

N° d'ordre : 27/012-n/CH

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE  
HOUARI BOUMEDIENE (USTHB) ALGER

**FACULTE DE CHIMIE**



## **MEMOIRE DE MAGISTER**

Présenté par : **M<sup>elle</sup> ZAOUI ASSIA**

**Thème :**

**Synthèse et caractérisation de composés hétérocycliques à partir de structure lactonique à cinq chaînons**

Soutenue publiquement, le **17/04/2012**, devant le jury composé de :

<b>Mme. D. HALLICHE</b>	Professeur à l'U.S.T.H.B	Présidente
<b>M. L. HAMMAL</b>	Maitre de conférences(A) à l'USTHB	Directeur de mémoire
<b>Mme. N. BENNAMANE</b>	Maitre de conférences(A) à l'USTHB	Examinatrice
<b>M. A. BOUDINA</b>	Maitre de conférences(A) à l'USTHB	Examinateur
<b>Mme. S. MERABTENE</b>	Chef d'unité au niveau de l'institut	Invitée pasteur d'Algérie

# *Dédicaces*

*A mes chers parents que dieu protège :*

*A ma grande mère ;*

*A mes sœurs ; mes frères ;*

*A mes neveux et à mes nièces ;*

*A Mohamed ;*

*A toute ma famille ;*

*A mes amis ;*

*A tous ceux qui me sont chers ;*

*Pour leur présence de tous les instants,*

*Pour le soutien qu'ils m'ont apporté,*

*Avec toute mon affection et ma reconnaissance.*

## **REMERCIEMENTS**

Ce travail a été effectué au laboratoire de chimie Organique Appliquée à la faculté de Chimie de l'U.S.T.H.B.

Tout d'abord, j'adresse mes plus vifs remerciements à M<sup>me</sup> le Professeur Bellara KOLLI , de m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa rigueur Scientifique.

Je tiens à remercier M<sup>r</sup> Lamouri HAMMAL Maître de Conférences A à l'U.S.T.H.B de m'avoir dirigé et encouragé tout le long de ce travail avec une grande disponibilité.

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements à M<sup>me</sup> le Professeur Djamila HALLICH d'avoir acceptée de présider ce jury de thèse.

J'adresse un remerciement particulier à M<sup>me</sup> Norah BENNAMANE Maître de Conférences A à l'USTHB , pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de siéger dans ce jury et pour ses encouragements. Je tiens encore à lui exprimer ma profonde gratitude pour son aide et tous ses précieux conseils.

Je tiens à remercier M<sup>r</sup> Ali BOUDINA, Maître de Conférences A à l'USTHB, d'avoir accepté de faire partie de ce jury et à qui j'adresse mes plus vifs remerciements.

Je remercie très vivement M<sup>me</sup> Samira MERABTENE chef d'unité au niveau du service milieux de cultures de l'institut Pasteur d'Algérie, d'avoir s'intéresser à ce travail et d'accepter avec amabilité de m'aider dans la réalisation des tests biologiques.

Bien que la thèse soit fondamentalement un travail individuel, elle n'aurait pu être menée à bien sans une équipe de collègues qui contribuent au bon fonctionnement du laboratoire, avec lesquels il est possible d'échanger conseils et suggestions. Je remercie pour cela tous mes collègues du labo : S. Bouzroua, Noura, Rachid, Yasmina, Houria, Saliha, Rachida, Lydia, Rosa, Nadia, Brahim, Rafik, Samira , Asma.

Je tiens à remercier en particulière K .Ouzna, T. Amel, S .Samira, F. Abdelhak, M. Hassiba qui m'ont supporté dans tous les sens du terme et sur qui j'ai toujours pu compter pendant la thèse. Leurs bonnes humeurs, leurs sens de l'amitié et leurs énergies m'a beaucoup aidée.

Finalement J'adresse sincèrement un très grand Merci pour tous mes amis et surtout à Rym, Hafida, Malika, Karima, Meriem, Samira, Hadjer, Sounia, Ahmed, Sarah, Malika, Amer, Ryma, Sarah. N, Nessrine , Billel et Amin.

J'exprime ma reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à accomplir ce modeste travail.

## *LISTE DES ABREVIATIONS*

EtOH	Ethanol
MeOH	Méthanol
NaOH	Hydroxyde de sodium
KOH	Hydroxyde de potassium
KBr	Bromure de potassium
CCM	Chromatographie sur couche mince
TPs	Temps
P.F	Point de fusion
Rdt	Rendement
RMN	Résonnance magnétique nucléaire
IR	Infra rouge
MHz	Méga Hertz
Ppm	Partie par million
TMS	Tétraméthylsilane
°C	Degré Celsius
VIH	Virus d'immunodéficience humain
H	Heurs
ATB	Antibiotique
gram+	Gram positif
gram-	Gram négatif
β-CD	β-cyclodextrine
TAL	Triacétique lactone
DHTAL	Dihydro triacétique lactone
AcOH	acide acétique
tBuOK	Teriobutylate de potassium
FeCl <sub>3</sub>	Chlorure ferrique III
CS <sub>2</sub>	Disulfure de carbone
DMF	Diméthyle formamide
AcONa	Acétate de sodium

# **SOMMAIRE**

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>10</b>
Références bibliographiques.....	11
<b>CHAPITRE I: MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES ACIDES TETRONIQUES ET LES THIOSEMICARBAZIDES</b>	
I.1 Les acides tétronique.....	13
I.1.1 Rappels bibliographique sur les dimères de structure lactonique.....	19
I.2 Les thiosemicarbazides.....	22
Conclusion.....	28
Références bibliographiques .....	29
<b>CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
II.1 Synthèse de nouvelles structures dimer de l'acide tétronique .....	35
II.1.1 Analyse spectroscopique .....	36
II.1.1.1 RMN du proton.....	36
II.1.1.2 RMN du carbone 13.....	38
II.1.1.3 Spectrométrie de masse.....	40
II.1.2 Discussion sur le mécanisme de la réaction.....	42
Partie expérimentale.....	45
II.2 Action des thiosemicarbazides sur la 2-acetyl- $\gamma$ -butyrolactone.....	48
II.2.1 Analyse spectroscopique.....	49
II.2.1.1 Résonance magnétique nucléaire du proton RMN $^1\text{H}$ .....	49
II.2.1.2 Résonance magnétique nucléaire du carbone RMN $^{13}\text{C}$ .....	51
II.2.1.3 Equilibre tautomère.....	52
II.2.1.4 Spectrométrie de masse.....	53

II.2.1.5 L'analyse infrarouge.....	54
II.2.2 Mécanisme réactionnel .....	55
Partie expérimentale.....	56

**CHAPITRE III : EVALUATION DE L'ACTIVITE  
ANTIMICROBIENNE**

Introduction.....	60
III.1 Les agents infectieux.....	61
III.2 Etude de l'activité antimicrobienne.....	63
III.2.1 Evaluation <i>in vitro</i> de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques... ..	63
III.2.2 Antibiogramme .....	64
III.2.2 .1Techniques classiques de la CMI .....	64
Méthodes de dilution .....	64
Méthodes de diffusion : antibiogramme standard .....	65
III.2.3 Micro-organismes utilisés	
III.2.4 Technique de l'étude utilisée.....	68
III.2.4.1 Technique de dilution en milieu solide.....	68
III.2.4.2 Technique de diffusion sur gel.....	69
III.2.5 Témoin.....	69
III.2.6 Produits à testés.....	70
III.3 Résultats et discussion.....	70
III.3.1 Méthode de dilution en milieu solide . .....	70
III.3.2 Méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide .....	74

Conclusion.....	76
Références bibliographiques.....	77
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>79</b>

# **INTRODUCTION GENERALE**

L'étude des systèmes hétérocycliques a connu un développement considérable dû à la mise en évidence de leurs activités biologiques [1]. Les dérivés lactoniques sont un exemple d'hétérocycles doués d'un éventail d'activités pharmacologique [2].

Les systèmes lactoniques existent dans la nature sous leurs formes simples [3] ou combinées [4], à l'état de cycles fonctionnalisés [5] ou de macromolécules [6]. Beaucoup de ces composés naturels et leurs dérivés possèdent de multiples propriétés biologiques [7]. Ils sont employés dans les traitements des allergies et des arthrites [8]. Ils interviennent aussi comme constituants des arômes et des essences de plusieurs aliments et boissons [9]. Ils participent également dans les mécanismes de défense des plantes et des insectes [10].

Parmi les structures lactoniques on cite l'acide tétronique, ce dernier est un hétérocyclique à cinq chaînons qui entre dans la composition d'un grand nombre de composés d'intérêt biologique (antitumoraux, antibiotique, allergénique, fongicides, etc....) [11], ainsi le motif 2-acetyl- $\gamma$ -butyrolactone qui est un ester cyclique comporte un groupement acétyle à la position 2. Ce motif est présent dans de nombreux produits naturels possédant une large gamme d'activités biologiques.

Notre laboratoire a contribué à cet effort par la synthèse de plusieurs composés associant l'hétérocycle furanonique à d'autres motifs biologiquement actifs. Partant de cette approche, nous nous sommes intéressés ici à la synthèse de nouvelles structures à partir de l'acide tétronique et la 2-acetyl- $\gamma$ -butyrolactone.

Le présent travail est réparti en trois chapitres :

Le premier chapitre illustre une dimérisation de l'acide tétronique en présence de divers aldéhyde. La réactivité du site  $C_3$  vis-à-vis des réactifs électrophiles dans les conditions propices permet d'orienter efficacement la sélectivité de la réaction.

Le second chapitre sera consacré à la synthèse de nouvelles structures imines à partir de la structure 2-acetyl- $\gamma$ -butyrolactone par action des dérivés de la thiosemicarbazide.

L'ensemble des produits synthétisés ont été soumis à une analyse spectroscopique complète (IR, RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C et spectrométrie de masse).

Dans le troisième chapitre nous évaluerons l'activité antimicrobienne de quelques dérivés synthétisés contre diverses souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*).

### Références bibliographiques

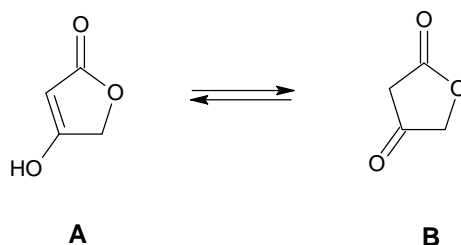
- [1]- R. Bouhfid, « Thèse Doctorat », **2007**, Université MOHAMMED V – AGDAL, Maroc.
- [2]- L. Hammal, « Thèse Doctorat d'Etat », **2007**, Université (USTHB) d'Alger.
- [3]- P. Martin, E.S. Very, G. Simon, L. Brian, D. Palmer, *J.Org.Chem.*, **1985**, 49, 3505.
- [4]- K.C. Nicolaou, D.A. Clareman, W.E. Barnette, *J.Am.Chem.Soc.*, **1980**, 102, 6611.
- [5]- G.A. Krams, K.A. Frazier, B.D. Roth, I. Mickael, T. Kent, *J.Org.Chem.*, **1981**, 46, 2417.
- [6]- D. Jones, White, Yoshiyasu, Fukuyema, *J.Am.Chem.Soc.*, **1979**, 101, 1.
- [7]- V.J. Afanassen, V.S. Suleimyin, *Veterinariya.(Mosco).*, **1977**, 4, 68.
- [8]- D. Pozzo, A. Danzi, A. Mariotti, V. Meneghinie, *Bull.Chem.Farm.*, **1972**, 111, 342.
- [9]- D.J. Folkes, J.W. Cramskaw, *J.Food.Technol.*, **1977**, 12, 1.
- [10]- L.F. Bjeldanes, *J.Org.Chem.*, **1977**, 42, 2333.
- [11]- R. Bruckner, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2006**, 45, 4023.

**CHAPITRE I**  
**MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES**  
**ACIDES TETRONIQUE ET LES**  
**THIOSEMICARBAZIDES**

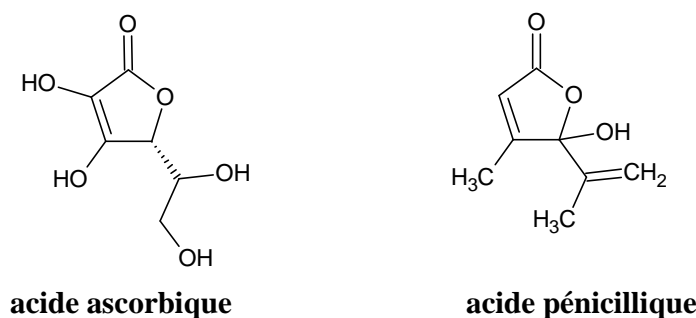
Avant d'aborder notre travail, il nous a paru intéressant dans ce chapitre de donner quelques généralités sur les acides tétroniques et nous relèverons leur activité biologique ainsi que la synthèse des dimères lactoniques largement décrite en littérature. Nous illustrerons dans un second temps une étude bibliographique sur les thiosemicarbazides que nous avons utilisés comme produit de départ.

### I.1 Les acides tétroniques :

L'acide tétronique (4-hydroxy-2(5*H*)-furanones) se présente sous deux formes tautomères **A** et **B** avec une faible acidité pKa de 3,76 [1].



Parmi les composés les plus connus de cette famille, on peut citer la vitamine C (acide ascorbique) et l'acide pénicillique [2].

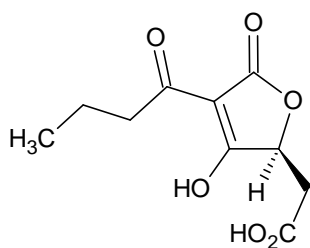


De nombreux autres produits naturels extraits d'éponges, de lichens, de moisissures et de plantes, comportent dans leur structure le motif acide tétronique [3,4].

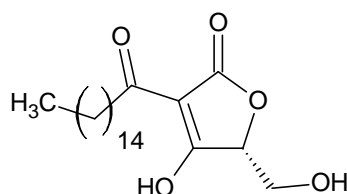
Les produits naturels comportant un motif acide tétronique présentent un large éventail de propriétés biologiques, telles que des activités antibiotiques, antitumorales, anticoagulantes, antiépileptiques, antifongiques, insecticides, analgésiques ou encore anti-inflammatoires [5].

Dans certains de ces composés, le motif acide tétronique est la structure principale de la molécule, alors que dans d'autres, il ne constitue qu'une petite partie d'une structure plus complexe (alcaloïdes, macrolides, terpènes, tanins) [2].

Parmi tous les acides tétroniques naturels, les acides 3-acyltétroniques sont les plus représentés. L'acide carlosique et le RK-682 sont des exemples types d'acides 3-acyltétroniques peu complexes et bioactifs. L'acide carlosique, isolé de *Penicillium charlesii* en 1934 [6], est un intermédiaire dans la biosynthèse de l'acide Pénicillique [7]. Le RK-682 a été isolé à partir de plusieurs sources, telles que *Actinomycètes* DSM 7357 [8,9], *Streptomyces sp.* 88-682[10] et *Streptomyces sp.* AL-462 [11]. Il a été montré que cet acide tétronique inhibe la protéase du VIH-1 [8-9] et de nombreuses kinases et phosphatases [12], vraisemblablement en mimant la structure du phosphate dans la poche de fixation du substrat de ces enzymes [13].



**acide carlosique**

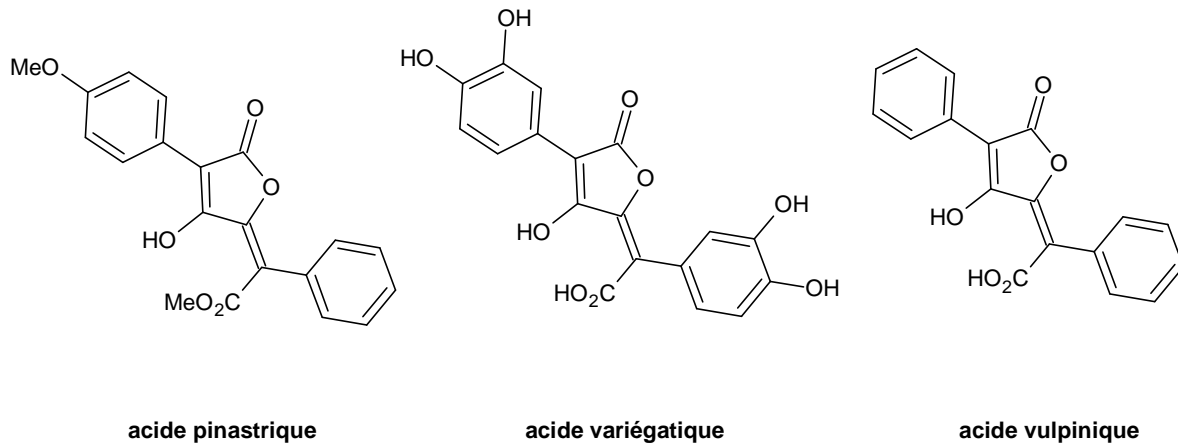


**RK-682**

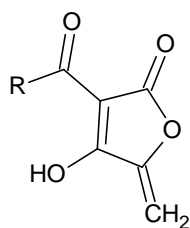
L'acide pinastrique a été décrit récemment pour ses activités antivirales, antimicrobiennes et antitumorales [14]. L'acide variégatique est connu pour son activité antioxydante [15].

L'acide vulpinique possède une activité antimicrobienne contre les bactéries Gram-positives [16] et une activité anti-inflammatoire chez le rat [17], mais entraîne des problèmes

d'hyperventilation [17,18]. Les lichens contenant de l'acide vulpinique étaient utilisés dans le nord de l'Europe pour empoisonner les loups [17,18].



Les agglomérines A-D ont été isolées du bouillon de fermentation d'*Enterobacter agglomerans* PB-6042 par l'équipe de Shoji en 1989. Ces acides 5-méthylidènetétroniques sont actifs contre de nombreuses bactéries anaérobies et possèdent également une faible activité antibiotique contre les bactéries aérobies [19,20].



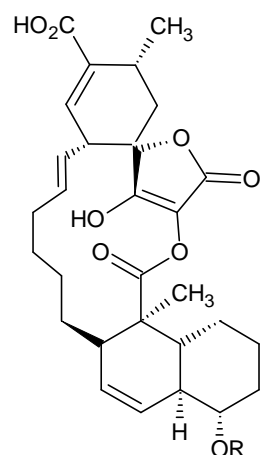
**agglomérine A:**  $R=CH_2(CH_2)_7Me$

**B:**  $R=CH_2(CH_2)_2CH=CH(CH_2)_5Me$

**C:**  $R=CH_2(CH_2)_9Me$

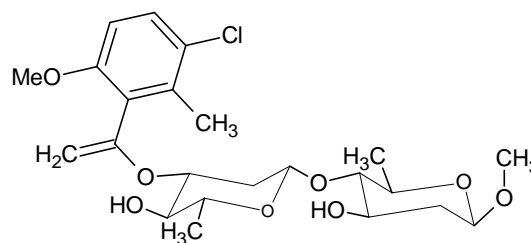
**D:**  $R=CH_2(CH_2)_3CH=CH(CH_2)_6Me$

La chlorothricine, isolée à partir de *Streptomyces antibioticus* [21-23], est un macrolide complexe glycolysé qui possède une activité antibiotique contre les bactéries Gram-positives. Il est intéressant de noter que le chlorotricolide, la partie aglycone de la molécule, sous sa forme d'ester méthylique, conserve l'activité antibiotique. Toutefois, des concentrations plus élevées que pour la chlorothricine elle-même sont nécessaires [24-26].



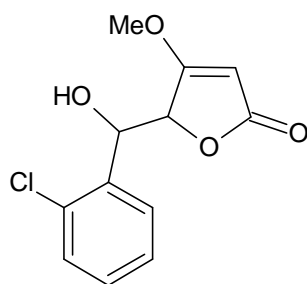
chlorothricine R=A

chlorothricolide R=H

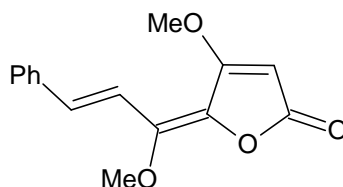


A

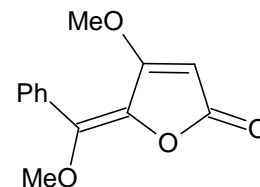
La losigamone, les pipérolides et les fadyénolides sont des petites molécules fonctionnalisées dont la structure de base est le motif acide tétronique [2].



losigamone



(5Z)-pipérolide

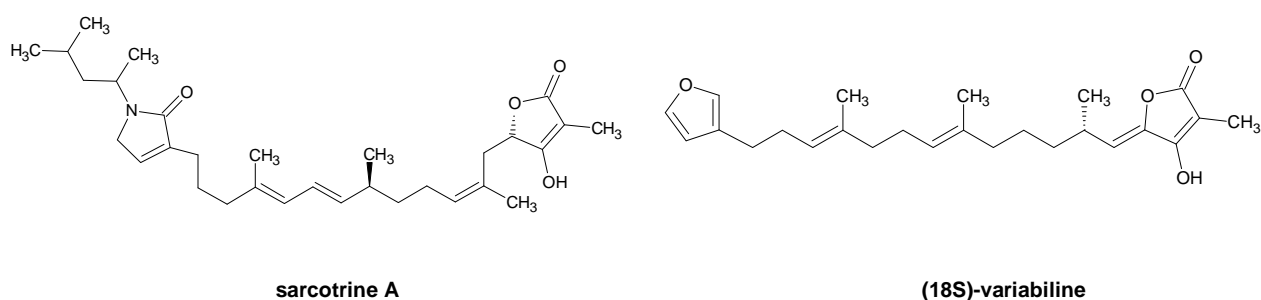


(Z)-fadyénolide

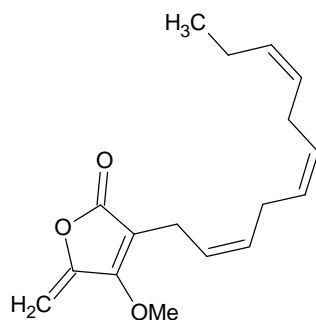
La losigamone est un composé ayant des propriétés anticonvulsantes qui est en phase III d'essais cliniques [4]. Le (5Z)-pipérolide et le (Z)-fadyénolide sont isolés à partir de plantes

appartenant au genre *Piper* (*Piper sanctum* et *Piper fadyenolli* respectivement) [27,29]. Ces composés ont la particularité de posséder une double liaison exocyclique en position 5 [2].

La sarcotrine A et la variabiline ont toutes deux été isolées à partir d'éponges marines et possèdent respectivement des activités antitumorales [30] et anti-inflammatoires [31]. Ces deux terpènes possèdent un groupement méthyle en position 3 sur le motif acide tétronique et une longue chaîne carbonée en position 5 portant un hétérocycle en position terminale [2].

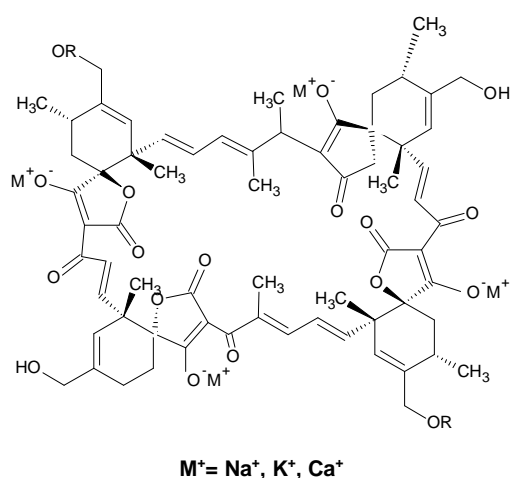


L'artapétaline A, qui comporte une chaîne carbonée en position 3, a été isolée à partir des parties aériennes d'*Artabotrys hexapetalus*, qui est une plante utilisée en médecine traditionnelle chinoise pour le traitement du paludisme et d'un type de tuberculose [32].



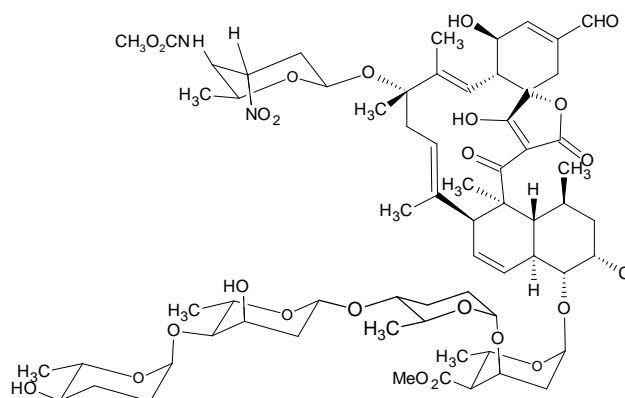
artapétaline A

Les quartromicines et la tétrorcaine A sont des molécules complexes contenant des motifs spirotétroniques. Les quartromicines, isolées d'*Actinomycetes* [33], présentent un centre de symétrie  $C_2$  et contiennent deux sous-unités spirotétroniques [2]. Ces composés expriment une activité antivirale contre le virus HSV (type 1), le VIH et le virus de la grippe de type A [34,35]. La tétrorcaine A possède, outre un acide spirotétronique, une structure glycosidique complexe [2]. Cette macromolécule présente un grand intérêt du fait de son activité antitumorale contre les cellules P388 (leucémie) ou B 16 (mélanome) [36,37].



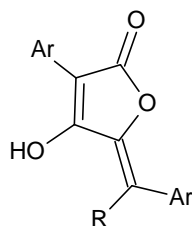
**quartromicine A<sub>3</sub> R=  $\alpha$ -D-galactosyle**

**quartromicine D<sub>3</sub> R= H**



**tétrorcaine A**

Les acides pulviniques et vulpiniques ainsi que les pulvinones sont des acides 5-ylidènetétroniques. Ces composés sont des pigments connus pour être responsable de la couleur jaune ou orangée de certains champignons ou lichens [2].

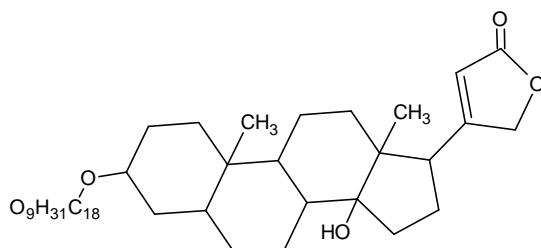


**acide pulviniques R=CO<sub>2</sub>H**

**acide vulpiniques R=CO<sub>2</sub>Me**

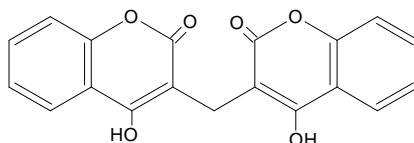
**pulvinones R=H**

La digitoxine (extrait de la feuille de digitaline purpurea) est un prototype des glucosides digitaliques qui convient au traitement de l'insuffisance cardiaque et des troubles du rythme supraventriculaire [38].

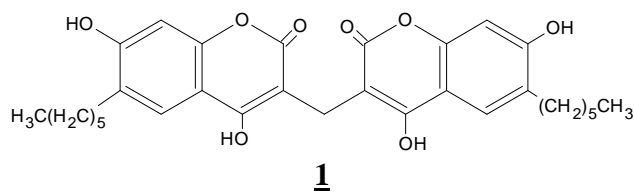


### I.1.1 Rappel bibliographique sur les dimères des structures lactoniques :

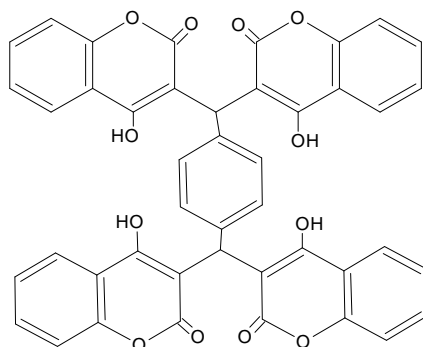
La dicoumarol, ce fut la première antivitamine K isolée et synthétisée comme un anticoagulant[38].



Une recherche récente a montré que le dimère de la 4-hydroxy coumarine **1** est classé parmi les inhibiteurs les plus prometteurs contre la protéase HIV-1[39].

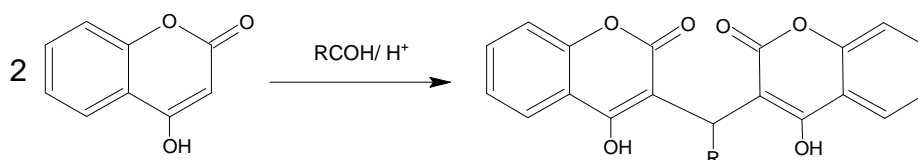


Le dérivé de tétra-coumarine **2**, a démontré une activité notable tant que antivirale dans HIV [40].

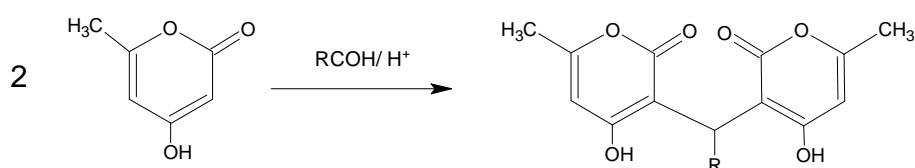


2

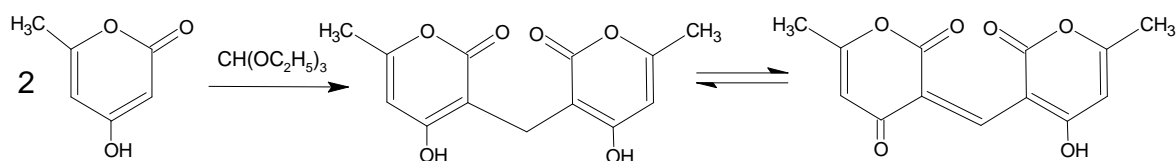
La synthèse des dimères de la 4-hydroxy coumarine a été rapportée dans la littérature [41].



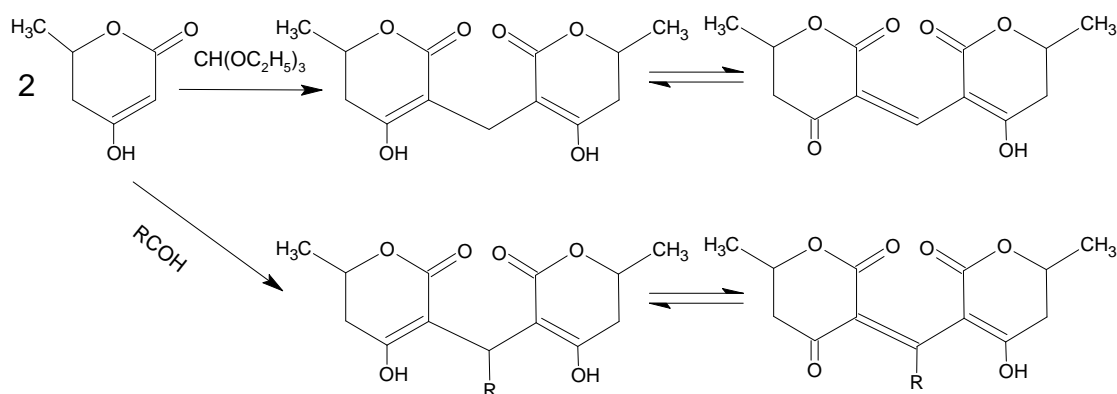
Cette réaction a été reprise par ces auteurs [42] pour synthétiser les dimères de la triacétique lactone (TAL).



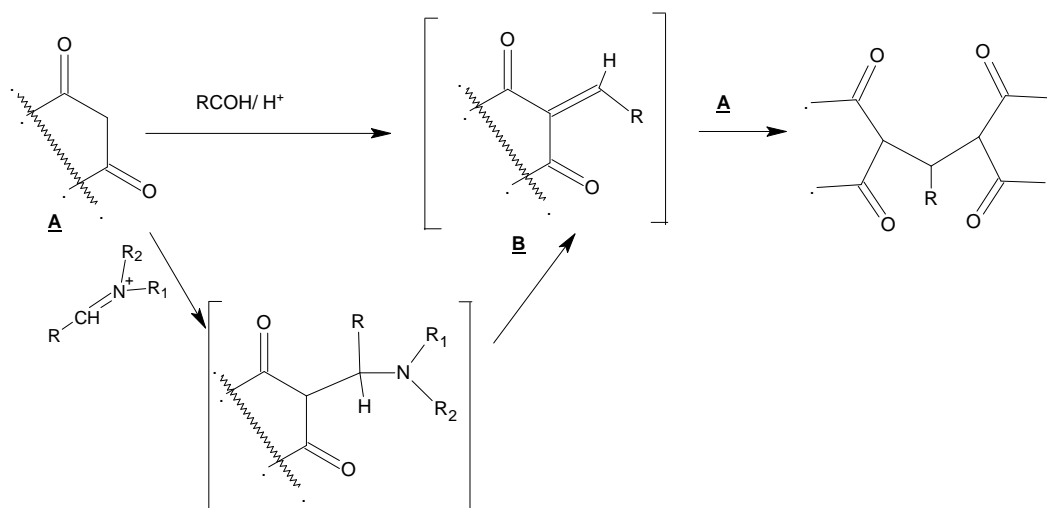
Une autre méthode a été signalée en littérature [43,44] pour la même synthèse, par chauffage de la 4-hydroxy-2-pyrone (TAL) avec l'orthoformiate d'éthyle soit dans le toluène en présence de pyridine ou pipéridine soit dans le benzène.



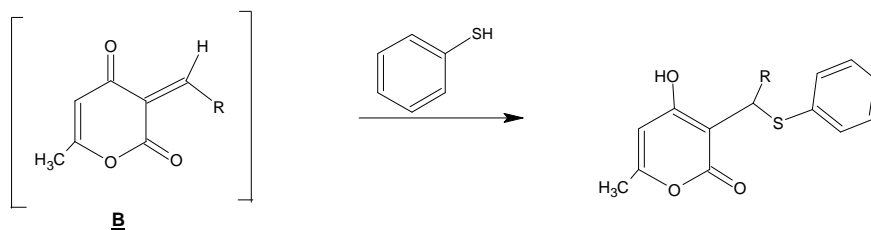
L'intérêt de ces composés a encouragé d'autres chercheurs [45] à synthétiser les dimères de la 4-hydroxy-6-méthyl-5,6-dihydro-2*H*-2-pyranone (DHTAL).



La réactivité chimique du site en  $\alpha$  des composés de la structure  $\beta$  dicarbylyle a été étudié en détail en littérature [45-47], ainsi ces derniers réagissent en présence d'une base en quantité catalytique pour conduire au même résultat.



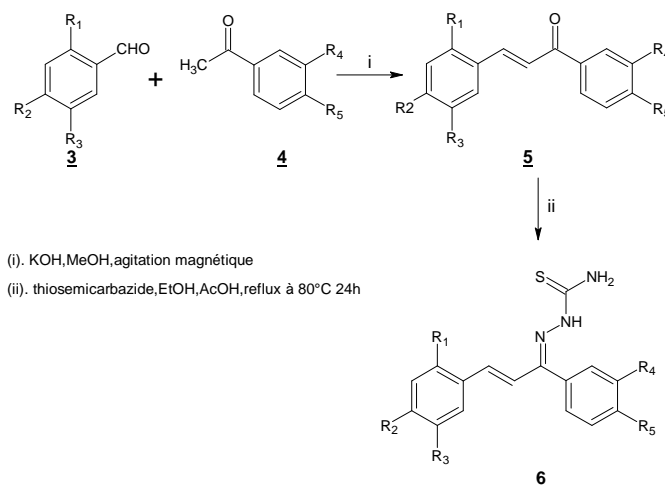
Nous signalons que les intermédiaires **B** n'ont jamais été isolés, par contre ils ont pu être piégés en présence du thiophénol [48-50].



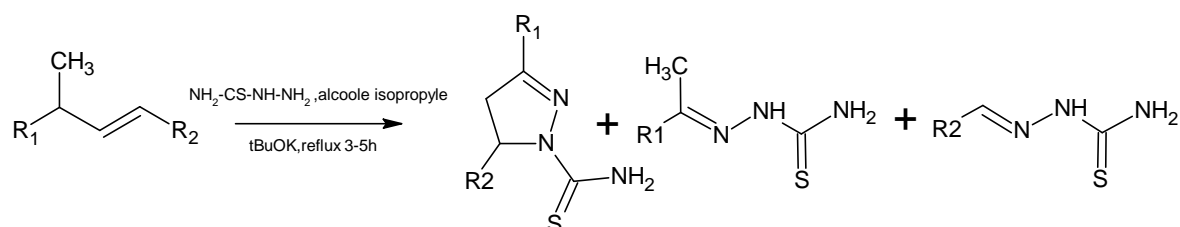
## I.2 Les thiosemicarbazides :

Les thiosemicarbazides sont des agents très utilisés en synthèse organique [51], on peut les considérer comme des dérivés de la thio-urée, où un atome d'hydrogène d'un groupe  $\text{NH}_2$  est substitué avec un groupe d'amine et un atome similaire d'un autre groupe d'amine est substitué par un groupe R [52]. Il est connu que les thiosemicarbazides sont efficaces en tant que composés bactéricides. Grâce à leurs fonctions chimiques tels que ( $\text{C}=\text{S}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NH}-$ , etc..) ces composés peuvent être également efficaces comme antioxydants dans la stabilisation des polymères contre l'oxydation thermique [53].

Une série de nouveaux dérivés de la thiosemicarbazide de chalcone **6** a été synthétisée, et l'activité biologique de ces composés a été également évaluée en tant que des inhibiteurs potentiels de la tyrosine kinase de L'EGFR (impliqué comme significatif dans le cancer). Ces dérivés sont obtenus par la condensation de la chalcone **5** avec la thiosemicarbazide [54].



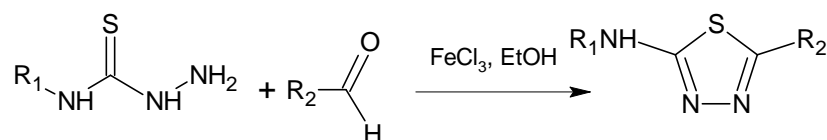
La thiosemicarbazide réagit avec les cétones  $\alpha$ - $\beta$  insaturées en présence du tBuOK dans l'alcool isopropylique anhydre pour conduire aux structures 4-5 dihydropyrazoles et thiosemicarbazones[55].



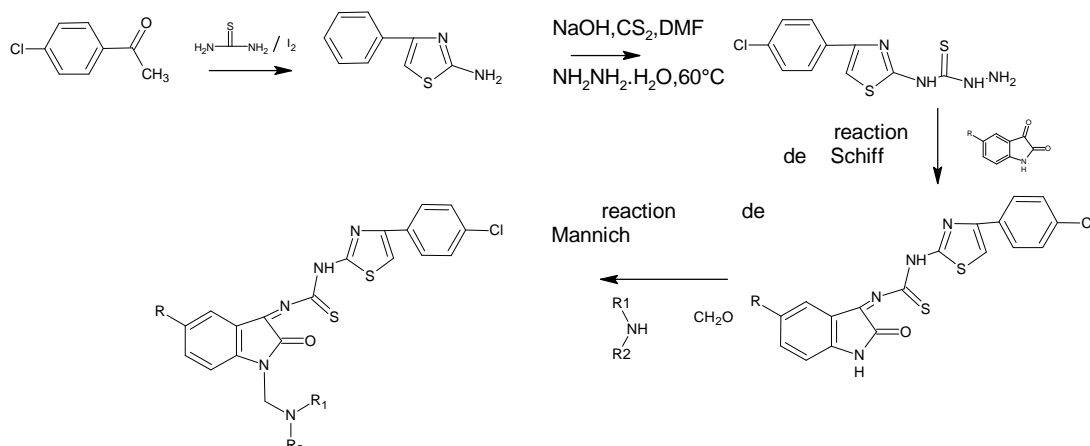
Une nouvelle stratégie de synthèse du 1, 3, 4 thiadiazoles sur support solide a été décrite. Le traitement de la thiosemicarbazide avec l'aldéhyde aboutit aux dérivés thiosemicarbazones. Les structures 1, 3, 4 thiadiazoles sont obtenues par cyclodéhydratation oxydative des intermédiaires, en présence du chlorure ferrique III [56].

Ces composés sont utilisés en médecine, en agriculture et dans certains axes de la technologie (Ils sont employés comme lubrifiants dans le matériel de photographie) [57-59].

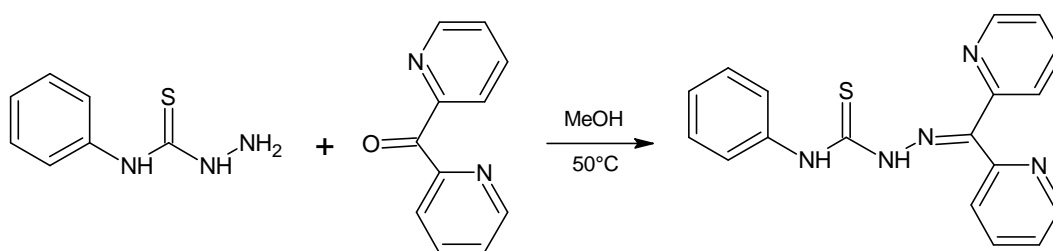
En médecine, le 1, 3, 4 thiadiazole est le noyau de base du médicament acétazolamide [60], utilisé dans le traitement d'épilepsie et agit sur l'équilibre circulatoire.



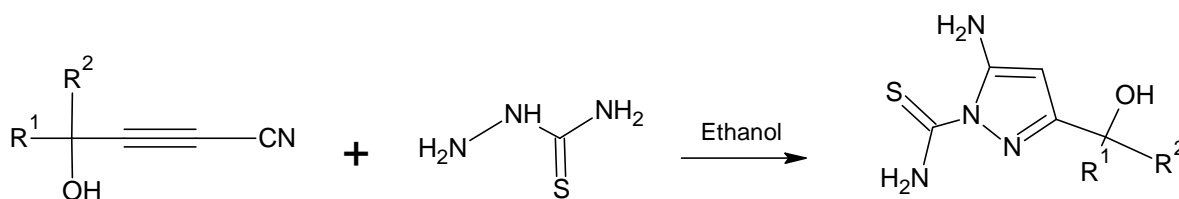
L'isatine (Indole-2,3-dione) réagit avec la N-[4-(4'-chlorophenyl)thiazole-2-yle] thiosemicarbazide pour former des bases de Schiff et des bases de Mannich. La condensation de ces bases avec le formaldéhyde et une amine secondaire conduit à des produits qui présentent des propriétés antibactériennes, antifongiques et anti HIV [61].



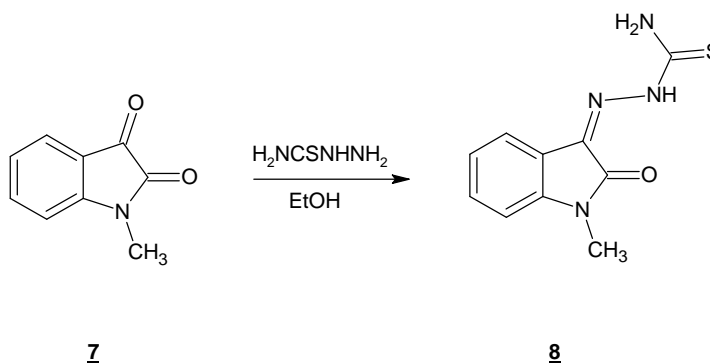
Durant les trois dernières décennies les thiosemicarbazones ont été considérés comme de très importants ligands [61-64]. Une série de la thiosemicarbazone est synthétisé par la condensation de di-2-pyridyl cétone avec la 4-phényl-3-thiosemicarbazide, cette réaction déplace la délocalisation de l'électron au long de la liaison azomethine. La présence de sites donneurs additionnels dans la partie cétonique comme il est bien le cas pour la cétone 2-pyridyl, offre de plus en plus les possibilités de coordination pour le ligand thiosemicarbazone [65].



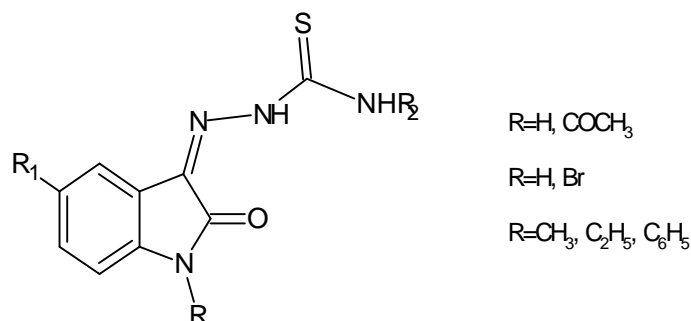
Les pyrazoles sont des composés qui suscitent une très grande attention dans l'industrie pharmaceutique [66], ainsi ils sont utilisés comme des anti-inflammables [67], antipyrétiques [68], antidépresseurs [69], anti-bactéries [70] et anti convulsant [71]. La synthèse régiosélective du 5-amino-3-hydroxyalkyl-1-aminothiocabonyl-pyrazoles (avec des rendement entre 53-91%) a été rapportée par la cyclisation du  $\alpha,\beta$ -acetylenique  $\gamma$ -hydroxy nitriles avec la thiosemicarbazide [72].



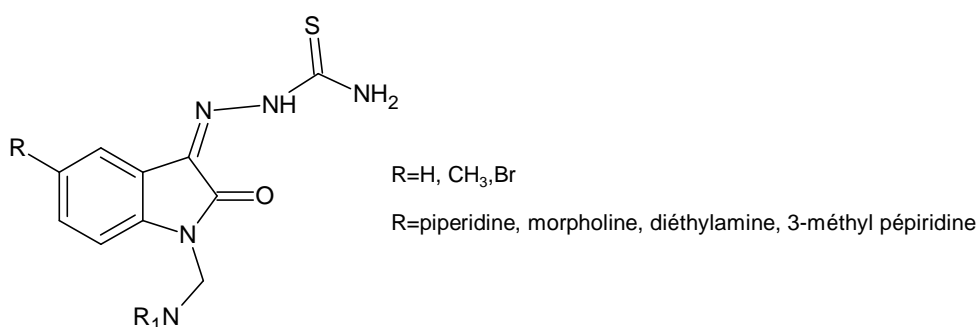
La condensation de la 1-méthylisatine **7** avec la thiosemicarbazide a été rapportée par Foye et Coll [73]. La methisazone **8** obtenue a été utilisé dans le traitement de la variole.



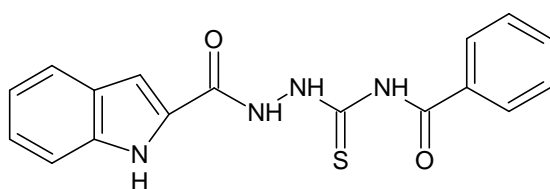
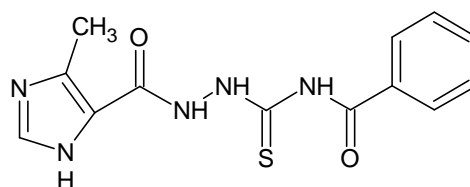
Karali et coll [74,75] ont préparé des dérivés de la 3-thiosemicarbazone indolinone à partir de la furfuryl dihydro triazole thione appropriées. Certains composés de cette série ont montré une activité anticonvulsivante.



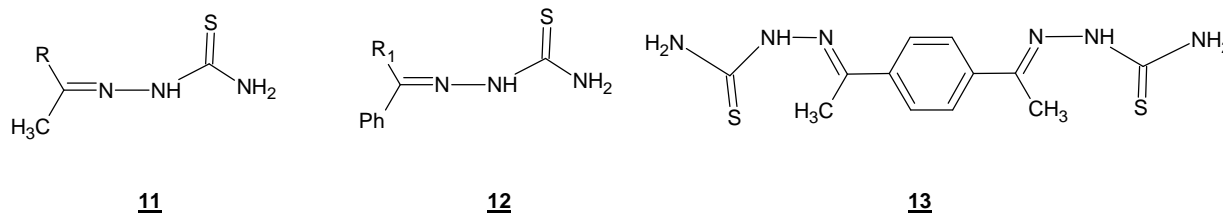
Varma et Nobles [76] ont montré que certains dérivés de la 3-thiosemicarbazone isatine, présentent des propriétés antivirales, antifongiques et antimicrobiennes.



Deux nouveaux composés 4-benzoyl-1-(indol-2-yl)-carbonylthiosemicarbazide **9** et 4-benzoyl-1-(4-méthyl-imidazole-5-yl)-carbonylthiosemicarbazide **10** représentent une nouvelle classe d'inhibiteurs des enzymes de type topoisomérase [77].

**9****10**

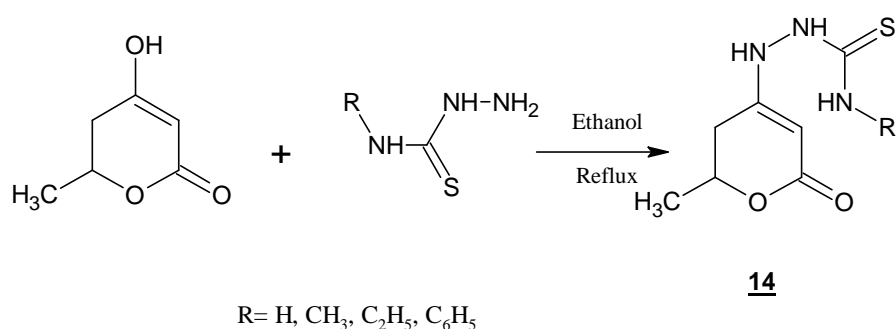
Une série de composés de 1 - (1-arylethylidene) thiosemicarbazide de structures **11**, **12** et **13** et leurs analogues montrent une activité inhibitrice contre la tyrosinase de champignon. Une étude sur ces composés, a montrée que le groupement actif interagir avec le centre de la tyrosinase est la thiosemicarbazido [78].



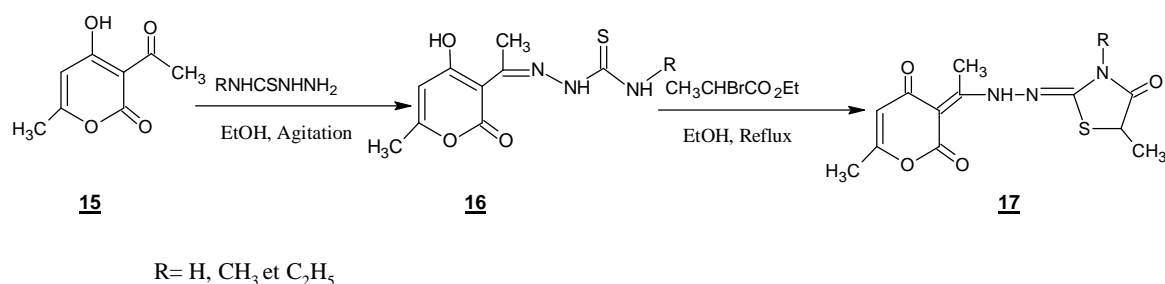
Une étude faite par Buu-hoi et Jouin à montrée que la thiourée et certains de ses dérivés tels que la thiosemicarbazide possèdent une action inhibitrice spécifique sur la croissance du bacille tuberculeux [79].

Par la suite, Domagk a introduit avec succès en thérapeutique antituberculeuse les thiosemicarbazones, produits de condensation de la thiosemicarbazide avec des aldéhydes ou des cétones, et depuis ces mêmes substances ont également été utilisées pour le traitement de la lèpre [79].

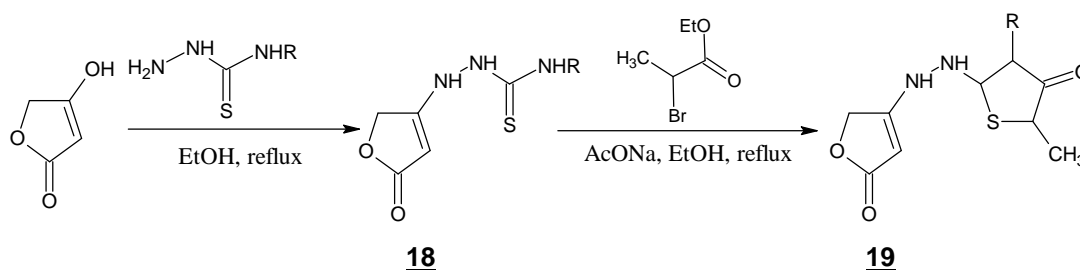
L'action de la thiosemicarbazide sur la 4-hydroxy, 6-méthyl, 5-6-dihydropyran-2-one conduit d'une façon spécifique à des dérivés de substitution du groupement OH en position 4, avec conservation du cycle pyronique. La réaction de condensation donnée ci dessous, a permis d'isoler les produits de structure **14**, avec un bon rendement [51].



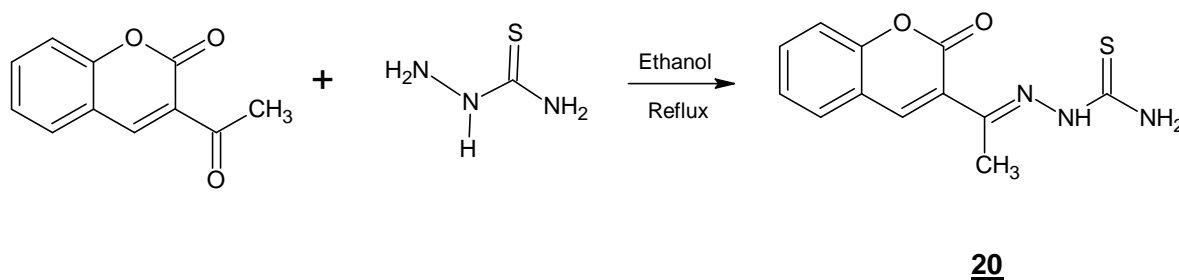
Les imines de structure **16** ont été obtenues par l'action du DHA **15** sur les dérivés de la thiosemicarbazide et leur condensation avec le 2-bromopropionate conduit à la structure thiazolidinone **17** [80].



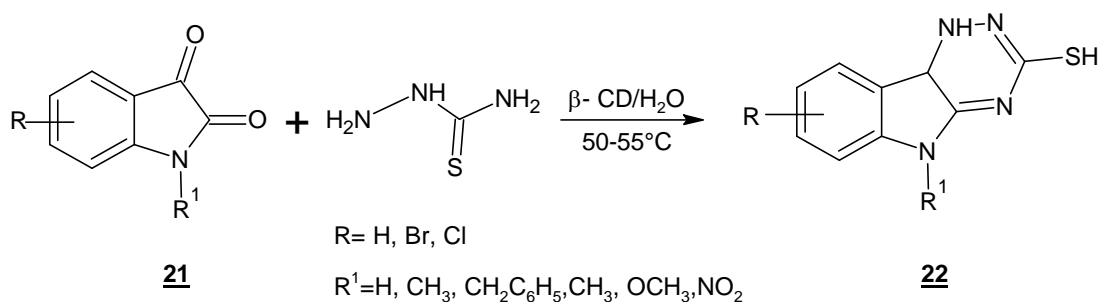
L'énaminone **18** synthétisée par condensation de l'acide tétronique avec les dérivés de la thiosemicarbazide dans l'éthanol à reflux, puis traitée par l'éthyl-2-bromopropionate en présence d'acétate de sodium et d'acide acétique comme catalyseur, fournit la structure thiazolidinone **19** [81].



La 3-acetylcoumarine thiosemicarbazone de structure **20** obtenue par action de la thiosemicarbazide sur la coumarine dans l'éthanol [82]. Ce composé a des propriétés biologiques intéressantes telles que antimicrobiennes [83] et antitumorales [84].



Les composés 5,9b-dihydro-1*H*-[1,2,4]triazino[5,6-*b*]indole-3-thiols de structures **22** ont été synthétisés pour la première fois en milieu aqueux dans des conditions neutres au départ de l'isatine **21** et la thiosemicarbazide en présence de la β-cyclodextrine comme catalyseur [85]. Ces composés et leurs analogues présentent des variétés d'activités biologiques et des applications médicales comme antimicrobiens [86-90], antivirale [91], antihypertenseur [91,92], inhibiteur d'agrégation plaquettaire du sang [92,93] et des activités analgésiques [94].



### Conclusion:

Dans ce chapitre l'ensemble des exemples présenté illustre bien l'ampleur de la recherche concernant les lactones qui sont de bons candidats pour des applications dans des réactions d'hétérocyclisation.

Cette chimie, largement développée dans notre laboratoire, a permis l'émergence de nouvelles méthodologies de synthèse conduisant à de nombreux motifs hétérocycliques polyfonctionnalisés.

Récemment notre équipe de recherche a judicieusement utilisé les lactones dans la conception de divers squelettes incorporant les motifs benzaldéhyde et thiosemicarbazide potentiellement bioactifs.

Sur la base de ces résultats et dans le prolongement de nos travaux, nous avons pensé étendre le champ d'application des lactones à de nouveaux composés à potentiel pharmacologique intéressant.

Dans cette optique, nous avons choisi de développer, au départ des précurseurs lactoniques, une nouvelle voie de synthèse pour accéder à des molécules hétérocyclique répondant aux structures dimère bis-acide tétronique ainsi que des imines-énaminones.

**Références bibliographiques**

- [1]- W. D. Kumler, *J. Am. Chem. Soc.*, **1938**, 60, 859.
- [2]- A. MALLINGER , Thèse de doctorat, UNIVERSITÉ PARIS SUD XI UFR SCIENTIFIQUE D'ORSAY , **2008**.
- [3]- A. L. Zografos, D. Georgiadis, *Synthesis*, **2006**, 3157.
- [4]- R. Schobert, A. Schlenk, *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 4203.
- [5]- F. Effenberger, J. Syed, *Tetrahedron: Asymmetry.*, **1998**, 9, 817.
- [6]- P. W. Clutterbuck, W. N. Haworth, H. Raistrick, G. Smith, M. Stacey, *Biochem. J.*, **1934**, 28, 94.
- [7]- R. Bentley, D. S. Bhate, J. G. Keil, *J. Biol. Chem.*, **1962**, 237, 859.
- [8]- B. E. Roggo, F. Petersen, R. Delmendo, H. B. Jenny, H. H. Peter, J. Roesel, *J. Antibiot.*, **1994**, 47, 136.
- [9]- B. E. Roggo, P. Hug, S. Moss, F. Raschdorf, H. H. Peter, *J. Antibiot.* **1994**, 47, 143.
- [10]- T. Hamaguchi, T. Sudo, H. Osada, *FEBS Lett*, **1995**, 372, 54.
- [11]- S. Shinagawa, M. Muroi, T. Ito, T. Hida, In JP 05043568, 1993.
- [12]- M. Sodeoka, R. Sampe, S. Kojima, Y. Baba, N. Morisaki, Y. Hashimoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **2001**, 49, 206.
- [13]- R. Schobert, C. Jagusch, *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 6129.
- [14]- D. Dias, J. M. White, S. Urban, *Nat. Prod. Res.*, **2007**, 21, 366.
- [15]- A. Kasuga, Y. Aoyagi, T. Sugahara, *J. Food Sci.*, **1995**, 60, 1113.
- [16]- R. G. Benedict, L. R. Brady, *J. Pharm. Sci.*, **1972**, 1820.
- [17]- F. R. Foden, J. McCormick, D. M. O'Mant, *J. Med. Chem.*, **1975**, 18, 199.
- [18]- U. Söderberg, *Acta Physiol. Scand.*, **1952**, 27, 97.
- [19]- J. Shoji, R. Sakazaki, T. Hattori, K. Matsumoto, N. Uotani, T. Yoshida, *J. Antibiot.*, **1989**, 42, 1729.
- [20]- Y. Terui, R. Sakazaki, J. Shoji, *J. Antibiot.*, **1990**, 43, 1245.
- [21]- W. Keller-Schierlein, R. Muntwyler, W. Pache, H. Zähler, *Helv. Chim. Acta.*, **1969**, 52, 127.
- [22]- R. Muntwyler, W. Keller-Schierlein, *Helv. Chim. Acta.*, **1972**, 55, 2071.
- [23]- M. Brufani, S. Cerrini, W. Fedeli, F. Mazza, R. Muntwyler, *Helv. Chim. Acta.*, **1972**, 55, 2094.
- [24]- P. W. Schindler, H. Zahner, *Arch. Mikrobiol.*, **1972**, 82, 66.

- [25]- P. W. Schindler, M. C. Scrutton, *Eur. J. Biochem.*, **1975**, 55, 543.
- [26]- P. W. Schindler, *Eur. J. Biochem.*, **1975**, 51, 579.
- [27]- R. Hänsel, A. Pelter, *Phytochemistry*, **1971**, 10, 1627.
- [28]- R. Haensel, J. Schulz, A. Pelter, M. T. Ayoub, *Z. Naturforsch.*, **1979**, 34, 1576.
- [29]- A. Pelter, R. Ai-Bayati, R. Hansel, H. Dinter, B. Burke, *Tetrahedron Lett*, **1981**, 22, 1545.
- [30]- Y. Liu, J. Hong, C. O. Lee, K. S. Im, N. D. Kim, J. S. Choi, J. H. Jung, *J. Nat. Prod.*, **2002**, 65, 1307.
- [31]- V. Escrig, A. Ubeda, M. L. Ferrandiz, J. Darias, J. M. Sanchez, M. J. Alcaraz, M. Paya, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1997**, 282, 123.
- [32]- H.-F. Wong, G. D. Brown, *Phytochemistry*, **2002**, 59, 99.
- [33]- T. Kusumi, A. Ichikawa, H. Kakisawa, M. Tsunakawa, M. Konishi, T. Oki, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 8947.
- [34]- M. Tsunakawa, O. Tenmyo, K. Tomita, N. Naruse, C. Kotake, T. Miyaki, M. Konishi, T. Oki, *J. Antibiot.*, **1992**, 45, 180.
- [35]- A. Tanabe-Tochikura, H. Nakashima, T. Murakami, O. Tenmyo, T. Oki, N. Yamamoto, *Antiviral Chem. Chemother.*, **1992**, 3, 345.
- [36]- T. Nakashima, M. Miura, M. Hara, *Cancer Res*, **2000**, 60, 1229.
- [37]- T. Hara, M. Omura-Minamisawa, C. Chao, Y. Nakagami, M. Ito, T. Inoue, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **2005**, 61, 517.
- [38]- G. Erkel, J. Rether, T. Anke and J. Sterner, *J. Antibiot.*, **2003**, 56, 337.
- [39]- Dictionnaire de médecine (Flammarion) Flammarion et Cié, éditeurs n° 9(215) 2° trimestre 1975 p227
- [40]- G. P. McGlacken, I. J. S. Fairlamb, *Nat. Prod. Rep.*, **2005**, 22, 369.
- [41]- Z. Procharzka, L. Labler, Kanhanser, F. Jancik., *Bull. Soc. Chem. Fr.*, **1949**, 626.
- [42]- P. De March, M. Moréno-Manas, *J. Heterocyclic. Chem.*, **1986**, 23, 413.
- [43]- B. Boutemeur-Kheddis, Thèse d'Etat, USTHB, **2001**.
- [44]- B. Hirsch, N. Hoefgen, Ger(East ) DD218,893(QC07D407/06/,20Feb.1985.Appl. 255, 417, 05 Oct. **1983**; Chem. Abstr, 103, 123354 W (**1985**).
- [45]- Y. Rachedi, Thèse d'Etat, USTHB.
- [46]- R. William, K. P. Hunk., *J. Chem. Soc.*, **1943**, 65, 2288.

- [47]- M. E. H. Pazdro., *Acta. Polan. Pharm.*, **1988**, 8, 13.
- [48]- E. Knoevenagel, Ber, **1904**, 37,4461.
- [49]- P. De March, M. Moréno-Manas, R. Pi, A. Truis, *J. Heterocyclic. Chem.*, **1982**, 19, 335.
- [50]- P. De March, M. Moréno-Manas, J. Cazado, R. Pleixats, J. L. Roca, A. Truis, *J. Heterocyclic. Chem*, **1984**, 21, 85.
- [51]- M.S. El-Gaby, J.A. Micky, N.M. Taha, M.A.M. El-Sharief, *J. Chin. Chem. Soc.*,2002,49, 407.
- [52]- R. Setnescu, C. Barcuteanc, S. Jipa, T. Setnescu, M. Negoiu, I. Mihalcea, M. Dumitru, T. Zaharescu; *Polym. Degrd. Stab.*, **2004**, 85 ,997.
- [53]- Sabaa MW, Abdel-Naby AS,*Polym. Degrad. Stab.*, **1999**, 64, 185.
- [54]- H. J. Zhang, Y. Qian, D. Zhu, X. Yang, H. L. Zhu, *Europ. Journ. Med. Chem.*, **2011**, 46 4702.
- [55]- T. Klimova , E.I. Klimova , M. Martinez Garcı, *J.M. Mendez Stivalet* , L. Ruiz Ramirez , *Jour. Organom. Chem.*, **2001**, 633, 137.
- [56]- J. P. Kilburn, J. Lau, R. C. F. Jones, *Tetrahedron Letters.*, **2003**, 44,7825.
- [57]- Y. J. Gao, Z. J. Zhang, Q. J. Xue, *Mater. Res. Bull.*, **1999**,34,1867.
- [58]- U. S. Choi, T. W. Kim, S. W. Jung, C. J. Kim, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **1998** ,19, 299.
- [59]- S. L. Chen, S. X. Ji, Z. H. Zhu, Z. G. Yao, *Dyes Pigm*, **1993**, 23, 275.
- [60]- C. T. Supuran, B. W. Clare, *Eur. J. Med. Chem.*, **1999**, 34, 41.
- [61]- S.N. Pandeya, D. Srirama, G. Nath, E. DeClercq, *Eur. J. Phar. Sc.*, **1999**,9, 25 .
- [62]- A. Sreekanth, H. K. Fun, M.R.P. Kurup, *Inorg. Chem. Commun.*, **2004**, 7, 1250.
- [63]- M. Joseph, V. Suni, M.R.P. Kurup, M. Nethaji, A. Kishore, S.G. Bhat, *Polyhedron*, **2004**,23 ,3069.
- [64]- M. Joseph, V. Suni, C.R. Nayar, M.R.P. Kurup, H.K. Fun, *J. Mol. Struct.* ,**2004**,705, 63.
- [65]- A. Sreekanth, M.R.P. Kurup, *Polyhedron*, **2003**, 22 ,3321.
- [66]- H. Beraldo, W.F. Nacif, L.R. Teixeira, J.S. Reboucas, *Transition Met. Chem.*, **2002**, 27 85.
- [67]- J.S. Casas, A. Castineiras, M.C. Rodriguez-Arguelles, A. Sanchez,J. Sordo, A. Vazquez-Lopez, E.M. Vazquez-Lopez, *J. Chem. Soc.*, **2000**, 2267.
- [68]- P. Bindu, M.R.P. Kurup, T.R. Satyakeerthy, *Polyhedron* , **1999**, 18 ,321.
- [69]- B.S. Garg, M.R.P. Kurup, S.K. Jain, Y.K. Bhoon, *Synth. React. Inorg. Met. Org. Chem.* **1998**, 28 ,1415.
- [70]- J.R. Dilworth, J.S. Lewis, J.R. Miller, Y. Zheng, *J. Chem. Soc.*, **1995**, 1357.

- [71]- B.S. Garg, M.R.P. Kurup, S.K. Jain, Y.K. Bhoon, *Transition Met. Chem.*, **1991**, 16, 111.
- [72]- B.S. Garg, M.R.P. Kurup, S.K. Jain, Y.K. Bhoon, *Transition Met. Chem.*, **1988**, 13, 247.
- [73]- D.L. Klayman, J.P. Scovill, J.F. Bartosevich, J. Bruce, *J. Med. Chem.*, **1983**, 26, 39.
- [74]- D.H. Petering, *Bioinorg. Chem.* **1972**, 1, 255.
- [75]- V. Suni , M.R. Prathapachandra Kurup , M. Nethaji , *Spectrochimica Acta Part A* ,**2006**, 63, 174 .
- [76]- (a)- J. Elguero, P. Goya, N. Jagerovic, A. M. S. Silva, *Targets Heterocycl. Syst.*, **2002**, 6, 52.
- (b)- X. Deng, N. S. Mani, *Org. Lett.*, **2006**, 8, 3505.
- (c)- P. Singh, K. Paul, W. Holzer, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 5061.
- [77]- (a)-M. V. Patel, R. Bell, S. Majest, R. Henry, T. Kolasa, *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 7058.
- (b)- H. Suleyman, M. E. Buyukokuroglu, *Biol. Pharm. Bull.*, **2001**, 24, 1133.
- (c)-A. Balbi, M. Anzaldi, M. Mazzei, M. Miele, M. Bertolotto, L. Ottonello, F. Dallegri, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 5152.
- [78]- E. Shchegol'kov, O. Khudina, L. Anikina, Ya. Burgart, V. Saloutin, *Pharm. Chem. J.*, **2006**, 40, 373.
- [79]- Bailey, D. M. Hansen, P. E. Hlavac, A. G. Baizman, E. R. Pearl, J. Defelice, A. F. Feigenson, *M. E. J. Med. Chem.* **1985**, 28, 256.
- [80]- Z. Dardari, M. Lemrani, A. Sebban, A. Bahloul, M. Hassar, S. Kitane, M. Berrada, M. Boudouma, *Arch. Pharm.* **2006**, 339, 291.
- [81]- Chauhan, P. M. S. Singh, S. Chatterjee, *Indian J. Chem.*, **1993**, 32, 858.
- [82]- B. A. Trofimov , A. G. Malkina , A. P. Borisova , V. V. Nosyreva , O.A. Shemyakina, O. N. Kazheva , G. V. Shilov , O. A. Dyachenko ; *Tetrahedron Letters*, **2008**, 49 ,3104.
- [83]- W.O. Foye, T.L. Lemke, D.A. Williams, *Princip. Med. Chem.*, **1995**, 4, 856.
- [84]- N. Karali, A. Gursoy, *Farmaco.*, **1994**, 49, 819.
- [85]- N. Karali, G. Capan, *C. N. Ergen, Sci. Pharm.*, **1997**, 65, 277.
- [86]- R. S. Varma, W. L. Nobles, *J. Med. Chem.*, **1967**, 10, 510.
- [87]- A. Siwek, P. S. czek, J. S. \_nska, *Eur. Jour. Med. Chem.*, **2011**, 46, 5717.
- [88]- J. Liu, W. Yi, Y. Wan, L. Ma, H. Song ; *Bioor. Med. Chem.*, **2008**, 16 ,1096.
- [89]- D. Q. Cuong, « Thèse Doctorat d'Etat », **1962**, l'Université de Paris.
- [90]- L. Salhi, « Thèse Magistère », **2011**, Université (USTHB) d'Alger
- [91]- S. Bouzroua, Y. Bentarzi, R. Kaoua, B. Nedjar-Kolli, S. Poulain-Martini, E. Dunach, *Org. Commun.*, **2010**, 3, 8.
- [92]- P. Kapoor, N. Fahmi, R.V. Singh ,*Spect. Acta. Part A.*, **2011**, 83, 74.

[93]- S. Budagumpi, U.N. Shetti, N.V. Kulkarni, V.K.S. Revankar, *J. Coord. Chem.*, **2009**,62  
3961.

[94]- M. Wang, L.F. Wang, Y.Z. Li, Q.X. Li, Z.D. Xu, D.M. Qu, *Trans. Met. Chem.*, **2001**,26  
307.

**CHAPITRE II**

**RESULTATS ET DISCUSSION**

## II.1 Synthèse de nouvelles structures dimer de l'acide tétronique :

La méthode que nous avons utilisé pour préparer les dimères de l'acide tétronique consiste à faire réagir deux moles de ce dernier avec une mole de l'aldéhyde dans l'éthanol en présence de l'acide acétique et la pipéridine en quantité catalytique. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante et suivie par chromatographie sur couche mince (CCM). Le temps de réaction dépend essentiellement de la nature de l'aldéhyde utilisé. Une fois la réaction terminée et la solution traitée on récupère un précipité blanc.

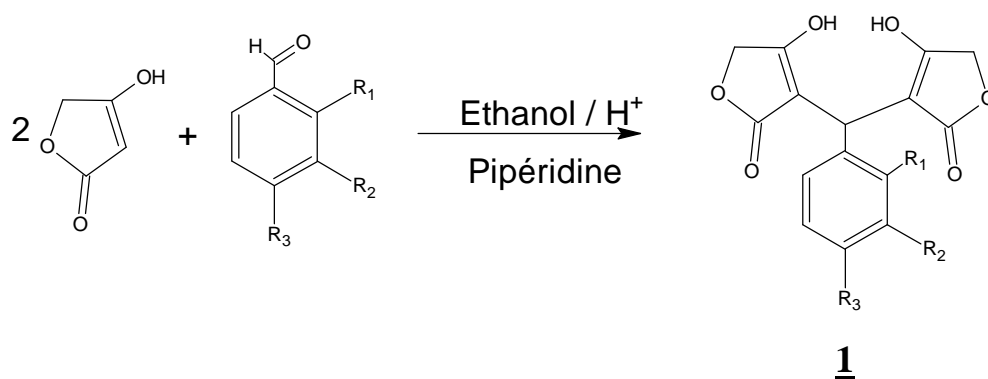


Schéma II.1 : Réaction d'obtention des composés **1**

Tous les dérivés **1** ont été soumis à une étude spectroscopique détaillée. Dans le tableau suivant (Tableau II.1), nous résumons toutes les données physiques des composés **1**.

Tableau II.1 : Caractéristiques physiques des composés **1**

Composé <b>1</b>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	T (h)	R (%)	P.F (°C)
<b>1a</b>	H	H	H	5	62	152
<b>1b</b>	H	H	CH <sub>3</sub>	4	70	165
<b>1c</b>	H	H	NO <sub>2</sub>	7	50	200
<b>1d</b>	H	H	Cl	4	65	175
<b>1e</b>	H	Cl	H	6	55	180
<b>1f</b>	Cl	H	H	3	75	190
<b>1g</b>	OCH <sub>3</sub>	H	H	24	50	195
<b>1h</b>	NO <sub>2</sub>	H	H	24	55	210

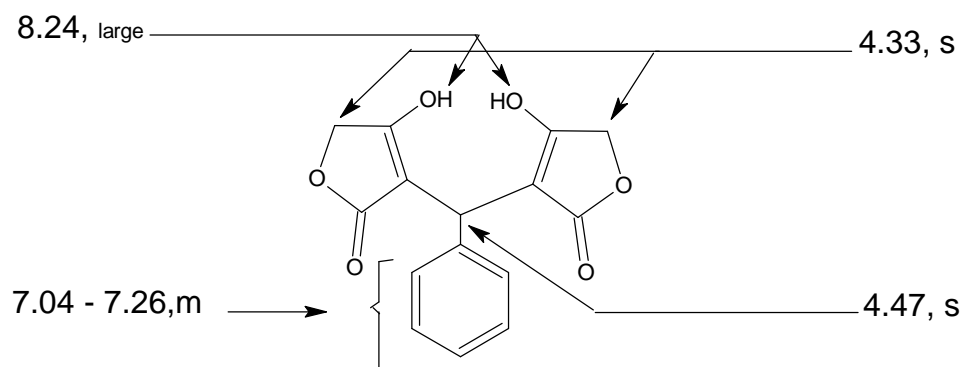
## II.1.1 Analyse spectroscopique :

### II.1.1.1 RMN $^1\text{H}$

L'examen du spectre de RMN  $^1\text{H}$  dans  $\text{CDCl}_3$  à 200MHz du composé **1a** indique :

- La disparition du signal attribuable au proton en position 3 de l'acide tetronique
- L'apparition d'un multiplié au environ de 7 ppm attribuable aux protons aromatiques( $\text{C}_6\text{H}_n$ ).
- On remarque un signal l'intensité 4 protons au environ de 4.33 ppm attribuable au deux  $\text{CH}_2$  de l'acide tetronique.

Nous donnons à titre d'exemple dans le schéma suivant (schéma II.2) les différents déplacements chimiques du dérivé **1a**.

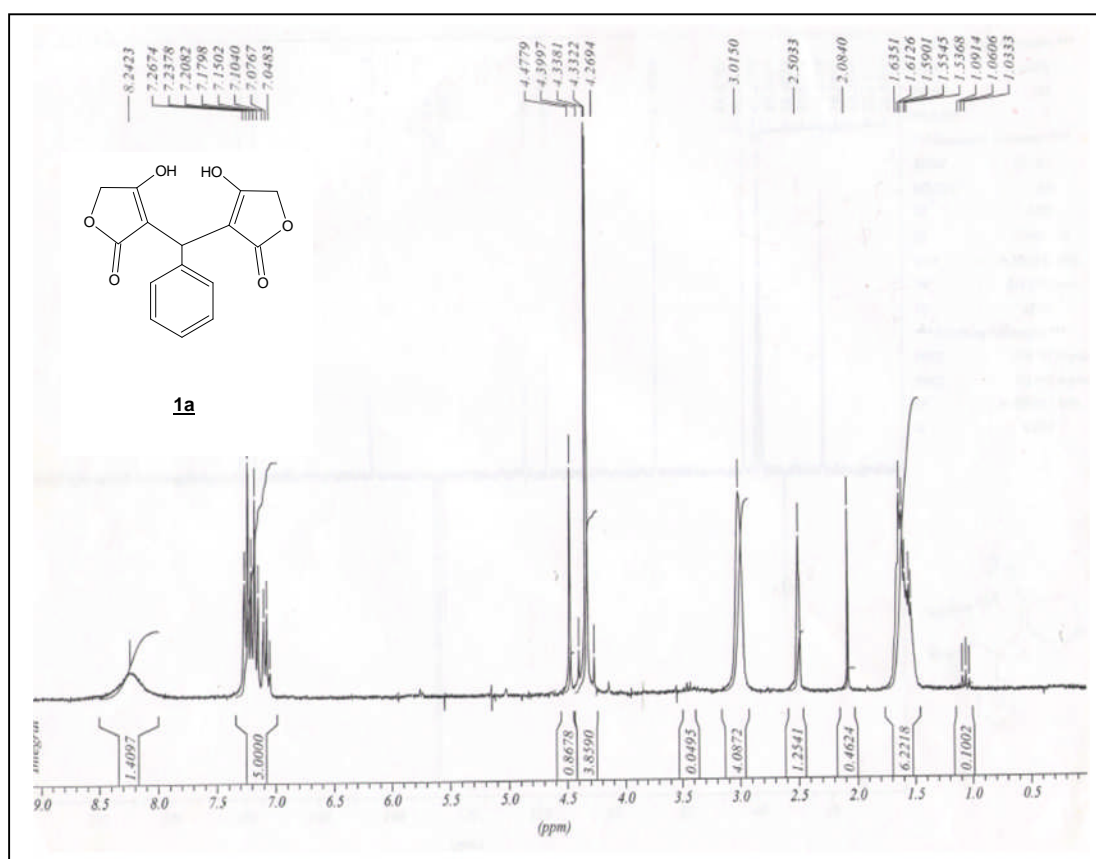


**Schéma II.2**

Les données des spectres des autres dérivés confirment dans leur ensemble la structure du composé **1** proposé.

**Tableau II.2 : Données de RMN  $^1\text{H}$ :  $\delta$  (ppm) ( $\text{CDCl}_3$  /TMS).**

Composé 1	RMN $^1\text{H}$ : $\delta$ (ppm) ( $\text{CDCl}_3$ /TMS)
<b>1a</b>	4.33(s, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 4.47(s, 2H, 2CH), 7.04-7.26(m, 5H, arom), 8.24(s, 2H, 2 OH).
<b>1b</b>	2.25(s, 3H, $\text{CH}_3$ ), 4.50(s, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 4.40(s, 2H, 2CH), 7.00-7.23(m, 4H, arom), 8.50(s, 2H, 2 OH).
<b>1c</b>	4.48(s, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 4.55(s, 2H, 2CH), 7.25-8.08(m, 4H, arom), 8.40(s, 2H, 2 OH).
<b>1d</b>	4.41(s, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 4.49(s, 2H, 2CH), 7.09-7.49(m, 4H, arom), 8.40(s, 2H, 2 OH).
<b>1e</b>	4.40(s, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 4.50(s, 2H, 2CH), 7.04-7.79(m, 4H, arom), 8.60(s, 2H, 2 OH).
<b>1f</b>	4.43(s, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 4.68(s, 2H, 2CH), 7.04-7.88(m, 4H, arom), 8.8(s, 2H, 2 OH).
<b>1g</b>	4.43(s, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 4.50(s, 2H, 2CH), 6.75-7.20(m, 4H, arom), 8.24(s, 2H, 2 OH).
<b>1h</b>	3.70(s, 3H, $\text{OCH}_3$ ), 4.32(s, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 4.98(s, 2H, 2CH), 7.32-7.75(m, 4H, arom), 8.22(s, 2H, 2 OH).


**Figure 1 : spectre RMN  $^1\text{H}$  (DMSO) du dérivé **1a****

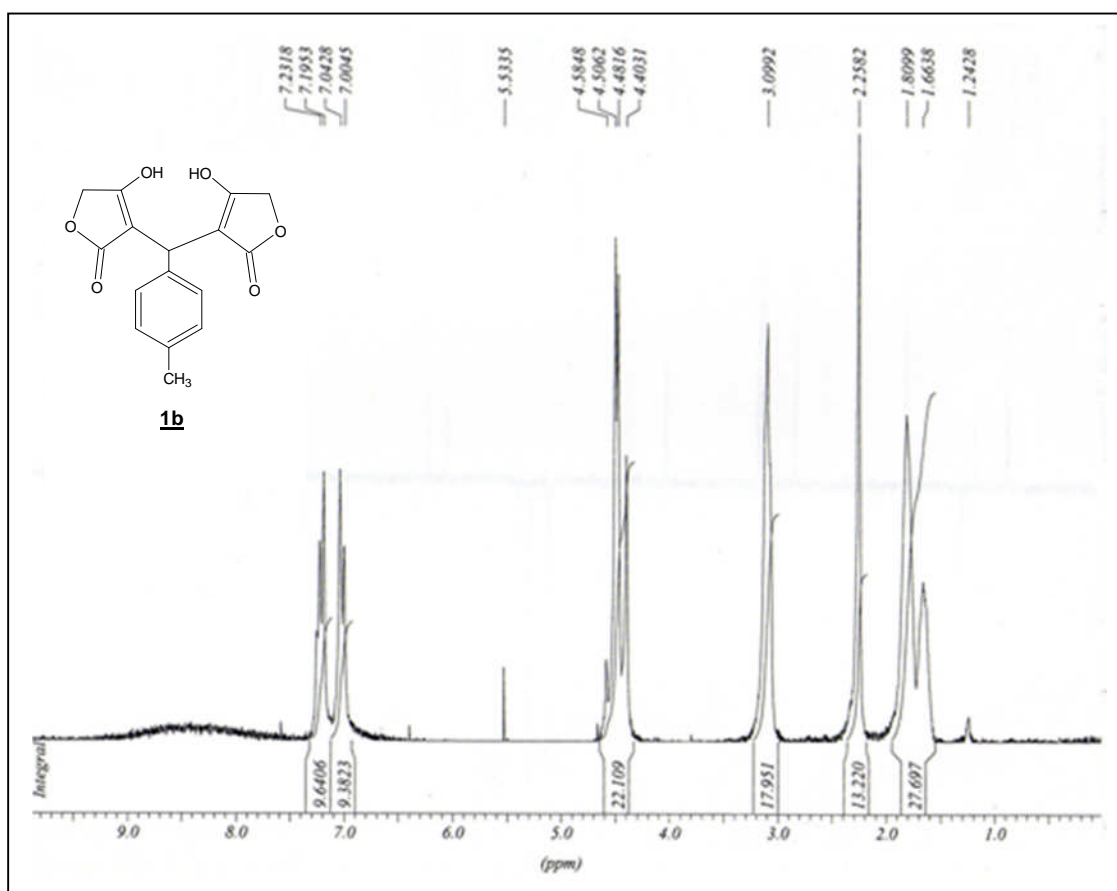


Figure 2 : spectre RMN  $^1\text{H}$  (DMSO) du dérivé **1b**

### II.1.1.2 RMN $^{13}\text{C}$ :

En RMN  $^{13}\text{C}$ , les différents déplacements chimiques relatifs à chaque atome de carbone du composé **1a** sont donnés par le (schéma II.3) suivant :

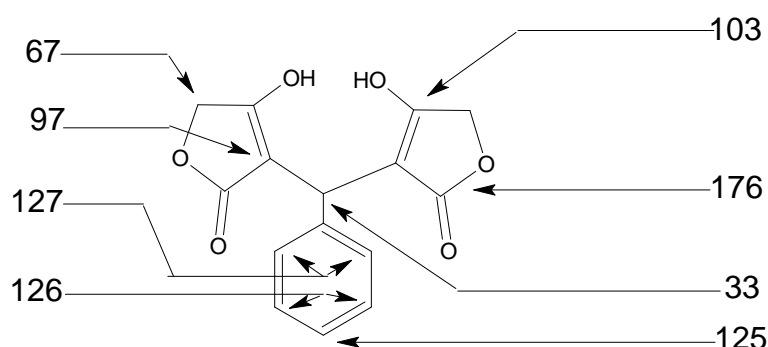


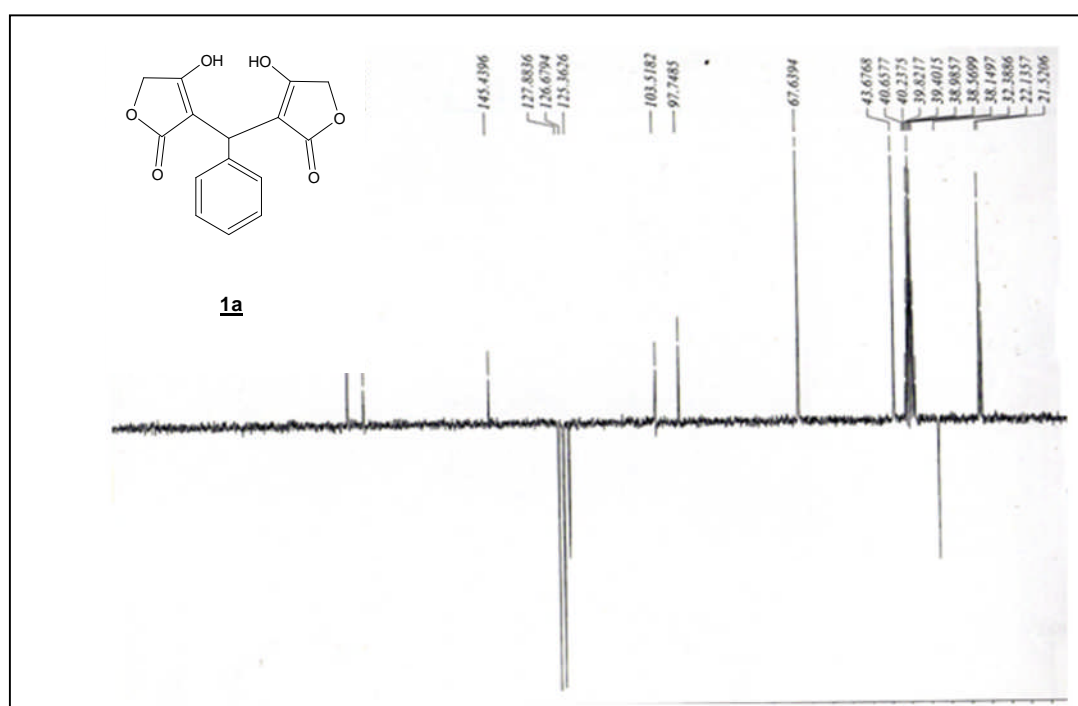
Schéma II.3

On remarque particulièrement l'apparition des pics aux environs de 126 ppm compatible avec les CH aromatiques.

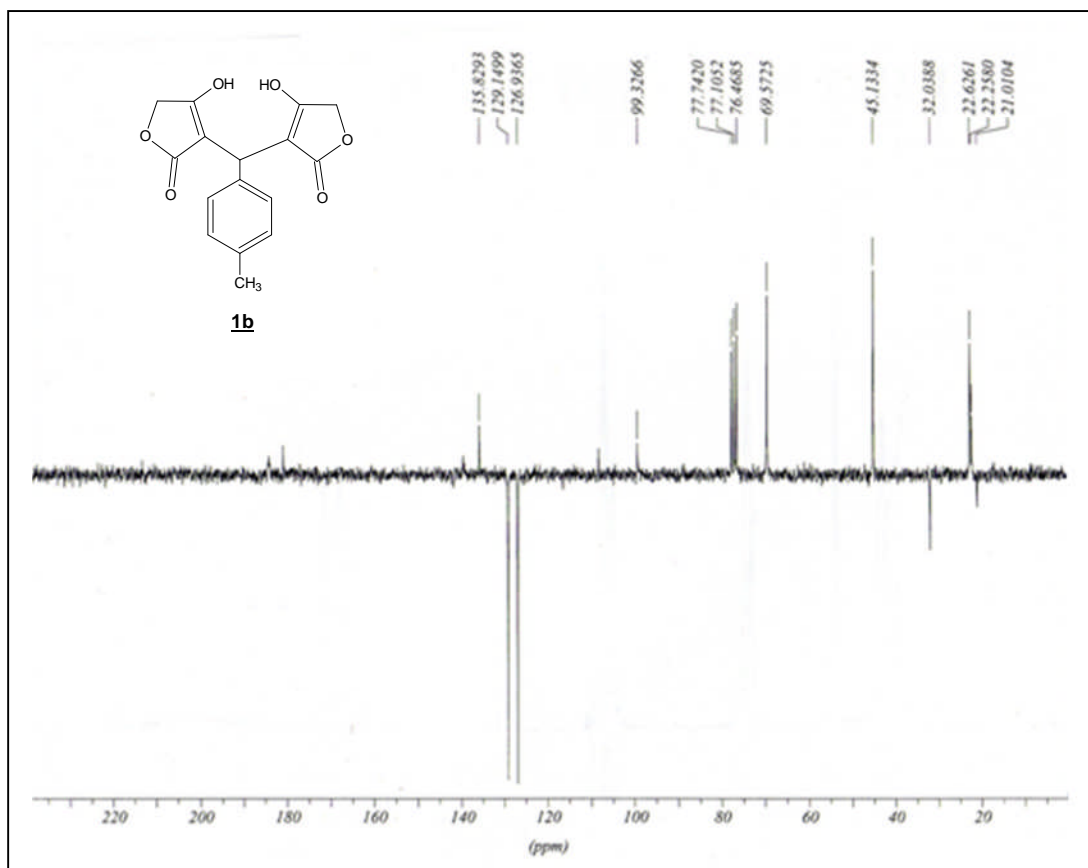
Nous reportons dans le tableau **II.3** les déplacements chimiques  $\delta$  (ppm) des différents carbones de la structure **1**.

**Tableau II.3: Données de RMN  $^{13}\text{C}$ :  $\delta$  (ppm) ( $\text{CDCl}_3$  /TMS).**

Composé <b>1</b>	RMN $^{13}\text{C}$ : $\delta$ (ppm) ( $\text{CDCl}_3$ /TMS)
<b>1a</b>	( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 33, $\underline{\text{CH}}$ ; 67, $\underline{\text{CH}_2}$ ; 97, $\underline{\text{C-C=O}}$ ; 103, $\underline{\text{C-OH}}$ ; 125, $\underline{\text{CH}}$ (arom p); 126, $\underline{\text{CH}}$ (arom m,m'); 127, $\underline{\text{CH}}$ (arom o,o'); 145, $\underline{\text{C-C-H}}$ ; 176, $\underline{\text{C=O}}$ .
<b>1b</b>	( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 22, $\underline{\text{CH}_3}$ ; 32, $\underline{\text{CH}}$ ; 69, $\underline{\text{CH}_2}$ ; 76, $\underline{\text{C-C=O}}$ ; 99, $\underline{\text{C-OH}}$ ; 126, $\underline{\text{CH}}$ (aroma m); 129, $\underline{\text{CH}}$ (aroma o); 135, $\underline{\text{CH}}$ (aroma p); 180, $\underline{\text{C=O}}$ .
<b>1c</b>	( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 32, $\underline{\text{CH}}$ ; 69, $\underline{\text{CH}_2}$ ; 76, $\underline{\text{C-C=O}}$ ; 98, $\underline{\text{C-OH}}$ ; 123, $\underline{\text{CH}}$ (aroma o,o'); 124, $\underline{\text{CH}}$ (aroma m,m'); 146, $\underline{\text{CH}}$ (aroma p); 150, $\underline{\text{C-C-H}}$ ; 180, $\underline{\text{C=O}}$ .
<b>1d</b>	( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 31, $\underline{\text{CH}}$ ; 69, $\underline{\text{CH}_2}$ ; 76, $\underline{\text{C-C=O}}$ ; 98, $\underline{\text{C-OH}}$ ; 128, $\underline{\text{CH}}$ (aroma m,m'); 129, $\underline{\text{CH}}$ (aroma o,o'); 137, $\underline{\text{CH}}$ (aroma p); 141, $\underline{\text{C-C-H}}$ ; 180, $\underline{\text{C=O}}$ .
<b>1e</b>	( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 32, $\underline{\text{CH}}$ ; 69, $\underline{\text{CH}_2}$ ; 76, $\underline{\text{C-C=O}}$ ; 98, $\underline{\text{C-OH}}$ ; 123, $\underline{\text{CH}}$ (aroma p); 124, $\underline{\text{CH}}$ (aroma o'); 125, $\underline{\text{CH}}$ (aroma o); 126, $\underline{\text{CH}}$ (aroma m'); 134, $\underline{\text{CH}}$ (aroma m); 141, $\underline{\text{C-C-H}}$ ; 179, $\underline{\text{C=O}}$ .
<b>1f</b>	( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 30, $\underline{\text{CH}}$ ; 69, $\underline{\text{CH}_2}$ ; 76, $\underline{\text{C-C=O}}$ ; 98, $\underline{\text{C-OH}}$ ; 126, $\underline{\text{CH}}$ (aroma m'); 127, $\underline{\text{CH}}$ (aroma p); 128, $\underline{\text{CH}}$ (aroma m); 129, $\underline{\text{CH}}$ (aroma o'); 132, $\underline{\text{CH}}$ (aroma o); 179, $\underline{\text{C=O}}$ .
<b>1g</b>	( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 22, $\underline{\text{CH}_3}$ ; 26, $\underline{\text{CH}}$ ; 69, $\underline{\text{CH}_2}$ ; 76, $\underline{\text{C-C=O}}$ ; 99, $\underline{\text{C-OH}}$ ; 127, $\underline{\text{CH}}$ (aroma m); 128, $\underline{\text{CH}}$ (aroma m'); 129, $\underline{\text{CH}}$ (aroma p); 130, $\underline{\text{CH}}$ (aroma o'); 136, $\underline{\text{CH}}$ (aroma o); 156, $\underline{\text{C-C-H}}$ ; 180, $\underline{\text{C=O}}$ .
<b>1h</b>	( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 27, $\underline{\text{CH}}$ ; 67, $\underline{\text{CH}_2}$ ; 76, $\underline{\text{C-C=O}}$ ; 97, $\underline{\text{C-OH}}$ ; 123, $\underline{\text{CH}}$ (aroma m); 126, $\underline{\text{CH}}$ (aroma p); 129, $\underline{\text{CH}}$ (aroma m'); 131, $\underline{\text{CH}}$ (aroma o'); 137, $\underline{\text{CH}}$ (aroma o); 180, $\underline{\text{C=O}}$ .



**Figure 3:** spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO) du dérivé **1a**



**Figure 4** : spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO) du dérivé **1b**

### II.1.1.3 Spectrométrie de masse :

L'étude par spectrométrie de masse des composés **1** indique pour chaque produit la masse de l'ion moléculaire. Nous avons examiné les spectres des produits afin d'élucider leurs principales voies de décomposition. Ainsi, dans le cas de tous les dérivés on observe le pic de l'ion moléculaire correspondant à la formule globale attendue.

Bien que le profil d'intensité des ions varie d'un dérivé à un autre, les modes de fragmentation observés sur les différents spectres sont pratiquement les mêmes.

On remarque que la fragmentation des ions moléculaires se fait selon deux voies principales (Schéma II.4) :

- La première voie se caractérise par la perte d'une molécule d'eau suivie d'un radical  $\text{H}\cdot$ .
- la deuxième voie s'entame par la perte d'une molécule d'acide tétronique suivie par une molécule de formaldéhyde puis d'une double décarboxylation, conduisant à l'ion radical benzénique ( $m/z = 76$ ) après élimination de deux fragments radicaux ( $\text{C}_2\text{H}\cdot$ ,  $\text{R}\cdot$ ).

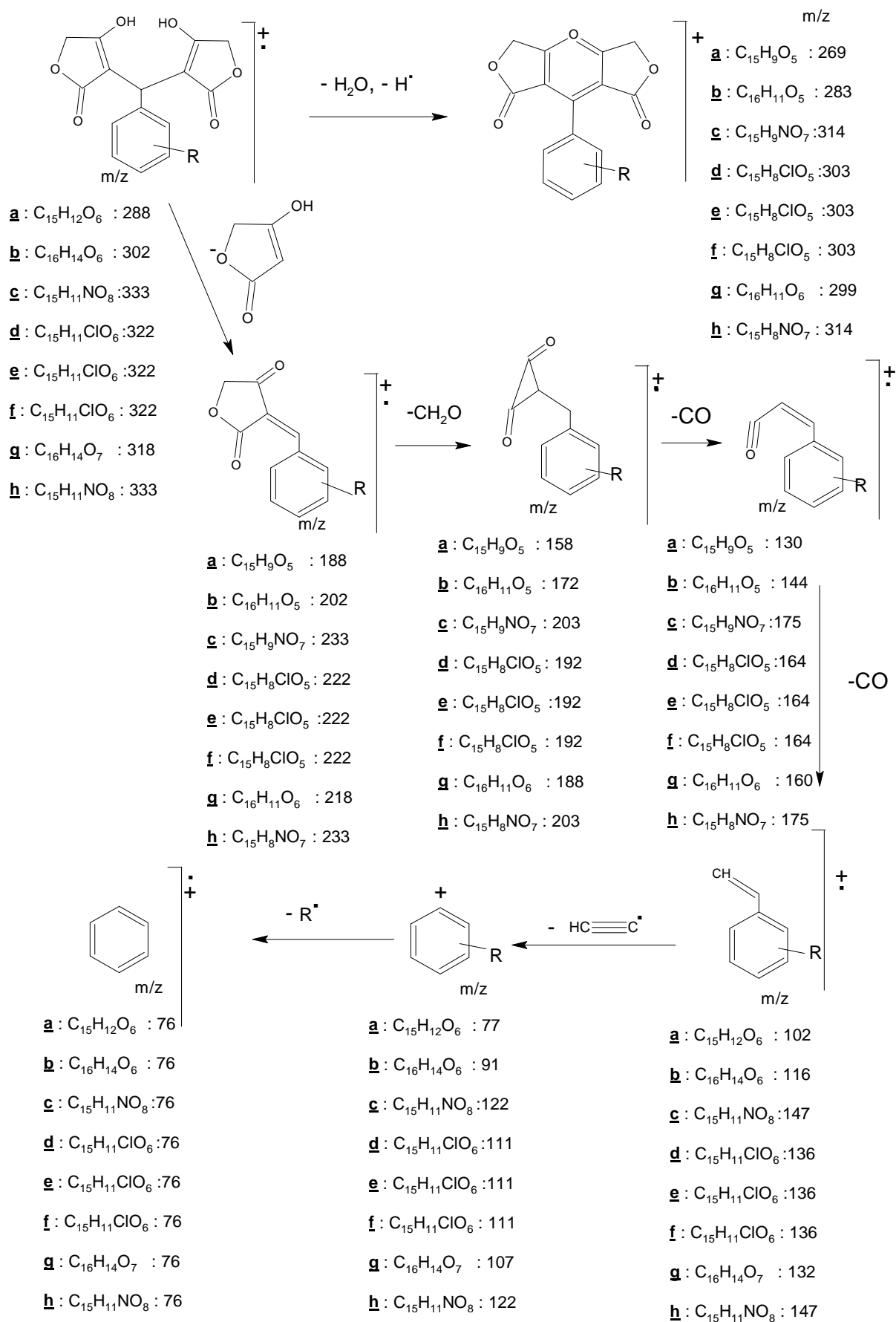


Schéma II.4

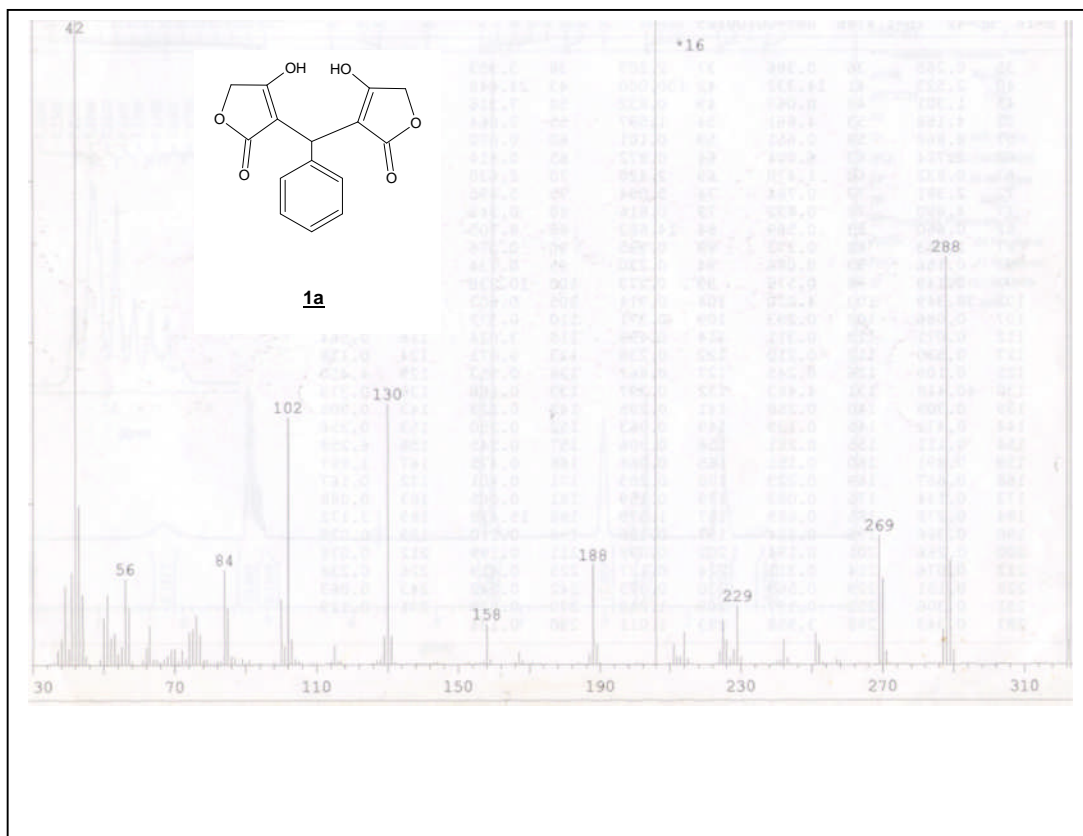


Figure 5: spectre SM du dérivé **1a**

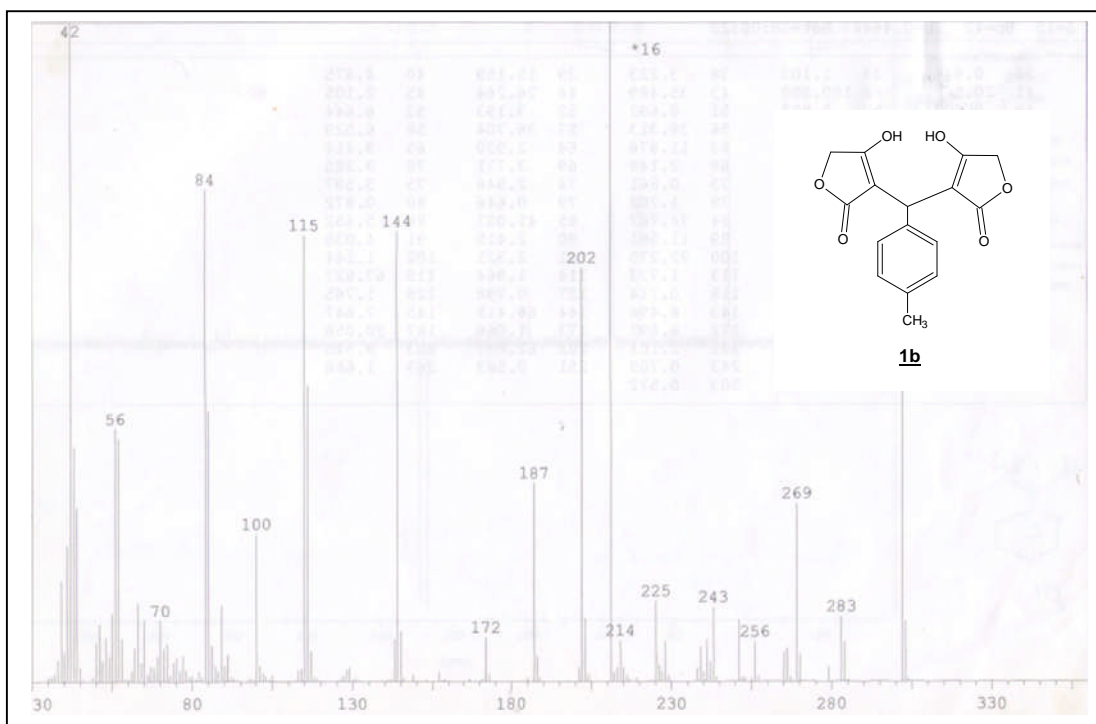
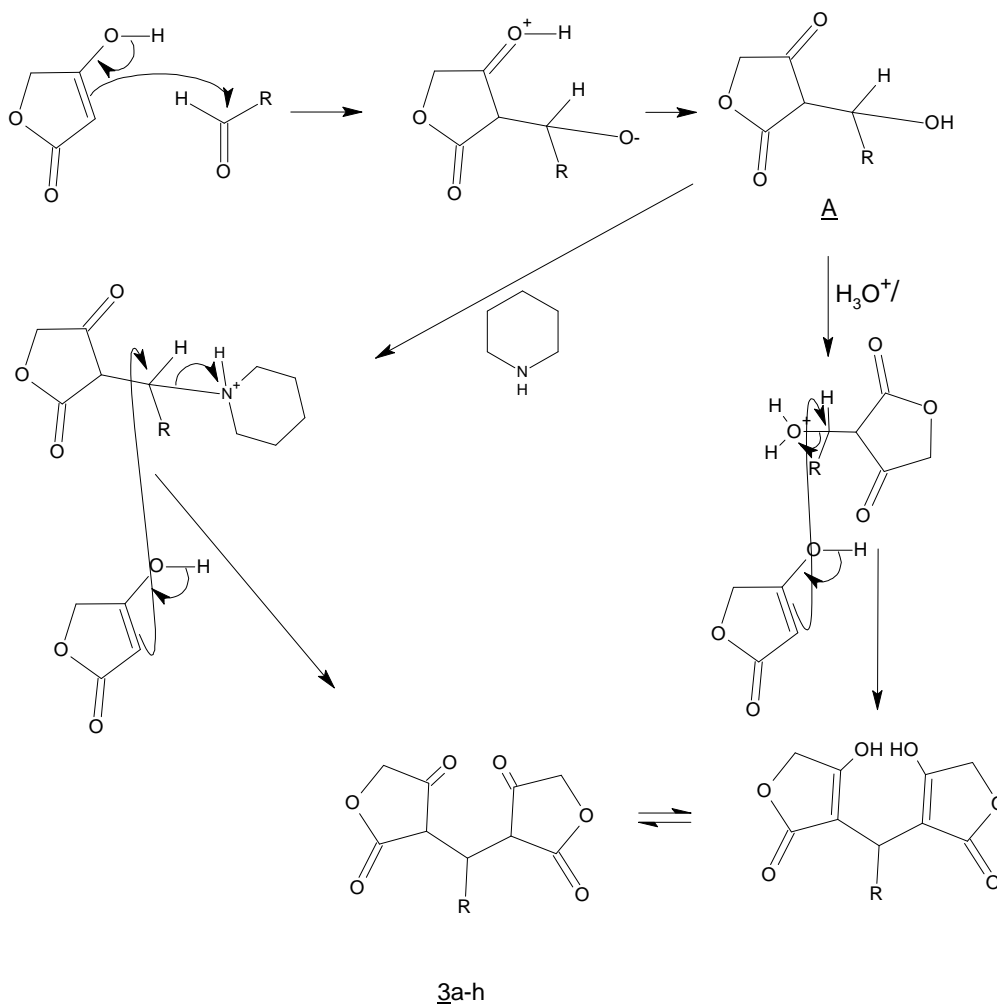


Figure 6: spectre SM du dérivé **1b**

**II.1.2 Discussion sur le mécanisme de la réaction :**

Au vu des résultats des analyses spectroscopiques, qui sont en faveur de la structure **1**, nous pensons que le produit final a pu être obtenu à partir d'une double condensation. Sur la base des analyses obtenues précédemment, nous proposons le mécanisme réactionnel de l'obtention du dérivé **1**, illustré sur le schéma **II.5**.



**Schéma II.5 :** Mécanisme d'obtention du dérivé **1**

Nous remarquons selon le schéma **II.5** proposé que le composé **3** est obtenu à partir d'une double condensation.

La mobilité de l'hydrogène (CH) en position 3 favorise l'attaque de ce dernier sur la fonction carbonyle de l'aldéhyde, dans une première étape conduit à l'intermédiaire **A** qui n'a pas été isolé. La présence de la pipéridine et acide acétique dans le milieu réactionnelle conduit à une deuxième condensation pour aboutir aux dimères de structure **3**.

La condensation de l'acide tétronique sur les aldéhydes aromatique dans des conditions simples (rendement global plus de 50%) montre que l'activité chimique du cycle furanonique (acide tétronique) est comparable à l'hétérocycle pyronique (TAL, DHTAL, coumarine) par la mobilité de hydrogène (CH) en position 3 qui a permis d'obtenir les structure **3**.

### Partie expérimentale

Le suivi des réactions est effectué par chromatographie sur couche mince, sur plaque de gel de silice avec révélateur UV<sub>254</sub>.

Les spectres RMN <sup>1</sup>H ont été réalisés sur spectromètres Bruker AC 200MHZ ; et à 50 MHZ pour la RMN <sup>13</sup>C.

Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au TMS. Les multiplicités de spin sont données comme suit : d = doublet; t = triplet; q = quadruplet; qui = quintuplet; m = multiplet.

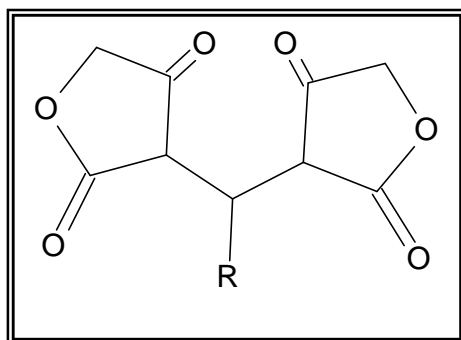
Les spectres RMN <sup>13</sup>C ont été effectués en mode J modulé.

Les spectres de masse ont été réalisés sur un spectromètre Nermag R10-10C avec le mode d'ionisation par impact électronique à 70 eV.

Les points de fusion PF sont mesurés en tube capillaire, à l'aide d'un appareil de type MELTING POINT SMP1BIBBY-STUART Volt 230V, fréquence 50Hz et puissance 50W.

#### Procédé d'obtention de la structure 1

Dans un ballon de 50ml, un mélange de 1g de l'acide tétronique (10mmole) et 5mmole de benzaldéhyde dissous dans 20ml d'éthanol, on ajoute 15gouttes d'acide acétique et 20gouttes de pipéridine. Le mélange est laissé sous agitation magnétique à température ambiante, le temps de la réaction dépend essentiellement de la nature de l'aldéhyde utilisé. Le dimère précipite sous forme d'un solide blanc. Ce dernier est filtré puis lavé et recristallisé dans l'éthanol.



**3,3'-(phenylmethanediyl)bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one) 1a.**

Rendement: 62%, PF=152°C, Temps=5h

**RMN<sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ: 4.33(s, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 4.47(s, 2H, 2CH), 7.04-7.26(m, 5H, arom), 8.24(s, 2H, 2 OH).

**RMN<sup>13</sup>C** (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz): 33, CH; 67, CH<sub>2</sub>; 97, C-C=O; 103, C-OH; 125, CH(arom p); 126, CH(arom m,m'); 127, CH(arom o,o'); 145, C-C-H; 176, C=O.

**S.M. (IE, 70ev)** m/z (%): 288 (3.95) (l'ion moléculaire), 42 (100).

**3,3'-[(4-methylphenyl)methanediyl]bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one) 1b.**

Rendement: 70% , PF= 165°C, Temps=4h

**RMN<sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub> , 200 MHz) δ: 2.25(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.50(s, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 4.40(s, 2H, 2CH), 7.00-7.23(m, 4H, arom), 8.50(s, 2H, 2 OH).

**RMN<sup>13</sup>C** (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz): 22, CH<sub>3</sub>; 32, CH; 69, CH<sub>2</sub>; 76, C-C=O; 99, C-OH; 126, CH(aroma m); 129, CH(aroma o); 135, CH(aroma p); 180, C=O.

**S.M. (IE, 70ev)** m/z (%): 302 (2.92) (l'ion moléculaire), 42 (100).

**3,3'-[(4-nitrophenyl)methanediyl]bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one) 1c.**

Rendement: 50% , PF= 200°C, Temps=7h

**RMN<sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub> , 200 MHz) δ: 4.48(s, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 4.55(s, 2H, 2CH), 7.25-8.08(m, 4H, arom), 8.40(s, 2H, 2 OH).

**RMN<sup>13</sup>C** (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz): 32, CH; 69, CH<sub>2</sub>; 76, C-C=O; 98, C-OH; 123, CH(aroma o,o'); 124, CH(aroma m,m'); 146, CH(aroma p); 150, C-C-H; 180, C=O.

**3,3'-[(4-chlorophenyl)methanediyl]bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one) 1d.**

Rendement: 65% , PF= 175°C, Temps=4h

**RMN<sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub> , 200 MHz) δ: 4.41(s, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 4.49(s, 2H, 2CH), 7.09-7.49(m, 4H, arom), 8.40(s, 2H, 2 OH).

**RMN<sup>13</sup>C** (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz): 31, CH; 69, CH<sub>2</sub>; 76, C-C=O; 98, C-OH; 128, CH(aroma m,m'); 129, CH(aroma o,o'); 137, CH(aroma p); 141, C-C-H; 180, C=O.

**3,3'-[(3-chlorophenyl)methanediyl]bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one) 1e.**

Rendement: 55% , PF= 180°C, Temps=6h

**RMN<sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub> , 200 MHz) δ: 4.40(s, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 4.50(s, 2H, 2CH), 7.04-7.79(m, 4H, arom), 8.60(s, 2H, 2 OH).

**RMN<sup>13</sup>C** (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz): 32, CH; 69, CH<sub>2</sub>; 76, C-C=O; 98, C-OH; 123, CH(aroma p); 124, CH(aroma o'); 125, CH(aroma o); 126, CH(aroma m'); 134, CH(aroma m); 141, C-C-H; 179, C=O.

**3,3'-[(2-chlorophenyl)methanediyl]bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one) 1f.**

Rendement: 75% , PF= 190°C, Temps=3h

**RMN<sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub> , 200 MHz) δ: 4.43(s, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 4.68(s, 2H, 2CH), 7.04-7.88(m, 4H, arom), 8.8(s, 2H, 2 OH).

**RMN<sup>13</sup>C** (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz): 30, CH; 69, CH<sub>2</sub>; 76, C-C=O; 98, C-OH; 126, CH(aroma m'); 127, CH(aroma p); 128, CH(aroma m); 129, CH(aroma o'); 132, CH(aroma o); 179, C=O.

**3,3'-[(2-methoxyphenyl)methanediyl]bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one) 1g.**

Rendement: 50% , PF= 195°C, Temps=24h

**RMN<sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub> , 200 MHz) δ: 4.43(s, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 4.50(s, 2H, 2CH), 6.75-7.20(m, 4H, arom), 8.24(s, 2H, 2 OH).

**RMN<sup>13</sup>C** (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz): 22, CH<sub>3</sub>; 26, CH; 69, CH<sub>2</sub>; 76, C-C=O; 99, C-OH; 127, CH(aroma m); 128, CH(aroma m'); 129, CH(aroma p); 130, CH(aroma o'); 136, CH(aroma o); 156, C-C-H; 180, C=O.

**3,3'-[(2-nitrophenyl)methanediyl]bis(4-hydroxyfuran-2(5H)-one) h**

Rendement: 55% , PF= 210°C, Temps=24h

**RMN<sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub> , 200 MHz) δ: 3.70(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.32(s, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 4.98(s, 2H, 2CH), 7.32-7.75(m, 4H, arom), 8.22(s, 2H, 2 OH).

**RMN<sup>13</sup>C** (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz): 27, CH; 67, CH<sub>2</sub>; 76, C-C=O; 97, C-OH; 123, CH(aroma m); 126, CH(aroma p); 129, CH(aroma m'); 131, CH(aroma o'); 137, CH(aroma o); 180, C=O.

**S.M. (IE, 70ev)** m/z (%): 333 (0.130) (l'ion moléculaire), 84 (100).

## II.2 Action des thiosemicarbazides sur la 2-acetyl- $\gamma$ -butyrolactone :

On a fait réagir la structure 2-acetyl- $\gamma$ -butyrolactone sur les dérivés de la thiosemicarbazide en quantité équimolaire au reflux de l'éthanol sous agitation magnétique le temps de la réaction dépend essentiellement de la nature de la thiosemicarbazide utilisé, la fin de la réaction est signifiée par la formation d'un précipité blanc. La chromatographie sur couche mince du milieu réactionnel en utilisant un mélange l'acétate d'éthyle et éther de pétrole comme éluant, met en évidence une nouvelle tache. Le précipité est récupéré par filtration sous vide puis lavé à l'acetonitril.

Afin de déterminer les conditions idéales pour cette réaction, nous avons repris la même réaction en présence d'un hétéropolyacide de type de Keggin ( $H_4SiW_{12}O_{14}, nH_2O$ ). L'utilisation des Hétéropolyacides (HPAs) comme catalyseur en synthèse organique connaît un intérêt croissant, grâce à leurs propriétés (acidité, redox, stabilité, recyclage facile) , ils sont plus forts que les acides minéraux usuels tels que HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

La réaction est effectuée selon le même mode opératoire et suivi par CCM. Après la fin de la réaction on constate une diminution du temps de la réaction et une amélioration du rendement. Le schéma **II.6** montre la réaction de formation des dérivés **2**.

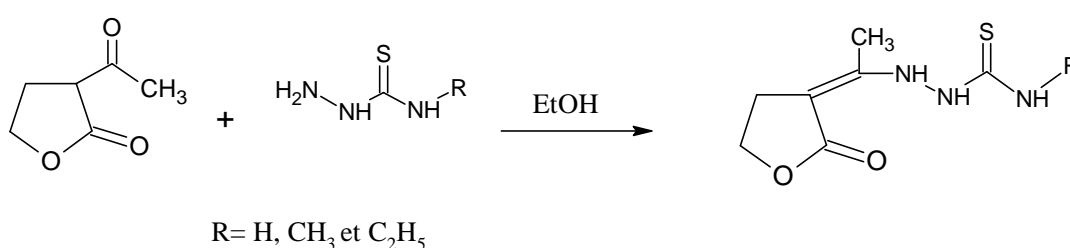


Schéma **II.6** : Réaction de formation des dérivés **2**

Tous les dérivés **2** ont été soumis à une étude spectroscopique détaillée. Dans le tableau suivant (Tableau **II.4**), nous résumons toutes les données physiques des composés **2** en absence du catalyseur et en présence de ce dernier.

**Tableau II.4 : Caractéristiques physiques des composés 2**

Composé	R	PF (°C)	Sans catalyseur		En présence du catalyseur	
			T(h)	R(%)	T(h)	R(%)
<u>2a</u>	H	178-180	13h00	73	05h00	65
<u>2b</u>	CH <sub>3</sub>	155-158	15h00	55	06h00	60
<u>2c</u>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	175-178	18h00	50	08h00	80

## II.2.1 Analyse spectroscopique :

### II.2.1.1 Résonance magnétique nucléaire du proton RMN <sup>1</sup>H:

L'examen du spectre de RMN <sup>1</sup>H dans DMSO-d<sub>6</sub> à 300MHZ du composé 2 indique :

- La disparition du signal attribuable au proton en position 3 de 2-acetyl-γ-butyrolactone
- L'apparition de 3 signaux entre 9 et 11 ppm attribuables aux protons amine (NH) de la thiosemicarbazide.
- On remarque 2 signaux l'intensité 2 protons au environ de 2.30 et 3.40 ppm attribuables au deux CH<sub>2</sub> de la 2-acetyl-γ-butyrolactone
- De plus, le signal à environ 2.16 ppm d'intensité trois protons relatifs au groupement méthyle de 2-acetyl-γ-butyrolactone.

Nous donnons à titre d'exemple dans le schéma suivant (schéma II.7) les différents déplacements chimiques du dérivé 2a

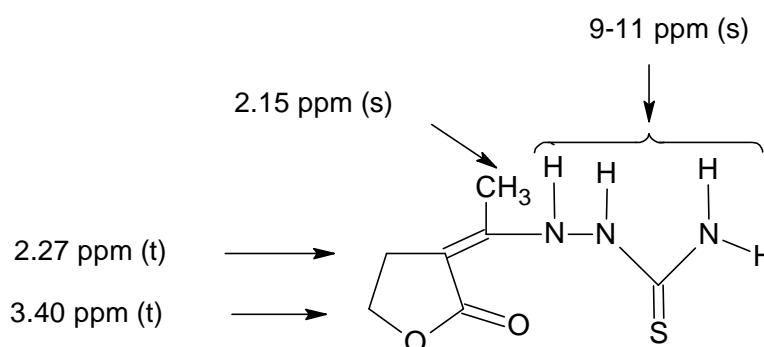
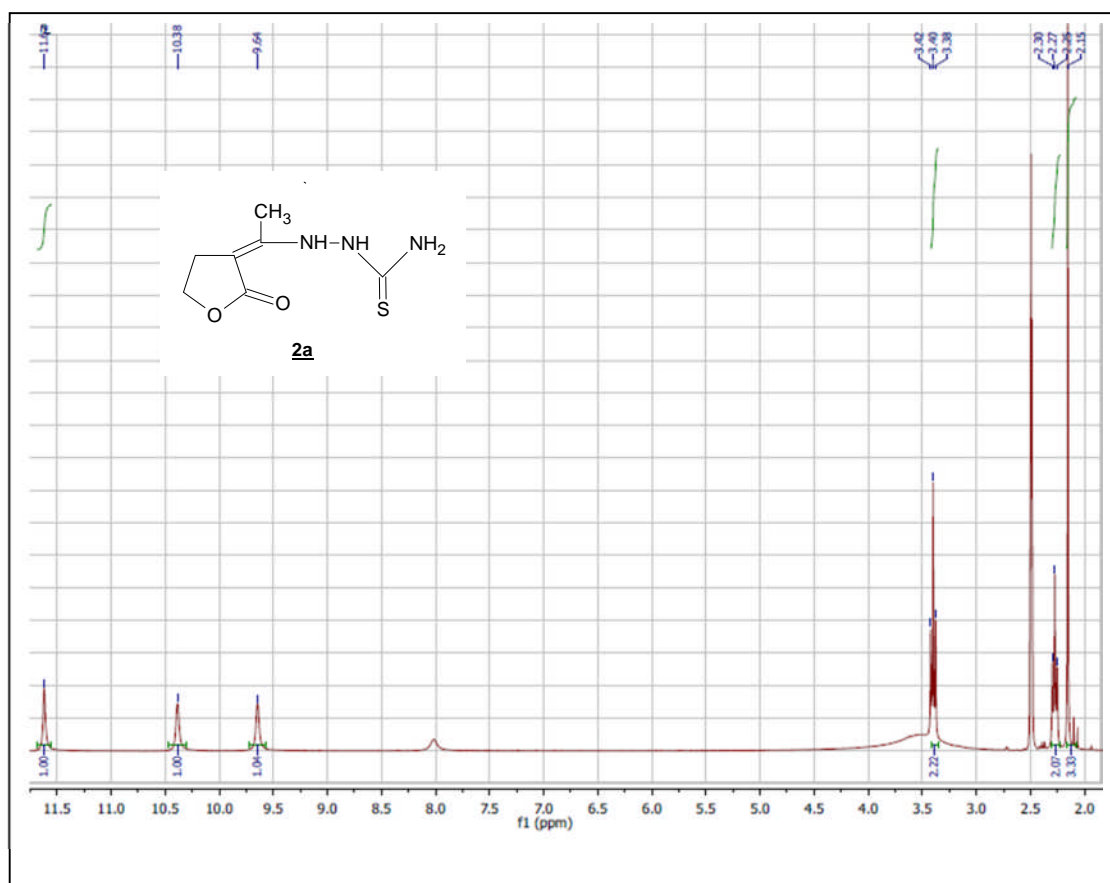


Schéma II.7 : Déplacements chimiques du RMN <sup>1</sup>H de dérivé 2a

Les résultats spectroscopiques des différents protons des autres dérivés de la structure **2** sont regroupés dans le tableau **II.5**.

**Tableau II.5** : résultats spectroscopiques RMN  $^1\text{H}$  des dérivés de la structure **2**

Composés	RMN $^1\text{H}$ : DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz, $\delta$ ppm
<b>2a</b>	2.15(s, 3H, $\text{CH}_3$ ) ; 2.27(t, 2H, $\text{CCH}_2$ , $J=6.85\text{Hz}$ ) ; 3.40(t, 2H, $\text{OCH}_2$ , $J=6\text{Hz}$ ).
<b>2b</b>	2.02 et 2.16(s, 3H, $\text{CH}_3$ ) ; 2.31(t, 2H, $\text{CCH}_2$ , $J=6\text{Hz}$ ) ; 2.86 et 3.09 (d, 3H, $\text{NCH}_3$ ) ; 3.40(t, 2H, $\text{OCH}_2$ , $J=6\text{Hz}$ )
<b>2c</b>	1.18(t, 3H, $\text{CH}_2\text{CH}_3$ , $J=6\text{Hz}$ ) ; 2.03 et 2.16(s, 3H, $\text{CH}_3$ ) ; 2.34 (t, 2H, $\text{CCH}_2$ , $J=7.38\text{Hz}$ ) ; 3.39(q, 2H, $\text{OCH}_2$ , $J=7.1\text{Hz}$ ) ; 3.60(m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2$ , $J=7.2\text{Hz}$ ).



**Figure 7** : spectre RMN  $^1\text{H}$  (DMSO) du dérivé **2a**

**II.2.1.2 Résonance magnétique nucléaire du carbone RMN <sup>13</sup>C:**

Les résultats spectroscopiques des différents carbones de la structure **2** sont reportés dans le tableau **II.6**.

**Tableau II.6 :** résultats spectroscopiques RMN <sup>13</sup>C des dérivés de la structure **2**

Composés	RMN <sup>13</sup> C DMSO-d6, 75MHz, δ ppm
<b>2a</b>	11.39, <u>C</u> H <sub>3</sub> ; 25.66, <u>C</u> H <sub>2</sub> ; 39.95, <u>C</u> -C=O; 60.02, <u>C</u> H <sub>2</sub> ; 151.1, C- <u>C</u> -N; 162.8, <u>C</u> =O; 176.39, <u>C</u> =S.
<b>2b</b>	10.05, <u>C</u> H <sub>3</sub> ; 25.87, <u>C</u> H <sub>2</sub> ; 31.44, <u>C</u> H <sub>3</sub> ; 61.62, <u>C</u> H <sub>2</sub> ; 98.36, <u>C</u> -C=O; 150.54, C- <u>C</u> -N; 176.06, <u>C</u> =O; 183.27, <u>C</u> =S.
<b>2c</b>	11.41, <u>C</u> H <sub>3</sub> ; 14.05, <u>C</u> H <sub>3</sub> ; 25.87, <u>C</u> H <sub>2</sub> ; 40.2, <u>C</u> H <sub>2</sub> ; 61.93, <u>C</u> H <sub>2</sub> ; 98.35, <u>C</u> -C=O; 150.84, C- <u>C</u> -N; 160.34, <u>C</u> =O; 174.77, <u>C</u> =S.

Comme exemple nous donnerons les déplacements chimiques en ppm de chaque carbone du composé **2a** consigné dans le schéma **II.8** suivant :

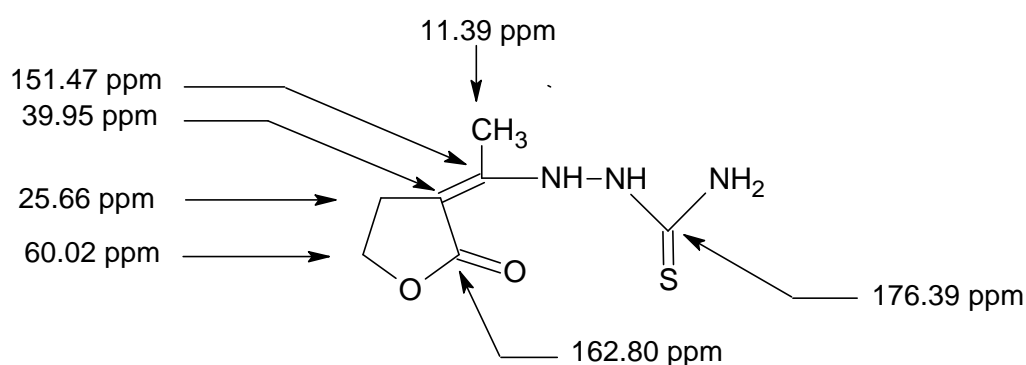
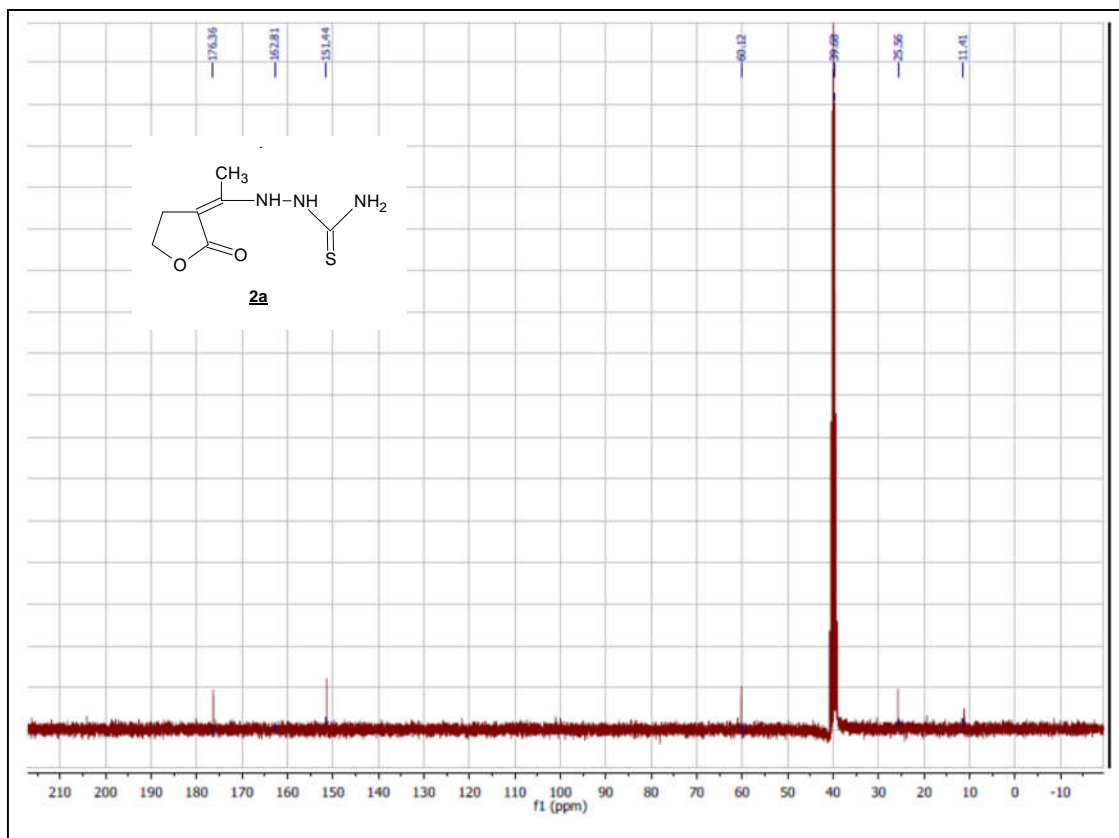


Schéma **II.8 :** Déplacement chimiques du RMN <sup>13</sup>C du composé **2a**



**Figure 8** : spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO) du dérivé **2a**

### II.2.1.3 Equilibre tautomère :

Les données observées sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  (Schéma II.9) montrent que ces composés présentent un équilibre tautomère pour les dérivés **2b** et **2c** qui peut être illustré par les équilibres ci-dessous :

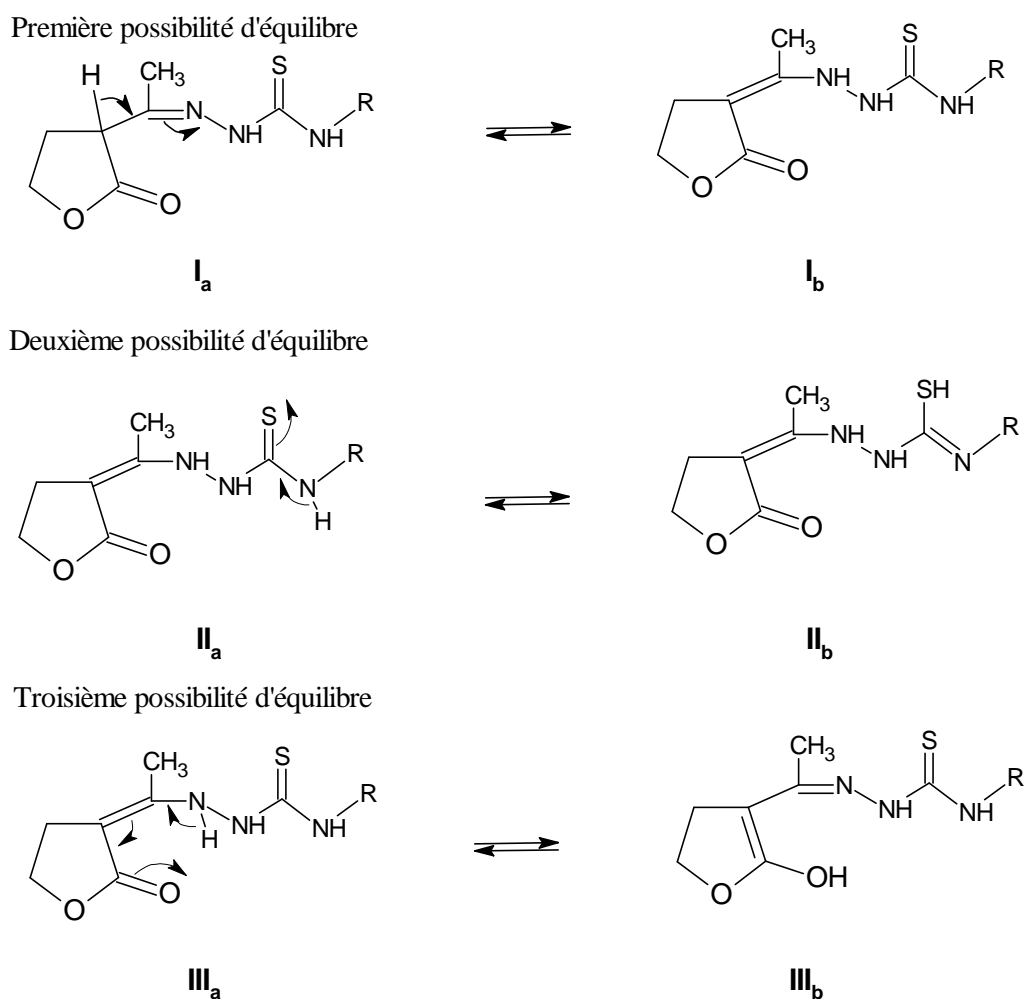


Schéma II.9

#### II.2.1.4 Spectrométrie de masse:

Les spectres de masse de tous les composés **2** confirment également cette structure par la présence systématique de l'ion quasi-moléculaire  $[M^+ + Na]$  correspondant à la formule globale attendue. La masse théorique de l'ion moléculaire et la masse expérimentale observées sont reportées dans le Tableau II.7.

**Tableau II.7** : Spectrométrie de masse ESI des dérivés **2**.

Composés	m/z ( $M^+ + Na$ ) Théo.	m/z ( $M^+ + Na$ ) Exp.	Formule brute
<b>2a</b>	/	/	/
<b>2b</b>	238.06262	238.0627	$C_8H_{13}N_3O_2NaS$
<b>2c</b>	252.07827	252.0779	$C_9H_{15}N_3O_2NaS$

### II.2.1.5 L'analyse infrarouge

Nous avons préparé des pastilles de KBr, en broyant 150 mg de ce dernier avec 2 à 7 % du composé 2, ensuite on les a compressé sous une pression adéquate, les échantillons sont analysés à l'aide d'un appareil à infrarouge FT/IR-4100 type A. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau **II.8**.

Tableau **II.8** : Bandes de vibration en  $\text{cm}^{-1}$  des produits 2.

Composés	KBr, $\nu \text{ cm}^{-1}$
<u>2a</u>	2771 $\nu_{\text{NH}}$ ; 1608 $\nu_{\text{CO(cycl)}}$ ; 1061 $\nu_{\text{C=S}}$ .
<u>2b</u>	2926 $\nu_{\text{NH}}$ ; 1610 $\nu_{\text{CO(cycl)}}$ ; 1060 $\nu_{\text{C=S}}$ .
<u>2c</u>	2879 $\nu_{\text{NH}}$ ; 1609 $\nu_{\text{CO(cycl)}}$ ; 1061 $\nu_{\text{C=S}}$ .

La présence de la bande de vibration entre  $1608\text{-}1610 \text{ cm}^{-1}$  et la bande entre  $788\text{-}789 \text{ cm}^{-1}$ , attribuables à la fonction carbonyle C=O et la thiocarbonyle C=S confirmant la présence des deux fonctions dans la structure proposée

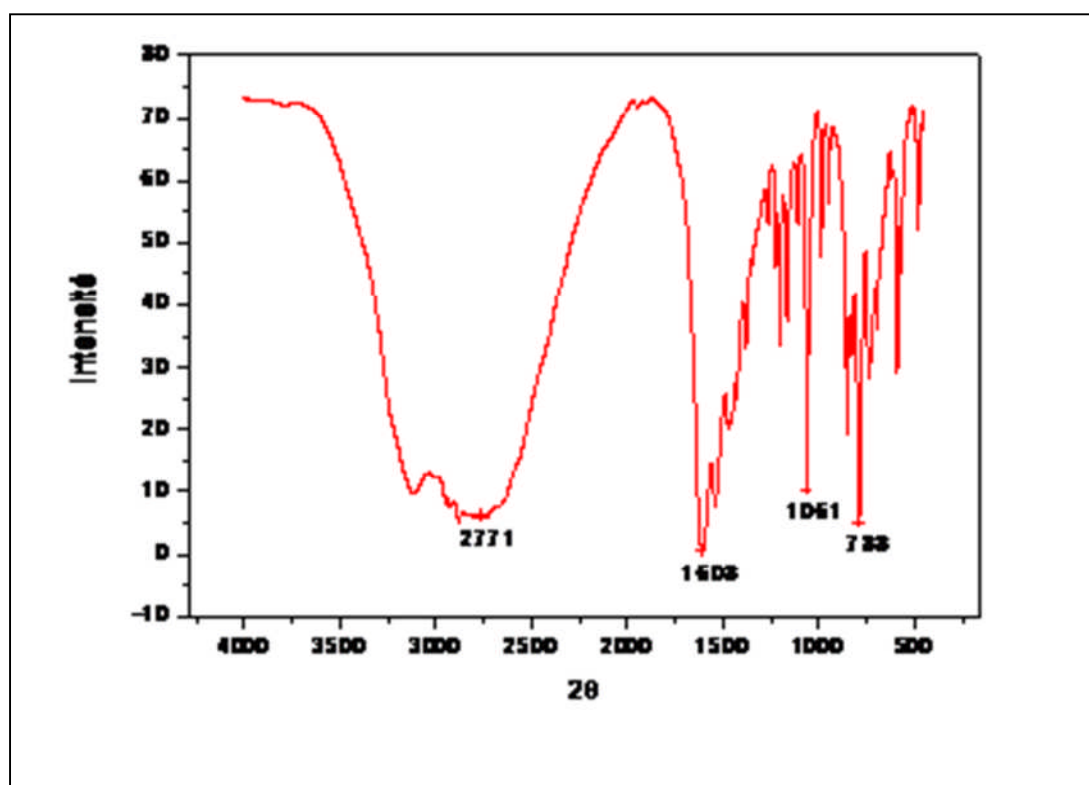


Figure 9: spectre IR du dérivé 2a

**II.2.2 Mécanisme réactionnel :**

En solution, l'amine libre de la thiosemicarbazide réagit avec le carbonyle de la structure 2-acétyl- $\gamma$ -butyrolactone conduisant à l'intermédiaire carbinolamine. L'élimination d'une molécule d'eau engendre l'imine qui est en équilibre tautomère avec l'énaminone, forme plus stable.

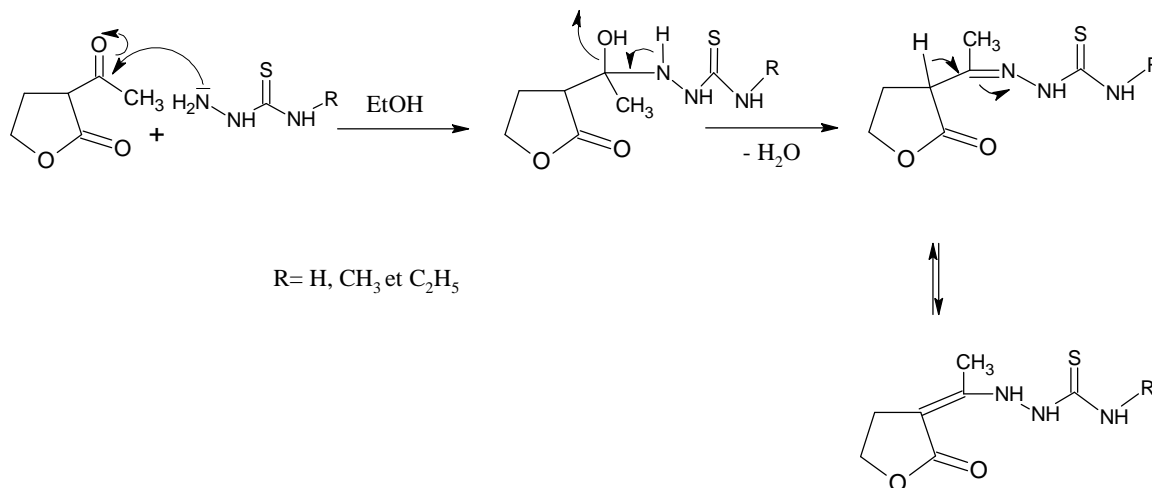


Schéma **II.10** : Mécanisme réactionnel de la formation des dérivés **2**

### Partie expérimentale

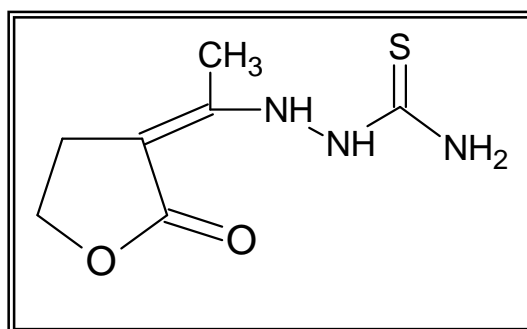
Les spectres RMN  $^1\text{H}$  ont été réalisés sur spectromètres Bruker AC 300MHZ ; et à 75 MHZ pour la RMN  $^{13}\text{C}$ .

Les spectres de masse ont été enregistrés en mode électrospray positif (ESI) à l'aide d'un spectromètre de masse haute résolution MS/MS WATERS Q-T.

#### Procédé d'obtention de la structure **2** en absence de catalyseur

On introduit dans un ballon de 100 ml, 10 mmole de 2-acetyl- $\gamma$ -butyrolactone, puis on ajoute 10 mmole des dérivés de la thiosemicarbazide dans 20 ml d'éthanol. Le mélange est porté à reflux et sous agitation magnétique. Un précipité s'est formé confirmant la formation de nos structures. Ces derniers sont récupérés après filtration sous vide et lavage à l'éthanol. la réaction a été suivi par la chromatographie sur couche mince CCM en utilisant l'acétate d'éthyle et éther de pétrole comme éluant 9 : 1.

#### 2-[1-(2-oxodihydrofuran-3(2H)-ylidene)ethyl]hydrazinecarbothioamide **2a**.

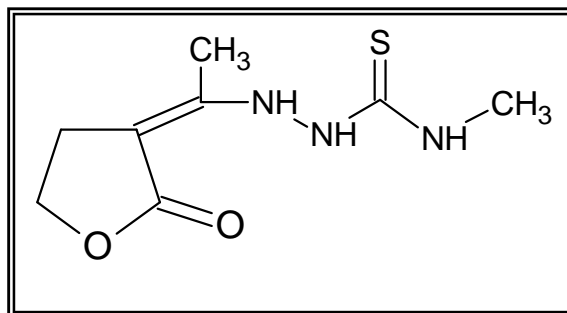


Rendement : 73%; PF : 178-180°C; masse moléculaire : 201 g/mole.

**RMN  $^1\text{H}$ , DMSO- $d_6$  300 MHz,  $\delta$  ppm:** 2.15(s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ; 2.27(t, 2H,  $\text{CCH}_2$ ,  $J=6.85\text{Hz}$ ) ; 3.40(t, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J=6\text{Hz}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  DMSO- $d_6$ , 75MHz,  $\delta$  ppm:** 11.39,  $\text{CH}_3$ ; 25.66,  $\text{CH}_2$ ; 39.95,  $\text{C-C=O}$ ; 60.02,  $\text{CH}_2$ ; 151.1,  $\text{C-C-N}$ ; 162.8,  $\text{C=O}$ ; 176.39,  $\text{C=S}$ .

*N*-methyl-2-[1-(2-oxodihydrofuran-3(2*H*)-ylidene) ethyl]hydrazinecarbothioamide **2b**.



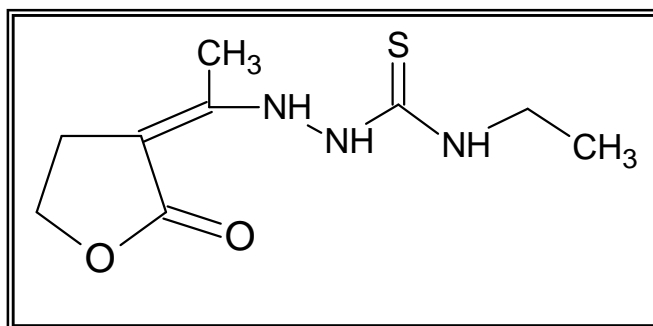
Rendement : 55%; PF : 155-158°C; masse moléculaire : 215 g/mole.

**RMN <sup>1</sup> H, DMSO-d<sub>6</sub> 300 MHz, δ ppm:** 2.02 et 2.16(s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2.31(t, 2H, CCH<sub>2</sub>, J=6Hz); 2.86 et 3.09( d, 3H, NCH<sub>3</sub>); 3.40(t, 2H, OCH<sub>2</sub>,J=6HZ).

**RMN <sup>13</sup> C, DMSO-d<sub>6</sub>, 75MHz, δ ppm:** 10.05, CH<sub>3</sub>; 25.87, CH<sub>2</sub>; 39.92, CH<sub>3</sub>; 61.62, CH<sub>2</sub>; 98.36, C-C=O; 150.54, C-C-N; 176.06, C=O; 183.27, C=S.

**HRMS *m/z*:** (M+Na)<sup>+</sup> (calculée, trouvée pour C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>SNa) : 238,06262, 238.0627

*N*-ethyl-2-[(1*Z*)-1-(2-oxodihydrofuran-3(2*H*)-ylidene) ethyl]hydrazinecarbothioamide **2c**.



Rendement : 50%; PF : 175-178°C; masse moléculaire : 229 g/mole.

**RMN <sup>1</sup> H, DMSO-d<sub>6</sub> 300 MHz, δ ppm:** 1.18(t, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>,J= 6Hz); 2.03 et 2.16(s,3H,CH<sub>3</sub>); 2.34(t,2H,CCH<sub>2</sub>,J=7.38Hz); 3.39(q,2H,OCH<sub>2</sub>,J=7.1Hz); 3.60(m,2H,CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, J=7.2Hz).

**RMN <sup>13</sup> C, DMSO-d<sub>6</sub>, 75MHz, δ ppm:** 11.41, CH<sub>3</sub>; 14.05, CH<sub>3</sub>; 25.87, CH<sub>2</sub>; 40.2, CH<sub>2</sub>; 61.93, CH<sub>2</sub>; 98.35, C-C=O; 150.84, C-C-N; 160.34, C=O; 174.77, C=S.

**Procédé d'obtention de la structure 22 en présence de l'acide de Keggin :**

On introduit dans un ballon de 100 ml, 10 mmole de 2-acetyl- $\gamma$ -butyrolactone puis on ajoute 10 mmole des dérivés de la thiosemicarbazide dans 20 ml d'éthanol, en ajoutant 0.0012 mmole (0,002g) du catalyseur de Keggin. Le mélange est porté à reflux et sous agitation magnétique, le suivi de la réaction est contrôlée par la chromatographie sur couche mince CCM en utilisant comme éluant l'acétate d'éthyle et éther de pétrole 9 :1 et en se référant aux produits 22 obtenu en absence du catalyseur. Un précipite blanc se forme. Ce dernier est lavé par l'eau pour éliminer le catalyseur. Les produits sont recristallisés dans l'éthanol.

**CHAPITRE III**  
**EVALUATION DE L'ACTIVITE**  
**ANTIMICROBIENNE**

## **Introduction :**

L'organisme humain, constamment exposé à une multitude de microbes (bactéries, virus, parasites, champignons), possède un système complexe de défense qui lui permet de rencontrer ou d'héberger ces microbes sans leur permettre d'envahir ses tissus [1,2]. Cependant, dans certaines conditions, l'infection peut entraîner une maladie infectieuse grave [3].

Les maladies infectieuses causées par les bactéries et les champignons affectent des millions de personnes dans le monde entier, et causent de lourdes pertes au niveau économique. De nombreux programmes ont été conduits pour découvrir et développer de nombreux agents antimicrobiens d'origine biologique ou synthétique.

Les premiers signes d'une thérapie antimicrobienne réussie, datent des temps les plus anciens. Dans les civilisations égyptiennes, grecques, chinoises et arabes, on rapporté l'utilisation des extraits de plantes pour cette fin. Sans comprendre le mécanisme par lequel ces remèdes naturels agissaient, bon nombre d'entre eux ont gardé leur application jusqu'à nos jours [4].

Avec la découverte fortuite de la pénicilline en 1929 par Fleming, puis d'autres antibiotiques, tels que la Streptomycine, le Chloramphénicol, l'Erythromycine par Waksman en 1949, le progrès dans le développement d'antimicrobiens a connu un grand essor [5]. Les produits de synthèse se virent ainsi d'être d'excellents agents antimicrobiens.

Le mécanisme pour lequel ces antimicrobiens agissent, a été établi, et a permis de les classer suivant leurs sites d'action. Ceux agissant sur la paroi, ceux agissant sur la membrane, ceux agissant sur la synthèse d'acides nucléiques, ceux agissant sur la fonction des ribosomes et ceux agissant sur les métabolites [6,7].

Ainsi, afin de valoriser certains des composés préparés dans ce travail, il nous a paru intéressant d'étudier leur sensibilité antimicrobienne sur différentes souches bactériennes. En effet, il a été montré que de nombreuses lactones naturelles ont une activité antimicrobienne, antifongique et anti-inflammatoire [8].

D'autre part les dérivés thio-urées sont des composés très recherchés en synthèse organique car ils présentent un spectre d'activités biologique vaste [9-11]. Des propriétés antimicrobiennes ont été mentionnées dans la littérature [12].

Les tests microbiologiques ont été réalisés au niveau du Laboratoire de contrôle de qualité des milieux de culture de l'Institut Pasteur d'Algérie.

## **III.1 Les agents infectieux :**

Les agents infectieux (ou agents pathogènes) sont des agents biologiques responsables d'une maladie infectieuse. Ce sont les moteurs du phénomène infectieux. Ils sont à l'origine de l'envahissement et la destruction des tissus vivants, processus centraux de l'infection qui est un état pathologique.

Plusieurs termes sont employés en pratique pour les désigner : agents infectieux, germes et microorganismes. Parmi les trois, le mot microorganisme est plus correct.

Les microorganismes (organismes invisibles à l'œil nu, "microscopiques") rencontrés en pathologie infectieuse comprennent, des plus complexes aux plus simples :

- Les parasites :

En médecine humaine et vétérinaire, on appelle parasite un métazoaire ou un protozoaire parasitant l'organisme et entraînant une *parasitose* (paludisme, l'amibiase).

En biologie, un parasite est un organisme vivant qui se nourrit, s'abrite ou se reproduit en établissant une interaction durable avec un autre organisme (l'hôte).

- Les champignons (moisissures et levures) :

Les champignons, ou mycètes, sont des végétaux eucaryotes dits Thallophytes.

Les cellules sont groupées en un ensemble qui est plus ou moins structuré appelé Thalle. Le Thalle n'a ni racine, ni tige, ni feuille. Ils sont non chlorophylliens. On peut les cultiver à l'abri de la lumière mais il faudra leur fournir une source de carbone. Ils sont responsables de mycoses dont l'importance est relative.

- Les virus :

Les virus sont au contraire des particules biologiques inertes mais infectantes. Les virus n'ont absolument aucune autonomie et sont donc totalement dépendants des cellules qui les hébergent. La réplication virale est de fait un phénomène passif pour le virus : c'est la cellule hôte qui assure elle-même cette réplication à partir de l'information génétique (génom) apportée par le virion (particule virale) et souvent avec l'aide d'enzymes qu'il contient.

## EVALUATION DE L'ACTIVITE..... CHAPITRE III

- Les bactéries :

Les bactéries sont des êtres vivants qui appartiennent à un groupe. Ce sont des organismes cellulaires simples appelés Procaryote qui ne contiennent pas de noyaux et qui sont habituellements trouvés en très grand nombre parce qu'ils peuvent se multiplier rapidement. Il existe plusieurs types de bactéries qui sont regroupées dans différents groupes, ayant des propriétés uniques.

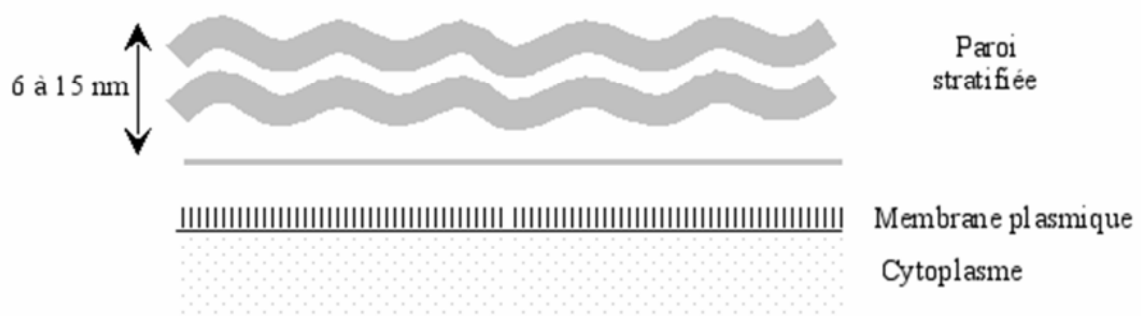
La plupart des bactéries possèdent des parois qui sont des enveloppes rigides assurant leur forme ainsi que leur stabilité. Ces dernières sont formées de peptidoglycane un glycoaminopeptide, constitué d'enchainements de sucres aminés relié par des ponts peptidiques.

On peut séparer les bactéries en deux groupes en fonction de la composition de leur paroi :

- Les bactéries gram+ : possèdent une paroi de muréine ou peptidoglycane épais (15 à 80 nm) relativement poreuse, perméable à la plupart des antibiotiques.



- Les bactéries gram- : possèdent en plus de la couche fine de peptidoglycane (6 à 15 nm) une membrane externe complexe (de nature lipidique) qui constitue une barrière imperméable aux antibiotiques hydrophobes.



les aliments ou les boissons que l'ont consomment. Exemples: *Salmonelle*, *Campylobacter*, *Legionella* et *Escherichia coli*.

### **III.2 Etude de l'activité antimicrobienne :**

Les médicaments utilisés au cours des maladies infectieuses sont les antibiotiques (agissent contre les bactéries), les antimycosiques (agissent contre les champignons). Il existe de très nombreux antibiotiques permettant de lutter efficacement contre la plupart des infections bactériennes.

#### **III.2.1 Evaluation *in vitro* de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques :**

En 1942, Waksman a défini les antibiotiques comme des substances chimiques, produites par des micro-organismes et capables à faible concentration d'inhiber la croissance d'autres micro-organismes ou même de les détruire. Comme de nombreuses substances, autrefois obtenues à partir de culture sont actuellement synthétisées ou modifiées par synthèse, en bactériologie médicale, on préfère donc retenir une définition plus large : les antibiotiques sont des composés chimiques élaborés par un micro-organisme ou produit par synthèse et dont l'activité spécifique se manifeste à faible dose sur les micro-organismes. Chaque antibiotique est caractérisé par son spectre d'activité qui correspond aux différentes espèces bactériennes susceptibles d'être sensibles à son action. Selon les antibiotiques le spectre est limité ou large.

Exemples :

La pénicilline G ou les macrolides ont un spectre limité aux bactéries à Gram positif et aux Coques à Gram négatif.

La colistine a un spectre étroit limité généralement aux bacilles à Gram négatif à l'exception

. Le métronidazole a un spectre d'activité très particulier car son action s'exerce uniquement sur les bactéries anaérobies sauf les bacilles anaérobies à Gram positif non sporulés.

. Les aminosides ou aminoglycosides ont un spectre large même si les bactéries anaérobies ont résistantes.

. Les tétracyclines, les phénicolés et les sulfamides ont un spectre large et sont actifs sur les bacilles et les coques, à Gram positif ou à Gram négatif, aérobies ou anaérobies ou aéro-anaérobies.

Dans le traitement d'une maladie bactérienne, il faut sélectionner l'antibiotique le plus efficace sur la bactérie pathogène et s'assurer que les concentrations atteignent un taux thérapeutique au sein du foyer infectieux. Le rôle du laboratoire de bactériologie est d'isoler et

d'identifier les bactéries puis de déterminer *in vitro*, à l'aide de méthodes rigoureusement standardisées, l'activité des divers agents antimicrobiens.

## III.2.2 Antibiogramme :

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus, le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence d'un ou de plusieurs antibiotiques et observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci.

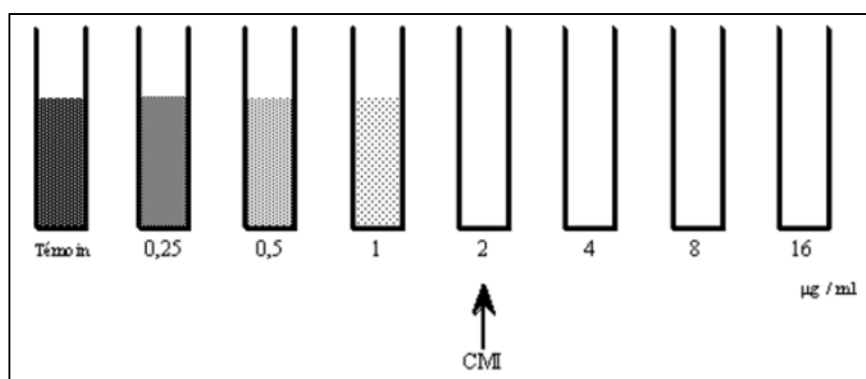
La sensibilité d'une bactérie est mesurée par la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'antibiotique considéré. C'est la méthode de référence préconisée par l'OMS [13-15]. Cette CMI est la plus petite quantité d'antibiotique (ATB) capable d'inhiber une croissance visible à l'œil nu.

### III.2.2 .1 Techniques classiques de la CMI :

#### Méthodes de dilution :

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique.

En milieu liquide **Figure III.1**, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macrodilution) ou de cupules (méthode de microdilution) contenant l'antibiotique. Après incubation la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible.

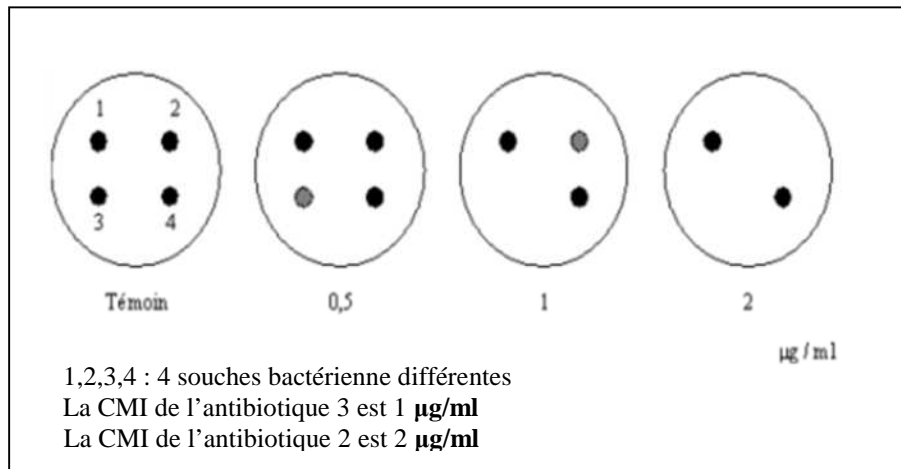


**Figure III.1 : dilution en milieu liquide de Muller-Hinton**

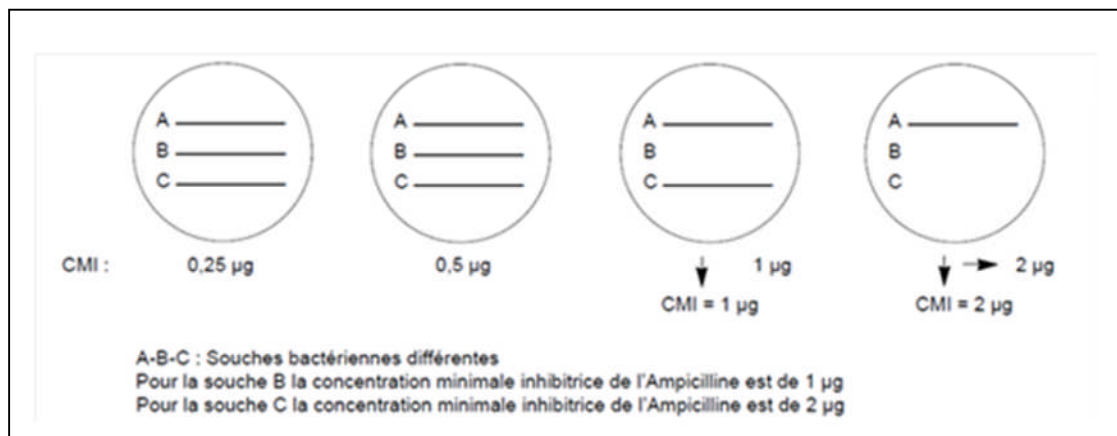
En milieu solide, l'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé en boîtes de Pétri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches sous forme de puits où bien de stries parallèles comme le montre les **Figures III.2**.et **III.3** respectivement.

# EVALUATION DE L'ACTIVITE..... CHAPITRE III

Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique.



**Figure III.2 :** dilution en milieu gélosé de Muller-Hinton



**Figure III.3 :** concentration minimal inhibitrice (ampicilline)

## Méthodes de diffusion : antibiogramme standard

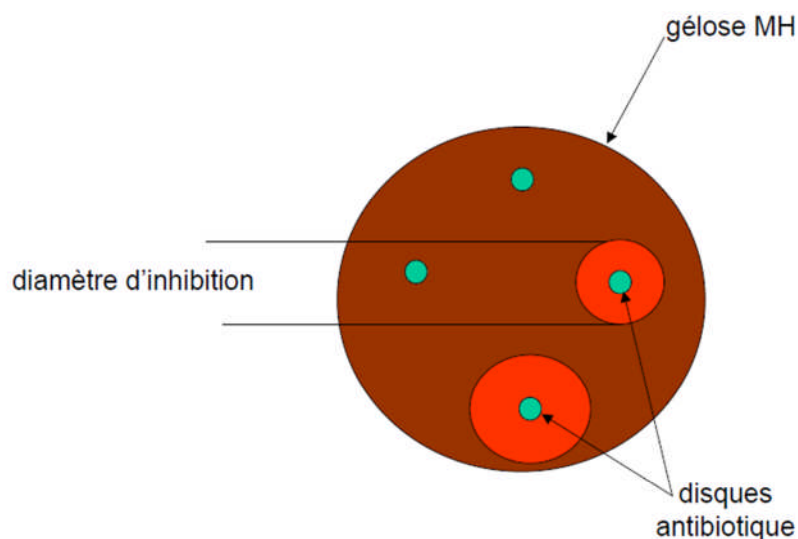
Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic.

Des disques de papier buvard imprégnés des antibiotiques à tester sont déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent d'une manière uniforme. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une

absence de culture. Lorsque la technique est parfaitement standardisée les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe, plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible à l'antibiotique, plus il est petit plus la bactérie est résistante [16].

Cette méthode utilisée par certains auteurs (Deans et Ritchie [17], Lis-Balchin et coll [18], Burt et Reinders [19], Faleiro et coll [20], Kunle et coll [21].) est la technique que nous avons utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne de nos produits.

Cette technique permet une bonne estimation du pouvoir antimicrobien, surtout pour les produits ayant une bonne diffusion dans le milieu solide.



**Figure III.4 : antibiogramme**

### III.2.3 Micro-organismes utilisés:

Nous avons choisi de travailler sur une large gamme de micro-organisme afin de donner une idée sur l'étendu du champ d'activité antimicrobienne de nos produits.

*Escherichia coli* : autrement appelé colibacille ou E. coli. : est une bactérie intestinale des mammifères très commune chez l'être humain. Découverte en 1885 par Théodore Escherich, dans des selles de nourrissons, c'est un coliforme fécal généralement commensal. Cependant, certaines souches d'E. coli peuvent être pathogènes. E. coli est un bacille gram négatif de

la famille des entérobactéries. C'est un hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'Homme et des animaux à sang chaud.

*Klebsiella pneumoniae* : les klebsielles sont des bacilles immobiles souvent capsulés. Elles déterminent des infections respiratoires (pneumonies, abcès pulmonaires, pleurésies), des infections intestinales. Elles sont également responsables d'infections nosocomiales. La capsule confère à *Klebsiella pneumoniae* un fort pouvoir invasif.

*Staphylococcus aureus* : est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées, et dans certains cas extrêmes, de septicémie. L'espèce *S. aureus* est commensale de l'homme et se révèle être pathogène opportuniste lorsque qu'elle se retrouve au mauvais endroit. *S. aureus* possède des pouvoirs pathogènes : notamment un pouvoir invasif, capacité à se multiplier et à se disséminer dans l'organisme; et une capacité d'élaboration d'une toxine nocive pour l'hôte.

*Pseudomonas aeruginosa* : autrement connue sous le nom de bacille pyocyanique, est une bactérie du genre *Pseudomonas*. Elle est pathogène et fréquemment rencontrée dans les infections nosocomiales. Les formes de pathologie qu'elle engendre sont diverses : infection de l'œil, des plaies ou des brûlures, des urines, des poumons... Le *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie très robuste, naturellement très résistante aux antibiotiques et s'adaptant rapidement aux attaques médicamenteuses.

Les différents germes employés dans notre étude. ont été isolés et identifiés à partir de produits biologiques contaminés (**Tableau III.1**).

<b>Les souches</b>	<b>Type</b>	<b>Infections courantes causées par ce type de souches (décrites en littérature)</b>
<i>Escherichia coli</i>	Bacille <b>G -</b>	Gastro-entérites, méningites, abcès, péritonites, septicémies et surtout infections urinaires.
<i>Klebsiella</i>	Bacille <b>G -</b>	Infections respiratoires (pneumonies, abcès pulmonaires, pleurésies), des infections intestinales et urinaires et peut être responsables d'infections nosocomiales
<i>Staphylocoque</i>	Cocci <b>G +</b>	Intoxications alimentaires, infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes et de septicémies physiques (greffe, prothèses cardiaques).
<i>pseudomonas</i>	Bacille <b>G -</b>	Infections Cutanées, infection du tractus digestif et des infections oculaires méningées.

**Tableau III.1** : souches microbiennes utilisés pour les tests.

### **III.2.4 Technique de l'étude utilisée :**

Les essais sur l'activité antimicrobienne seront réalisés en utilisant deux méthodes pour le criblage du pouvoir antimicrobien de nos produits.

- La méthode de dilution en milieu solide, elle est basée sur l'introduction de doses croissantes d'antibiotiques dans des tubes de gélose en fusion. Puis chaque tube, avec sa propre dose d'antibiotique, est coulé dans une boîte de pétri où la gélose va se solidifier. Il est alors possible d'ensemencer sur cette série de boîtes des souches microbiennes différentes sous la forme de stries parallèles.
- La méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, réalisée dans une boîte de Pétri pour connaître les diamètres d'inhibition.

Des solutions mères de nos produits à tester ont été préparées stérilement en utilisant le Diméthyle sulfoxyde (DMSO) comme solvant. Le milieu Müller Hinton (MH) a été entrepris comme milieu de culture pour cette étude.

#### **III.2.4.1 Technique de dilution en milieu solide :**

Un mélange de 19 mL de Mueller-Hinton et 1 mL de la solution de chaque produit sont coulés dans des boites pétri, le mélange est homogénéisé par agitation. Elles sont mises ensuite à sécher pendant 15 min.

Les boîtes de pétri sont ensemencées par les souches en stries à l'aide d'une pipette. On incube les boîtes de pétri pendant 18 heures à 37 °C.

### III.2.4.2 Technique de diffusion sur gel :

Elle consiste à déposer des disques de papier filtre (6 mm de diamètre) imprégnés d'une concentration fixe (50 µg/ml pour la **série I** et 100 µg/ml pour la **série II**) à la surface de la gélose préalablement ensemencée par une suspension du micro-organisme ciblé.

Le produit testé diffuse radialement et crée un gradient de concentration. Les boîtes de pétri sont par la suite incubées à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures.

A la sortie de l'étuve, l'absence de croissance microbienne se traduit par une zone circulaire translucide autour des disques appelés zone d'inhibition (auréole d'inhibition).

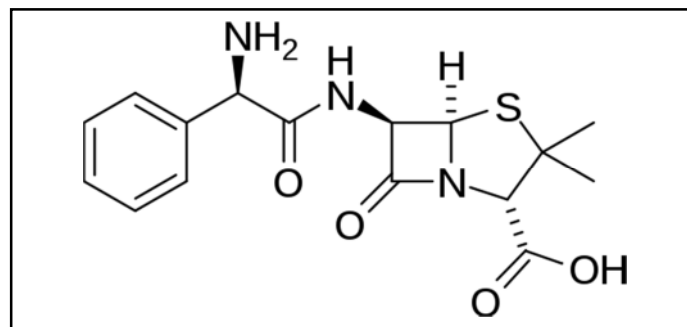
L'activité antimicrobienne est ainsi estimée qualitativement par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition.

Un produit est considéré actif s'il donne un diamètre d'inhibition supérieur à 6 mm.

### III.2.5 Témoin :

Pour cette technique, des contrôles devront être réalisés simultanément pour chaque essai.

Nous avons également testé dans les mêmes conditions opératoires le témoin diméthyle sulfoxyde (DMSO) solvant dans lequel ont été solubilisés les composés à tester, ainsi que l'ampicilline que nous avons pris comme antibiotique de référence.

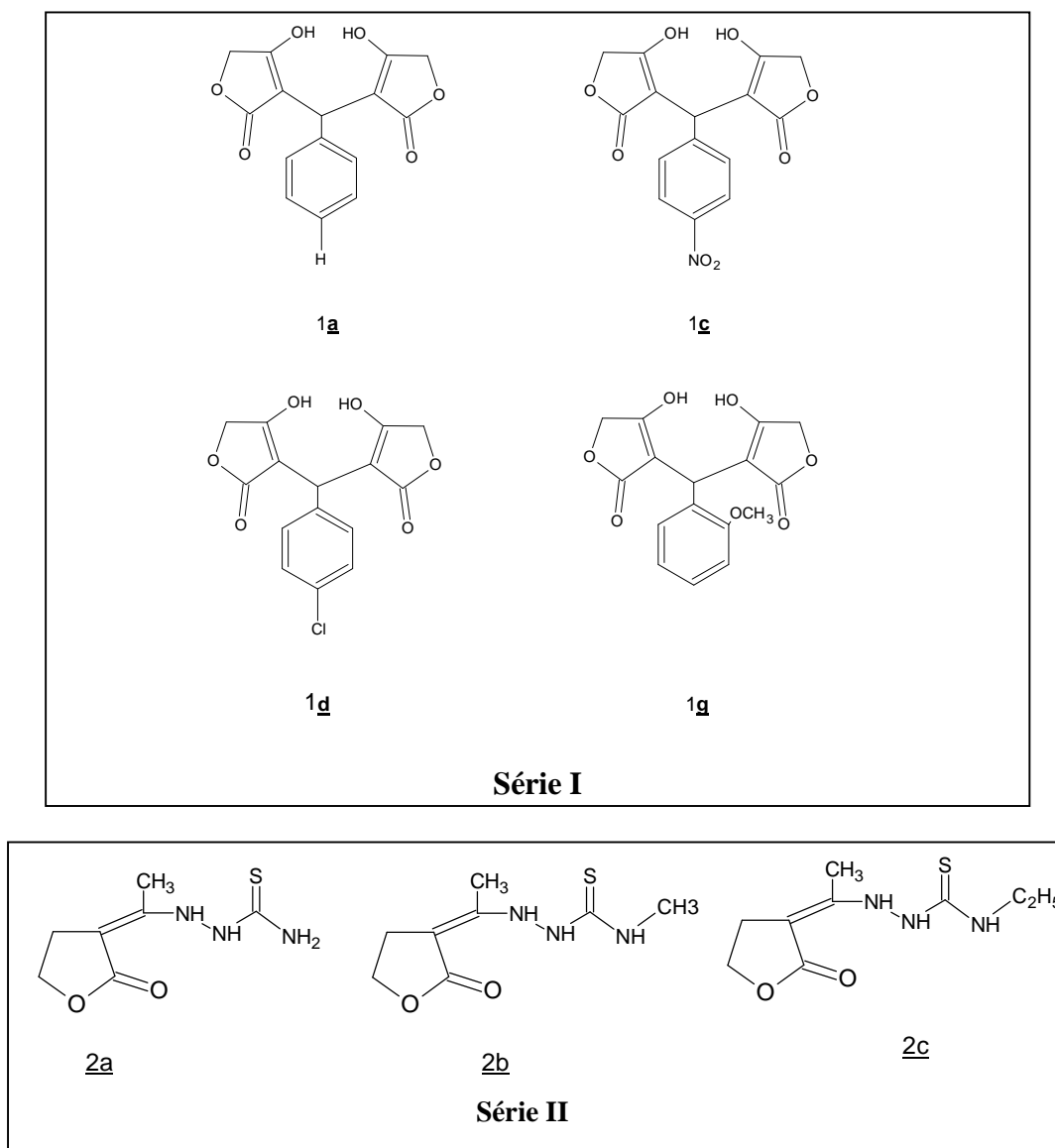


Structure de l'ampicilline

L'ampicilline est une aminopénicilline appartenant à la famille des bêta-lactamines, et qui est un antibiotique à spectre large. Elle a été largement utilisée pour traiter les infections bactériennes depuis 1961. Elle est capable de pénétrer dans une bactérie à Gram-négatif. Elle inhibe la troisième et dernière étape de la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne, conduisant ainsi à la lyse cellulaire.

**III.2.6 Produits à testés :**

Deux séries de produits ont été évaluées **Figure III.5**.



**Figure III.5** : structures des composés testés

**III.3 Résultats et discussion :**

**III.3.1. Méthode de dilution en milieu solide :**

Après l'incubation, nous avons pu observer la croissance ou la non croissance des souches microbiennes utilisées à l'œil nu. Les résultats des tests expérimentaux réalisés sur les diverses séries sont donnés dans le **Tableau III-2**.

**EVALUATION DE L'ACTIVITE..... CHAPITRE III**

			Souches bactériennes				
Composés			<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	R	C µg/ml					
Série I	<u>1a</u>	H	12.5	+	-	+	-
			25.0	+	-	+	-
			50.0	+	-	+	-
	<u>1c</u>	NO <sub>2</sub>	12.5	+	-	-	-
			25.0	+	-	-	-
			50.0	+	-	-	-
	<u>1d</u>	Cl	12.5	+	+	+	-
			25.0	+	+	+	-
			50.0	+	+	+	-
	<u>1g</u>	OCH <sub>3</sub>	12.5	+	-	-	-
			25.0	+	-	-	-
			50.0	+	-	-	-
Série II	<u>2a</u>	H	12.5	+	+	-	-
			25.0	+	+	-	-
			50.0	+	+	-	-
			100	+	-	-	-
	<u>2b</u>	CH <sub>3</sub>	12.5	+	+	-	-
			25.0	+	+	-	-
			50.0	+	+	-	-
			100	+	-	-	-
	<u>2c</u>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	12.5	+	+	-	-
			25.0	+	+	-	-
			50.0	+	+	-	-
			100	+	-	-	-

(+) : croissance (-) : absence de croissance

**Tableau III.2 :** Les résultats des tests expérimentaux réalisés sur les diverses séries.

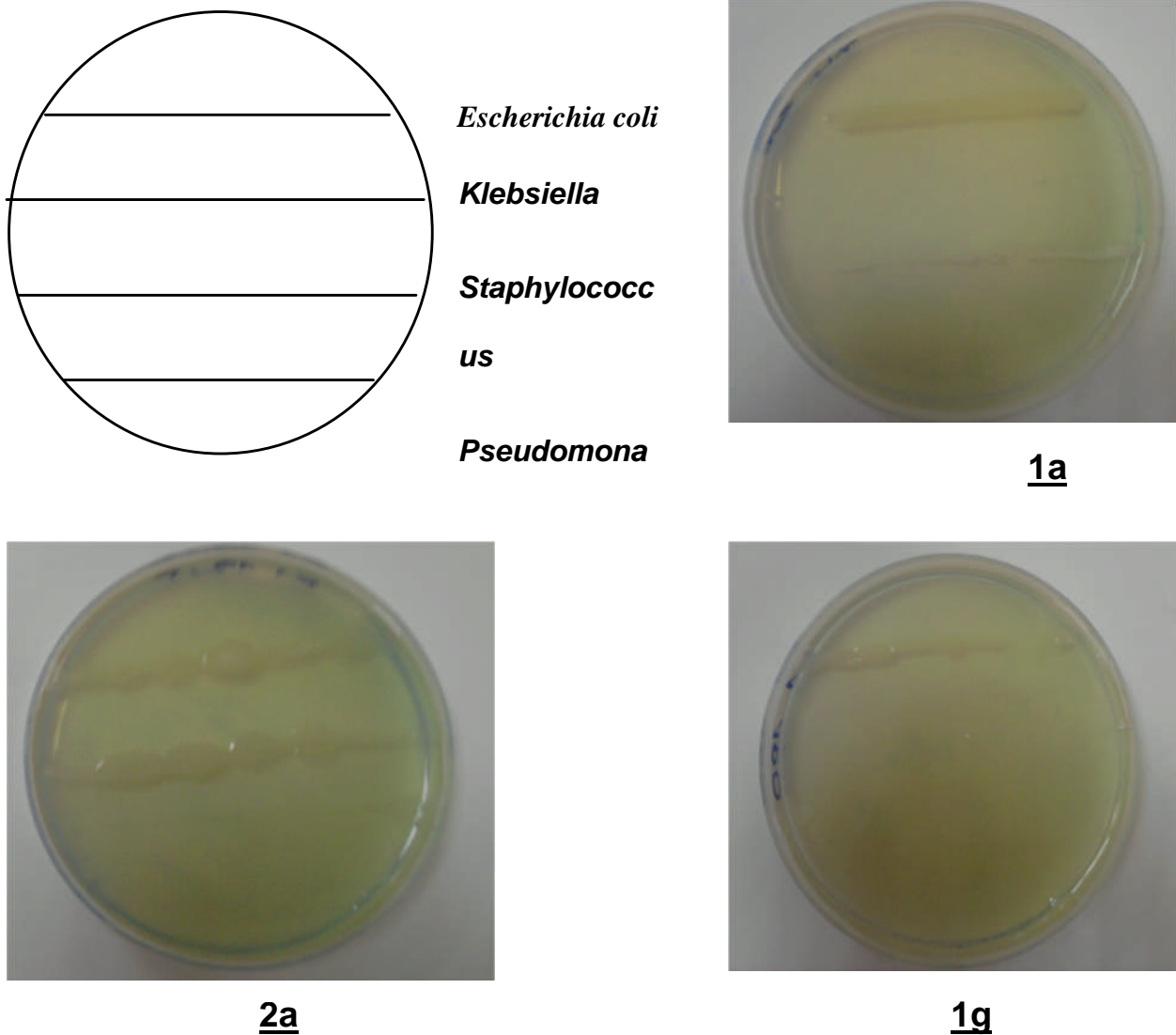
## EVALUATION DE L'ACTIVITE..... CHAPITRE III

Les résultats portés sur les tableaux ci-dessus, nous ont permis de limiter des intervalles pour les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des composés étudiés.

**Tableau III.3 :** les intervalles des CMI obtenus pour les composés étudiés.

Composés		Souches bactériennes				
		CMI en µg/ml				
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<b>Série I</b>	<b><u>1a</u></b>	H	-	<12.5	-	<12.5
	<b><u>1c</u></b>	NO <sub>2</sub>	-	<12.5	<12.5	<12.5
	<b><u>1d</u></b>	Cl	-	-	-	<12.5
	<b><u>1g</u></b>	OCH <sub>3</sub>	-	<12.5	<12.5	<12.5
<b>Série II</b>	<b><u>2a</u></b>	H	-	50-100	<12.5	<12.5
	<b><u>2b</u></b>	CH <sub>3</sub>	-	50-100	<12.5	<12.5
	<b><u>2c</u></b>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-	50-100	<12.5	<12.5

La (Figure III.6) illustre la méthode des stries pour les composés **1a**, **2a** et **1g** sur les souches testées.



**Figure III.6**

D'après le tableau cité dessus ; il apparait clairement que tous les produits synthétisés n'ont pas exercés une action inhibitrice sur *Escherichia coli* par contre on a obtenu des résultats satisfaisante pour le reste des souches telles que *Klebsiella*, *Staphylococcus* et *Pseudomonas*.

**1. les produits de la série I (les dimères) :**

- Les 1a, 1c, 1d et 1g n'ont pas donnés d'action sur la bactérie gram- *Escherichia coli*.
- 1c et 1g ont donnés une action inhibitrice sur les bactéries gram- *Klebsiella pneumoniaeles* et *Pseudomonas aeruginosa* et gram<sup>+</sup> *Staphylococcus aureus*, pour lesquels leurs CMI est : **CMI<12.5**.

## EVALUATION DE L'ACTIVITE..... CHAPITRE III

- Pour le **1a**, on remarque clairement l'absence de croissance pour *Klebsiella* et *Pseudomonas* (CMI<12.5 µg/ml) et une croissance sur la souche *Staphylococcus aureus*.
- **1d** a montré une action inhibitrice sur les souches *Klebsiella* et *Staphylococcus* et n'a montré aucune inhibition sur les autres souches.

### 2. les produits de la deuxième série (les imines) :

- **2a**, **2b** et **2c** n'ont pas donné d'action sur la bactérie *Escherichia coli*.
- **2a**, **2b** et **2c** ont montré une action inhibitrice sur les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (CMI<12.5 µ/ml), aussi sur la bactérie *Klebsiella pneumoniae* (50<CMI<100).

### III.3.2. Méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide :

D'après les résultats obtenus, les séries de produits testés semblent être doués d'une activité inhibitrice sur certaines classes de micro-organismes testées. Le diamètre d'inhibition est compris entre 10 et 16 mm. Les résultats sont reportés dans le tableau III.3.

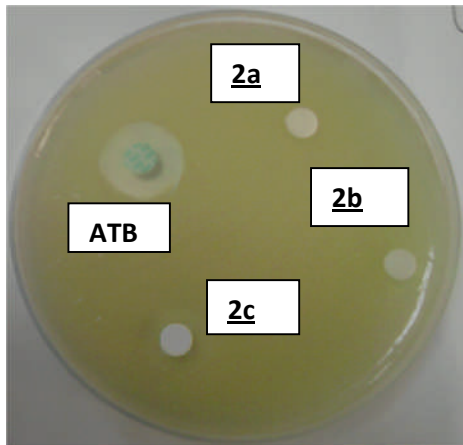
**Tableau III-4 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) des composés synthétisés sur les différentes souches.**

		Souches bactériennes				
		Composés	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		R				
Série I C=50 µg/ml	<b>1a</b>	H	<06	12	10	13
	<b>1c</b>	NO <sub>2</sub>	<06	13	14	10
	<b>1d</b>	Cl	<06	<06	12	16
	<b>1g</b>	OCH <sub>3</sub>	<06	16	10	11
Série II C=100 µg/ml	<b>2a</b>	H	<06	10	11	10
	<b>2b</b>	CH <sub>3</sub>	<06	15	10	12
	<b>2c</b>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<06	10	13	15
ATB (ampicilline)			16	<06	25	10
DMSO			<06	<06	<06	<06

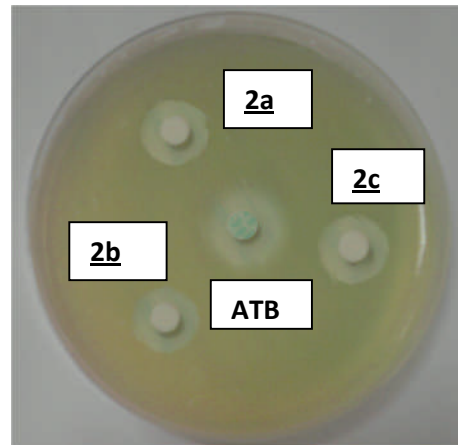
## EVALUATION DE L'ACTIVITE..... CHAPITRE III

Le solvant (DMSO) utilisés pour dissoudre les deux séries de produits n'a pas montré d'effet sur la croissance microbienne dans les conditions des tests effectués.

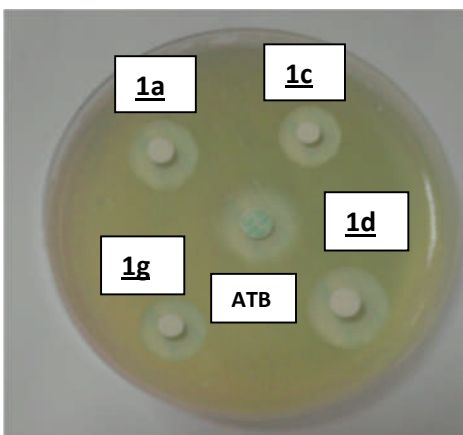
Sur la **Figure III.7**, nous présentons les photos représentant les auréoles d'inhibition des produits **1** et **2** sur les quatre souches utilisées.



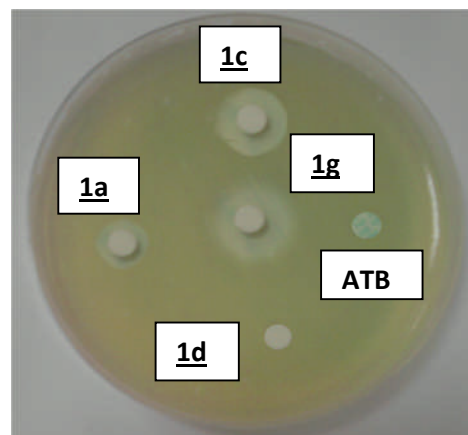
*Escherichia coli*



*Staphylococcus aureus*



*Pseudomonas aeruginosa*



*Klebsiella pneumoniae*

**Figure III.7**

A partir de ces résultats plusieurs constatations peuvent être dégagées

- tous les produits synthétisés n'ont pas exercés une action inhibitrice sur *Escherichia coli*.
- *Klebsiella pneumoniae* apparaît très sensible vis-à-vis des composés **1a**, **1c** et **1g** pour la **série I** et **2a-c** pour la **série II** avec des diamètres d'inhibition compris

entre 10-16 mm, par contre le **1d** n'a aucun effet sur la croissance de *Klebsiella pneumoniae*.

- Les produits de la **série I** et la **série II** provoquent des zones d'inhibition moyennement importante sur la souche *Staphylococcus aureus* (10-14 mm).
- *Pseudomonas aeruginosa* montre une inhibition importante (10-16 mm) pour les composés de la **série I** et la **série II**.

### Conclusion :

Les tests microbiologiques des composés synthétisés **1** et **2** sur des souches microbiennes d'intérêt médical (*Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) ont permis de mettre en évidence une activité antibactérienne d'intensité variable selon la structure et les souches étudiées. Les structures **1** et **2** présentent une activité inhibitrice intéressante sur la croissance de *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* et *Klebsiella*.

**Références bibliographiques**

- [1]- P.E Hart; Russel E.Jr & Remington J.S.- The compromised host and infection II, Deep fungal infection J. Infect.Dis., **1969**, 120, 169.
- [2]- Hill R.B.Jr, Rowlands D.J Jr & Rifkind D.- Infectious pulmonary disease in patient receiving immunosuppressive therapy for organ transplantation. N. Engl. J. Med. **1964**, 271, 1021.
- [3]- B. Patrick, G. Jean-Louis, S.Michel, Les bactéries des infections humaines. Bactériologie. Med. Sciences. Flammarion., 1ère édition. **1988**.
- [4]- R. Bouhfid, « Thèse Doctorat », **2007**, UNIVERSITÉ MOHAMMED V – AGDAL.
- [5]- H. C. Neu, Med. Clin. N. Am., **1988**, 72, 555.
- [6]- M. Ghannoun, L. B. Rice, Clin. Microbiol. Rev., **1999**, 12,501.
- [7]- V. Lorian, Antibiotics in laboratory medicine, 3<sup>rd</sup> Ed. Williams & Wilkins.
- [8]- M. Alchihab, J. Destain, M. Aguedo, P. Thonart, *Biotech.Agro.Soc et Env.*, **2010**, 14, 4.
- [9]- H. Pervze, H. P. Iqbal, M. Y. Tahir, F. H. Nasim, M. I. Choudhary, K. M. Khan, *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.*, **2008**, 23, 848.
- [10]- D. C. Greenbaum, Z. Mackey, E. Hansell, P. Doyle, J. Gut, C. R. Caffrey, J. Lehrman, P. J. Rosenthal, J. H. Mckerrow, K. Chibale, *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 3212.
- [11]- H. Arslan, N. Duran, G. Borekci, C.K. Ozer, C. Akbay, *Molecules*, **2009**, 14, 519.
- [12]- S. Saeed, N. Rashid, P. G. Jones, M. Ali, R. Hussain, *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, 45, 1323.
- [13]- J. P. Flandrois, M. Chomarar, *Bac. Med. Pra.*, **1988**.
- [14]- H. D. Isenberg, Ess. Pro. For. Clin. Micr., **1998**.
- [15]- Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandation de l'OMS, **1999**.
- [16]- J.L. Fauchère, J.L. Avril, "*Bactériologie générale et médicale*", **2002**.
- [17]- S. G. Deans, G. Ritchie, *Int. J. Food Microbiol.*, **1987**, 5,162.
- [18]- M. Lis-Balchin, S. L. Hart, et coll., *Phytotherap. Research*, **2000**, 14, 623.
- [19]- S. A. Burt, R. D. Reinders, *Lett. Appl. Microbiol.*, **2003**, 36,162.
- [20]- M. L. Faleiro, M. G. Miguel, et coll., *Lett. Appl. Microbiol.*, **2003**, 36,35.
- [21]- O. Kunle, J. Okogun, et coll., *Phytomed.*, **2003**, 10,59.

# **CONCLUSION GENERALE**

Au cours de notre mémoire, nous avons réalisé un travail qui s'inscrit dans la thématique de notre laboratoire et qui concerne la synthèse et l'évaluation biologique de nouveaux dérivés hétérocycliques.

L'objectif de notre travail consiste à réaliser la synthèse des molécules à partir de lactones à cinq chaînons et à évaluer leur pouvoir antimicrobien.

Dans le premier chapitre, nous avons présenté l'intérêt biologique et synthétique de l'acide tétronique, des structures dimères ainsi des thiosemicarbazides. Un aperçu des différentes méthodes de synthèse décrites dans la littérature a été également décrit.

Dans un deuxième chapitre, nous avons synthétisé une structure dimer de l'acide tétronique. La réaction consiste à condenser deux équivalents de l'acide tétronique avec un équivalent des dérivés du benzaldéhyde dans des conditions douces. Les produits finaux ont été obtenus avec un bon rendement par la suite nous avons présenté la synthèse des structures de type imine-énaminone par action de la structure 2-acetyl- $\gamma$ -butyrolactone sur les dérivés de la thiosemicarbazide selon deux processus différents, en présence et en l'absence de catalyseur. L'emploi de l'hétéropolyacide de type Keggin ( $H_4SiW_{12}O_{14}, nH_2O$ ) a diminué d'une façon remarquable le temps de la réaction et amélioré le rendement. En solution, l'amine libre de la thiosemicarbazide réagit avec le groupement acétyle de 2-acetyl- $\gamma$ -butyrolactone pour conduire à la structure imine-énaminone attendue.

Toutes les structures des produits synthétisés ont été établies sur la base des données RMN  $^1H$ ,  $^{13}C$ , et la spectrométrie de masse.

Enfin, nous avons présenté dans le troisième chapitre, l'évaluation du pouvoir antimicrobien des produits synthétisés sur des souches microbiennes d'intérêt médical. Les tests biologiques ont permis de mettre en évidence une activité antibactérienne d'intensité moyenne (zone d'inhibition entre 10-16 mm) selon la structure des composés et les souches étudiées. Ces résultats préliminaires sont prometteurs, il serait intéressant de poursuivre les investigations en opérant d'autres pharmacomodulations sur ces structures afin d'améliorer l'activité antimicrobienne ou d'induire d'autres propriétés biologiques telle que l'activité anti-inflammatoire.