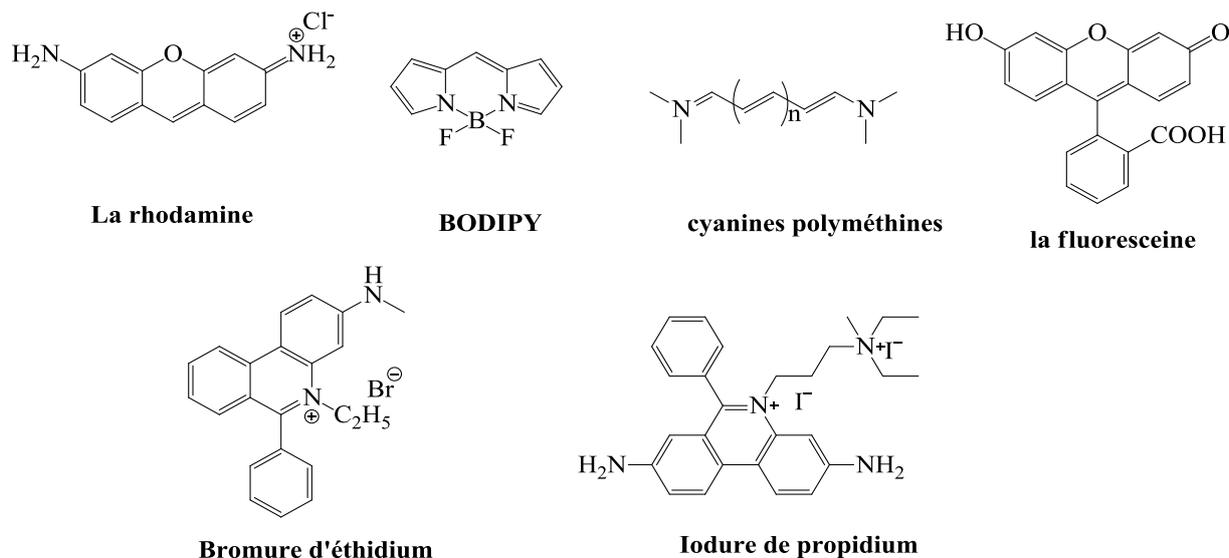


Figure 16 : Exemples de fluorophores les plus utilisés.

V.2. Caractéristiques des fluorophores

Les fluorophores sont des molécules possédant la propriété d'émettre un photon de longueur d'onde λ_{em} consécutivement à l'absorption d'un photon de longueur d'onde λ_{abs} . Ces composés sont caractérisés par différents paramètres:

V.2.1. Absorption

L'efficacité de l'absorption est déterminée par le coefficient d'extinction molaire ϵ du composé. Il est déterminé à la longueur d'onde maximale du fluorophore. À une intensité lumineuse incidente, plus ϵ est grand, plus la fluorescence sera élevée.¹⁸

V.2.2. Rendement quantique de la fluorescence

Le rendement quantique est défini par le rapport entre le nombre de photons de fluorescence émis et le nombre de photons absorbés par la molécule, pour déterminer l'efficacité de l'émission de la lumière fluorescente pour une molécule donnée

$$\Phi = \frac{\text{Nombre de photons émis}}{\text{Nombre de photons absorbés}}$$

Le rendement quantique peut varier en fonction de l'environnement des fluorophores : pH, concentration, polarité⁷

V.2.3.Brillance

La brillance B est une valeur qui associe l'absorbance d'un composé à son rendement Quantique de fluorescence

$$B = \epsilon \times \Phi$$

C'est un paramètre simple qui permet d'effectuer des comparaisons entre plusieurs molécules fluorescentes donne un aperçu de l'intérêt biologique d'un composé pour un marquage fluorescent.

V.2.4. Déplacement de stokes

Le déplacement de stokes est la différence entre la position du pic du spectre d'absorption et celle du pic du spectre de fluorescence de la même molécule. La détection d'une espèce fluorescente est d'autant plus facile que le déplacement de stokes est grand. Le déplacement de Stokes est exprimé en nombres d'ondes ³

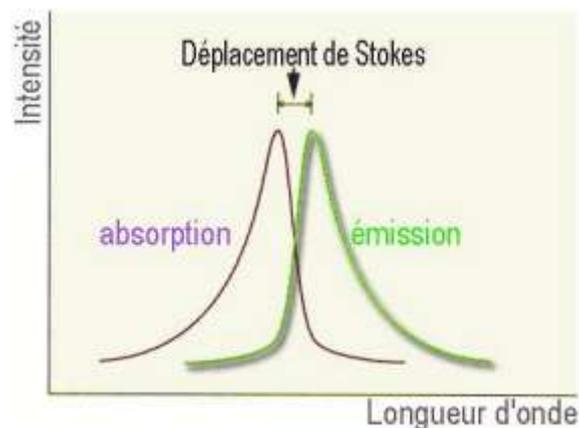


Figure 17: Le déplacement de Stokes.

V.2.5. La durée de vie de fluorescences

La durée de vie de fluorescence ou le temps de déclin, correspond à la durée de vie moyenne de l'état excité. La plupart des fluorophores ont des durées de vie de l'ordre de la nanoseconde. Plus τ est petit, meilleur sera la sensibilité du fluorophore⁷.

$$I(t) = I_0 \cdot e^{-\frac{t}{\tau}}$$

$I(t)$ = Intensité de fluorescence mesurée au temps.

I_0 = Intensité de fluorescence observée immédiatement après excitation.

τ = Durée de vie du fluorochrome.

V.2.6. Solubilité

La plupart des expérimentations biologiques se déroulent en milieu aqueux. Il est important que le fluorophore ait une solubilité aqueuse suffisante pour atteindre une concentration adéquate avec l'expérimentation envisagée, la plupart des fluorophores organiques sont construits autour d'hétérocycle aromatiques reliées par une chaîne carbonée insaturée ou autour d'un cœur polycyclique aromatique

VI. Instrumentation

VI.1. Un fluorimètre

Un fluorimètre ou un spectrofluorimètre est un instrument de mesure et d'analyse des propriétés de fluorescence de composés chimiques à fin d'en déduire des informations sur leurs propriétés lumineuses.

VI.2. Principe de fluorimètre

Le fluorimètre est basé sur le principe suivant : la lumière d'une source d'excitation passe par un filtre ou un monochromateur, puis par l'échantillon. Une partie peut être absorbée, induisant la fluorescence de certaines molécules de l'échantillon. Une partie de la lumière de fluorescence est ensuite concentrée sur un filtre ou un monochromateur, qui est parfois placé à un angle de 90 ° par rapport à la lumière d'excitation afin d'éviter les interférences pour la lumière d'excitation transmise. La lumière est ensuite captée par un détecteur.

Les sources lumineuses diverses peuvent être utilisées comme sources d'excitation, tels que les lasers, les photodiodes et des lampes comme les arcs au xénon et lampes à vapeur de mercure en particulier.

Deux types de monochromateurs peuvent être utilisés dans les fluorimètres : les monochromateurs passe-bande et les monochromateurs à interférence. Les filtres passe-bande sont des filtres qui transmettent la lumière soit en dessous d'une longueur d'onde donnée (filtres passe-bas), soit au-dessus d'une longueur d'onde donnée (filtres passe-haut). Les filtres à interférence sont des filtres transmettant la lumière dans un intervalle donné. Un monochromateur transmet la lumière à une longueur d'onde ajustable avec une tolérance également ajustable.

Le détecteur peut soit être monocanal, soit multicanaux (photomultiplicateur). Un détecteur monocanal peut seulement détecter l'intensité d'une seule longueur d'onde à la fois, alors que le multicanaux détecte l'intensité pour plusieurs longueurs d'onde simultanées.

Les fluorimètres peuvent enregistrer un spectre d'excitation et un spectre de fluorescence. Lors de l'acquisition du spectre de fluorescence, la longueur d'onde de la lumière d'excitation est maintenue constante, préférentiellement à une longueur d'onde de forte absorption, et le monochromateur d'émission balaie le spectre. Pour la mesure du spectre d'excitation, la longueur d'onde passant le filtre d'émission ou le monochromateur est maintenue constante et le monochromateur d'excitation balaie le spectre. Le spectre d'excitation est généralement identique au spectre d'absorption et l'intensité de fluorescence est proportionnelle à l'absorption¹⁹.

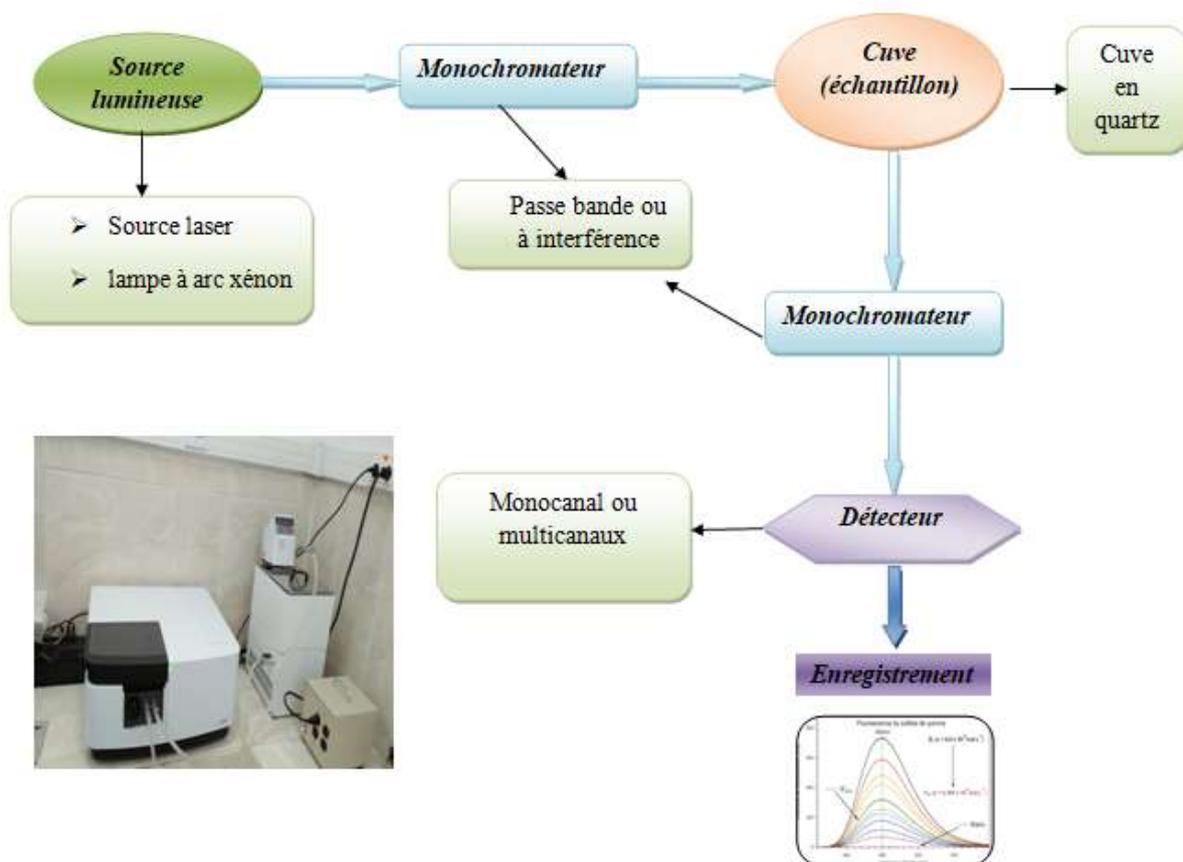


Figure 18 : Présentation de l'instrument Fluorimètre.

VII. Utilisation de la fluorescence

Les molécules fluorescentes jouent des rôles très variés : sondes, marqueurs, traceurs, senseurs ou indicateurs, lasers à colorants, les billets de banques et les peintures anticollision (des avions). Ainsi la fluorescence est-elle un outil remarquable d'analyse (on détecte de cette façon des espèces chimiques telles que des métaux toxiques, l'oxygène, des traces d'explosifs, etc.). De diagnostic (angiographie, puces à ADN, détections de cancers) et de visualisation du vivant (microscopie de fluorescence).



Figure 19 : quelques utilisations de la fluorescence.

VIII. Application de la fluorescence moléculaire

Les applications de la fluorescence sont très nombreuses. En particulier, la grande sensibilité de la fluorescence d'une molécule à son microenvironnement explique l'utilisation extensive des sondes fluorescentes dans de nombreux domaines : physique, chimie, biochimie, biologie, médecine, environnement, industrie pharmaceutique,

VIII.1. Applications en médecine

Depuis des années, la fluorescence est utilisée dans le domaine médical tel que: radiologie, scanner et IRM afin de détecter certaines tumeurs, et aussi pour guider des opérations chirurgicales comme les cancers du cou du sein et de la tête²⁰

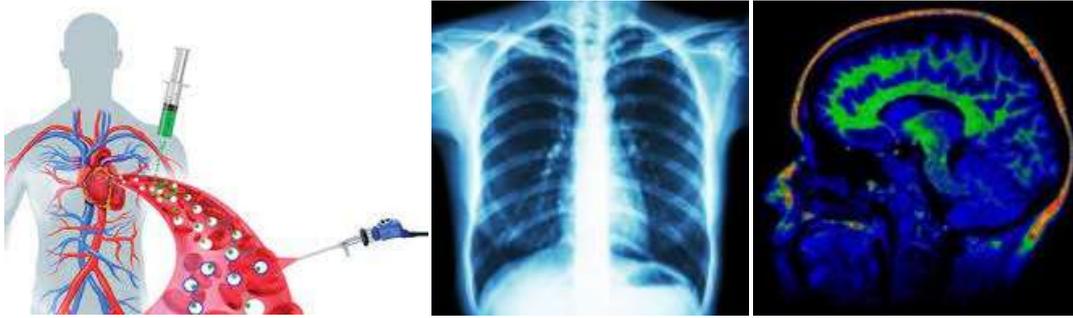


Figure 20 : Quelques applications de la fluorescence.

VIII.2.Applications en médecine vétérinaire

La fluorescence a été employée en médecine vétérinaire pour des applications variées dont les quatre principales sont :

- Contrôle de la transfusion sanguine
- Cartographie lymphatique
- Visualisation des structures anatomiques (par ex : les voies biliaires)
- Dépistage des tumeurs

VIII.3.Application biologiques

Dans le cadre d'applications biologiques, l'utilisation des marqueurs fluorescents est une technique d'analyse de choix : elle permet la détection et le suivi en temps réel d'espèces d'intérêt biologique :

- dosage immunologiques et dosages d'ions bioactifs.
- cinétiques enzymatiques
- étude des protéines (changement de conformation, sites de liaisons.....)
- étude d'acides nucléiques (puces à ADN, hybridation,.....)
- étude de membranes biologiques (caractérisation de la bicouche, micro polarité, micro viscosité....)

VIII.4.Autres applications pratiques

- Capteurs optiques chimiques
- biocapteurs optiques (optodes)
- azurants optiques
- contrôle non destructif
- Criminologie

➤ décoration, spectrale, ...etc

XI. Etude fluorescence des quelques pyridopyrimidines décrit dans la littérature

Parmi les études fluorescences de pyridopyrimidines décrites dans la littérature, nous allons citer les plus représentatives et qui sont en relation avec notre travail.

En 2016 A.Hayaiet et ces coll.²¹, ont développé une nouvelle méthode pour le typage du polymorphisme en utilisant la technique (FRET) « Le transfert d'énergie entre molécules fluorescentes » qui permet de identifier les bases cibles sur les brins de l'ADN et l'ARN.

Le FRET est défini comme un transfert d'énergie non radiatif (sans émission de lumière) résultant d'une interaction dipôle – dipôle entre deux molécules (donneur et accepteur d'énergie). Ce phénomène physique nécessite une compatibilité énergétique entre ces molécules. Cela signifie que le spectre d'émission du donneur doit recouvrir, au moins partiellement, le spectre d'absorption de l'accepteur.

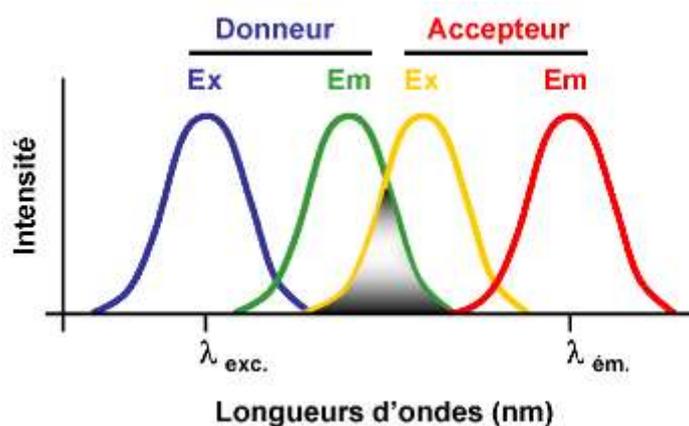


Figure 21 : le principe de FRET.

Ils ont utilisés un composé fluorescent tel que le 8-amino-3-(2,3-dihydroxypropyl)imidazo[4',5':5,6]pyrido[2,3-d]pyrimidine **1** comme un donneur et le 7-diéthylaminocoumarin-3-carboxylique acid **2** comme un accepteur. L'intensité de fluorescence de **1** est plus grande dans les solvants plus polaires, tels que le méthanol et l'eau, que dans les solvants moins polaires comme le chloroforme.

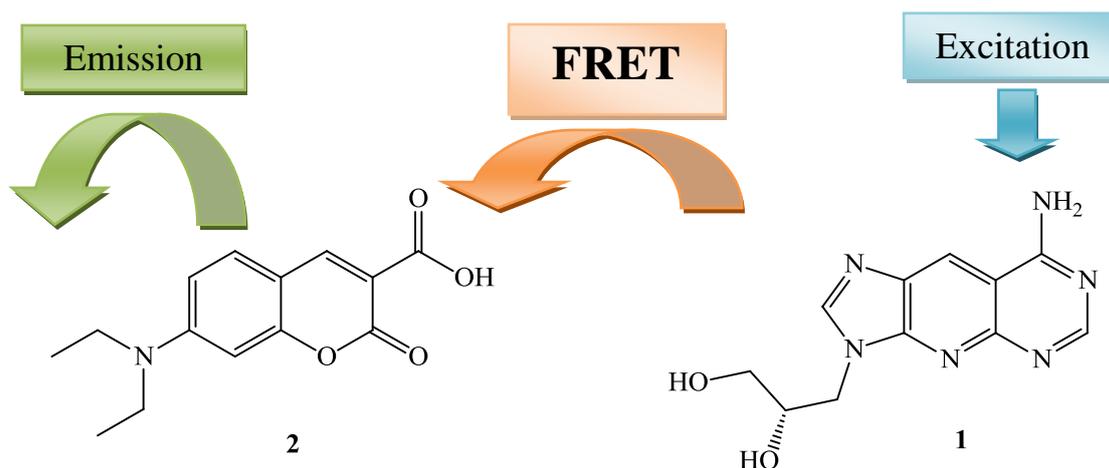


Figure 22 : Les structures de **1** et **2** selon l'étude d'A. Hayaiet.

En **2018** Hassan A. El Sayed et ses coll.²² ont synthétisés des composés fluorescents tels que le 4-Amino-5-(4-chlorophenyl)-7-(thien-2-yl)pyrido[2,3-d]pyrimidine-2-thiol **11**. Ce produit a des propriétés fluorescentes qu'ils ont été mesurées dans le 1-4 dioxane comme solvant. Les analyses de la fluorescence sont réalisées à faible concentration et à température ambiante.

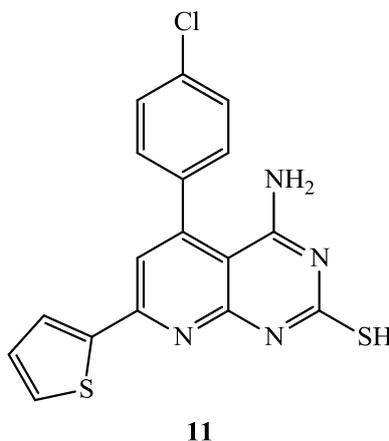


Figure 23 : la structure de **11** selon l'étude d'Hassan A. El Sayed.

Un déplacement bathochromique a été observé avec une intensité maximale d'absorption à 290 nm et une intensité maximale d'émission à 427 nm. Ces observations sont attribuées à l'augmentation de l'effet de conjugaison π généré par les fonctions aryles en position métha du cycle pyridine.

En **2019** A. Ashraf et ses coll.²³ ont décrites l'études de fluorescence moléculaire des dérivés de pyridopyrimidines (**M3-M4**). ils ont étudiées Les propriétés de fluorescence des deux composés dans une variété de sources d'ions tell que F^- , Cl^- , I^- , ClO_4^- , Br^- , CN^- , SCN^- ,

HSO_4^- et AcO^- en mesurant l'intensité d'émission lors du titrage l'aide du spectrofluorophotomètre Shimadzu RF-6000.

La solution mère de la sonde **M3-M4** de concentration de 10^{-3}M et les solutions mères de différentes sources d'anions de concentration 10^{-2}M ont été préparés dans le DMSO/CH₃CN.

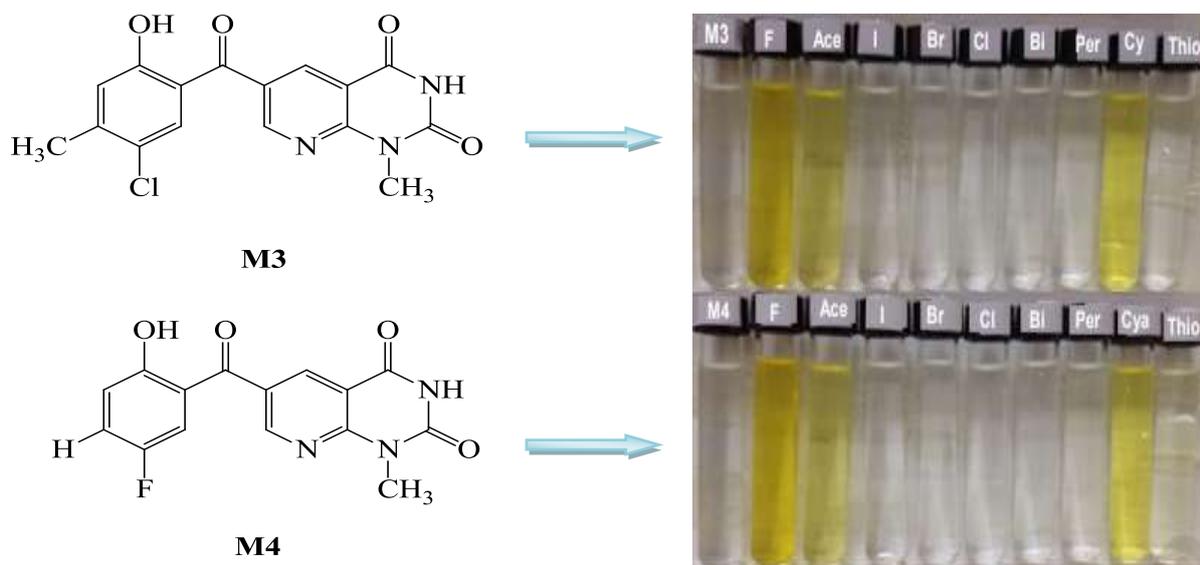


Figure 24 : Les structures de M3 et M4 selon l'étude d'A.Ashraf.

Après l'ajout d'une source d'anions les spectres de fluorescence de M3-M4 ont montré les changements d'émission a cause de la formation d'un complexe de liaison hydrogène anion-récepteur.

Une intensité d'émission importante a été observée avec l'ajout progressif de l'ion F^- via la déprotonation des groupes NH et OH après la photoinitiation. des groupes NH et OH, de plus la formation d'une liaison hydrogène entre $\text{F}^- \cdots \text{H N/O}$ provoque le transfert de protons qui est également supposé être un mécanisme de transfert d'électrons.

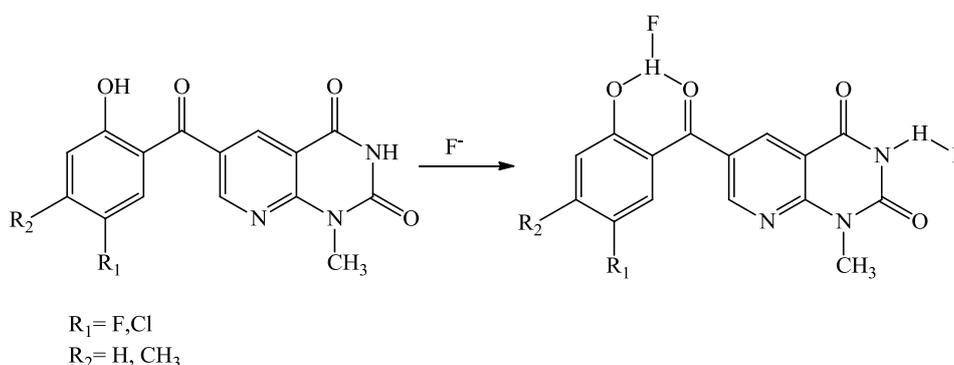


Schéma 22 : mécanisme de transfert d'électron

X. Conclusion

La spectrofluorimétrie est une méthode sensible et spécifique qui est utilisée dans le contrôle de qualité, en biochimie, ou dans l'étude du métabolisme des médicaments.

La fluorescence est fortement influencée par son environnement immédiat tels que la température, la polarité, le pH

la spectroscopie de fluorescence est un bon outil pour caractériser des phénomènes telles que le changement de pH, des procédés tels que le chauffage de matrices alimentaires comme la génoise, les huiles végétales mais aussi des caractéristiques de variétés, de cépage...des applications existent aussi en environnement comme la caractérisation de l'eau, des sols, l'analyse de contaminants.

Pour un chimiste analytique, la spectroscopie de fluorescence permet ainsi de développer des méthodes d'analyse rapide qui permettent de remplacer les méthodes d'analyse plus longues telles que HPLC, LC-MS, RMN.

Pour les biologistes, ce sont surtout les sondes de fluorescence qui sont utilisées pour marquer les molécules et/ou les organites à étudier afin de mieux comprendre les interactions des molécules ou les phénomènes dans la cellule en particulier.

Références bibliographiques

1. Stopel, M. H.; Blum, C.; Subramaniam, V., Multimodal fluorescence imaging spectroscopy. In *Fluorescence Spectroscopy and Microscopy*, Springer: 2014; pp 521-536.
2. Berberan-Santos, M. N., Pioneering contributions of Jean and Francis Perrin to molecular luminescence. In *New Trends in Fluorescence Spectroscopy*, Springer: 2001; pp 7-33.
3. Valeur, B., *Invitation à la fluorescence moléculaire*. De Boeck Supérieur: 2004.
4. Yang, C.; Gong, D.; Wang, X.; Iqbal, A.; Deng, M.; Guo, Y.; Tang, X.; Liu, W.; Qin, W., A new highly copper-selective fluorescence enhancement chemosensor based on BODIPY excitable with visible light and its imaging in living cells. *Sensors and Actuators B: Chemical* 2016, 224, 110-117.
5. Freyre, P. La fluorescence des anthères de *Mimosa pudica*: Impact dans les interactions interspécifiques avec le lycène *Hemiargus hanno* et analyses phytochimiques/photophysiques des fluorophores. France. Université des Antilles et de la Guyane (UAG), FRA., 2013.
6. Hazzazi, F.; Young, A.; O'Loughlin, C.; Daniels-Race, T., Fabrication of Zinc Oxide Nanoparticles Deposited on (3-Aminopropyl) Triethoxysilane-Treated Silicon Substrates by an Optimized Voltage-Controlled Electrophoretic Deposition and Their Application as Fluorescence-Based Sensors. *Chemosensors* 2021, 9 (1), 5.
7. Frath, D. Nouveaux complexes borates fluorescents: synthèses, propriétés et applications. Université de Strasbourg, 2013.
8. Albani, J. R., Tertiary structure of human $\alpha 1$ -acid glycoprotein (orosomucoïd). Straightforward fluorescence experiments revealing the presence of a binding pocket. *Carbohydrate research* 2004, 339 (3), 607-612.
9. Michalet, X.; Pinaud, F.; Bentolila, L.; Tsay, J.; Doose, S.; Li, J.; Sundaresan, G.; Wu, A.; Gambhir, S.; Weiss, S., Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics. *science* 2005, 307 (5709), 538-544.
10. Gavilan, É.; Doussineau, T.; El Mansouri, A.; Smaïhi, M.; Balme, S.; Janot, J.-M., One-pot synthesis of fluorescent porous aluminosilicate nanoparticles. *Comptes Rendus Chimie* 2005, 8 (11-12), 1946-1953.
11. Yoda, J.; Cissé, L.; Djandé, A.; Kaboré, L.; Saba, A., Etude de l'effet de solvant sur la fluorescence des carboxylates de 3-coumarinyle. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie* 2018, 46, 9-14.
12. Rusinova, E.; Tretyachenko-Ladokhina, V.; Vele, O. E.; Senear, D. F.; Ross, J. A., Alexa and Oregon Green dyes as fluorescence anisotropy probes for measuring protein-protein and protein-nucleic acid interactions. *Analytical biochemistry* 2002, 308 (1), 18-25.
13. Lavorel, J., Influence of concentration on the absorption spectrum and the action spectrum of fluorescence of dye solutions. *The Journal of Physical Chemistry* 1957, 61 (12), 1600-1605.
14. (a) Lakowicz, J. R., Plasmonics in biology and plasmon-controlled fluorescence. *Plasmonics* 2006, 1 (1), 5-33; (b) Lakowicz, J. R., *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer science & business media: 2013.
15. Beija, M.; Afonso, C. A.; Martinho, J. M., Synthesis and applications of Rhodamine derivatives as fluorescent probes. *Chemical Society Reviews* 2009, 38 (8), 2410-2433.
16. Mishra, A.; Behera, R. K.; Behera, P. K.; Mishra, B. K.; Behera, G. B., Cyanines during the 1990s: a review. *Chemical reviews* 2000, 100 (6), 1973-2012.
17. Chamas, Z. E. A. Chromophores pentacycliques azotés fluorescents: nouvelle cascade diastéréosélective pallado-catalysée et exploration de leurs propriétés biologiques. Université de Lorraine, 2012.
18. Rouessac, F., Annick Rouessac avec collaboration de Daniel cruché. *Analyse chimique: Méthodes et techniques instrumentales modernes*. 6e édition. Dunod 2004.

19. Miyawa, J. H.; Schulman, S. G., Luminescence Spectroscopy. In Handbook of Pharmaceutical Analysis, Marcel Dekker, Inc. NY, Basel: 2002.
20. van der Vorst, J. R.; Schaafsma, B. E.; Verbeek, F. P.; Swijnenburg, R. J.; Tummers, Q. R.; Hutteman, M.; Hamming, J. F.; Kievit, J.; Frangioni, J. V.; van de Velde, C. J., Intraoperative near-infrared fluorescence imaging of parathyroid adenomas with use of low-dose methylene blue. *Head & neck* 2014, 36 (6), 853-858.
21. Hayai, A.; Maeda, Y.; Ueno, Y., Synthesis of a fluorescence resonance energy transfer-based probe containing a tricyclic nucleoside analog for single nucleotide polymorphism typing. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 2016, 26 (15), 3552-3555.
22. El-Sayed, H. A.; Morsy, H. A., A facile synthesis of highly fluorescent pyrido [2, 3-d] pyrimidines and 1, 8-naphthyridines via oxazine transformation and enaminic addition reactions. *Journal of the Iranian Chemical Society* 2019, 16 (4), 723-732.
23. Ashraf, A.; Khizar, M.; Islam, M.; Hameed, A.; Moin, S. T.; Yaqub, M.; Rauf, W.; Naseer, M. M.; Ahsan, M. T.; Shafiq, Z., Synthesis of sensitive novel dual Signaling pyridopyrimidine-based fluorescent “turn off” chemosensors for anions determination. *Measurement* 2020, 151, 107267.

CHAPITRE II
RESULTAT ET DISCUSSION

I. SYNTHÈSES DES 4-AMINO [2,3-*d*] PYRIMIDINES :**I.1. A partir des Formamidine :**

Les formamidines considérées sont très utiles dans la synthèse organique, ils permettent l'accès aux hétérocycles azotés. Ces diènes peuvent réagir avec des nucléophiles et des électrophiles et peuvent aussi intervenir dans des réactions de cycloadditions¹.

Les formamidines sont également utilisées comme auxiliaires dans la synthèse asymétrique², linkers dans la synthèse en phase solide³ et ligands dans la complexation avec les métaux de transition⁴.

Nous avons pu synthétiser une nouvelle série de 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines en faisant réagir les différentes formamidines synthétisées précédemment avec l'hydrazine. La réaction se fait sans solvant, en chauffant à 100°C pendant 4h. Après recristallisation dans l'éthanol absolu, les composés sont obtenus avec des rendements qui varient entre

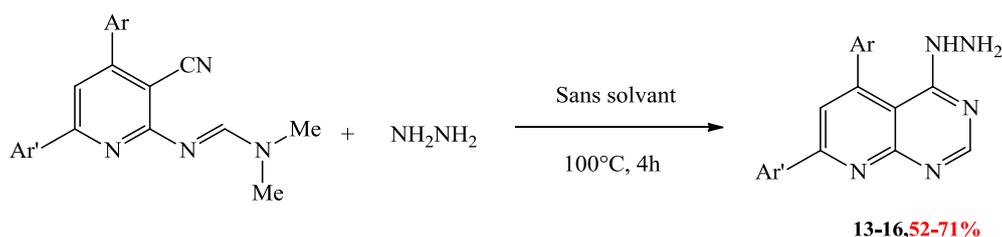


Schéma 23 : Synthèse des 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines **13-16** à partir des formamidines.

Les résultats obtenus pour la préparation des 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines sont regroupés dans le Tableau 1

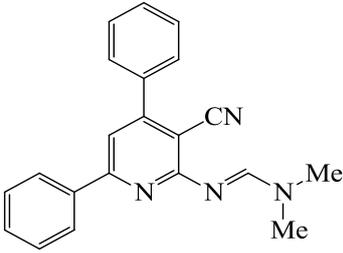
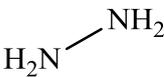
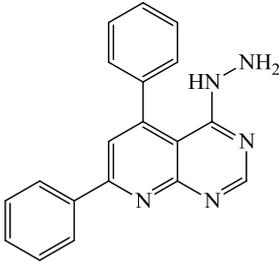
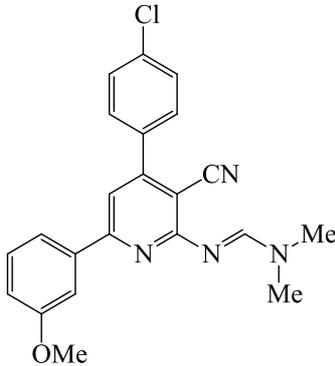
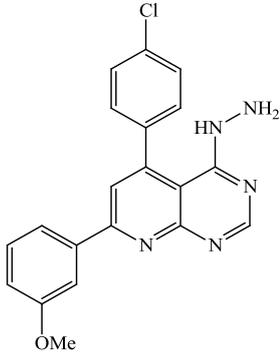
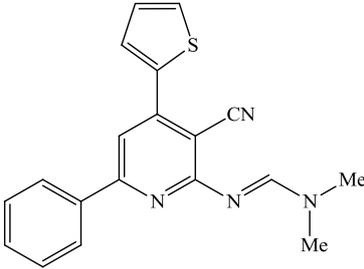
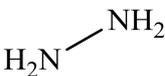
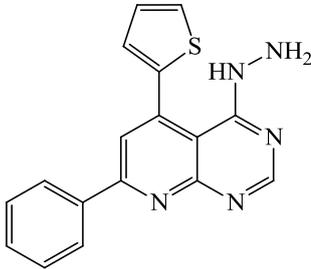
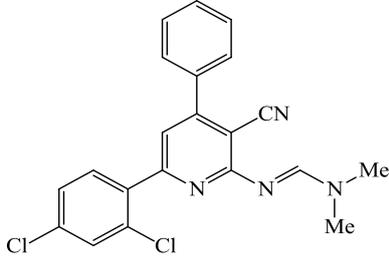
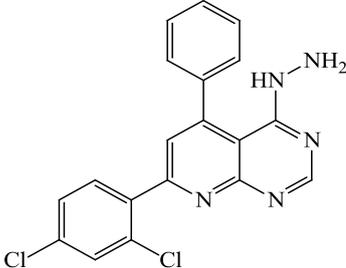
Formamidine	Amine	Produit	Rdt (%)
			71
			55
			52
			64

Tableau 1 : Synthèse des 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines **13-16** à partir des formamidines.

Cette nouvelle méthode de cyclisation qui utilise les différentes formamidines fonctionnalisées est considérée comme méthode rapide, facile et efficace. Les résultats obtenus sont très satisfaisants.

I.1.1. Mécanisme de formation 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines à partir de formamidines

Nous proposons le mécanisme suivant pour la formation des 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines (Schéma 24) :

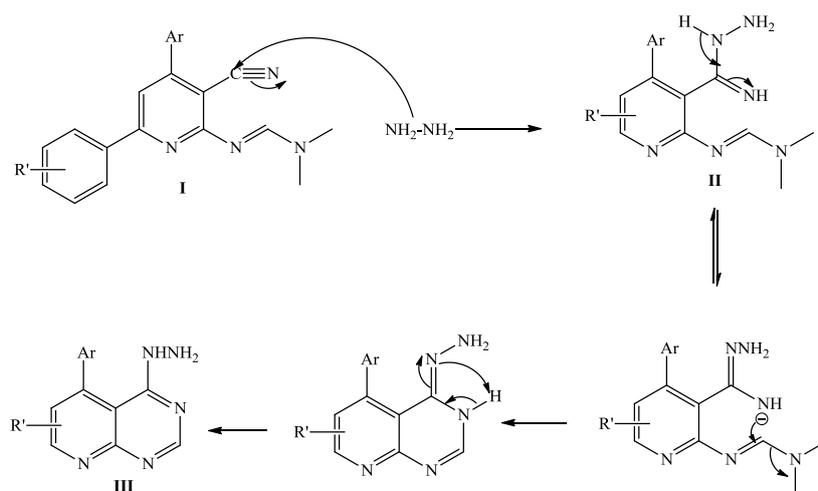


Schéma 24 : Mécanisme de formation des 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines **13-16** à partir de formamidines.

L'intermédiaire **II** a été obtenu par une réaction entre l'hydrazine et le groupe « CN » du produit **I**, ensuite une réaction de cyclisation intramoléculaire entre l'anion imine et la double liaison de l'énamine suivie d'une aromatisation forme les 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines **III**.

I.2. Synthèse en One pot à partir des 2-aminopyridines

Le développement de nouveaux procédés chimiques destinés à produire des structures hétérocycliques azotés élaborées d'une façon « one pot » qui sont hautement souhaitables non seulement en raison de leur élégance, mais aussi pour leur efficacité et l'économie qui en découle en terme de consommation de réactifs et de solvant de purification.

Dans le but de développer une nouvelle méthode de synthèse simple et efficace pour la préparation des 4-aminopyrido [2,3-*d*] pyrimidines en une seule étape, nous avons pensé à

utiliser les 2-aminopyridine comme un précurseur dans une réaction multicomposant sans solvant.

Cette stratégie nous a permis d'élaborer des structures totalement nouvelles, en faisant réagir le 2-aminopyridines, l'orthoformiate d'éthyle et l'hydrazine un procédé en « one pot » sans solvant sous micro ondes pendant 20 min.

Les mêmes réactifs sont soumis à une réaction multicomposant sans solvant en chauffant à 100° C pendant 2h en présence de Zio-S₁ comme catalyseur. Les 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines sont obtenus avec de bons rendements.

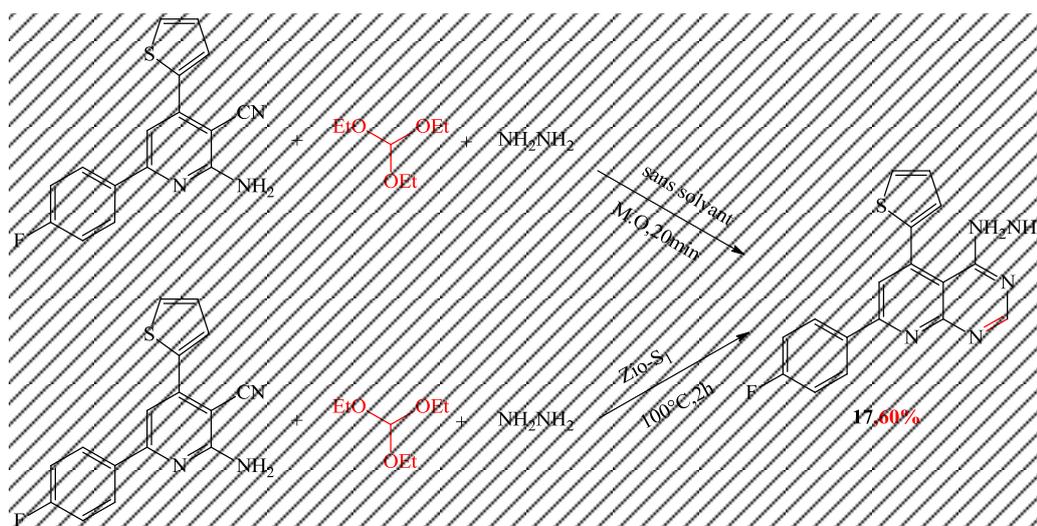


Schéma 25 : Synthèse en one pot des 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines **17** à partir des 2-aminopyridine.

Les résultats obtenus pour la synthèse des 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines sont résumés dans le Tableau 2 :

Aminopyridine	Triethylorthoformiate	Amine	Produit	Rdt (%)
				60

Tableau 2 : Synthèse des 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines **17** selon une réaction one pot.

I.2.1. Mécanismes de formation des 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines en one pot.

Nous proposons mécanisme suivant pour la formation des 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines (Schéma 28) :

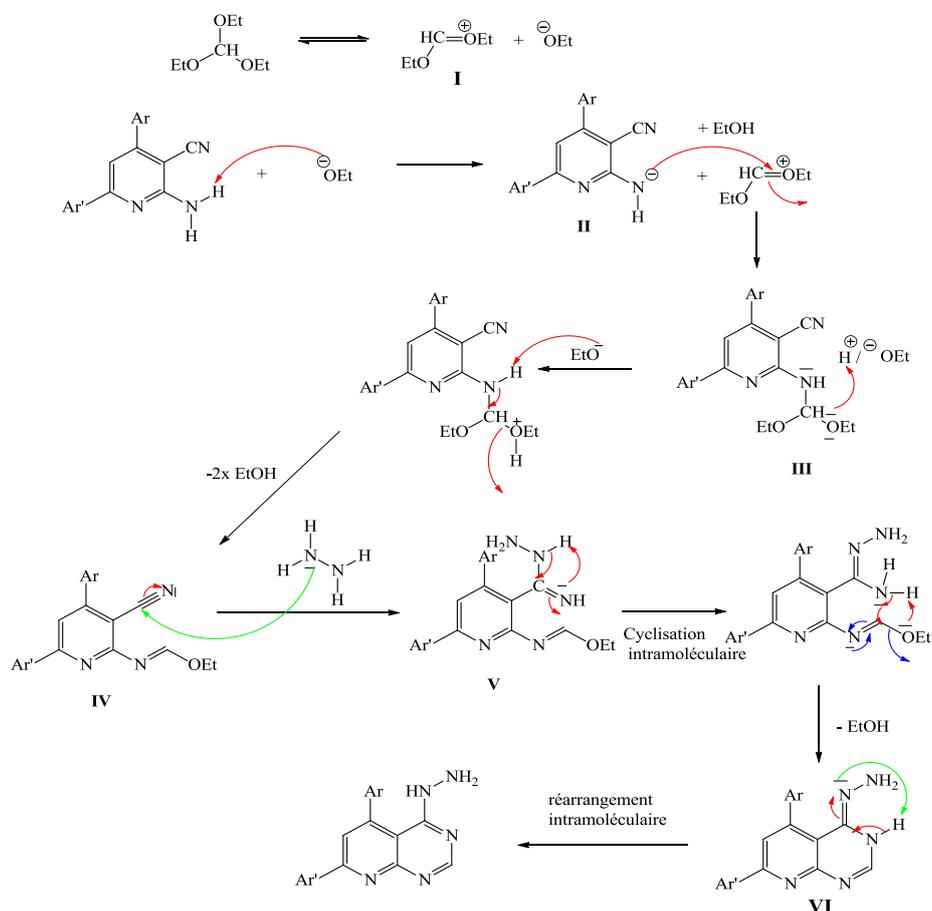


Schéma 26 : Mécanisme de la formation de pyrido [2,3-*d*]pyrimidines 17.

La réaction débute par la formation de l'intermédiaire **I** suivie d'une addition nucléophile du groupe « NH⁻ » de 2-aminopyridines sur la double liaison pour former l'intermédiaire **III**. Après un réarrangement et une addition entre l'hydrazine et le groupe « CN » du produit **IV**, on obtient l'intermédiaire **V**. Ce dernier subit un réarrangement et une cyclisation intramoléculaire pour former le produit **VI** et enfin une étape d'aromatisation pour obtenir les 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines désirées.

II. CONCLUSION

Dans ce chapitre, nous avons réussi à développer deux nouvelles stratégies de synthèse faciles, efficaces et moins coûteuses pour la préparation des 4-amino[2,3-*d*]pyrimidines disubstitués en positions C-5 et C-7, tout en respectant les concepts de la chimie verte (économie d'atomes, les réactions sous MO, les réactions sans solvant).

La première méthode est basée sur l'addition nucléophile des amines primaires sur les différentes formamidines. La facilité de cette méthode et la variété des aminopyridines utilisées nous ont permis de synthétiser une nouvelle série des 4-amino[2,3-*d*]pyrimidines avec de très bons rendements.

La deuxième voie repose sur l'utilisation d'une nouvelle réaction multicomposant en utilisant les 2-aminopyridines, l'amine primaire et l'orthoformiate d'éthyle sous micro-ondes ou l'utilisation d'un catalyseur tel que le Zio-S₁. Cette réaction s'effectue sans solvant et donne de bons rendements.

Références bibliographiques:

1. McNulty, J.; Steere, J. A.; Wolf, S., The ultrasound promoted Knoevenagel condensation of aromatic aldehydes. *Tetrahedron Letters* 1998, 39 (44), 8013-8016.
2. Matulenko, M. A.; Meyers, A., Total synthesis of (-)-tetrahydropalmatine via chiral formamidine carbanions: unexpected behavior with certain ortho-substituted electrophiles. *The Journal of organic chemistry* 1996, 61 (2), 573-580.
3. Chakraborty, P.; Roy, S. C., An Efficient FeCl₃ Catalyzed Synthesis of N, N'-Diarylformamidines. 2013.
4. Mitzi, D.; Liang, K., Synthesis, resistivity, and thermal properties of the cubic perovskite NH₂CH=NH₂SnI₃ and related systems. *Journal of Solid State Chemistry* 1997, 134 (2), 376-381.

I. Etude de fluorescence sur nos pyrido [2,3-d] pyrimidines

La recherche bibliographique effectuée (chapitre I, partie II) sur la fluorescence moléculaire et l'influence des différents facteurs sur ce phénomène.

Le but de notre travail est d'étudier la fluorescence moléculaire de nouveaux fluorophores synthétiques d'intérêt biologique ou thérapeutique, nous avons choisi de développer et de tester la technique de la fluorescence sur nos pyrido [2,3-d] pyrimidines dans différentes conditions à fin obtenir de bonnes propriétés notamment un coefficient d'absorption important, un rendement quantique de fluorescence élevé et un grand déplacement de stocks.

La technique que nous avons utilisée pour caractériser tous les échantillons est la spectrofluorimétrie tridimensionnelle qui permet d'obtenir l'ensemble des paramètres de fluorescence (intensités, longueurs d'onde d'excitation et d'émission des maximal) relatifs à un échantillon sur tout le domaine spectral estimé.

Les différences entre les spectres de fluorescence permettent d'observer les modifications du matériel organique à travers de la variation des intensités de fluorescence, des décalages de la position des maximaux et les déplacements de stocks

Les pyrido [2,3-d] pyrimidines choisis à étudier **K01**, **K02**, **K03**, **K04** sont des composés peu solubles dans l'eau par contre ils montrent une grande solubilité dans plusieurs solvants organiques.

Les solutions de nos produits **K01**, **K02**, **K03** et **K04** sont préparées en utilisant le Dichlorométhane comme solvant, pour étudier l'effet de concentration sur la fluorescence.

Les spectres de la fluorescence de ces composés ont été enregistrés en trois concentrations 10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6} M.

Les spectres d'émission ont été enregistrés, dans une série de solvants de différentes polarités (DMSO, DMF, Acétonitrile, Méthanol, H₂O, Cyclohexane) en deux concentrations 10^{-5} et 10^{-6} M. à fin d'étudier l'effet de solvant sur l'intensité des spectres fluorescence.

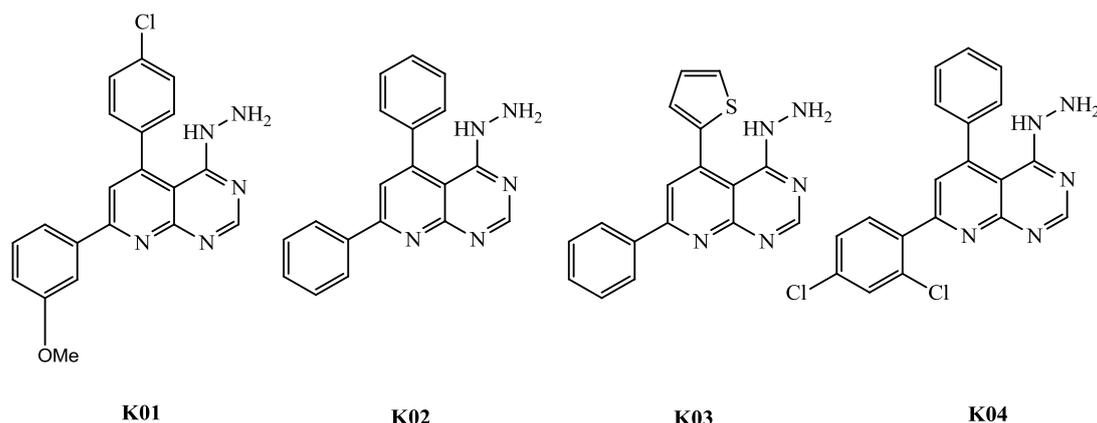


Figure 25 : structure des quatres fluorophores **K01**, **K02**, **K03** et **K04**.

II.1. Effet de concentration sur la fluorescence de nos pyrido [2,3-d] pyrimidines

La relation entre la concentration et l'intensité de fluorescence correspond graphiquement à un spectre d'émission ou la fluorescence passe par un maximum pour une concentration optimale.

Nous avons, également, étudié l'effet de concentration sur la fluorescence moléculaire des produits **K01**, **K02**, **K03** et **K04**. En trois concentration 10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6} M en utilisant le DCM comme solvant. Les spectres d'émission de fluorescence obtenus montrent l'influence de la concentration sur la fluorescence

Nous avons reporté dans les figures 26, 27,28,29, les spectres d'émission de composé **K01**,**K02**,**K03**,**K04**, dans le DCM à 10^{-4} , 10^{-5} et à 10^{-6} M.

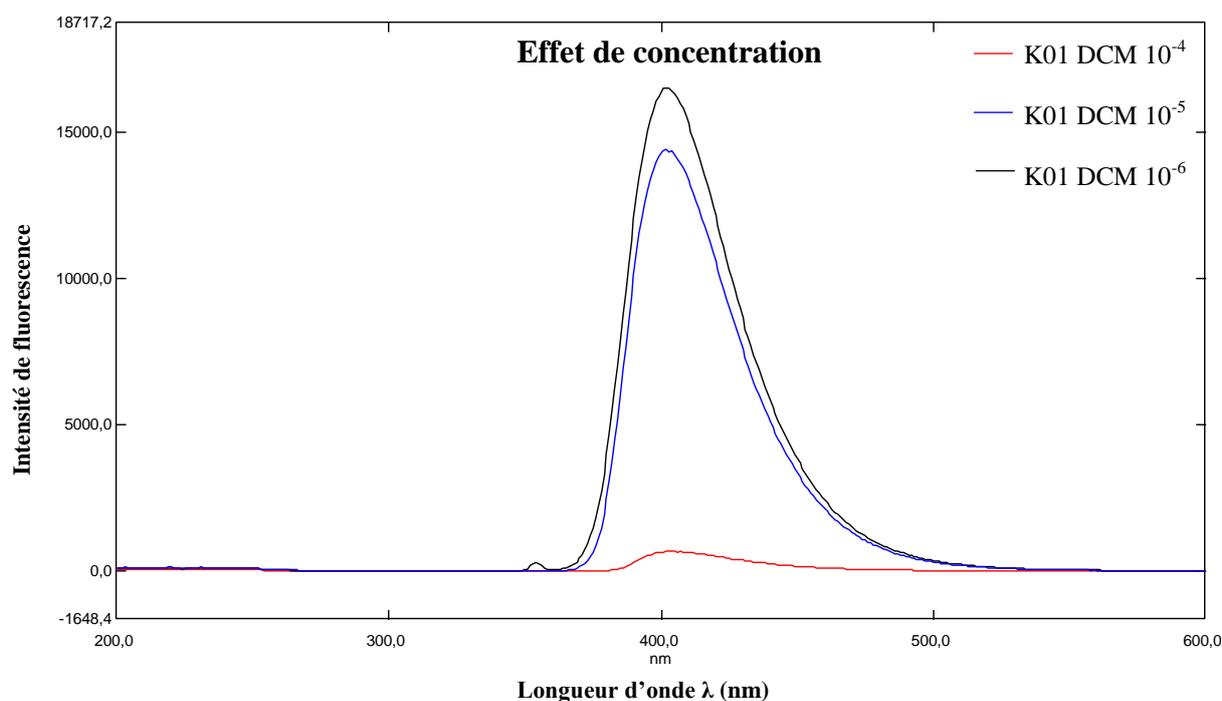


Figure 26 : spectre d'émission de **K01** dans le DCM pour étudier l'effet de concentration.

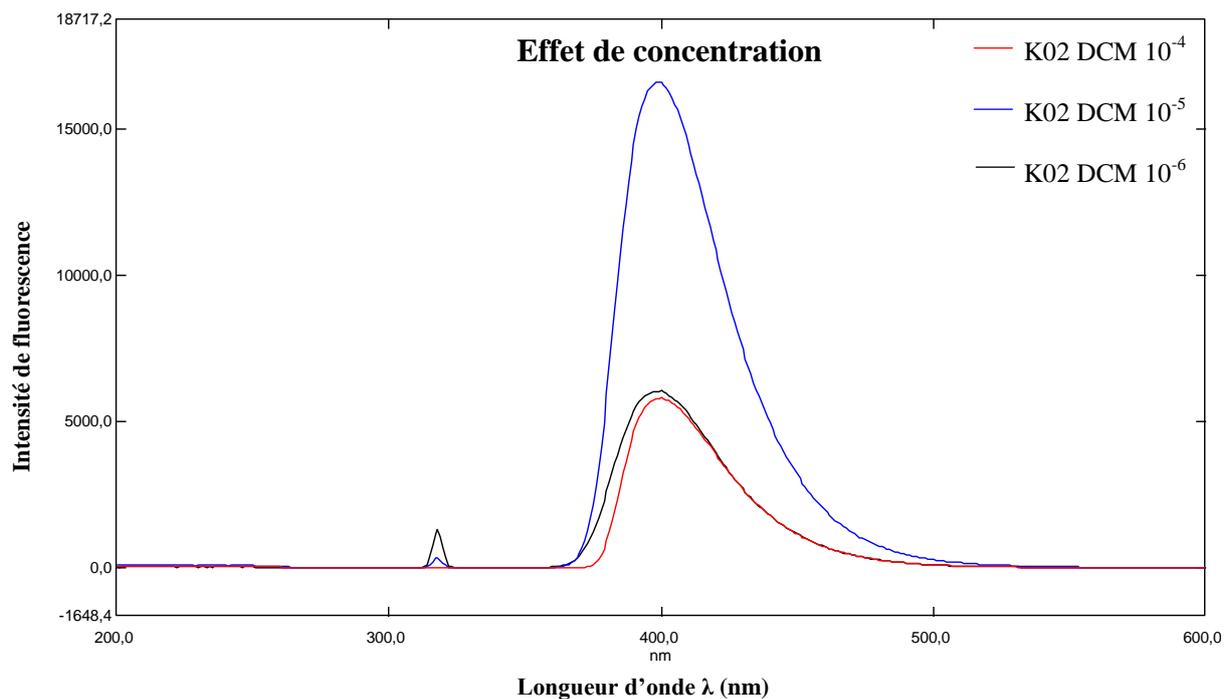


Figure 27 : spectre d'émission de **K02** dans le DCM pour étudier l'effet de concentration.

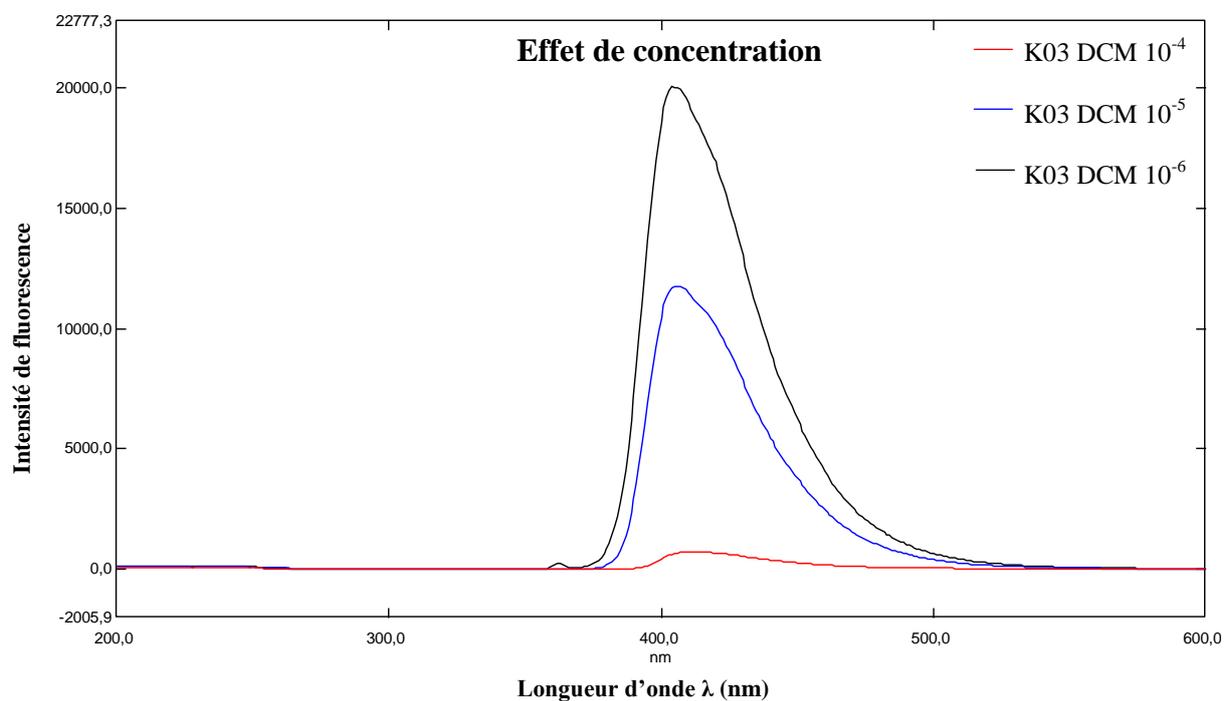


Figure 28 : spectre d'émission de **K03** dans le DCM pour étudier l'effet de concentration.

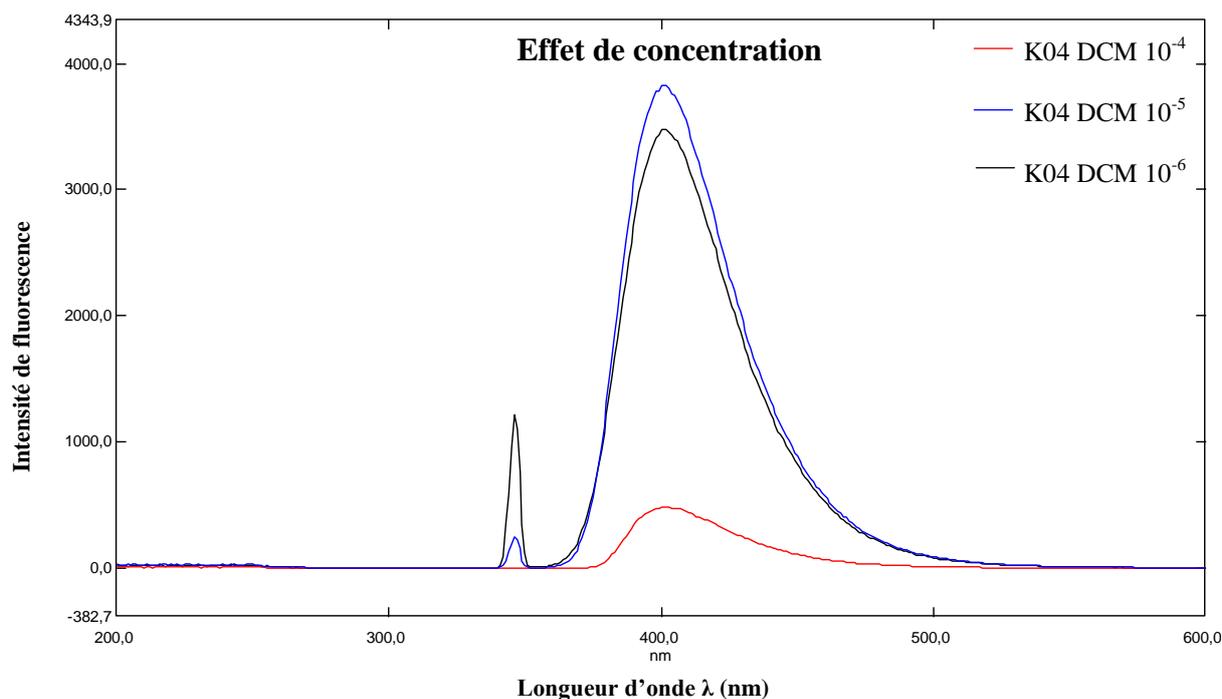


Figure 29 : spectre d'émission de **K04** dans le DCM pour étudier l'effet de concentration.

On remarque un accroissement du spectre d'émission à été observé en passant du concentration 10^{-4} · 10^{-5} M au concentration 10^{-6} M. Aux très faibles concentrations, le spectre de la fluorescence est incurvée : le domaine de la concentration utile est donc relativement étroit : limité vers le haut et vers le bas.

Une intensité maximale a été observée et enregistré pour les produits **K01** et **K03** à 10^{-6} M, varie entre **16000-20000** u.a et une intensité faible ne dépasse pas le **150** u.a à 10^{-4} M

Une intensité maximale est observée pour le produit **K02** à une concentration optimale de 10^{-5} M tend vers **16000** u.a et une intensité faible ne dépasse pas le **5000** u.a à 10^{-4} M.

Une intensité maximale a été observée à **3800** u.a pour **K04** avec une concentration de 10^{-5} M. La forte intensité est attribuée à la diminution de nombre de collision entre les molécules de soluté par contre la faible intensité est attribuée aux effets de filtre interne et l'augmentation de nombre de collision entre les molécules qui favorisent la réduction de l'intensité de la fluorescence.

I.2. Effet du solvant sur la fluorescence de nos pyrido [2,3-d] pyrimidines

A fin d'étudier l'effet du solvant sur l'intensité de fluorescence de pyrido [2,3-d] pyrimidines nous avons sélectionné sept solvants avec propriétés différentes. On peut classer les solvants utilisés en deux catégories en fonction de la polarité et de la capacité des molécules de solvant à former des liaisons hydrogène avec les molécules de soluté, donc on trouve :

Les solvants polaires protiques comme le méthanol, H₂O qui est capables de former des liaisons hydrogène avec une forte polarité.

Les solvants polaires aprotiques comme DMSO, DMF, l'acétonitrile et le dichlorométhane qui sont de très solvatants. Les solvants apolaires comme le cyclohexène. Les spectres d'émission des quatre composés synthétisés **K01**, **K02**, **K03**, **K04** ont la particularité d'être sensibles à une modification de l'environnement, et ils sont réalisés après une dissolution dans des solvants organiques de différentes polarités, à des concentrations 10⁻⁵M et 10⁻⁶ et à température ambiante Pour tous les composés, la forme et la position des spectres d'émission sont indépendants de la longueur d'onde d'excitation.

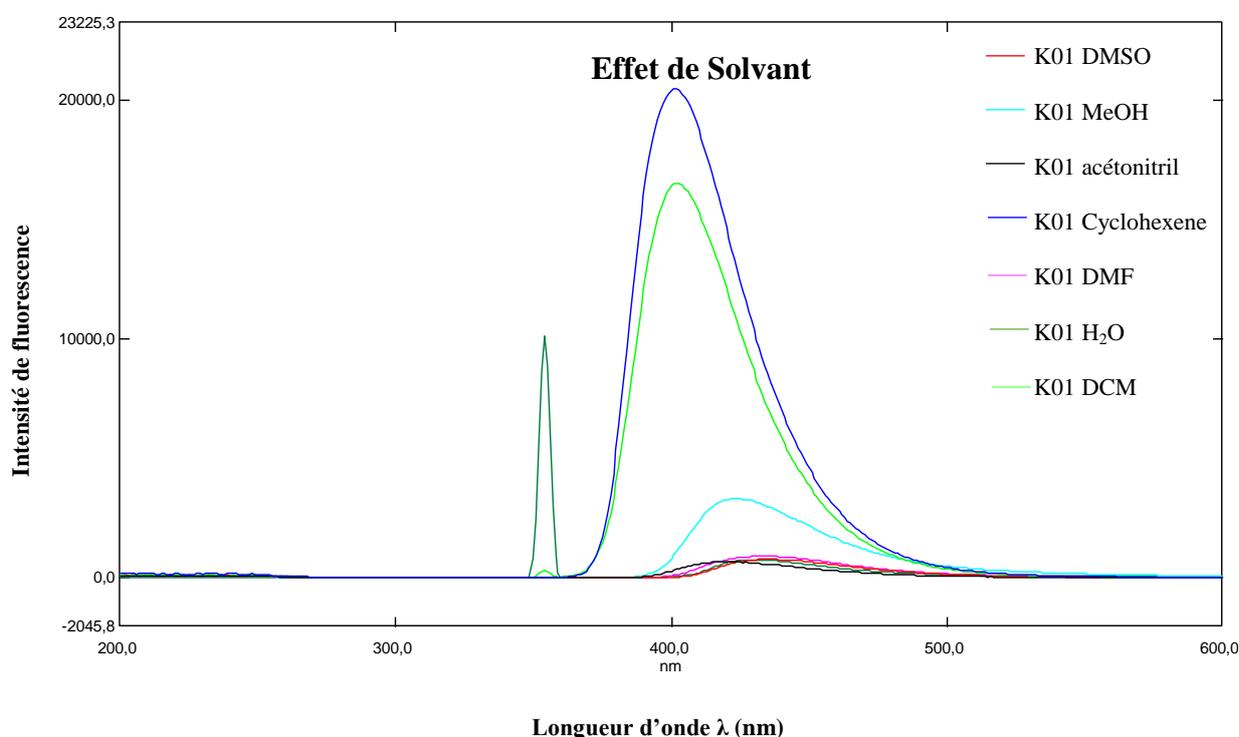


Figure 30 : Spectre d'émission du composé **K01** dans différents solvants pour étudier l'effet de solvant

Une intensité maximale est observé et enregistré pour le produit **K01** à température ambiante environ **21000** u.a dans le cyclohexene à concentration de 10^{-6} M et une intensité minimale dans l'ACN.

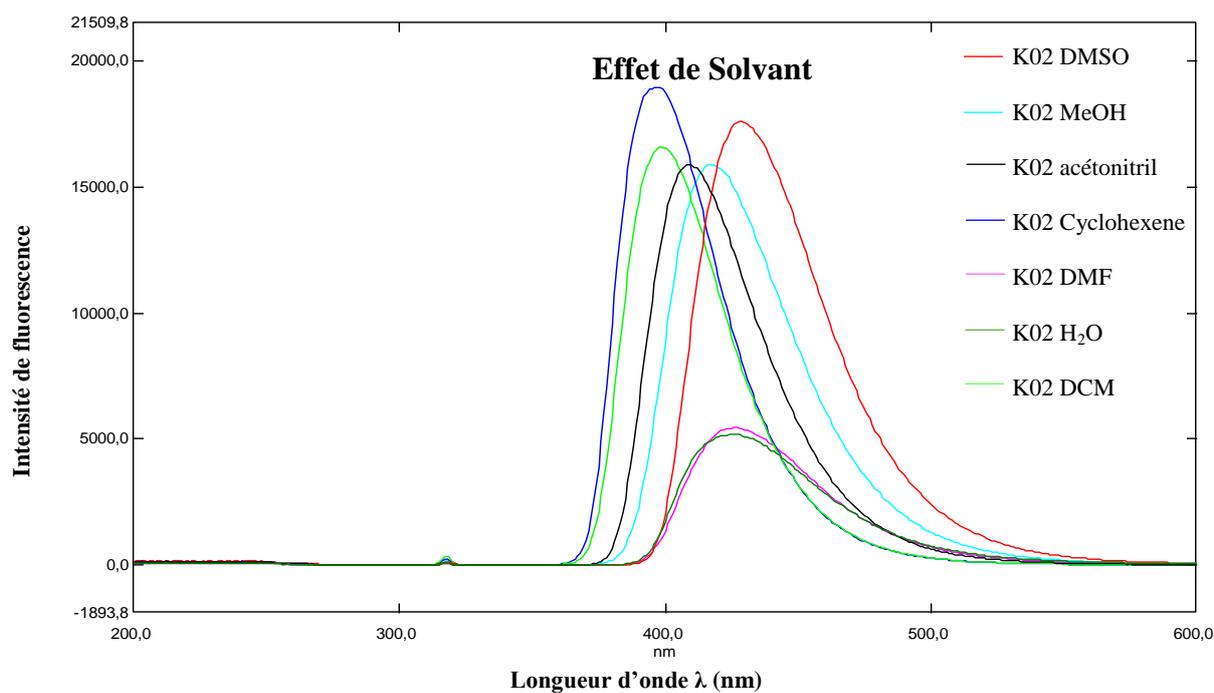


Figure 31 : Spectre d'émission du composé **K02** dans différents solvants pour étudier l'effet du solvant

une intensité maximale est observé et enregistré pour le produit **K02** à température ambiante à **19000** u.a dans le cyclohexene à concentration de $10^{-5}M$ et une intensité minimale observé et enregistré pour ce produit dans l' H_2O à **5000** u.a.

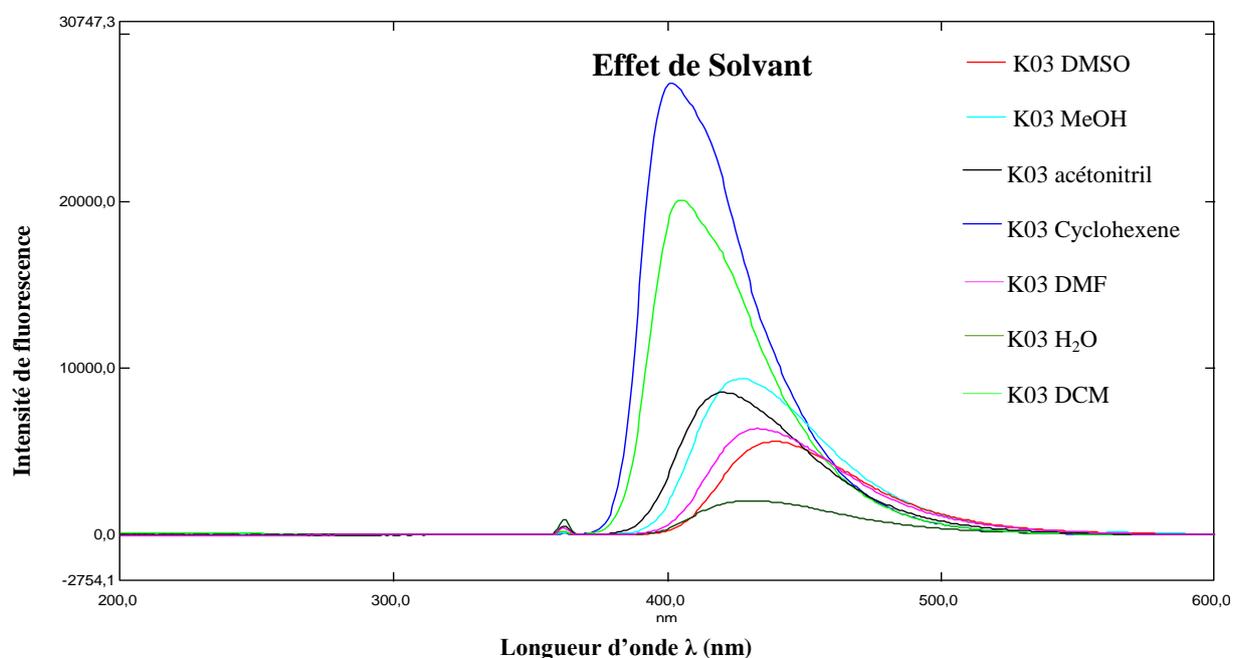


Figure 32 : Spectre d'émission du composé **K03** dans différents solvants pour étudier l'effet du solvant

une intensité maximale est observé et enregistré à température ambiante pour le produit **K03** environ **28000** u.a dans le cyclohexene à concentration de $10^{-6}M$ et une intensité minimale observé et enregistré pour ce produit dans l' H_2O

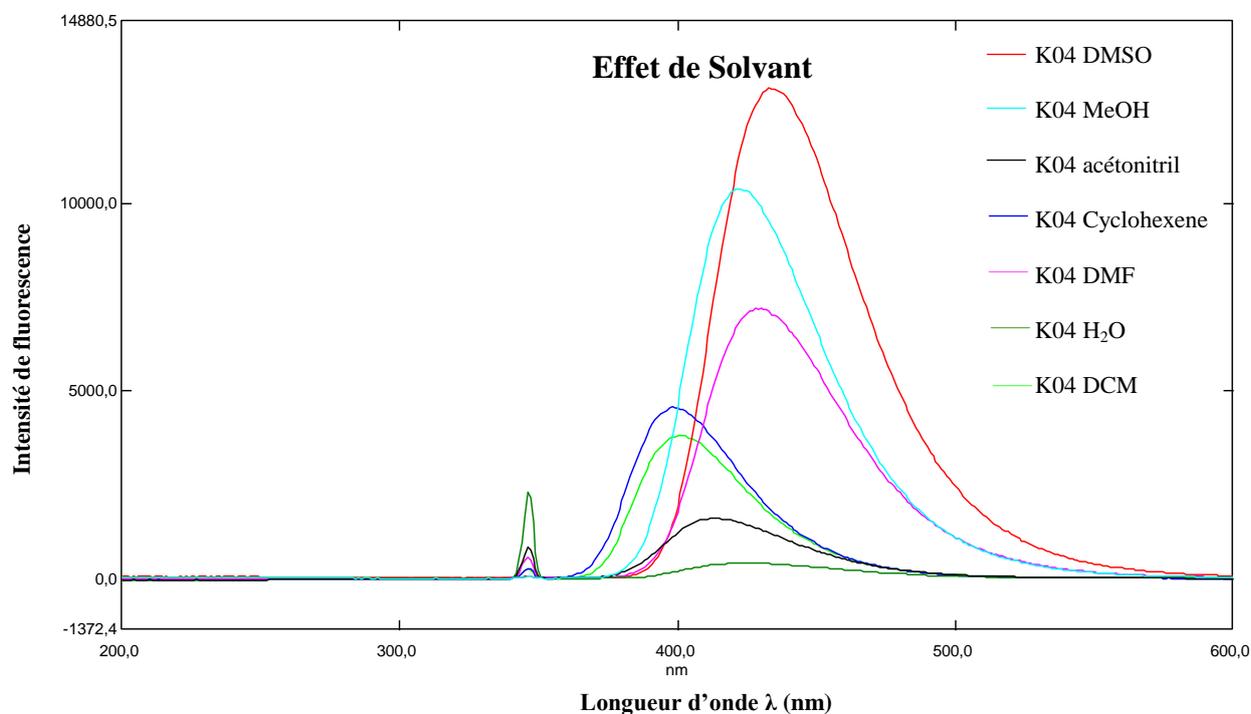


Figure 33 : Spectre d'émission du composé **K04** dans différents solvants pour étudier l'effet de solvant.

Une intensité maximale est observée et enregistré à température ambiante pour le produit **K04** environ **13000** u.a dans le DMSO à concentration de $10^{-5} M$ et une intensité minimale dans H_2O ne dépasse pas **100** u.a.

Des fortes variations ont été observées dans l'intensité des spectres selon le solvant utilisé. Pour les trois composés **K01**, **K02** et **K03** l'intensité du pic a diminué avec la polarité du solvant.

Pour **K01** une pic passe de 400 nm et à 390 nm pour **K02** et **K03** dans le cyclohexene. Pour le composé **K04** les spectres d'émission ont montré une bande de longueur d'onde 430 nm dans DMSO.

A cause des faibles interactions entre les molécules de solvant et celles du soluté une intensité maximale est observé et enregistré pour les produits **K01**, **K02** et **K03** environ **14000** à **28000** u.a dans le cyclohexene.

Un déplacement bathochrome a été observée pour ces composés et associée à une diminution de la polarité du solvant causé par une différence significative dans la distribution de charge à l'état fondamental et à l'état excité. En outre, l'analyse des effets de solvation montre que les différents solvants de polarités différentes ont des conséquences sur les spectres de

fluorescence, alors que, la nature polaire aprotique semble être le facteur le plus important dans les phénomènes d'absorption. En effet, les figures 30, 31 et 32 montrent que le Cyclohexène provoque l'augmentation de l'émission de fluorescence.

Pour le composé **K04** une variation remarquable a été trouvée dans la forme des spectres selon le solvant utilisé, l'intensité du pic a augmenté avec la polarité du solvant cette augmentation de la polarité du solvant associée à l'évolution bathochrome d'absorption indique que ces bandes principales correspondent à une transition électronique π - π^* et n- π^* de ce composé qui possède des groupements électronégatifs donateurs d'électrons dans sa structure tel que les deux atomes de chlore en position métha du phényle, ces derniers adoptent des électrons doublets libres responsables au l'effet de mésomère et la délocalisation des électrons au sein du groupement phényle d'un côté et qui jouent un rôle très important à la création des liaisons intermoléculaires préférentielles de type van der Waals (dipôle – dipôle) avec le DMSO qui adopte des électrons doublets libres au niveau de l'oxygène de l'autre côté.

Ces liaisons favorisent des fortes interactions spécifiques entre le soluté et le solvant. Toutes ces conditions rendent les milieux beaucoup plus polaires ce qui implique l'augmentation d'émission de fluorescence.

II. Conclusion

Sur la base de ces résultats nous pouvons conclure que :

Les pyrido [2,3-d] pyrimidines **k01**, **k02** et **k03** ont donné chacun une intensité de fluorescence plus élevée que l'intensité de fluorescence de **k04**.

La concentration optimale est celle de la 10^{-6} M qui présente une intensité de fluorescence supérieure par rapport à l'autre de 10^{-5} M.

La diversité des groupements phényle au niveau de la structure moléculaire des quatre différents composés joue un rôle important aux changements dans les pics d'émission, plus les substituants en position métha du cycle pyridine sont polaires et présentent un effet mésomère et inductif donneur plus le produit est fluorescent.

Le cyclohexène, l'Acétonitrile, le dichlorométhane et le DMSO sont de bons solvants pour des meilleures fluorescences.

Les solvants polaires aprotiques (DMSO) donnent une fluorescence élevée avec les substituants cycliques polaires. Pour notre cas, les solvants protiques ne sont pas intéressants pour cette étude spectrale.

CHAPITRE III
PARTIE EXPERIMENTALE

Les spectres RMN ^1H ont été enregistrés à 400 MHz sur un appareil Bruker AC 400. Les produits ont été analysés dans le chloroforme déterré (CDCl_3), le diméthylsulfoxyde (DMSO) avec comme référence interne le tétraméthylsilane (TMS). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm et les constantes de couplage J en Hz. Les signaux sont désignés par les abréviations suivantes : s, singulet ; d, doublet ; t, triplet ; q, quadruplet ; m, massif ; m, multiplet.

Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer Spectrum one équipé d'un accessoire ATR. Les bandes d'absorption ν sont exprimées en cm^{-1} . Seuls les pics significatifs sont listés.

Les chromatographies sur couche mince ont été effectuées sur des plaques de silice Merck 60 F254.

Les irradiations micro-ondes ont été effectuées dans une micro-onde monomode.

Les températures de fusions ont été mesurées sur un appareil Bank Kofler HEIZBANK type WME 50-260°C et ne sont pas corrigées.

Les solvants et réactifs utilisés :

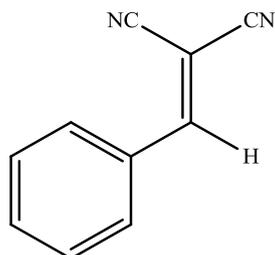
Les solvants utilisés généralement étaient l'éthanol, l'eau, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, soit pour le lavage la recristallisation, ou pour l'extraction. Les réactifs commerciaux sont utilisés dans la majorité des cas sans purification préalable.

I. SYNTHÈSE DES ARYLIDENEMALONONITRILES**Mode opératoire :**

Dans un ballon de 25 mL, muni d'un barreau aimanté, sont introduits : (10 mmol) d'aldéhyde et (10 mmol ; 0,66 g) de malononitrile dans un mélange eau/éthanol 5/5 mL. Le mélange réactionnel est agité pendant 30 min à température ambiante. Le solide obtenu est filtré, lavé avec de l'eau puis recristallisé dans l'éthanol absolu pour obtenir l'alcène désiré.

• 2-benzylidènemalononitrile 1 :

L'alcène **1** est préparé à partir de la benzaldéhyde (10 mmol ; 1,06 g).



Formule brute : $C_{10}H_6N_2$.

Masse molaire : $154,17 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Rendement : 90 %.

Aspect : solide blanc

Rf = 0,42 (Cyclohexane / Acétate d'éthyle : 80/20).

Pf: 83 °C.

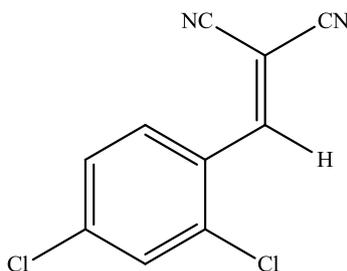
RMN ^1H (CDCl_3) δ_{H} : 7,35-7,38 (2H, m, H_{arom}); 7,47 (1H, t, H_{arom}) ; 7,85-7,91 (2H, m, H_{arom}); 8,13 (1H, s, C=C-H).

RMN ^{13}C (CDCl_3) δ_{C} : 82,88 (C=C); 112,56 (CN); 113,72 (CN); 129,66 ($2\times\text{C}_{\text{arom}}$); 130,75 ($2\times\text{C}_{\text{arom}}$); 131,84 (C_{arom}); 134,66 (C_{arom}); 159,98 (C=C).

IR ν_{max} cm^{-1} : 1566 (C=C); 2223 (CN).

2-(4-chlorobenzylidène)malononitrile 2 :

L'alcène **2** est obtenu à partir de la 2,4-dichlorobenzaldéhyde (10 mmol ; 1,40 g).



Formule brute : $C_{10}H_4Cl_2N_2$.

Masse molaire : 223,06 g.mol⁻¹

Rdt : 85 %.

Aspect : solide blanc.

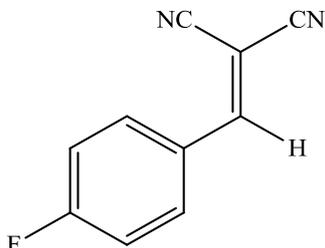
Pf : 164 °C.

RMN ¹H (CDCl₃) δ_H : 7,43 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, **H_{arom}**); 7,69 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, **H_{arom}**); 7,83 (1H, s, C=C-H)

IR ν_{max} cm⁻¹: 1576 (C=C); 2227 (CN).

- 2-(4-Fluoro-benzylidène)malononitrile 3 :**

L'alcène **3** est obtenu à partir de la 4-Fluorobenzaldéhyde (10 mmol ; 1,24 g).



Formule brute : $C_{10}H_5FN_2$.

Masse molaire : 172,15 g.mol⁻¹.

Rdt : 79 %.

Aspect : solide blanc.

Rf : 0,38 (Cyclohexane/Acétate d'éthyle : 80/20).

Pf: 158 °C.

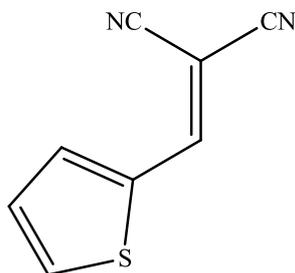
RMN ¹H (CDCl₃) δ_H: 7,13-7,40 (2H, m, **H_{arom}**); 7,77 (1H, s, C=C-H) ; 7,91-8,04 (2H, m, **H_{arom}**).

RMN ¹³C (CDCl₃) δ_C: 82,52 (C=C); 113,56 (CN); 117,33 (CN); 127,41 (2×C_{arom}); 133,38 (2×C_{arom}); 131,47 (C_{arom}); 158,28 (C_{arom}); 167,43 (C=C).

IR ν_{max} cm⁻¹ : 1583 (C=C); 2228 (CN).

• 2-(Thiophène-2-ylmethylene)malononitrile 4 :

L'alcène **4** est obtenu à partir de la thiophène-2-carbaldéhyde (10 mmol ; 1,12 g).



Formule brute : C₈H₄N₂S.

Masse molaire : 160,19 g.mol⁻¹.

Rdt : 75 %.

Aspect : solide marron.

Rf : 0,27 (Cyclohexane / Acétate d'éthyle : 80-20).

Pf : 100 °C.

RMN ¹H (CDCl₃) δ_H : 7,27-7,32 (1H, m, **H**_{arom}); 7,84 (1H, d, J = 3.9 Hz, **H**_{arom}); 7,90 (1H, s, C=C-**H**) ; 7,91 (1H, d, J=3,9 Hz, **H**_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃) δ_C : 78,40 (C=C); 112,96 (CN); 113,79 (CN); 129,06 (C_{arom}); 135,43 (C_{arom}); 136,89 (C_{arom}); 138,15 (C_{arom}); 151,09 (C=C).

IR ν_{max} cm⁻¹ : 1569 (C=C); 2224 (CN).

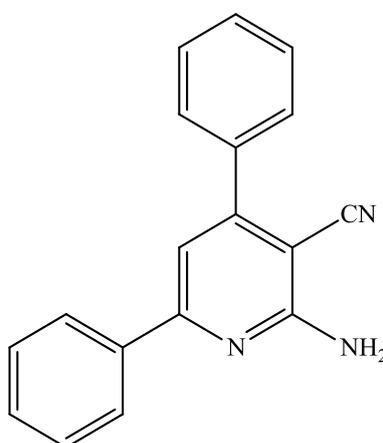
II. SYNTHÈSE DES 2-AMINOPYRIDINES :

Mode opératoire :

Dans un ballon de 25 ml muni d'un barreau aimanté et d'un réfrigérant sont introduits : (10 mmol) d'alcène, (10 mmol) de dérivé d'acétophénone et (10 mmol ; 0,77 g) d'acétate d'ammonium. Le mélange réactionnel est chauffé à 100 °C pendant 3 h. Le solide obtenu est filtré, lavé avec l'éther diéthylique et recristallisé dans l'éthanol absolu pour obtenir la 2-aminopyridine désirée.

• 2-amino-4,6-diphénylnicotinonitrile **5** :

L'aminopyridine **5** est préparée à partir de l'alcène **1** (10 mmol; 1,54 g) et de l'acétophénone. (10 mmol ; 1,20 g).



Formule brute : C₁₈H₁₃N₃.

Masse molaire : 271,11 g.mol⁻¹.

Rdt : 70 %.

Aspect : solide blanc.

Rf : 0,45 (Cyclohexane/Acétate d'éthyle : 60/40).

Pf: 186°C.

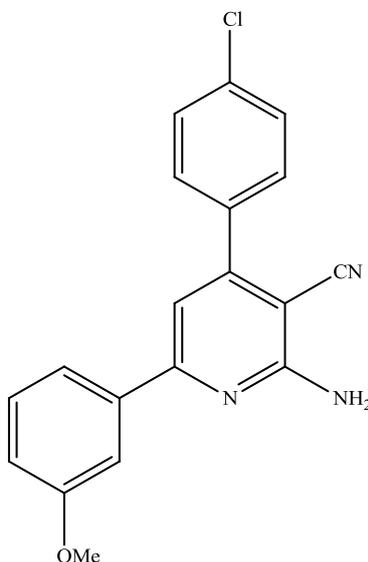
RMN ¹H (CDCl₃) δ_H : 5,46 (2H, s, NH₂); 7,25 (s, 1H, H_{pyri}); 7,14-7,30 (5H, m, H_{arom}); 7,62-8,09 (5H, m, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃) δ_C : 88,26 (C-CN); 110,71 (C=C-Ph); 117,77 (CN); 115,98-117,32 (6× C_{arom}); 129,33-133,73 (6× C_{arom}); 154,31 (C=C-CN); 158,23 (C=C-Ph); 160,09 (C-NH₂).

IR ν_{max} cm⁻¹ : 1572 (C=C); 1581 (C=C); 2204 (CN); 3396 (NH₂).

• 2-amino-4-(4-chlorophényl)-3-cyano-6-(3-méthoxyphényl)pyridine 6 :

L'aminopyridine **6** est préparée à partir de l'alcène (10 mmol; 1,88 g) et de la 4-méthoxy-acétophénone (10 mmol ; 1,99 g).



Formule brute : C₁₉H₁₄ClN₃O.

Masse molaire : 335,79 g.mol⁻¹.

Rdt : 80 %.

Aspect : solide jaune.

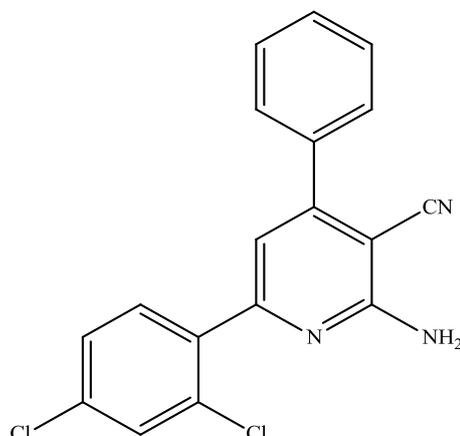
Pf: >260°C.

RMN ¹H (CDCl₃) δ_H : 3,83 (3H, s, OCH₃); 6,78 (2H, s, NH₂); 7,15 (1H, dd, J_{H-H} = 8,30 Hz, J_{H-H} = 8,30 Hz, H_{arom}), 7,34 (1H, s, H_{pyri}); 7,43-7,45 (3H, m, H_{arom}); 7,76 (2H, d, J_{H-H} = 8,40 Hz, H_{arom}); 8,16 (2H, d, J_{H-H} = 8,40 Hz, H_{arom}).

R v_{max} cm⁻¹: 1582 (C=C); 1556 (C=C); 2219 (CN); 3429 (NH₂).

- **2-amino-4-(phényl)-6-(2,4-dichlorophényl)nicotinonitrile 7 :**

L'aminopyridine **7** est préparée à partir de l'alcène **2** (10 mmol; 1,72 g) et de 2,4-dichloroacétophénone (10 mmol ; 1,50 g).



Formule brute : C₁₈H₁₁Cl₂N₃.

Masse molaire : 340,21 g.mol⁻¹.

Rdt : 61 %.

Aspect : solide jaune.

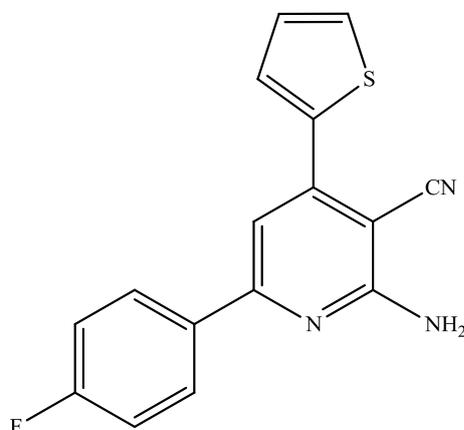
Pf: > 260 °C.

RMN ¹H (DMSO) δ_H : 2,54 (3H, s, OCH₃); 5,53 (2H, s, NH₂); 7,36 (1H, s, H_{pyri}); 7,34-7,41 (4H, m, H_{arom}); 7,59-7,70 (3H, m, H_{arom}); 7,99-8,03 (1H, s, H_{arom}).

IR ν_{max} cm⁻¹: 1606 (C=C); 1738 (C=C); 2207 (CN); 3499 (NH₂).

- **2-amino-6-(4-fluorophényl)-4-(thiophèn-2-yl)nicotinonitrile 8 :**

L'aminopyridine **8** est préparée à partir de l'alcène **3** et **4** (10 mmol; 1,60 g) et de la 1-(4-fluorophényl)éthanone (10 mmol ; 1,38 g).



Formule brute : C₁₆H₁₀FN₃S.

Masse molaire : 295,33 g.mol⁻¹.

Rdt : 75 %.

Aspect : solide jaune.

Rf : 0,45 (Cyclohexane/Acétate d'éthyle : 60/40).

Pf: 249 °C.

RMN ¹H (CDCl₃) δ_H : 5,43 (2H, s, **NH₂**); 7,25-7,14 (2H, m, **H_{arom}**); 7,28 (d, J = 6.1 Hz, 1H); 7,56 (1H, d, J = 5,1 Hz, **H_{pyr}**), 7.89 (1H, d, J = 3,7 Hz, **H_{arom}**), 8,08 -7,96 (3H,m, **H_{arom}**).

RMN ¹³C (CDCl₃) δ_C : 86,11 (**C-CN**); 109,71 (**C=C-Ph**); 117,41 (**CN**); 128,57-129,38 (6 × **C_{arom}**); 133,79 -146,73 (4 × **C_{arom}**); 158,75 (**C=C-CN**); 160,53 (**C=C-Ph**); 165,51 (**C-NH₂**).

IR v_{max} cm⁻¹ : 1511 (**C=C**); 1573 (**C=C**); 2209 (**CN**); 3521 (**NH₂**).

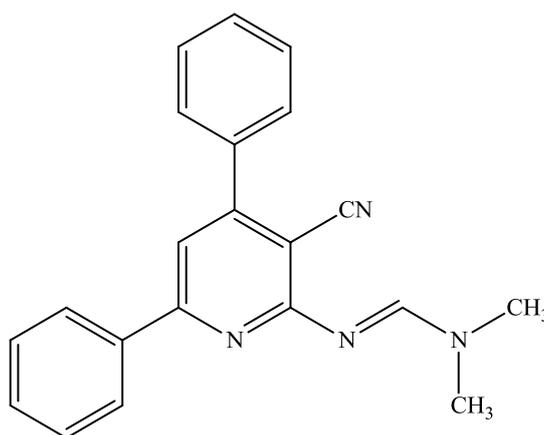
III. SYNTHÈSE DES FORMAMIDINES

Mode opératoire :

Dans un ballon de 25 mL, muni d'un barreau aimanté et d'un réfrigérant on mélange : (10 mmol) de 2-aminopyridine et (10 mmol ; 1,19 g) de DMF-DMA. Le mélange réactionnel est chauffé à 100 °C pendant 3 h. Le résidu obtenu est lavé avec l'éthanol absolu pour obtenir la formamidine recherchée.

• *N'*-(3-cyano-4,6-diphénylpyridin-2-yl)-*N,N*-diméthylformamidine **9** :

La formamidine **9** est préparée en utilisant l'aminopyridine **5** (10 mmol ; 0,27 g).



Formule brute : C₂₁H₁₈N₄.

Masse molaire : 326,39 g.mol⁻¹.

Rdt : 89 % (A) ; 95 % (B).

Aspect: solide blanc.

Rf : 0,44 (Cyclohexane/Acétate d'éthyle : 70/30).

Pf : 156 °C.

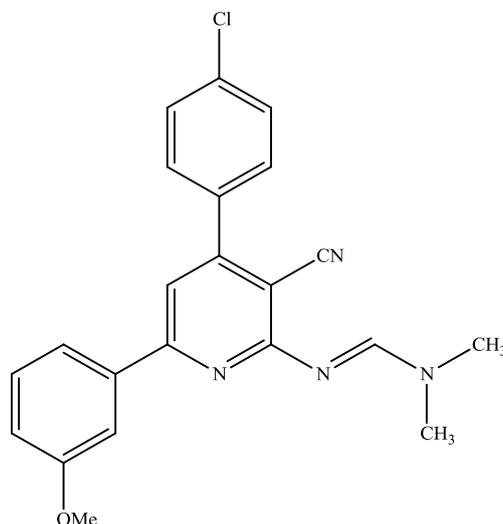
RMN ^1H (DMSO) δ_{H} : 6,99 (2 H, s, NH_2); 7,23 (s, 1H, H_{pyri}); 7,44-7,50 (5H, m, H_{arom}), 7,65-8,11(5 H, m, H_{arom}).

RMN ^{13}C (DMSO) δ_{C} : 87,10 (C-CN); 110,9 (C=C-Ph); 117,5 (CN); 127,5-129,1(6 \times C $_{\text{arom}}$); 129,2-137,5 (6 \times C $_{\text{arom}}$); 155,4 (C=C-CN); 159,1 (C=C-Ph); 161,4 (C-NH $_2$).

IR ν_{max} cm^{-1} : 1539 (C=C); 1621 (C=C); 2211 (CN); 3485 (N(CH $_3$) $_2$).

- **N'-4-(4-chlorophényl)-3-cyano-6-(3-méthoxyphényl)pyridin-2-yl)-N,N-Diméthylformamide 10 :**

Préparée en utilisant (10 mmol ; 0,35 g) de 2-amino-4-(4-chlorophényl)-3-cyano-6-(3-méthoxyphényl)pyridine **6**.



Formule brute : C $_{22}$ H $_{19}$ ClN $_4$ O

Masse molaire : 390,87 g.mol $^{-1}$

Rendement : 93 %

Aspect : solide blanc

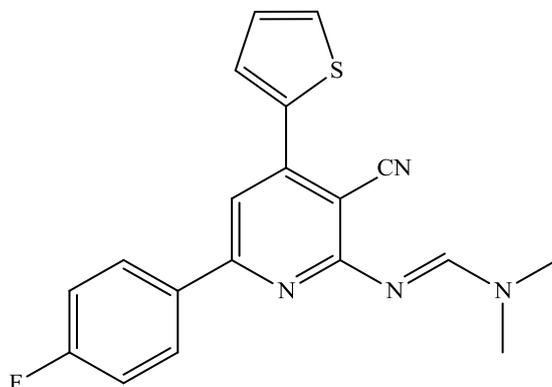
Pf : 185 °C

RMN ^1H (CDCl $_3$) δ_{H} : 3,19 (3 H, s, NCH $_3$); 3,23 (3 H, s, NCH $_3$); 3,88 (3 H, s, OCH $_3$); 7,01 (1H, dd, $J_{\text{H-H}}=8,30$ Hz, $J_{\text{H-H}}=8,30$ Hz H_{arom}); 7,16 (1H, s, H_{pyri}); 7,39 (3H, m, H_{arom}); 7,48 (2H, d, $J_{\text{H-H}}=8$ Hz, H_{arom}); 7,59 (2H, d, $J_{\text{H-H}}=8$ Hz, H_{arom}); 8,81(1 H, s, H_{imine}).

IR ν_{max} cm^{-1} : 1559 (C=C); 1683 (C=N); 2222 (CN); 3462 (N(CH $_3$) $_2$).

- ***N'*-(3-cyano-6-(4-fluorophényl)-4-(thiophén-2-yl)pyridin-2-yl)-*N,N*-diméthyl-formamidine **11** :**

La formamidine **11** est préparée selon les modes opératoires A et B en utilisant l'aminopyridine **8** (10 mmol ; 0,29 g).



Formule brute : C₁₉H₁₅FN₄S.

Masse molaire : 350,41 g.mol⁻¹.

Rdt : 82 %.

Aspect : solide blanc.

Rf : 0,51 (Cyclohexane/Acétate d'éthyle : 70/30).

Pf : 178 °C.

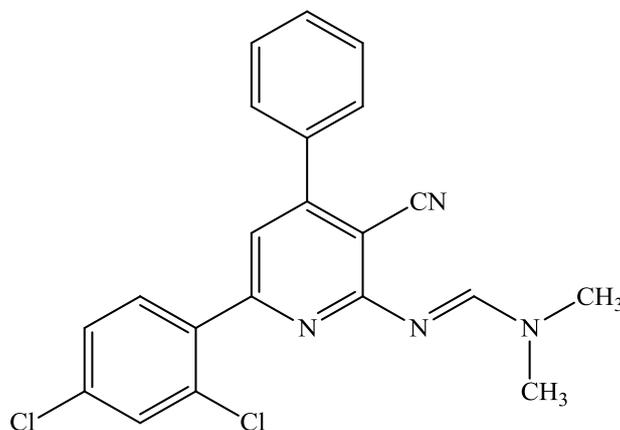
RMN ¹H (CDCl₃) δ_H : 3,19 (3H, s, NCH₃); 3,22 (3H, s, NCH₃); 7,21-7,06 (3H, m, H_{arom}); 7,38 (1H, s, H_{pyri}); 7,49 (1H, d, J = 5,1 Hz, H_{arom}); 7,93 (1H, d, J = 3,7 Hz, H_{arom}); 7,95-8,08 (5H, m, H_{arom}); 8,75 (1H, s, H_{imine}).

RMN ¹³C (CDCl₃) δ_C : 35,11 (NCH₃); 41,02 (NCH₃); 97,20 (C-CN); 112,67 (C=C-Ph); 115,80 (CN); 128,29-129,09 (6x C_{arom}); 129,79-146,97 (6x C_{arom}); 154,14 (C=C-CN); 156,14 (C-N=C); 157,31 (C=C-Ph); 165,29 (C-N=C).

IR ν_{max} cm⁻¹ : 1615 (C=C); 1739 (C=N); 2206 (CN); 3647 (N(CH₃)₂).

- ***N'*-(3-cyano-4-(4-fluorophényl)-6-(3-méthoxyphényl)pyridin-2-yl)-*N,N*-diméthylformamidine 12 :**

La formamidine **12** est préparée selon les modes opératoires A et B en utilisant l'aminopyridine **7** (10 mmol ; 0,34 g).



Formule brute : C₂₁H₁₆Cl₂N₄.

Masse molaire : 395,28g.mol⁻¹.

Rdt : 88 % .

Aspect: solide blanc.

Pf: 187 °C.

RMN ¹H (DMSO) δ_H : 3,20 (3H, s, NCH₃); 3,23 (3H, s, NCH₃); 7,02-6,98 (1H, m, H_{arom}); 7,23-7,17 (2H, m, H_{pyri}); 7,31 (3H, m, H_{arom}); 7,42-7,36 (1H, m, H_{arom}); 7,67-7,58 (4H, m, H_{arom}); 8,80 (1H, s, H_{imine}).

IR ν_{max} cm⁻¹: 1575 (C=C); 1621 (C=N); 2211 (CN); 3566 (N(CH₃)₂).

IV. Synthèse des pyrido [2,3-d] pyrimidines :**Mode opératoire :****Méthode A :**

Dans un ballon de 25 mL, muni d'un barreau aimanté et d'un réfrigérant sont introduits : (10 mmol) de formamidine , (10 mmol) d'hydrazine. L'ensemble est chauffé à 100 °C pendant 4h. Le résidu est purifié par chromatographie silice en utilisant (hexane/acétate d'éthyle : 50/50) comme éluant, pour obtenir le 4-aminopyridopyrimidine désiré.

Méthode B :

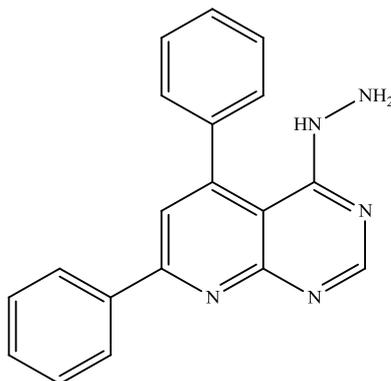
Dans un ballon monocolle de 25 ml on introduit 0.2 g (0.7 mole) de l'aminopyridine, (0.2 mole) d'hydrazine et (0.1 mole) de triméthylorthoformate selon une réaction multicomposant (MCR) sans solvant en présence du Zio-S₁ comme catalyseur pendant 2h a 100°C. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux sous l'agitation magnétique pendant 4h et l'avancement de la réaction est suivi par CCM

Méthode C :

Dans un ballon de 25 mL, muni d'un barreau aimanté et d'un réfrigérant sont introduits : (4 mmol) de 2-aminopyridine, (4 mmol) d'hydrazine et (4 mmol ; 1,48 g) de triethylorthoformiate. Selon une réaction multicomposant (MCR) Sans solvant, sous micro-onde pendant 20 min. Le résidu est purifié par chromatographie silice en utilisant (hexane/acétate d'éthyle : 50/50) comme éluant, pour obtenir le 4-aminopyridopyrimidine désiré.

1-(5,7-diphénylpyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl)hydrazine 13 :

Le pyrido[2,3-d] pyrimidine **13** est préparé selon la méthode **A** en utilisant un mélange équimolaire de formamidine **9** et l'hydrazine.



Formule brute : C₁₉H₁₅N₅

Masse molaire : 313,36 g.mol⁻¹

Rendement : 71%

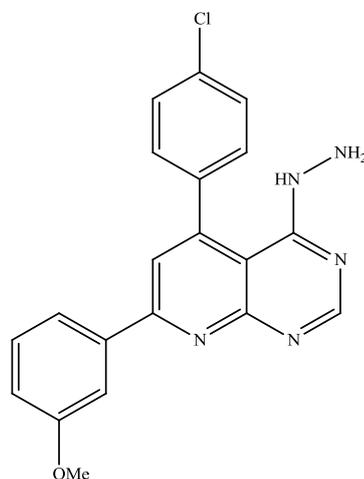
Aspect : solide blanc

Pf : 194 °C

IR ν_{\max} cm⁻¹: 1258(C-N) 1577 (C=C); 1638 (C=C); 3299(C-H) 3461 (N-H).

1-(5-(4-chlorophenyl)-7-(3-methoxyphenyl)pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl)hydrazine 14 :

Le pyrido[2,3-d]pyrimidine **14** est préparé selon la méthode **A** en utilisant un mélange équimolaire de formamidine **10** et l'hydrazine.



Formule brute : C₂₀H₁₆ClN₅O

Masse molaire : 377,83 g.mol⁻¹

Rendement : 55%

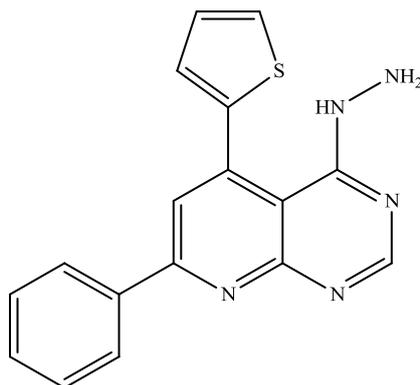
Aspect : solide blanc

Pf : 221 °C*

IR ν_{\max} cm⁻¹: 1054 (C-O); 1256 (C-N); 1572 (C=C); 1655 (C=N); 3410 (N-H)

1-(7-phenyl-5-(thiophen-2-yl) pyrido [2,3-d] pyrimidin-4-yl) hydrazine 15 :

Le pyrido[2,3-d] pyrimidine **15** est préparé selon la méthode **A** en utilisant un mélange équimolaire de formamidine **11** et l'hydrazine.



Formule brute : $C_{17}H_{13}N_5S$

Masse molaire : $323,42 \text{ g.mol}^{-1}$

Rendement : 52%

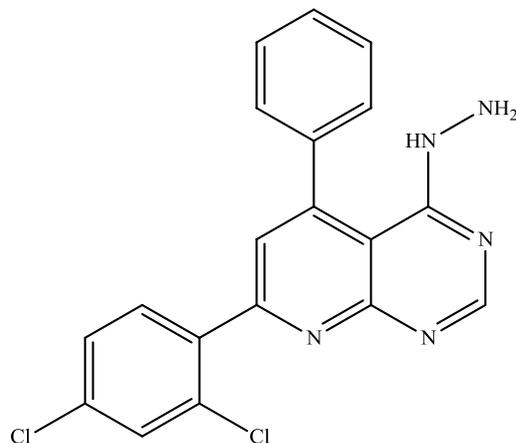
Aspect : solide jaune

Pf : $192 \text{ }^\circ\text{C}$

IR $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$: 1326 (C-N), 1635 (C=C); 3071 (C-H); 3410 (N-H).

1-(7-(2, 4-dichlorophenyl)-5-phenylpyrido [2,3-d] pyrimidine -4-yl) hydrazine 16 :

Le pyrido[2,3-d] pyrimidine **16** est préparé selon la méthode **A** en utilisant un mélange équimolaire de formamidine **12** et l'hydrazine.



Formule brute : C₁₉H₁₃Cl₂N₅

Masse molaire : 382,25 g.mol⁻¹

Rendement : 64%

Aspect : solide blanc

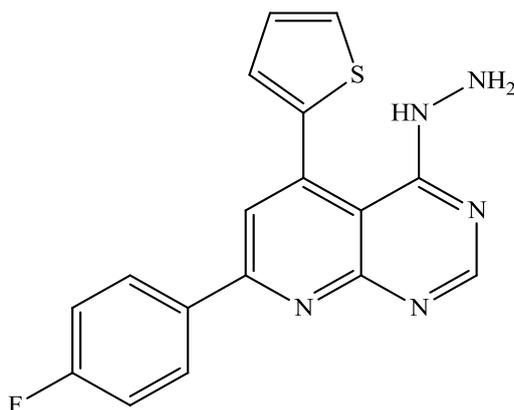
Pf : 204 °C

IR ν_{\max} cm⁻¹: 1255 (C-N); 1552(C=C); 1633 (C=N); 3489 (N-H)

1-(7-(4-fluorophenyl)-5-(thiophen-2-yl)pyrido [2,3-d] pyrimidine -4-yl) hydrazine 17 :

Le pyrido [2,3-d] pyrimidine **17** est préparé selon la méthode B et C

- ❖ 2-amino-6-(4-fluorophényl)-4-(thiophène-2-yl)nicotinonitrile (0.01 mol ; 0.10 g)
- ❖ Hydrazine (0.01 mol ; 0.32 g)
- ❖ triéthylorthoformiate (4 mmol ; 1.48 g)



Formule brute : C₁₉H₂₀FN₅

Masse molaire : 390,87 g.mol⁻¹

Rendement : 60

Aspect : solide jaune

Pf : 200 °C

I. Etude de fluorescence sur nos pyrido [2,3-d] pyrimidines

I.1.Appareillage

Les mesures de fluorescence ont été réalisées sur un fluorimètre SHIMADZU spectrofluomètre RF-6000 dans des cellules en quartz, travaillant dans la fenêtre 440-740 nm et la longueur d'onde d'excitation est prise au maximum d'absorption pour chaque composé avec l'excitation à la longueur d'onde λ_{\max} la moins énergétique du spectre d'absorption. La largeur de la bande des fentes d'excitation et d'émission pour ces mesures a été de 2,5 nm. L'analyse de fluorescence a été réalisée à une température ambiante (figure 34).



Figure 34 : un spectrophotomètre SHIMADZU RF-6000.

I.2.Matériels

Le chloroforme, le DMSO, le DMF, L'ACN, le DCM, le Cyclohexène, H₂O et le Méthanol sont utilisés comme des solvants pour l'étude fluorescence moléculaire.

Les pyrido [2, 3-d] pyrimidines choisis à étudier **K01**, **K02**, **K03**, **K04** synthétisés précédemment sont utilisés comme des fluorophores pour étudier leur fluorescence moléculaire.

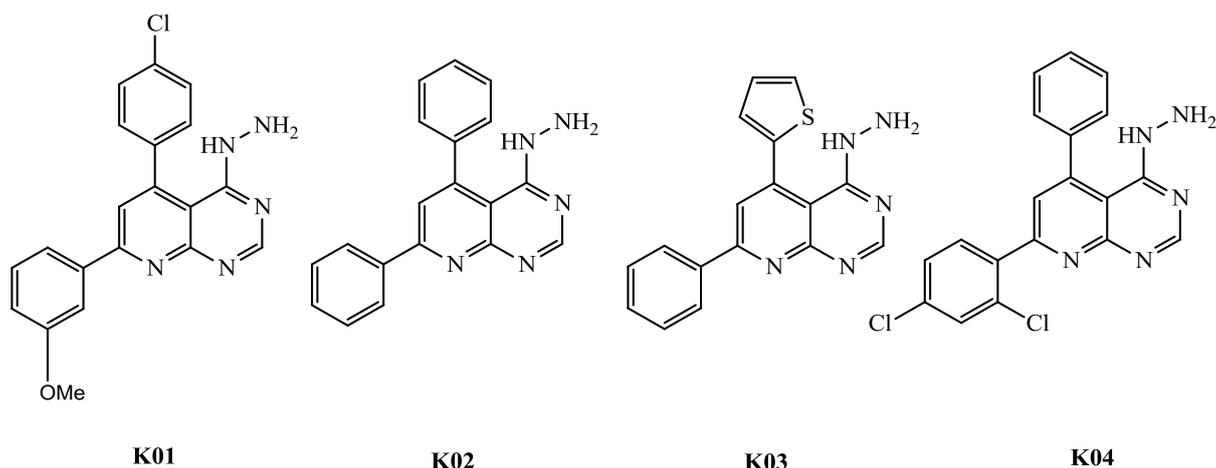


Figure 35 : les fluorophores utilisés pour l'étude fluorescence moléculaire.

I.3.Mode opératoire

I.3.1. Effet de concentration sur la fluorescence du pyrido [2,3-d] pyrimidines

Préparation des échantillons

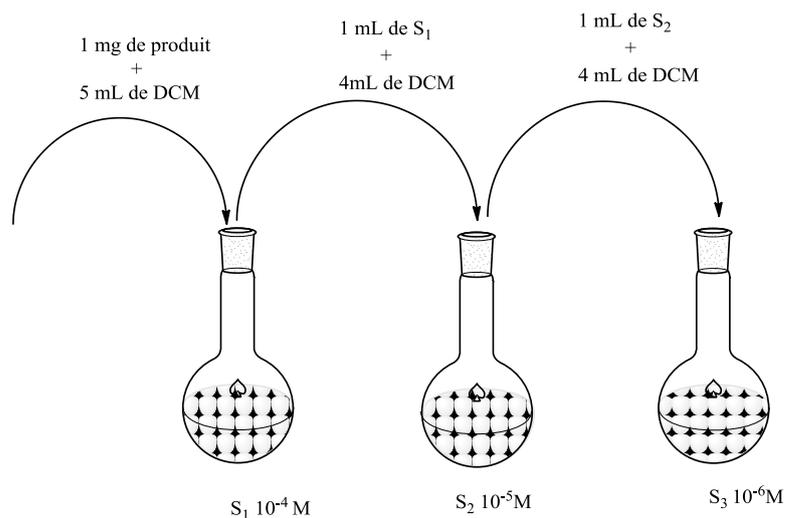
A fin d'obtenir des solutions diluée de concentrations de 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} M on suit le protocole suivant :

Pour les essais des 4 produits **K01**, **K02**, **K03** et **K04** on doit avoir 12 tubes à essais ; 3 tubes pour chaque produit

Dans les quartes premiers tubes à essai, on introduit respectivement 1 mg de **K01**, **K02**, **K03** et **K04** dans 5 mL de DCM comme solvant à fin de préparer des solutions mères S_1 de concentration 10^{-4} M.

Ensuite on prélève 1 mL de chaque solution S_1 préparé précédemment et on les verse dans 4 mL de DCM pour préparer des solutions S_2 de 10^{-5} M.

Pour préparer des solutions S_3 de concentration 10^{-6} M, on verse 1 mL de S_2 dans 4 mL de DCM.



Les échantillons préparés précédemment sont portés dans des cuves en quartz et passent dans le spectrophotomètre afin d'étudier l'influence de la concentration sur l'intensité des spectres de fluorescence.

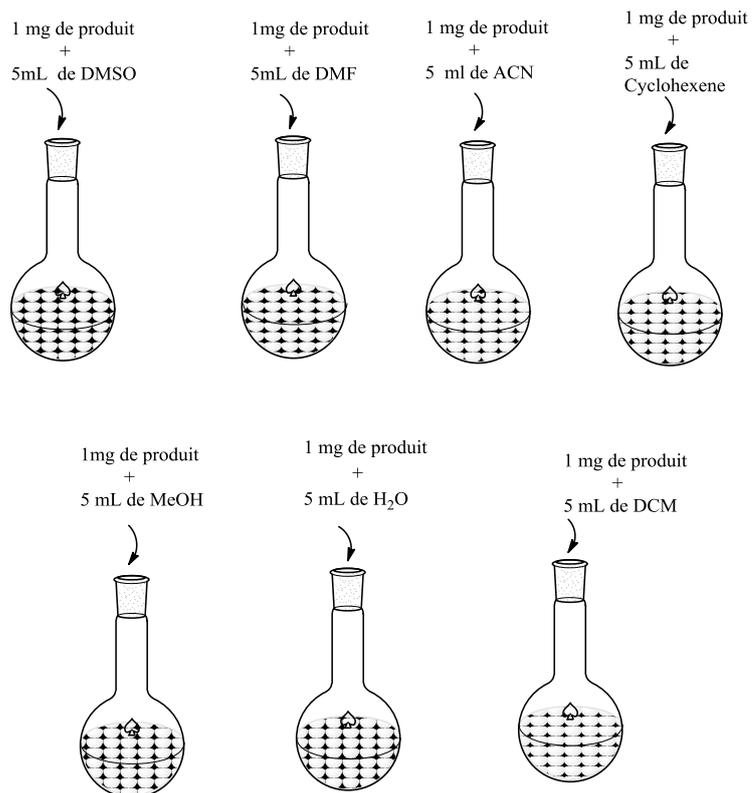
I.3.2. Effet de solvant sur la fluorescence du pyrido [2,3-d] pyrimidines

Préparation des échantillons

Afin d'étudier l'influence du solvant sur la fluorescence du pyrido [2,3-d] pyrimidines, on prépare des solutions diluées avec des concentrations optimales de 10^{-5} et 10^{-6} M en utilisant une série de solvants organiques de différentes polarités tels que DMSO, DMF, DCM, ACN, MeOH, Cyclohexane, et H₂O.

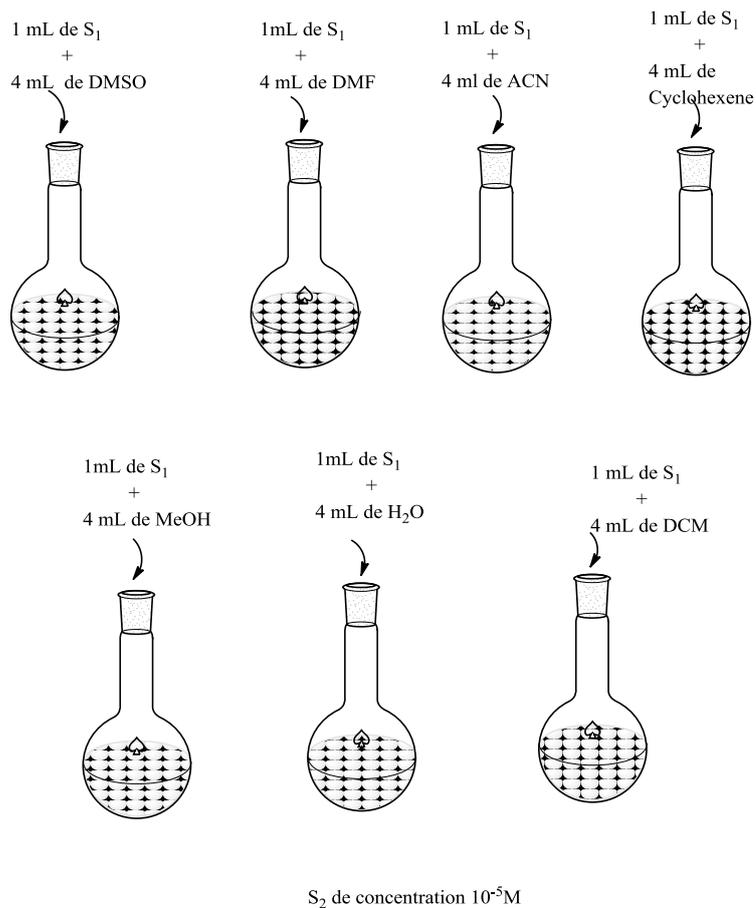
On introduit dans chaque tube d'essai respectivement 1 mg de **K01** dans 5 ml des solvants organiques (DMSO, DMF, ACN, MeOH, Cyclohexane, et H₂O) les solutions mères sont soumises à une dilution jusqu'à atteindre une concentration optimale de 10^{-6} M.

La même manipulation a été appliquée aux produits **K02**, **K03** et **K04** afin d'atteindre des concentrations optimales respectivement 10^{-5} M, 10^{-6} M et 10^{-5} M.

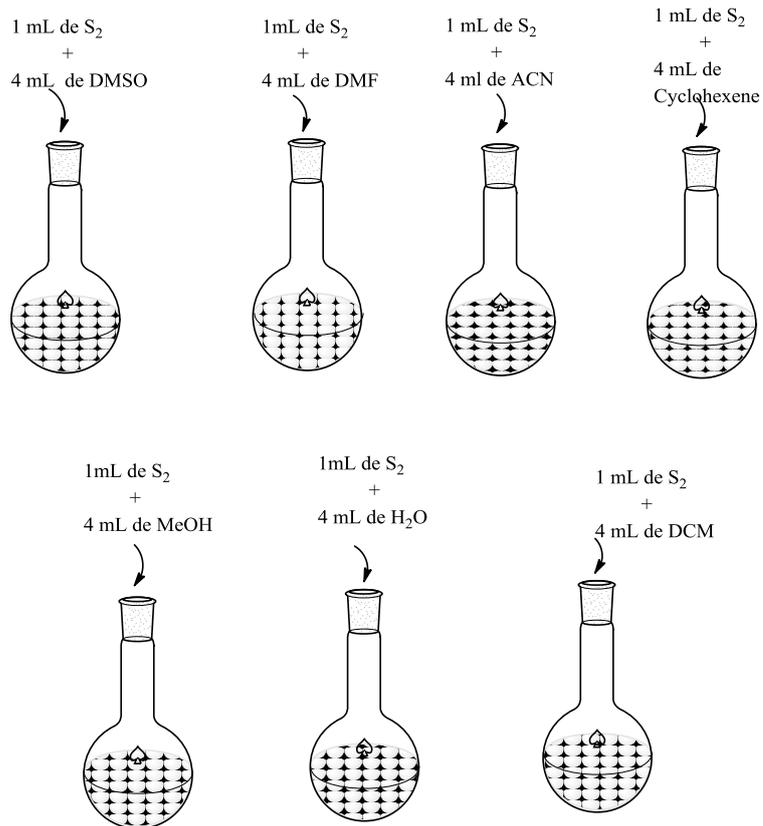


S₁ de concentration 10⁻⁴M

Pour obtenir des solution S₂ de concentration 10⁻⁵ M, on verse dans des tubes a essais 1 mL de S₁ préparé précédemment dans 4 mL de sept solvant déjà utilisé.



La réalisation de la solution S₃ s'effectue on introduisant dans des tubes à essais 1 mL de S₂ dans 4 mL de différent solvants utilisés.



S₃ de concentration 10⁻⁶M

Les échantillons préparée précédemment sont portée dans des cuves en quartz et passer dans le spectrophotomètre a fin d'analyser les spectres d'émission sous l'influence de la polarité de solvant utilisés.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Dans notre travail nous avons comme objectif principal notre programme de recherche centré sur le développement de nouvelles voies de synthèses originales pour l'obtention de nouveaux hétérocycles azotés et l'application de la spectroscopie de fluorescence moléculaire à de nouveaux fluorophores de type pyrido [2,3-*d*] pyrimidine après une introduction sur le concept de la fluorescence moléculaire dans le cadre de la recherche de nouvelles sondes fluorescentes dans le domaine de la biologie, nous présenterons les résultats obtenus pour l'étude de la fluorescence de nos produits synthétisés et son influence vis-à-vis la variation du solvant et de la concentration.

Dans un premier temps, nous avons réussi à mettre au point deux nouvelles voies de synthèse efficaces, originales et moins coûteuses pour la préparation de nouveaux hétérocycles azotés : les pyrido[2,3-*d*]pyrimidines (Schéma 27). La première voie est basée sur l'attaque nucléophile d'amines primaire (hydrazine) sur les formamidines synthétisées qui nous ont permis de synthétiser cette famille avec de très bons rendements. La deuxième voie repose sur l'utilisation d'une nouvelle réaction multicomposant à partir des 2-aminopyridines comme précurseur de départ, l'orthofomate d'éthyle et l'hydrazine sous micro-ondes ou bien l'utilisation d'un catalyseur tel que le Zio-S₁. Cette réaction s'effectue sans solvant et donne de bons rendements.

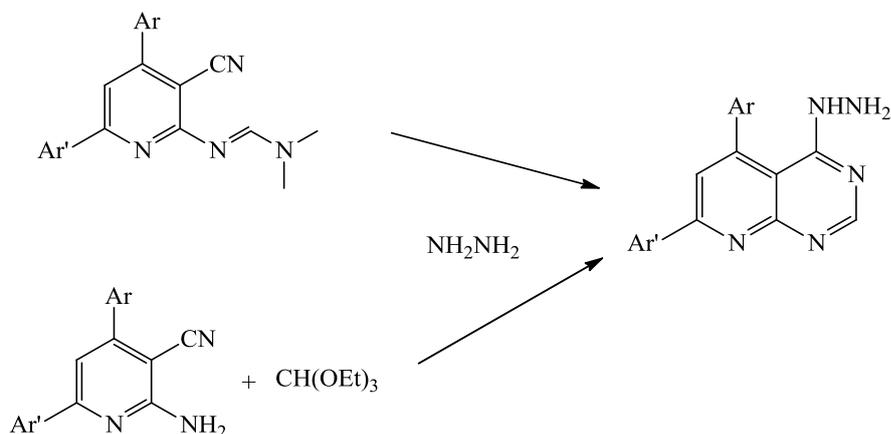


Schéma 27 : Synthèse des 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines

Dans un seconde temps, nous avons étudié la fluorescence moléculaire de nouveaux fluorophores synthétiques d'intérêt biologique ou thérapeutique et l'influence des différents facteurs sur ce phénomène.

Nous avons choisi de développer et de tester la technique de la fluorescence sur nos pyrido [2,3-*d*] pyrimidines dans différentes conditions.

L'étude des propriétés spectroscopiques et l'évaluation de la fluorescence moléculaire de quatre dérivés de pyrido [2,3-d] pyrimidines (**k01**, **k02**, **k03** et **k04**) , nous a permis de conclure qu'un déplacement bathochrome est observé lors de la diminution de la polarité du solvant (le cas des trois premiers produits une intensité maximale dans le Cyclohexene) par contre le produit **k04** représente une intensité maximale dans le DMSO (solvant polaire).

Cette étude montre que les pyrido [2,3-d] pyrimidines substituées par un substituant cyclique et polaire donnent une meilleure fluorescence à une concentration de 10^{-6} M dans le cyclohexene, l'acétonitrile et le dichlorométhane respectivement.

Ces composés hybrides pourraient être des blocs de construction pour une nouvelle génération de sondes fluorescentes dans le domaine biologique avec la simplicité de leur synthèse.

ملخص توجد الحلقيات الأزوتية في العديد من المنتجات الطبيعية ذات النشاط البيولوجي المهم و المتنوع.

في بحثنا هذا قمنا باقتراح طريقتين جديدتين لتحضير بيريدو [2,3-d] بيريميدين تحت ظروف معتدلة. تم إجراء دراسة عن الاستشعاع الجزيئي لهذه المنتجات فيما يتعلق باختلاف المذيب والتركيز.

ينقسم هذا العمل إلى قسمين رئيسيين:

الجزء الأول من هذا العمل يدرس طريقتين جديدتين لتحضير بيريدو بيريميدين الطريقة الأولى تعتمد على الهجوم النووي من طرف الأمينات الإبتدائية (هيدرازين) على الفورماميدات المصنعة هذه العائلة ذات مردود جيد جدا .

الجزء الثاني يعتمد على استعمال أمينوبيريدين كمتفاعل أساسي في تفاعل متعدد المكونات في (وعاء واحد) بدون مذيب تحت الميكروويف (موجات صغرى) أو باستعمال محفز. تتيح لنا هذه الطريقة الجديدة الحصول على هذه المركبات بسرعة و كفاءة عالية. الجزء الثاني من هذا العمل يتمركز حول دراسة الإستشعاع الجزيئي لأربعة مركبات محضرة مسبقا. هذه الدراسة تعتمد على تأثير بعض العوامل كالتركيز و طبيعة المذيب على شدة الإستشعاع الجزيئي.

كلمات مفتاحية : الحلقيات الأزوتية ،أمينوبيريدين، فورماميدين ، بيريدو بيريميدين ،تفاعل متعدد المكونات ، تفاعل تحت موجات صغرى (الميكروويف) ، الإستشعاع الجزيئي .

Résumé : Les hétérocycles azotés sont présents dans de nombreux produits naturels avec activités biologiques.

Dans ce travail nous avons envisagé deux nouvelles approches synthétiques pour le motif hétérocyclique pyrido [2,3-d] pyrimidine dans des conditions douces. Une étude de la fluorescence moléculaire de ces produits vis-à-vis de la variation du solvant et de la concentration a été effectuée.

Ce travail se divise en deux grandes parties :

La première partie de ce travail décrit les deux nouvelles voies de synthèse des pyrido [2,3-d] pyrimidines. La première voie est basée sur l'attaque nucléophile d'amines primaire (hydrazine) sur les formamidines synthétisées qui nous ont permis de synthétiser cette famille avec de très bons rendements. La deuxième voie est basée sur l'utilisation des 2-aminopyridine comme précurseur pour la synthèse des pyrido [2,3-d] pyrimidines dans un procédé en « one pot » à trois composants sans solvant sous micro-ondes ou l'utilisation d'un catalyseur. Cette nouvelle voie permet d'obtenir rapidement et efficacement ces composés. .

La deuxième partie de ce travail porte sur l'étude de la fluorescence de quatre composés préparés au cours de ce travail. Cette étude est basée sur l'influence de certains facteurs tel que la concentration et la nature de solvant utilisé sur l'intensité de la fluorescence moléculaire.

Mot clés : hétérocycles azotés, 2-aminopyridines, formamidines, pyrido [2,3-d] pyrimidines, réaction multicomposant (MCR), réaction micro-ondes (M.O), fluorescence moléculaire.

Abstract: Nitrogen heterocycles are present in many natural products with biological activities.

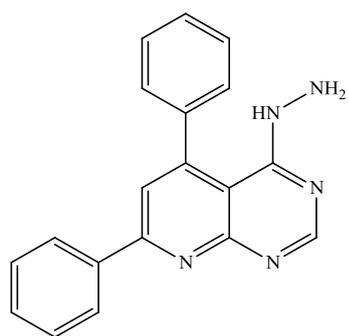
In this work we considered two new synthetic approaches for the heterocyclic pyrido [2,3-d] pyrimidine motif under mild conditions. A study of the molecular fluorescence of these products with respect to the variation of the solvent and the concentration was performed.

This work is divided into two main parts:

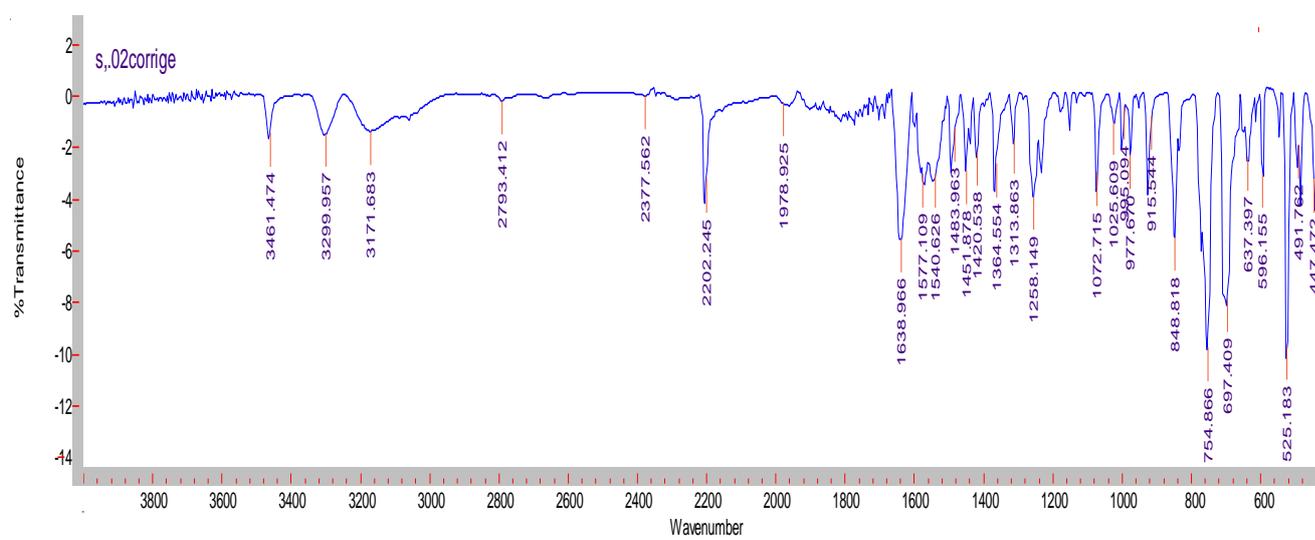
The first part of this work describes the two new routes for the synthesis of pyrido [2,3-d] pyrimidines. The first route is based on the nucleophilic attack of primary amines (hydrazine) on the synthesized formamidines which allowed us to synthesize this family with very good yields. The second route is based on the use of 2-aminopyridine as a precursor for the synthesis of pyrido [2,3-d] pyrimidines in a "one pot" process with three components without solvent under microwave or the use of a catalyst.

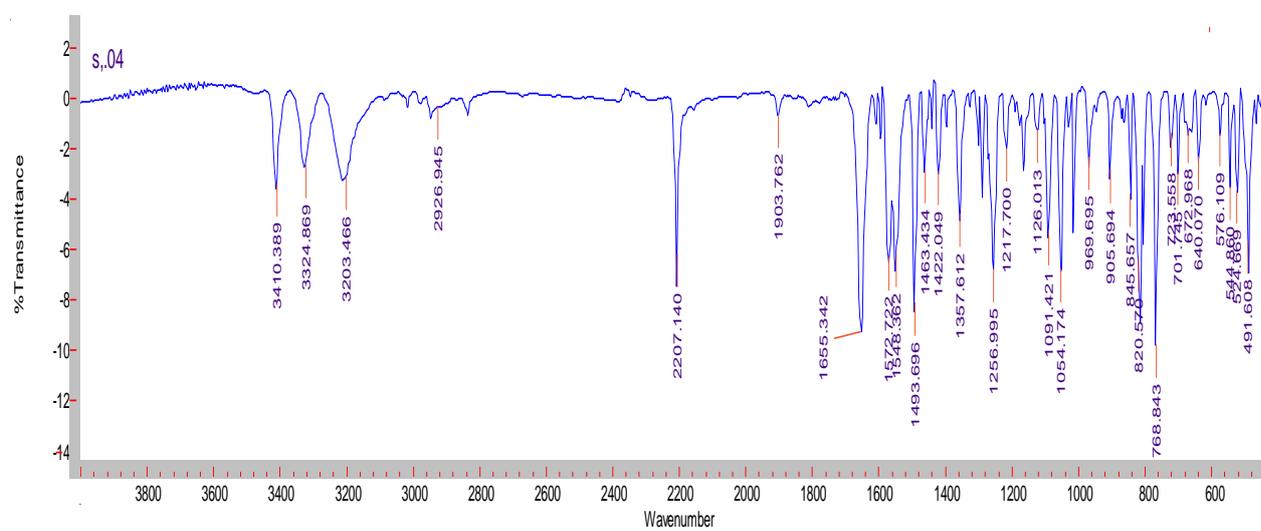
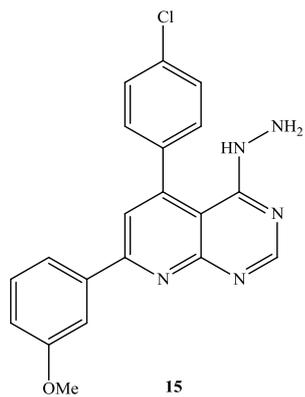
The second part of this work deals with the study of the fluorescence of four compounds prepared during this work. This study is based on the influence of certain factors such as the concentration and the nature of the solvent used on the intensity of the molecular fluorescence.

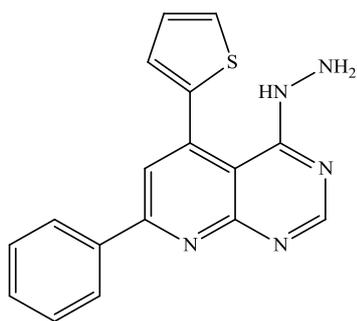
Key words: nitrogen heterocycles, 2-aminopyridines, formamidines, pyrido [2,3-d] pyrimidines, multicomponent reaction (MCR), microwave reaction (M.O), molecular fluoresce.



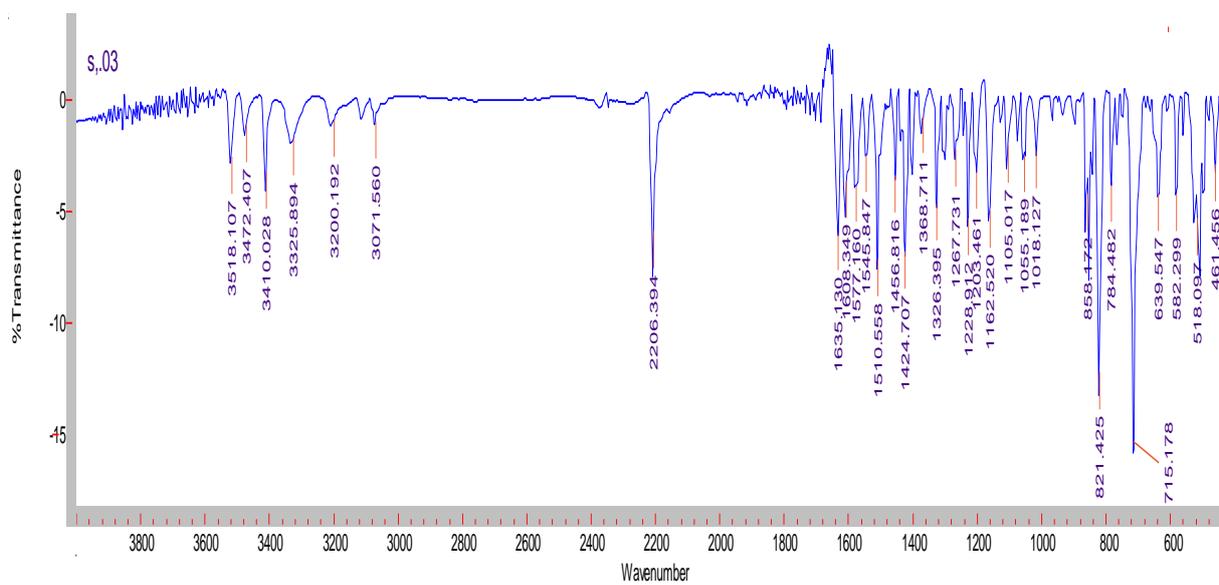
14

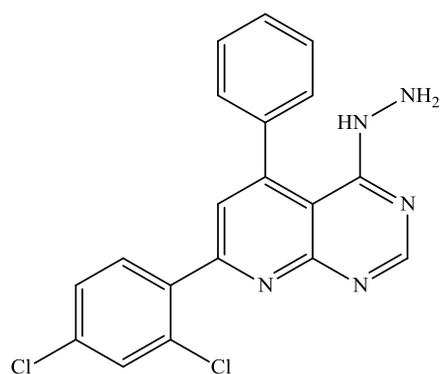






16





17

