

N° d'ordre :

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

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

**Fonctionnarisation des coumarines en présence des
heteropolyacides (HPAs)**

Présenté par : M^{elle} AIT ZIANE Chahinaz
M^{elle} MOKHEBI Sonia

Soutenu publiquement, le 13 / 07 / 2023 *devant le Jury composé de :*

<i>Mr LAYEB Hatem</i>	<i>MCB</i>	<i>UMMTO</i>	<i>PRESIDENT</i>
<i>M^{me} MAZARI Tassadit</i>	<i>Professeur</i>	<i>UMMTO</i>	<i>ENCADREUR</i>
<i>M^{me} MAKHLOUFI Malika</i>	<i>Professeur</i>	<i>UMMTO</i>	<i>Co-ENCADREUR</i>
<i>Mr CHAKNOUNE Salem</i>	<i>MCB</i>	<i>UMMTO</i>	<i>EXAMINATEUR</i>

Année universitaire : 2022-2023



Remerciements

Nous En préambule à ce mémoire nous remercions pour Dieu le tout puissant pour nous avoir donné la force, la volonté, la patience et le courage nécessaire pour réaliser ce travail.

Ce mémoire n'aurait pu voir le jour sans la participation de nombreuses personnes, on va essayer de trouver les mots justes pour exprimer spécifiquement nos reconnaissances à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail.

Ce travail a été effectué au Laboratoire organique département de chimie de la faculté des sciences de l'UMMTO par notre promotrice M^{me} MAZARI TASSADIT Professeure au Département de Chimie de l'UMMTO et notre Co-promotrice M^{me} MAKHLOUFI Malika, que nous remercions chaleureusement d'avoir encadré ce travail, avec beaucoup de compétences, d'enthousiasme et de disponibilité. Les efforts que vous nous avez fournis, le temps que vous nous avez consacré, les conseils avisés qui éclaireront notre chemin, on ne pourrait jamais assez-vous remercier à la hauteur de ce que vous nous avez donné. Merci pour vos conseils, votre optimisme et la confiance que vous nous avez accordés qui a permis la réalisation de ce travail de recherche. On espère avoir été à la hauteur de votre attente.

Nos remerciements vont aussi :

À M. LAYEB Hatem qui nous a honorés de sa présence en acceptant de présider le jury de cette soutenance. À M. CHEKNOUNE Salem qui a acceptés d'examiner ce travail.

Nous remercions M. DERMECHE Samia et a tous les techniciens du Laboratoire microbiologie UMMTO de nous avoir permis de réaliser ce travail au sein du laboratoire microbiologique et pour les moyens matériels mis à notre disposition.

Nous tenons à remercier M^{me} AMEROUN Leila, PES au Lycée Abane Ramdane (T.O) et doctorante au sein de notre université pour ses conseils, ses orientations, sa disponibilité, son aide, son encadrement et surtout sa gentillesse

Les techniciennes du laboratoire de chimie organique pour leurs conseils et leurs confiances qui nous ont permis de travailler dans les meilleures conditions possibles.

Enfin, nos remerciements vont vers toutes les personnes qui, de près ou de loin nous ont apportés leur soutien, leur conseil et leur contribution dans la réalisation de ce mémoire.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail particulièrement.

A mes très chers parents, je suis fière et contente de réaliser une partie de ce que vous avez tant espéré et attendu de moi, aucun mot ni dédicace ne saurait exprimée à sa juste valeur, pour toutes les souffrances que vous avez endurées. Je vous dis infiniment merci. Que dieu vous garde et vous accorde longue vie.

A mes très chers frères.

A mon fiancé qui m'a toujours soutenu et à sa famille.

A mes chers amis.

A mon binôme ainsi que sa famille.



Chahinaz



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail particulièrement.

A mes très chers parents, je suis fière et contente de réaliser une partie de ce que vous avez tant espéré et attendu de moi, aucun mot ni dédicace ne saurait exprimée à sa juste valeur, pour toutes les souffrances que vous avez endurées. Je vous dis infiniment merci. Que dieu vous garde et vous accorde longue vie.

A mes très chers frères et sœurs.

A ma famille et particulièrement : Bahia, Maissa.

A mes chers amis : Kamel, Nacera.

A mon binôme ainsi que sa famille.



Sonia

Liste des figures

Figure I.1 : Arbre de Tonka	3
Figure I.2 : Structure général des bactéries.....	11
Figure I.3 : Représentation des éléments de la structure de Keggin.....	13
Figure II.1 : Précipité blanc de 6-nitrocoumarine.....	20
Figure II.2 : Réaction de réduction de 6-nitrocoumarine	23
Figure II.3 : Réaction des bases de schiff.....	24
Figure II.4 : Réaction de test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	26
Figure II.5 : Principe de la méthode de diffusion sur disque.....	27
Figure III.1 : Spectres UV-Visible de la coumarine 1 et de la 6-nitrocoumarine 2...	40
Figure III.2 : Spectre FT-IR du 6-nitrocoumarine 2.....	41
Figure III.3 : Spectres UV -Visible du 6-Aminocoumarine.....	43
Figure III.4 : Spectre FT-IR du 6-aminocoumarine 3	44
Figure III.5 : Spectres UV Visible des composés 4a-d	46
Figure III.6 : Spectre FT-IR du composé 4a	47
Figure III.7 : Spectre FT-IR du composé 4b	48
Figure III.8 : Spectre FT-IR du composé 4c	48
Figure III.9 : Spectre FT-IR du composé 4d	49
Figure III.10 : Mécanisme de la synthèse des bases de Schiff.....	50

- Figure III.11** : Densité Optique (absorbance) en fonction de la concentration des composés coumarine **1**, 6-nitrocoumarine **2**, 6-aminocoumarine **3** et des bases de Schiffs **4a-d** et de l'AA..... 52
- Figure III.12** : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du composé **4a**. 53
- Figure III.13** : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du Composé **4b** 53
- Figure III.14** : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du Composé **4c** 53
- Figure III.15** : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du Composé **4d** 54
- Figure III.16** : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de l'AA 54
- Figure III.17** : Valeur d'IC50 des composés 4a-d et de l'acide ascorbique (AA) 55
- Figure III.18** : Résultats de l'activité antibactérienne des composés synthétisés . 56
- Figure III.19** : Diamètre des zones d'inhibition des composés **1, 2, 3, 4a-d** et le Chloramphénicol (ATB)..... 58

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Nitration des dérivés de la coumarine dans la littérature	8
Tableau II.1 : Données relatives aux différents réactifs utilisés	15
Tableau II.2 : Durée, rendement et points de fusion du composé nitrocoumarine 2 synthétisé par utilisation de l'HPA.....	22
Tableau II.3 : Durée, rendements et points de fusion des composés 4a-d synthétisés.....	24
Tableau III.1 : Rendement de la synthèse classique du 6-nitrocoumarine en présence de H ₂ SO ₄ (solvant et catalyseur)	31
Tableau III.2 : Effet de la température	33
Tableau III.3 : Effet de la quantité du catalyseur	33
Tableau III.4 : Effet de la nature et de la composition du catalyseur	34
Tableau III.5 : Effet de la présence et de la nature du solvant	34
Tableau III.6 : Effet du rapport stœchiométrique coumarine / HNO ₃	35
Tableau III.7 : Optimisation de la quantité du catalyseur et du volume de H ₂ SO ₄	36
Tableau III.8 : Effet du rapport H ₂ SO ₄ /H ₂ O sur le rendement en 6-nitrocoumarine 2	37
Tableau III.9 : Effet de la composition de l'hétéropolyacide sur le rendement en 6-nitrocoumarine 2	38
Tableau III.10 : Effet de l'agent nitrant sur le rendement en 6-nitrocoumarine ...	38
Tableau III.11 : Point de fusion du 6- nitrocoumarine 2	39

Tableau III.12 : Résultats d'une CCM effectuée pour la réaction de nitration d'une coumarine.....	40
Tableau III.13 : Quelques bandes de vibrations caractéristiques de la 6-nitrocoumarine.....	41
Tableau III.14 : Rendement de la synthèse du 6-aminocouamrine 3	42
Tableau III.15 : Résultats d'une analyse CCM effectuée pour la réaction de réduction du 6-nitrocoumarine 2 en 6-aminocoumarine 3	43
Tableau III.16 : Quelques bandes de vibrations caractéristiques de la 6-aminocoumarine 3	44
Tableau III.17 : Synthèse des bases de Schiff 4a-d en présence de l'HPA	45
Tableau III.18 : Résultats des CCM effectuées pour les quatre bases de schiff 4a-d synthétisées	46
Tableau III.19 : Bandes de vibrations relatives aux quatre bases de Schiff synthétisées à partir de l'analyse FT-IR.....	49
Tableau III.20 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH [·] des bases de Schiff 4a-d et de l'AA.....	52
Tableau III.21 : Les valeurs des IC50 % des composés 4a-d et de l'acide ascorbique AA	55
Tableau III.22 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des molécules testées....	57

Liste des schémas

Schéma I.1 : Structure générale d'une coumarine	3
Schéma I.2 : Structures de quelques composés hydroxy-4-méthylcoumarines.....	5
Schéma I.3 : Dérivés de la bis-coumarine à activité antibactérienne	6
Schéma I.4 : Différentes voies de synthèses des coumarines	7
Schéma I.5 : Nitration d'une coumarine simple dans des conditions classiques...	8
Schéma I.6 : Synthèse de 6-amino-coumarine.....	9
Schéma I.7 : Réaction générale de formation de base de Schiff.....	9
Schéma II.1 : Schéma de synthèse du 6-nitrocoumarine 2	20
Schéma II.2 : Schéma de synthèse du 6-aminocoumarine 3	22
Schéma II.3 : Schéma de synthèse des bases de Schiff à partir du 6-aminocoumarine 3	23
Schéma III.1 : Nitration de la coumarine	30
Schéma III.2 : Mécanisme de formation de l'électrophile NO_2^+	31
Schéma III. 3 : Nitration de la coumarine en présence de l'HPA et en absence de H_2SO_4	32
Schéma III.4 : Mécanisme de formation de 6-Nitrocoumarine 2	42
Schéma III.5 : Synthèse du 6-aminocoumarine 3	42

Sommaire

Introduction générale	1
Chapitre I : Etudes bibliographiques	
I. COUMARINES	3
I.1. Définition	3
I.2. Historique	4
I.3. Classification.....	4
I.4. Activités biologique des coumarines	4
I.4.1. Activité antioxydante	5
I.4.2. Activité antibactérienne	5
I.4.3. Activité antifongique	6
I.5. Voies de synthèse des coumarines	6
I.6. Fonctionnalisation des coumarines	7
I.6.1. Nitration des coumarines	7
I.6.2. Réduction des nitro- coumarines	9
I.6.3. Bases de Schiff.....	9
II. ACTIVITE BIOLOGIQUE	10
II.1. Activité antioxydante	10
II.2. Activité Antibactérienne.....	10
II.2.1. Définition des bactéries	10

III. HETEROPOLYACIDES	12
III.1. Définition	12
III.2. Propriétés des hétéropolyacides	13
III.3. Applications des hétéropolyacides	14

Chapitre II : Partie expérimentale

PARTIE. I : REACTIFS ET APPAREILLAGES	15
I.1. Réactifs	15
I.2. Appareillages et techniques analytiques	17
I.2.1. Points de fusion (Pf).....	17
I.2.2. Chromatographie sur couche mince	17
I.2.3. Spectroscopie Ultraviolet-Visible.....	18
I.2.4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR).....	18
PARTIE II : SYNTHÈSE DES DIRIVES DE LA COUMARINE	18
II.1. Synthèse du 6-nitrocoumarine (2)	19
II.1.1. Procédures.....	19
II.2. SYNTHÈSE DE 6-AMINOCOUMARINE (3)	22
II.3. Synthèse des bases de Schiff (4a-d)	23
PARTIE III : ACTIVITE BIOLOGIQUE	25
III.1. Activité antioxydante	25
III.2. Activité antibactérienne.....	27

Chapitre III : Résultats et discussions

PARTIE I : RESULTATS DES SYNTHESSES DES DIRIVES DE LA COUMARINE	30
I. SYNTHÈSE DU 6-NITROCOUMARINE	30
I.1. Présentation de la réaction	30
I.2. Synthèse du 6-nitrocoumarine dans les conditions classiques	30
I.3. Synthèse du 6-nitrocoumarine en absence de H ₂ SO ₄ / ou en présence de H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀	32
I.3.1. Etude préliminaire.....	32
I.3.2. Discussion des résultats de l'étude préliminaire	35
I.4. Synthèse du 6-nitrocoumarine en présence simultanée de H ₂ SO ₄ et H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀	35
I.4.1. Effet du rapport H ₂ SO ₄ /H ₂ O	36
I.4.2. Effet de la composition de l'HPA sur le rendement en 6-Nitrocoumarine ...	37
I.4.3. Effet de la variation de l'agent nitrant sur le rendement en 6-Nitrocoumarine.....	38
I.5. Caractérisation des 6-Nitrocoumarine	39
I.5.1. Mesure des points de fusion (Pf)	39
I.5.2. Caractérisation par CCM	40
I.5.3. Spectroscopie Ultraviolet visible	40
I.5.4. Caractérisation par FT-IR	41
I.6. Mécanisme de la formation du 6-Nitrocoumarine en présence de H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀	41

II. SYNTHÈSE DU 6-AMINOCOUMARINE (3)	42
II.1. Présentation de la réaction	42
II.2. Caractérisation de 6-aminocoumarine.....	43
II.2.1. Caractérisation par CCM	43
II.2.3. Spectroscopie Ultraviolet Visible.....	43
II.2.4. Caractérisation par FT-IR.....	44
III. SYNTHÈSE DES BASES DE SCHIFFS	44
III.1. Caractérisation des bases de Schiff.....	45
III.1.1. Mesure des points de fusion (Pf).....	45
III.1.2. Caractérisation par CCM.....	45
III.1.3. Spectroscopie Ultra-violet Visible	46
III.1.4. Caractérisation par FT-IR.....	47
III.2. Mécanisme de la formation des bases de Schiff	49
PARTIE II : RESULTAS DES ACTIVITES BIOLOGIQUES	51
I. ACTIVITE ANTIOXYDANTE	51
I.1. Détermination de la CE50 ou IC50.....	54
II. Activité Antibactérienne.....	55
Conclusion générale	60

Introduction générale

Les hétérocycles représentent une famille de composés très importante en chimie organique de part leur grand intérêt biologique et industriel. Qu'ils soient d'origine naturelle ou synthétique, les composés hétérocycliques ont suscité l'intérêt des chercheurs visant leurs diverses applications industrielles et plus particulièrement leur intérêt pharmaceutique. Leur préparation représente un défi constant du chimiste de synthèse organique moderne.

Les enjeux contemporains reposent sur le développement de méthodologies de construction et/ou de fonctionnalisation de plus en plus simplifiées en faisant 'mieux avec moins', en procédant à une économie d'atomes et d'étapes de synthèse, tout en proposant davantage de possibilités de fonctionnalisation en termes de sites et de diversité de substitution. Ainsi, des méthodes respectueuses de l'environnement et du manipulateur, sélectives, efficaces et durables doivent être mise en œuvre pour accéder à des hétérocycles polyfonctionnalisés à visée thérapeutique.

Parmi ces méthodes, la réduction ou la non utilisations de solvants organiques, toxiques, corrosifs et nuisibles pour l'homme et pour l'environnement d'une part et l'usage de catalyseurs solides hétérogènes, peu polluants et récupérables d'autre part. En plus de la réduction des dépenses énergétique soit par changement de mode d'activation ou en travaillant à température ambiante.

C'est dans cette optique que s'inscrit l'objectif de ce projet de Master qui a pour but principal de fonctionnaliser la coumarine via un processus de réaction successives, en substituant l'acide sulfurique (acide toxique et corrosif) par un hétéropolyacide, super acide inerte et respectueux de l'environnement d'une part. D'autre part les synthèses ont été effectuées à température ambiante avec le minimum de solvant possible. Ainsi, des dérivés de coumarines fonctionnalisés ont été synthétisés (nitro-coumarine, amino-coumarine et 4 bases de Shiffs), caractérisés et leurs activités biologiques ont été évaluées. Il est important de signaler que $\frac{3}{4}$ des bases de Shiffs synthétisées sont inédites.

Ce mémoire est subdivisé en trois grands chapitres :

- Le premier chapitre consiste en une étude bibliographique non exhaustive partagée en trois parties (Coumarines et dérivés, activité biologique et hétéropolyacides);
- Le second, est réservé aux différentes démarches expérimentales entreprises lors de la réalisation des différentes étapes de ce travail ainsi qu'à la présentation des caractéristiques des différents réactifs utilisés et la description des appareillages.
- Le dernier chapitre est dédié à la présentation des résultats des différentes étapes de synthèse, de caractérisation physico-chimiques et d'évaluation des activités biologiques des molécules élaborées ainsi qu'à leurs discussions.
- Au final, une conclusion générale qui résumera les principaux résultats obtenus clôturera ce travail.

Chapitre I

Etudes bibliographiques

Dans ce chapitre il serait question de présenter les différents éléments clés de ce projet à savoir : les coumarines et leurs dérivés, l'activité biologique (antioxydante, antibactérienne,...) ainsi que les hétéropolyanions (HPA).

I. COUMARINES

I.1. Définition

Le nom de coumarine vient de « coumarou », nom vernaculaire de la « fève Tonka » (Fig I.1) qui est le fruit d'un arbre de la Guyane (*Dipteryx odorata* Willd, syn. *Coumarouna odorata* Aubl., Fabaceae). De ce fruit fût isolée en 1820 pour la première fois par Vogel une substance cristalline odorante appelée coumarine [1].



Figure I.1 : Arbre de Tonka

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base benzo-2-pyrone. Ces composés sont très importants et diversifiés car, beaucoup d'entre eux, existent à l'état naturel. En effet, aujourd'hui, près d'un millier de coumarines ont été décrites dans plus de 800 espèces de plantes et dans des micro-organismes (Schéma I.1) [2] ;

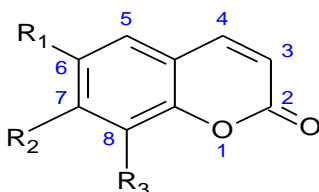


Schéma I.1 : Structure générale d'une coumarine

I.2. Historique

Selon Ojala et al [3] ; l'étude des coumarines a commencé il y a plus de 200 ans. Ainsi :

- En 1936, Von Werder et al ont qualifié les coumarines comme d'agents thérapeutiques.
- En 1958, Bose a résumé la plupart des propriétés biologiques des coumarines naturelles.
- En 1964, Soin a publié une révision sur les effets biologiques et pharmacologiques des coumarines connus, avec un accent particulier sur l'activité associée aux produits naturels.
- Plus récemment, en 1972, Scheel a publié une revue sur l'action biologique des coumarines.
- Depuis les années 1980 à ce jour, il y a eu un certain nombre d'excellentes revues sur les coumarines, principalement en ce qui concerne leurs activités biologiques [4].

I.3. Classification

La coumarine est le point de départ d'une famille de composés, qui se forment par substitution de son cycle aromatique. De ce fait, d'après la nature des substituants on peut classer les coumarines en : coumarines simples, pyranocoumarines, dicoumarines, furanocoumarines, isocoumarines et phénylcoumarine [5].

I.4. Activités biologique des coumarines

Les coumarines ont un large spectre de propriétés biochimiques et pharmacologiques. L'activité de ces molécules dépend de la structure et de la nature des substituants [6]. On peut citer ainsi :

I.4.1. Activité antioxydante

Les différentes études ont montré clairement que les coumarines phénoliques sont de bons agents antioxydants efficaces dans les systèmes biologiques [7]. Les dernières mises à jour dans ce domaine sont présentées ci-dessous :

- En 2019, Couttolenc et col [8] ont étudié l'activité de piégeage des radicaux de trois hydroxy-4-méthyl-coumarines (Schéma.I.2) au moyen de méthodes expérimentales et théoriques.

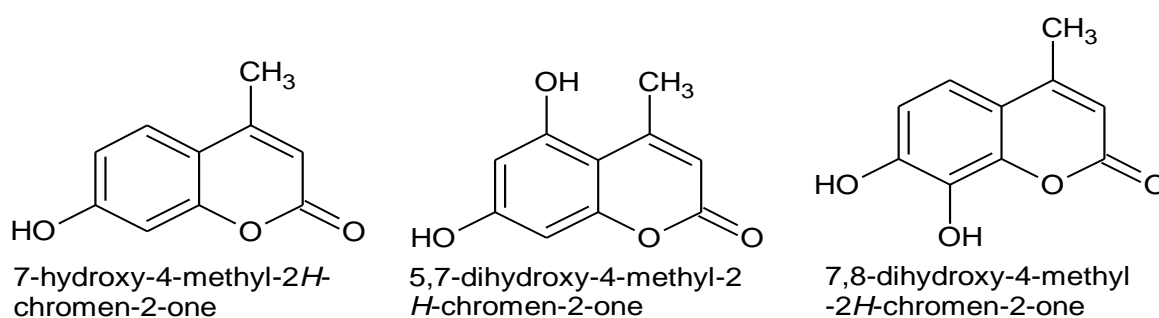


Schéma I.2 : Structures de quelques composés hydroxy-4-méthylcoumarines

I.4.2. Activité antibactérienne

Pour l'activité antibactérienne, il y a lieu de noter que les coumarines sont efficaces contre les bactéries G+ (gram positif) à des concentrations élevées à raison de 300 à 500 ppm. Les extraits des feuilles d'ascerplatanoïdes et aesculus luppocastanum inhibent remarquablement la croissance des bactéries responsables de la décomposition du cellulose polyanigum cellulosum [9]. Dans ce contexte :

- En 2018, Chougala et ses coll ont élaboré une série de dérivés de la bis-coumarine (**Schéma I.3**), en partant de l'idée que l'introduction d'un noyau coumarine supplémentaire sur une molécule coumarine parente pourrait améliorer son activité antibactérienne [10].

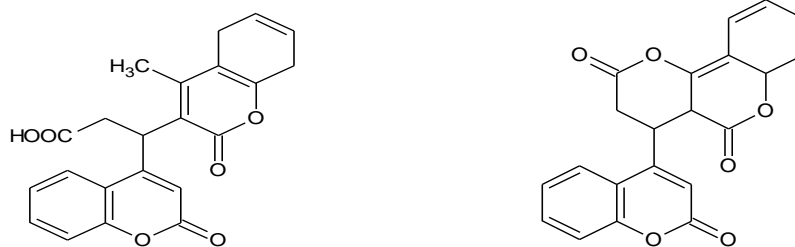


Schéma I.3 : Dérivés de la bis-coumarine à activité antibactérienne

- En 2020, N. Khaldi et coll ont isolés plusieurs molécules à noyaux coumariniques via la condensation de Knoevenagel. Certaines d'entre elles ont montré une excellente activité antibactérienne [11]

I.4.3. Activité antifongique

En 2016, Shaik et col [12] ont préparé une série de dérivés de la coumarine conjugués à des fragments de 1, 2,3-triazole. L'effet antifongique de ces nouveaux composés a été testée contre *Candida albicans* et quatre autres pathogènes fongiques (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* et *Cryptococcus neoformans*). D'autres travaux ont montré que les coumarines peuvent être d'importants agents anti HIV, anti tumoraux [13] anticancéreux [14], anti inflammatoire [15] et même vasodilatateurs [16].

I.5. Voies de synthèse des coumarines

Il existe plusieurs voies de synthèse des coumarines dont les plus connues sont les réactions de : Perkin [17], Knoevenagel [18], Wittig, Reformatsky [19] et Pechmann [20]. Les deux premières permettent la synthèse des coumarines à partir des aldéhydes, la troisième à partir soit d'aldéhydes ou de cétones tandis que la dernière (Pechmann) utilise des phénols (**Schéma I.4**).

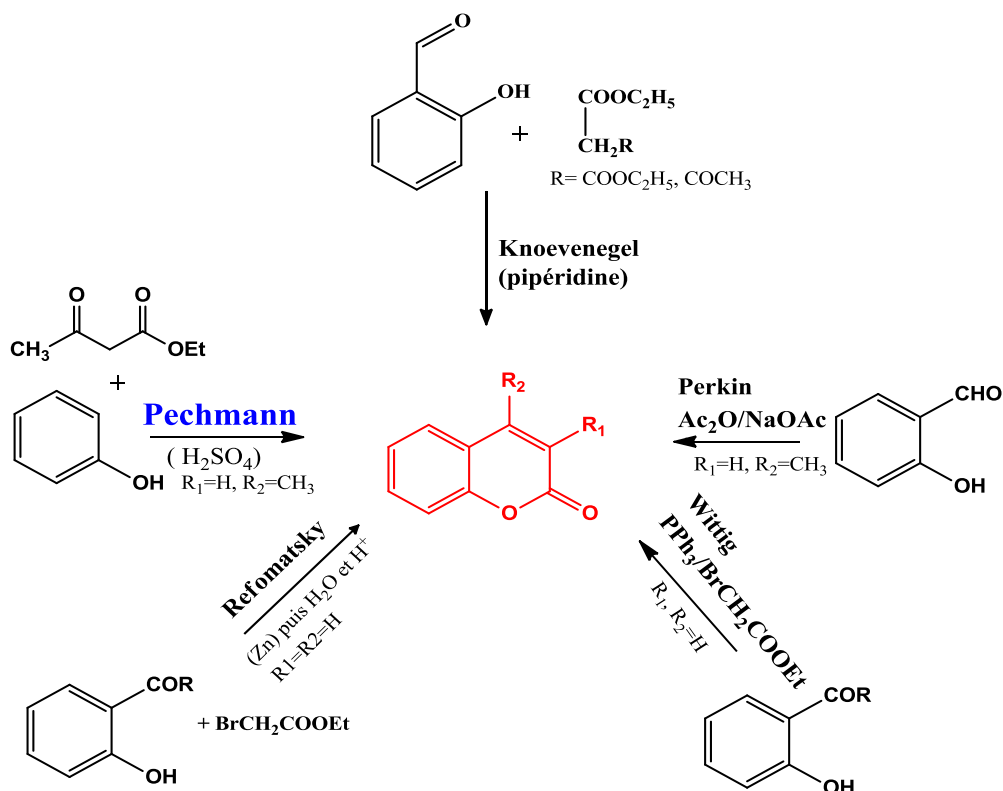


Schéma I.4 : Différentes voies de synthèses des coumarines

La fonctionnalisation des coumarines permet d'obtenir de nouvelles molécules aussi intéressantes sur le plan biologique et pharmacologique. Il existe plusieurs façons de les fonctionnaliser à savoir : la nitration, la réduction, la préparation des bases de Schiff, la combinaison avec d'autres molécules pour former des hybrides,

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce projet de master.

I.6. Fonctionnalisation des coumarines

I.6.1. Nitration des coumarines

La nitration des composés organiques est un domaine de recherche très actif et gratifiant car ce sont des éléments de base de la chimie organique synthétique. En effet, les composés aromatiques nitrés ont été largement utilisés comme matière première pour la synthèse d'une large gamme de substances utiles, tels que les colorants, les produits pharmaceutiques, les parfums et les plastiques [21]. Ils peuvent

aussi être utilisés comme précurseurs dans la préparation de diverses amines par un processus de réduction et à partir de cette réduction on peut synthétiser quelques bases de Schiff qui ont un grand intérêt biologique [22].

- **Nitration classique de la coumarine**

La nitration classique des aromatiques est de type électrophile (Schéma I.5). Elle nécessite généralement l'utilisation d'un excès d'acide nitrique ou d'un mélange d'acide nitrique et d'acide sulfurique, ce qui entraîne un excès de déchets acides [23] aussi nocifs que corrosifs conduisant ainsi à une pollution très étendue à trois dimensions.

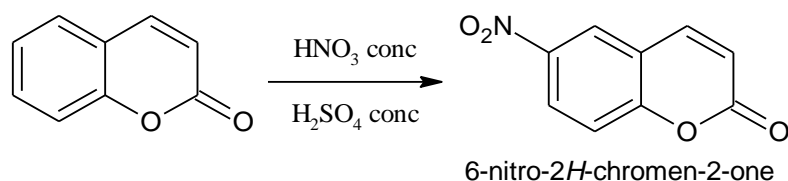


Schéma I.5 : Nitration d'une coumarine simple dans des conditions classiques

Il est à noter que la nitration des coumarines dans la littérature est très peu rapportée. Le tableau I.1, est une synthèse des quelques travaux déjà réalisés dans ce domaine à ce jour.

Tableau I.1 : Nitration des dérivés de la coumarine dans la littérature

Catalyseur	Agent nitrant	Conditions	Référence
H ₂ SO ₄	HNO ₃ /H ₂ SO ₄	-5 °C/ 1h à Tamb	[24]
AcOH	Ca(NO ₃) ₂ ,4H ₂ O	60°C/1h	[25]
(CH ₃ CO) ₂ O	Cr(NO ₃) ₃ , 9H ₂ O	T. Amb/ 1,5h	[26]
H ₄ SiMo ₁₂ O ₄₀	FeNO ₃	80°C/1,5h	[27]

I.6.2. Réduction des nitro-coumarines

D'une manière générale, la réduction des dérivés nitrés aromatiques peut avoir lieu soit avec l'hydrogène en présence de catalyseur (Ni, Pt ou Pd) ou avec le fer, l'étain ou le zinc en présence d'un acide minéral [28]. Elle constitue une méthode de synthèse importante des amines primaires R-NH₂. Plusieurs procédés peuvent être envisagés : l'action d'un métal en milieu acide, celle d'un hydrure, l'hydrogénation catalytique, ou le transfert d'hydrogène d'un composé donneur [29] (**Schéma I.6**).

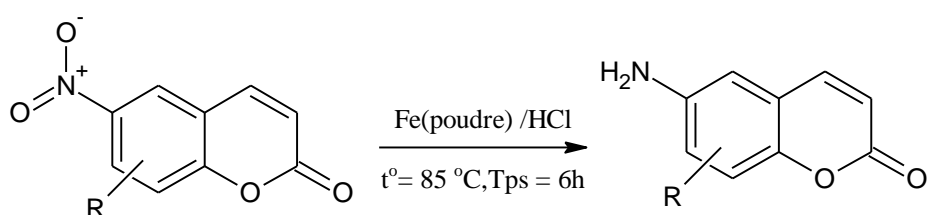


Schéma I.6 : Synthèse de 6-amino-coumarine

I.6.3. Bases de Schiff

Les bases de Schiff représentent une contribution importante dans le domaine de la chimie organique et en particulier hétérocycliques. Ces composés interviennent dans différents domaines de recherche et d'application, tels que la médecine l'industrie alimentaire, la catalyse, et surtout la chimie pharmaceutique où ils sont utilisés en particulier comme agent anti-inflammatoire, anti-tumorale, anti-VIH, anticancéreux, et dans le traitement des maladies diverses (accumulation du cuivre dans le foie, le cerveau, et les reins) [30]. En effet, des efforts considérables ont été déployés pour développer les méthodes de synthèse de ces composés, utilisant différentes méthodes physicochimiques et biologiques [31]. Les premières synthèses de ce type de composés ont été réalisées en 1864 par Hugo Schiff via la condensation d'une amine primaire avec un composé carbonyle actif (Schéma I.7) [32].

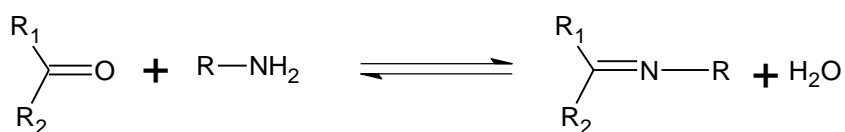


Schéma I.7 : Réaction générale de formation de base de Schiff

Des bases de Schiff peuvent aussi être obtenues en partant de l'aminocoumarine comme amine et différents aldéhydes tels est le cas de ce travail.

II. ACTIVITE BIOLOGIQUE

II.1. Activité antioxydante

L'oxydation est l'une des plus importantes manifestations à l'origine du vieillissement des produits alimentaires et cosmétiques...etc. Les dégradations oxydatives affectent les qualités nutritionnelles et sensorielles des aliments et peuvent avoir des répercussions sur la santé du consommateur. Elles sont également mises en causes dans le vieillissement des tissus biologiques et des organismes ainsi que dans de nombreuses pathologies. Les antioxydants sont des molécules naturellement présentes dans de nombreux aliments et qui ont pour fonction de capter les radicaux libres. Ces derniers endommagent nos cellules, y compris l'ADN, et sont responsables notamment de leurs vieillissements. Les antioxydants les plus connus sont les vitamines A, C et E ainsi que toute la famille des polyphénols et les caroténoïdes [33]

II.2. Activité Antibactérienne

Les antibactérienne, et les antibiotiques ont été le principal moyen de sauver d'innombrables vies humaines. Malgré tout, les infections demeurent un problème important dans la santé publique, causant au-delà de 13 millions de décès à chaque année [34]. Aujourd'hui où la résistance des germes aux antibiotiques devient de plus en plus préoccupante, de nouveaux composés organiques montrent leur efficacité.

II.2.1. Définition des bactéries

Les bactéries sont des organismes microscopiques, souvent parasites des animaux et des végétaux, ou vivant aux dépens des matières organiques en décomposition. Les bactéries, apparues sur Terre il y a 3,8 milliards d'années, se rencontrent partout et se multiplient, quand les circonstances leur sont favorables, avec une remarquable rapidité. Leurs dimensions sont très faibles, typiquement de l'ordre du micromètre (μm) [35].

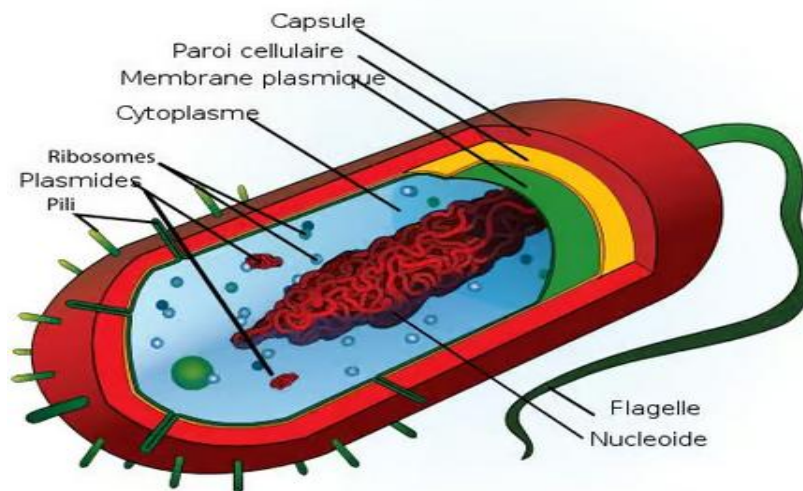


Figure I.2 : Structure général des bactéries

a. Bactéries à Gram positif

Les bactéries à Gram positif rassemblent des genres bactériens tels que *Bacillus*, *Staphylococcus*, physiologiquement et génétiquement distincts qui partagent un écosystème commun en tant que parasites de l'homme, elles sont responsables d'un tiers de leurs infections bactériennes. Leurs couches sont très épaisses contrairement à celles des bactéries à Gram négatif. Elles sont mises en évidence par une technique de coloration appelée coloration de Gram [36-37].

Les bactéries à Gram positif utilisées dans ce travail sont :

a.1. *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des bactéries, impliquées dans des pathologies variées et souvent responsables d'infections contractées dans les hôpitaux. Leur habitat naturel est constitué par les flores cutanées et muqueuses humaines et animales [38].

a.2. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est responsable de toxi-infections caractérisées par des symptômes diarrhéiques, ainsi que d'intoxications se traduisant par des symptômes émétiques. Il s'agit d'un bacille à coloration de Gram positive.

b. Bactéries à Gram négatif

Les bactéries à Gram négatif représentent un groupe bactérien hétérogène qui comprend les Entérobactéries et d'autres genres comme *Pseudomonas*. Les infections dues aux bacilles à Gram négatif sont devenues de plus en plus fréquentes surtout en milieu hospitalier. Ce sont des bactéries qui lors de la coloration par la méthode de Gram, éliminent le cristal violet (effet de l'éthanol) et paraissent roses.

Les bactéries à Gram négatif utilisées dans ce travail sont :

b.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa (PA), ou bacille pyocyanique, est un germe Gram négative, très répandu dans l'environnement, pathogène opportuniste, parfois commensal de sujets sains, fréquemment résistant aux biocides et aux antibiotiques [39].

Le dernier élément clé de ce travail est les matériaux utilisés comme catalyseurs. Il s'agit des hétéropolyacides (HPA) d'où la brève présentation suivante.

III. HETEROPOLYACIDES

III.1. Définition

Les hétéropolyacides (HPA), également connus sous le nom de polyoxométallates, sont des amas d'anions oxygène de métaux de transition précoces qui présentent une large gamme de tailles moléculaires, de compositions et d'architectures. Ce sont des acides inorganiques et peuvent en même temps agir comme des agents oxydants puissants [40]. Ils sont formés par la connexion de groupements $\{MO_6\}$ autour d'un hétéroélément qui se trouve en environnement octaédrique $\{XO_6\}$, tétraédrique $\{XO_4\}$ ou $\{XO_3\}$ [41]. Les HPAs sont caractérisés par le rapport M/X, où l'addenda M présente une forte proportion atomique comparée à celle de l'hétéroatome X. Ils sont classés en structures types souvent associées au nom du chercheur à l'origine de leurs découvertes [42], [43]. Dans le cadre de ce travail seuls les HPAs de structure Keggin $[XM_{12}O_{40}]^{n-}$ sont utilisés (**Fig I.3**).

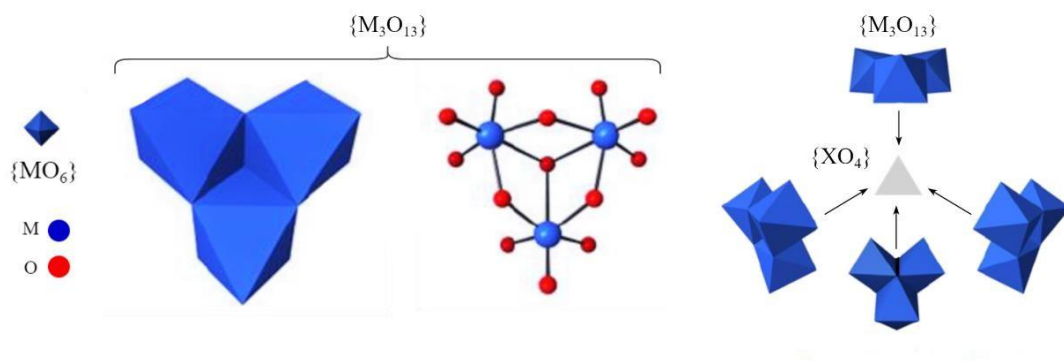


Figure I.3 : Représentation des éléments de la structure de Keggin

III.2. Propriétés des hétéropolyacides

Les HPAs constituent une classe inégalée de composés inorganiques de grande versatilité structurale. A cette diversité structurale s'ajoutent des diversités de réactivité et de propriétés intrinsèques (pouvoir d'oxydation élevé, capacité de réservoir d'électrons, solubilité dans la plupart des solvants courants, résistance à la chaleur...) dans ce qui suit on s'intéresse aux propriétés acides justifiant leur utilisation au cours de ce travail [27]

❖ Propriétés acides

Les hétéropolyacides de Keggin sont des acides de Brønsted plus forts que les acides minéraux (HCl, HClO₄, HNO₃...) [44]. De plus, ils ont l'avantage d'être non-volatils, peu odorants et facilement conditionnables. Comme il n'y a pratiquement pas de localisation de charges, les protons subissent une faible attraction et il en résulte une forte acidité de Brønsted due à la présence des protons hydratés dans le solide [45]. Il est à noter que la mobilité des protons dépend du degré d'hydratation et quand l'hétéropolyanion est déshydraté, les protons sont localisés sur les oxygènes terminaux [46].

L'acidité d'un HPAs dépend peu de la nature de l'hétéroatome et beaucoup plus de celle du métal [47]. Ainsi, l'ordre suivant a été établi :



III.3. Applications des hétéropolyacides

Du fait de leur très grande variété structurale, la souplesse de leur synthèse, leur acidité, leurs propriétés redox, photo physiques, magnétiques ou biologiques, les HPAs trouvent des applications dans des domaines très variés tels que la médecine, la catalyse, l'électrochimie, la chimie des solutions, la synthèse organique, l'optique, le magnétismeetc. Cependant, la catalyse demeure le secteur d'utilisation le plus important [49]

Chapitre II

Partie expérimentale

Ce chapitre expérimental est dédié à la description de toutes les démarches expérimentales entreprises au cours de ce travail que ce soit pour la synthèse, pour la caractérisation ou pour l'évaluation de l'activité biologique des molécules élaborées. Il est ainsi divisé en trois parties.

PARTIE. I : REACTIFS ET APPAREILLAGES






Cette première partie est consacrée à la présentation des différents réactifs (origine, caractéristiques, ...) et appareillages (description des méthodes et d'appareils, conditions, ...).

I.1. Réactifs

Il est à noter que l'ensemble des réactifs et solvants ont été utilisés sans purification préalable. Le tableau II.1 regroupe l'ensemble des réactifs utilisés ainsi que leurs propriétés physicochimiques.

Tableau II.1 : Données relatives aux différents réactifs utilisées

Réactifs	Caractéristiques physique	Laboratoire	Toxicité
Coumarine	Poudre blanche cristalline. M = 146.15 g.mol ⁻¹ Pf = 68-70 °C Pureté = 98% (CG)	SIGMA ALDRICH	 Irrite les poumons et la peau
Acide nitrique : HNO ₃ N° CAS : 7697-37-2	Liquide incolore à jaune, odeur acre M=63, 01g.mol ⁻¹ Pf= 121°C D = 1,42 Pureté = 69% miscible à l'eau	SIGMA ALDRICH	 Corrosif et oxydant
Acide sulfurique : H ₂ SO ₄ N°CAS :7664-93-9	Liquide hygroscopique, huileux, incolore, M= 98.08g.mol ⁻¹ Pf = -6.94°C Pe =290°C(lit) D = 1.84 à 25°C Pureté = 95-97%	SIGMA ALDRICH	 Corrosif
Acide phosphomolybdique H ₃ PMO ₁₂ O ₄₀ N°CAS : synthèse au laboratoire	Solide jaune à l'état oxydé et vert à l'état réduit. M= 1825.25 g.mol ⁻¹		

		Très peu polluant	
Chlorure d'ammonium NH_4Cl N° CAS : 12125-02-9	Solide ionique $M = 53.491 \text{ g.mol}^{-1}$ Pf = 338 °C Pe = 520 °C D = 1.527 Pureté = 99.5%	SIGMA ALDRICH	 GHS07 Irritant et nocif
Fer : Fe N° CAS : 7439-89-6	Solide ferromagnétique $M = 55.845 \text{ u}$ Pf = 1538 °C D = 1.874 g/cm ³	SIGMA ALDRICH	 Inflammable
Méthanol : CH_3OH N° CAS : 67-56-1	Liquide léger, volatil, incolore $M = 32.04 \text{ g.mol}^{-1}$ Pf = -98 °C Pe = 65 °C D = 0.7910 g/ml Pureté = 99%	SIGMA ALDRICH	 Inflammable et toxique
2-pyridine carboxaldehyde $\text{NC}_5\text{H}_4\text{CHO}$ N° CAS : 1121-60-4	Liquide huileux, incolore $M = 107.112 \text{ g.mol}^{-1}$ Pf = 148-151 °C Pe = 181 °C D = 1.126 g/ml	SIGMA ALDRICH	/
4-hydroxy benzaldéhyde $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$ N° CAS : 123-08-0	Poudre brun-roux $M = 122.121 \text{ g.mol}^{-1}$ Pf = 117 °C Pe = 310 °C D = 1.23 g/ml	SIGMA ALDRICH	/
2-Thiophène carboxaldéhyde $\text{C}_4\text{H}_4\text{OS}$ N° CAS : 98-03-3	Liquide incolore $M = 112.15 \text{ g.mol}^{-1}$ Pf = 10 °C Pe = 198 °C D = 1.2 g/ml	SIGMA ALDRICH	 GHS07 Irritant et nocif
Vanilline : $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ N° CAS : 121-33-5	Solide blanc $M = 152.147 \text{ g.mol}^{-1}$ Pf = 81.5 °C Pe = 285 °C D = 1.056 g/ml	SIGMA ALDRICH	 GHS07 Irritant et nocif

I.2. Appareillages et techniques analytiques

I.2.1. Points de fusion (Pf)

Le point de fusion d'un solide est une grandeur physico-chimique qui caractérise à une pression donnée la température de changement d'état solide-liquide d'un corps pur. La détermination du point de fusion d'un produit cristallisé permet de l'identifier et de contrôler sa pureté.

Dans le cadre de ce travail, l'appareil utilisé est de type Stuart SMP30 à tube capillaire, où l'échantillon est placé dans un capillaire lui-même placé dans un bloc de métal chauffé progressivement. La fusion de l'échantillon est alors repérée visuellement tandis qu'un gradient de température est appliqué au bloc de métal. Cette méthode, bien que plus lente, est néanmoins plus précise. C'est la première analyse faite après chaque synthèse.

I.2.2. Chromatographie sur couche mince

La CCM (chromatographie sur couche mince) est une méthode d'analyse qualitative permettant de séparer les constituants d'un mélange et éventuellement de les identifier rapidement. Souvent utilisée pour le suivi des réactions en synthèse organique comme dans le présent travail. En effet elle fait office d'une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse

Dans le cadre de cette présente étude, des plaques de gel de silice 60 F254 (phase stationnaire) à support en aluminium prête à l'emploi ont été utilisées. La phase mobile ou éluant qui est constitué d'un mélange chloroforme-méthanol (X ml/Y gouttes) migre à la surface de la plaque par capillarité.

Les composés nitrocoumarines et dérivés ont été dissouts dans de l'acétonitrile, la révélation a été faite par une lampe UV, sauf pour quelques produits où on a eu recours à l'iode (mélange de gel de silice et d'iode). Le rapport frontal est donné par la relation suivante :

$$R_f = \frac{\textit{Distance parcourue par le composé}}{\textit{Distance parcourue par le solvant}}$$

Il est important de signaler que la CCM seule n'est pas suffisante pour identifier un produit mais elle apporte des renseignements révélateurs élémentaires. Comme dans ce travail, elle a été utilisée afin d'indiquer la formation des produits et surtout de signaler la fin de chaque réaction par la disparition de la tâche du réactif principal à savoir : celle de la coumarine pour la nitration, du nitrocoumarine pour la réduction et de l'aminocoumarine pour la formation des bases de Schiff.

I.2.3. Spectroscopie Ultraviolet-Visible

C'est une méthode d'analyse optique qui se base sur la variation de l'intensité d'un faisceau lumineux de longueur d'onde bien déterminée. Elle permet de déterminer le degré d'oxydation des éléments constitutifs, les différentes transitions électroniques ainsi que d'éventuels transferts de charges à l'aide d'un spectromètre. L'appareil utilisé est de type Thermo Scientifique Evolution 220.

I.2.4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

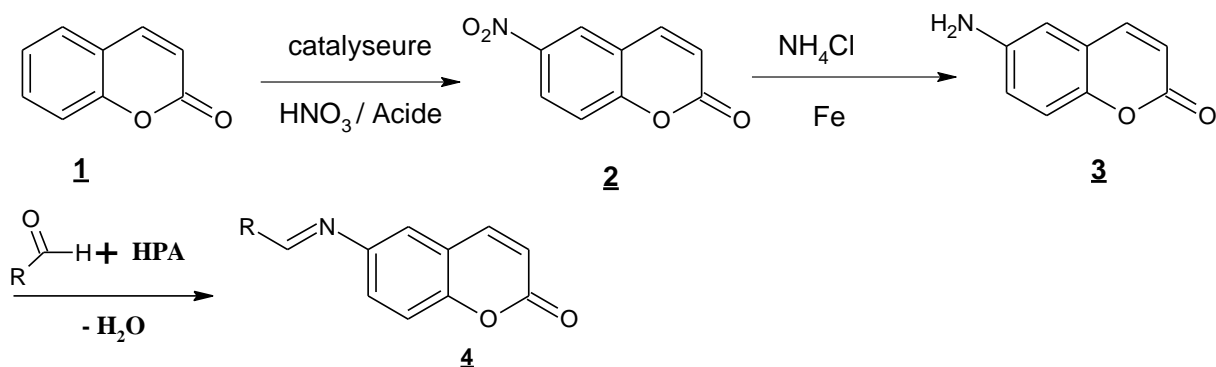
La technique de spectroscopie infrarouge est utilisée pour la détermination des groupements fonctionnels permettant de proposer la structure des produits. Chaque liaison présente des vibrations caractéristiques de fréquence bien déterminée. Les analyses ont été effectuées l'aide d'un spectrophotomètre FT-IR de type Nicolet 6700 FTIR – CsI, comprenant un module ATR.

PARTIE II : SYNTHÈSE DES DIRIVES DE LA COUMARINE

Comme l'objectif principal de ce travail est la fonctionnalisation propre de la coumarine, trois réactions successives ont été réalisées à savoir :

La synthèse du 6-nitrocoumarine suit de sa réduction en 6-aminocoumarine et enfin l'élaboration des bases de Schiff à partir du dernier produit.

Schématiser par une suite de réactions comme suit :



II.1. Synthèse du 6-nitrocoumarine (2)

II.1.1. Procédures

❖ Méthode 1 : Protocole classique (utilisation de H₂SO₄)

La nitration de la coumarine a été réalisée en deux étapes selon la littérature [51] [27] D'abord, sa dissolution totale dans l'acide sulfurique à froid (bain de glace) suivit de sa nitration par un mélange d'acides (acide sulfurique/acide nitrique) à température ambiante.

Ainsi, 0,8g (5,48 mmoles) de coumarine non substituée ont été dissoutes dans 1.2 mL de H₂SO₄ concentré préalablement placé dans un bain de glace (0-5 °C), puis 1,6 mL d'un mélange d'acide mixte (HNO₃ et H₂SO₄) dans un rapport volumique (1/3) ont été ajoutés sous agitation pendant 10min. Le mélange est ensuite retiré du bain de glace et a été agité à température ambiante pendant 1h. À la fin de la réaction, de l'eau distillée glacée est ajouté au ballon contenant le mélange réactionnel. Un précipité blanc de 6-nitrocoumarine a été obtenu (Fig. II.1). Il a été ensuite filtré et lavé abondamment à l'eau distillée froide, sécher et recristalliser dans l'acide acétique.

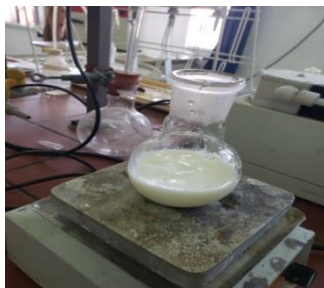


Figure II.1. Précipité blanc de 6-nitrocoumarine

Comme l'objectif fixé au départ est de s'en passer de l'utilisation des acides minéraux, toxiques, corrosifs et nocifs pour l'homme et pour l'environnement, nous avons tenté de remplacer H_2SO_4 dans ce protocole de nitration de la coumarine par un hétéropolyacide ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), solide peu ou non polluant (Schéma II.1).

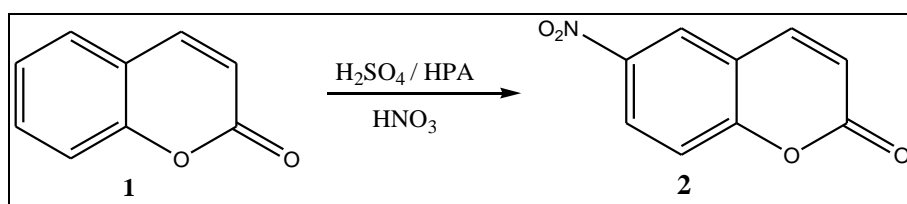


Schéma II.1 : Schéma de synthèse du 6-nitrocoumarine 2

❖ Méthode 2: Nitration de la coumarine en présence de l'HPA

0,8g (5,48 mmoles) de coumarine non substituée sont placés dans un ballon de 50 mL contenant X mL de H_2SO_4 concentré préalablement placé dans un bain de glace (0-5 °C), puis 0,4 mL de HNO_3 et Y% moles d'HPA sont ajoutés sous agitation pendant 10 min. Le mélange est ensuite retiré du bain de glace et agité à température ambiante pendant un temps nécessaire (suivi par CCM). À la fin de la réaction, de l'eau distillée glacée est ajoutée au ballon contenant le mélange réactionnel. Un précipité blanc de 6-nitrocoumarine est obtenu. Il est ensuite filtré et lavé abondamment à l'eau distillée froide, séché et recristalliser dans l'acide acétique (voir le tableau II.2).

Dans un premier temps, il était question d'étudier la faisabilité de la nitration de la coumarine en absence totale de H_2SO_4 , autrement dit en présence uniquement de l'HPA (substitutions totale), malheureusement la réaction n'a pas eu lieu malgré :

- L'augmentation de la quantité de l'HPA ;
- L'élévation de la température ;
- L'augmentation du temps de réaction ;
- L'utilisation de solvants organiques moins nocifs (eau, éthanol, acétone, acide acétique).

Ces observations mettent l'accent sur la nécessité de la présence de H_2SO_4 pour solubiliser la coumarine.

Dans un second temps, nous avons procédé à une substitution partielle, en diminuant la quantité de H_2SO_4 et le remplaçant par l'HPA et/ou par H_2O . Une diminution sans substitution a été également testée. Cette fois ci le produit de nitration s'est formé avec succès à partir de 0,8mL en H_2SO_4 (quantité minimale requise pour la dissolution de la coumarine). Les résultats obtenus seront présentés dans le chapitre suivant.

Comme dans le protocole classique de la nitration, H_2SO_4 jouait deux rôles : solvant pour la coumarine et aussi réactif pour libérer l'ion nitronium NO_2^+ (H_2SO_4/HNO_3). Pour son second rôle, il a été remplacé sans difficultés par l'HPA (HPA/HNO_3) comme il a été le cas dans une étude précédente de la nitration de la 7-hydroxy-4-méthylcoumarine [27].

Tableau II.2 : Durée, rendement et points de fusion du composé nitrocoumarine **2** synthétisé par utilisation de l'HPA.

Entrée	Volume de H ₂ SO ₄ (X mL)	HPA (Y% moles)	Solvant	Durée (min)	Rdt (%)
1	1,2	3	/	60	92
2	0.8	3	/	60	90
3	0.8	2	H ₂ O	180	≤10
4	0.6	3	H ₂ O	420	Pas de réaction
5	0.6	3	/	120	≤10
6	0	1	/	60	Pas de réaction
6	0	0.5	H ₂ O	60	Pas de réaction
7	0	1,5	EtOH	20	Pas de réaction
8	0	1,5	CH ₃ COOH	60	Pas de réaction

0,4 mL de HNO₃, avec ou sans Solvant.

II.2. SYNTHÈSE DE 6-AMINOCOUMARINE (3)

Il s'agit de la réduction de la 6-nitocoumarine comme indiqué dans le Schéma II.2.

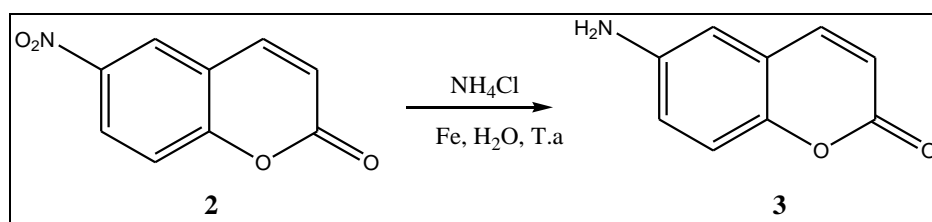


Schéma II.2 : Schéma de synthèse du 6-aminocoumarine **3**

❖ Mode opératoire

Le mode opératoire suivi est celui décrit dans la [50] par S. Roy et coll. Dans un ballon de 250 mL, 0,09 mmoles de 6-nitocoumarine (préparé dans la section précédente) et 0,02 mmoles de chlorure d'ammonium (NH₄Cl) y sont introduits en présence de 200 mL de H₂O et 0,09 mmoles de poudre Fer (Fe). Le mélange est placé sous agitation magnétique à température ambiante pendant 2h. Un précipité brun foncé a été obtenu (Fig. II.2). Le produit désiré a été isolé par extraction en utilisant de l'acétate d'éthyle (quatre fois 40 mL). La phase organique récupérée par décantation est ensuite séchée par ajout du sulfate de magnésium (MgSO₄), elle est ensuite filtrée

pour séparer la phase organique anhydre, cette dernière est évaporée. Un solide jaune est ensuite récupéré puis séché à l'étuve (50 °C).



Figure II.2 : Réaction de réduction de 6-nitrocoumarine avant l'extraction

II.3. Synthèse des bases de Schiff (4a-d)

Les dernières synthèses réalisées sont celles des bases de Schiff **4a-d** à partir du 6-aminocoumarine **3** déjà préparé (Schéma II.3). Il est à signaler que $\frac{3}{4}$ des bases de Schiff préparés n'ont pas été déjà préparés préalablement dans la littérature. Ce sont de nouvelles molécules (plus de détail dans le chapitre suivant).

De plus, les protocoles classiques de synthèse de bases de Schiff à partir d'aminocoumarine est très long (8h). Nous nous sommes proposés dans le cadre de cette étude d'introduire l'HPA pour la première fois dans le but de réduire ce temps et d'améliorer le rendement.

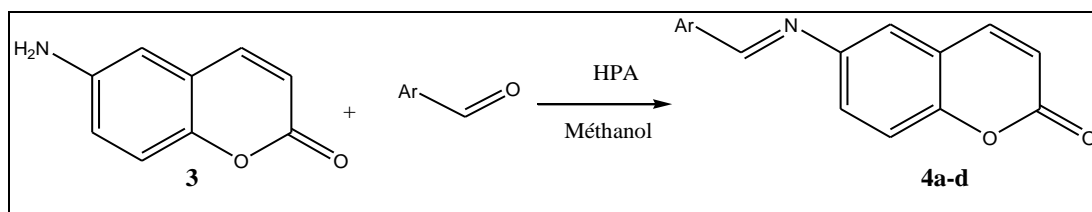


Schéma II.3 : Schéma de synthèse des bases de Schiff à partir du 6-aminocoumarine **3**

❖ Mode opératoire

Dans un ballon de 50 mL contenant 20 mL de méthanol et relié à un réfrigérant à eau, 1,24 mmoles de 6-aminocoumarine et 1,24 mmoles d'aldéhyde y sont introduits. Le mélange est soumis au reflux sous agitation magnétique en présence de et 1% moles de $H_3PMo_{12}O_{40}$ (Fig. II.3).

Une fois que la réaction est achevée (fin de réaction révélée par CCM), l'excès du solvant est éliminé par évaporation. De l'eau distillée glacée est ajoutée sous agitation, un solide sous forme d'une poudre se sépare, ensuite récupéré par filtration et qui n'a pas nécessité de recristallisation.

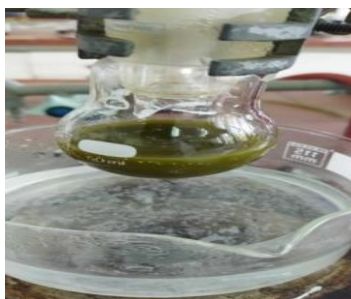
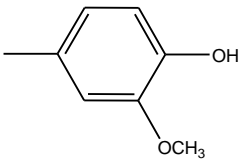
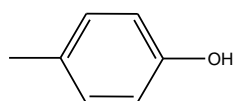


Figure II.3. Réaction des bases de schiff

Après séchage, les rendements des synthèses sont calculés. L'identification ainsi que la vérification de la pureté des produits ont été estimées par la mesure de leurs points de fusion, par l'enregistrement de leurs spectres IR-TF, spectre UV-visible.

Tableau II.3 : Durée, rendements et points de fusion des composés **4a-d** synthétisés

Entrée	N° du composé	Ar	Durée(h)	Rdt (%)	Pf (°C)
1	4a		3	92	154
2	4b		2	88	162

3	4c		3	90	180
4	4d		2	83	170

PARTIE III : ACTIVITE BIOLOGIQUE

Après synthèse, l'ensemble des molécules ont été soumises à des tests biologiques afin d'évaluer leurs activités antioxydantes et antibactériennes et surtout de comparer ces activités à celle de la coumarine (molécule mère) et de montrer l'effet positif de la fonctionnalisation sur l'amélioration de ces propriétés biologiques.

III.1. Activité antioxydante

a- Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution qui se transforme en DPPH-H, jaune pâle (figure II.4), avec une absorption UV/Visible maximale à 515-518 nm. Ainsi, le test DPPH° permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. L'antioxydant aura la capacité de donner un électron au radical synthétique DPPH. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité de l'antioxydant à donner des protons [51].

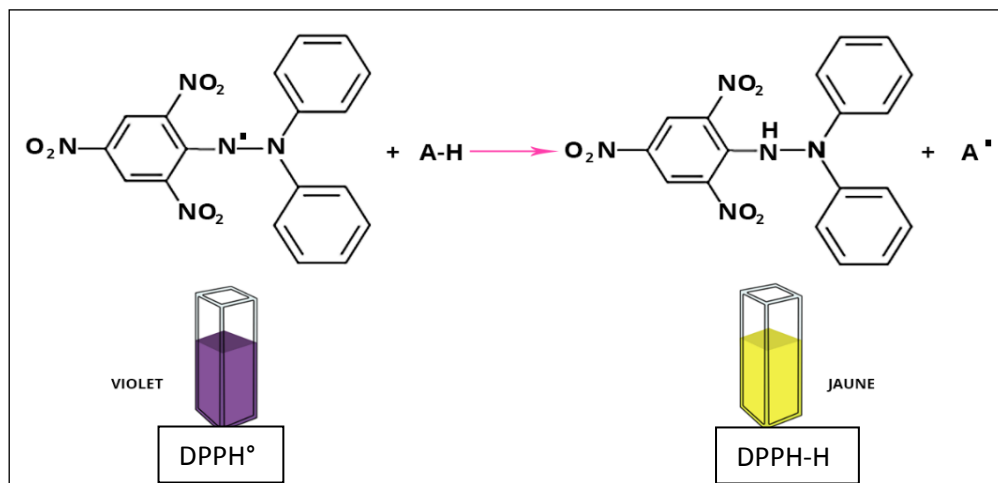


Figure II.4 : Réaction de test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

b- Mode opératoire

Les produits testés sont préparés à des concentrations de 10^{-1} mol/L dans le DMSO puis dilués à un demi pour avoir des concentrations de 5×10^{-2} M ; $2,5 \times 10^{-2}$ M ; $1,25 \times 10^{-2}$ M et $6,25 \times 10^{-3}$ M. Quant à la solution de DPPH[•], elle est préparée en solubilisant 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol de grade spectroscopique.

Un volume de 40 μ L, de chaque échantillon de chacune des concentrations est ajouté à 2 mL d'une solution de radicaux DPPH dissouts dans le méthanol. Le mélange est secoué énergiquement et laissé pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance du DPPH[•] Est déterminée par spectrophotométrie UV à 518 nm.

Le pourcentage de capture radicalaire ou d'inhibition du radical DPPH a été obtenu par la formule suivante :

$$\% \text{ CR} = [(A_0 - A_1) / A_0] * 100. \quad (1)$$

A_0 : Absorbance à 518nm du blanc

A_1 : Absorbance à 518nm de l'échantillon.

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur d'IC50

III.2. Activité antibactérienne

a. Principe

Cette méthode nommée méthode des disques consiste à ensemencer une suspension des souches bactériennes testées sur un milieu gélosé, dans une boîte de Pétri. Les échantillons sont ensuite imprégnés sur un disque de papier absorbant, lui-même déposé sur la boîte de Pétri. Durant l'incubation, la substance est alors censée diffuser dans la gélose (à la surface et/ou dans la masse) ce qui crée un gradient de concentration de la substance à tester. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une zone claire autour du disque appelée zone d'inhibition (Fig. II.5).

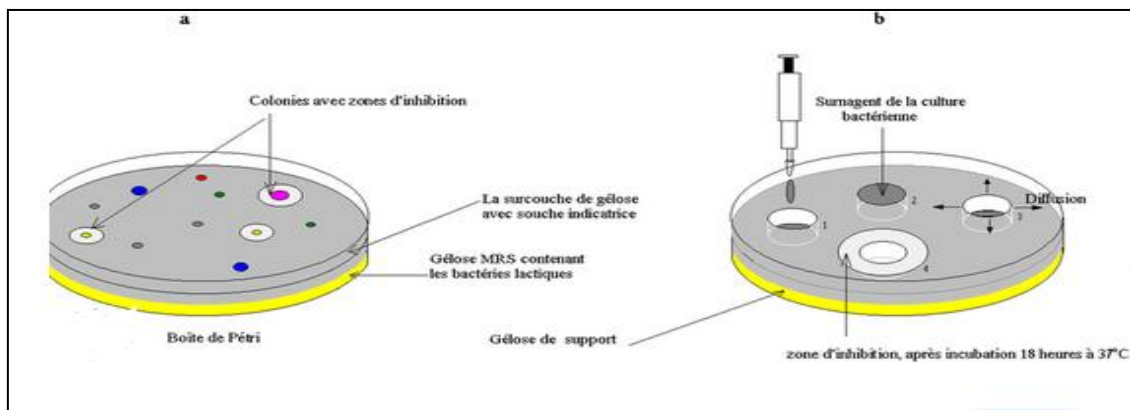


Figure II.5 : Principe de la méthode de diffusion sur disque

Les diamètres des zones d'inhibition entourant les disques contenant les échantillons sont mesurés. Les résultats de l'activité antibactérienne des molécules élaborées sont ensuite comparés à ceux de la coumarine seule, afin de déterminer l'effet de la fonctionnalisation sur l'éventuelle activité des molécules formées.

b. Milieux de culture

Les milieux proposés pour la culture des différentes souches sont : la gélose de Muller-Hinton (MH). En effet, ce dernier bouillon de Muller Hinton est un milieu polyvalent servant à la culture d'un grand nombre de microorganismes.

c. Protocole***c.1. Préparation de la gélose de Mueller-Hinton***

La première couche de 15 mL est obtenue en versant aseptiquement (devant un bec bunsen), et dans des boîtes de Pétri de 90 mm, la quantité nécessaire. Cette préparation est préalablement obtenue par fusion du milieu Muller-Hinton (MH) au bain-marie. La préparation est ensuite refroidie à température ambiante. Pour la deuxième couche, En faisons fondre le milieu MH au bain-marie à 95 °C. En laissons refroidir jusqu'à ce que la température atteigne une valeur allant de 30 à 45 °C. Pour chaque souche :

- On remplit un tube stérile avec 20 mL de MH,
- On l'ensemence avec 80 µl de chaque suspension et on agite manuellement.
- On verse rapidement 5 mL de chaque milieu inoculé en deuxième couche sur la surface des boîtes contenant déjà la première couche de MH solidifiée.
- On étale rapidement les boîtes et on laisse solidifier.

c.2. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune de 18 h à 24 h (pour les bactéries), on prépare des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques que nous mettons dans 5 mL d'eau physiologique stérile.

Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF (Mc Farland) ou à une densité optique située dans la gamme 0,22-0,5, lue à la longueur d'onde d'absorption 620 nm pour les bactéries. Cette valeur correspond à une concentration optimale de 108 germe/mL (charge bactériale).

c.3. Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum,
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube afin de décharger au maximum,
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux (02) fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

c.4. Imprégnation des disques

- Imprégner des disques de papier Wattman stériles de 6mm de diamètre, et vierges de 10 µL de produit à tester dissous dans un solvant approprié.
- Dans les mêmes conditions, des témoins sont préparés en imprégnant des disques antibiotiques de 10 µL de chaque solution.
- Appliquer le disque dans les 15 minutes après l'inoculation en le pressant doucement contre la gélose à l'aide d'une pince bactériologique stérile. Il faut éviter de déplacer les disques après application.
- Laisser diffuser les disques testés pendant 30 minutes avant l'incubation.

Il est à signaler qu'il est préférable de ne pas mettre plus de quatre (04) disques sur une boîte de 90 mm, cela évite le chevauchement des zones d'inhibition et la potentialité d'une erreur de mesure.

c.5. Incubation

- Les bactéries sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

Chapitre III

Résultats et discussions

Ce dernier chapitre est réservé à la description ainsi que la discussion l'ensemble des résultats obtenus au cours de ce travail. Il est divisé en deux parties, dont la première est consacrée aux résultats des synthèses des dérivés de la coumarine incluant leurs caractérisations ainsi que les mécanismes de leurs formations. La seconde partie quant à elle est réservée aux résultats de l'évaluation des propriétés biologiques des molécules synthétisées (activités antioxydante et anti bactérienne).

PARTIE I : RESULTATS DES SYNTHESSES DES DIRIVES DE LA COUMARINE

I. SYNTHÈSE DU 6-NITROCOUMARINE

I.1. Présentation de la réaction

La nitration de la coumarine permet la synthèse régiosélective du 6-nitrocoumarine (schéma III.1), par une réaction de substitution électrophile aromatique de la coumarine par l'ion nitronium NO_2^+ , formé in situ à partir du mélange sulfonitrique. Le Protocole réactionnel commence par une déprotonation d'un acide très fort (catalyseur) suivie d'une déshydratation qui conduit à la formation de l'entité électrophile NO_2^+ . Une SE_{Ar} de ce dernier sur le noyau benzénique de la coumarine suivie de l'élimination d'un proton pour régénérer le catalyseur donne la formation du 6-nitrocoumarine **2**

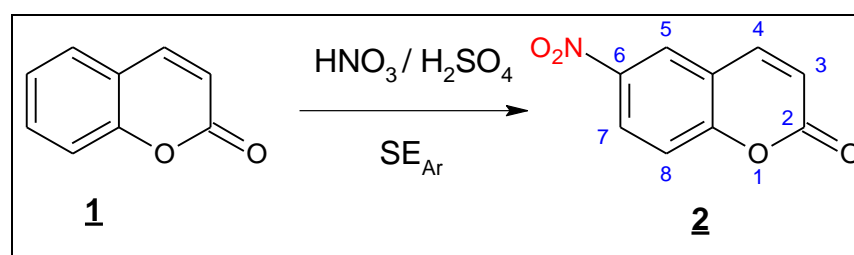


Schéma III.2 : Nitration de la coumarine

I.2. Synthèse du 6-nitrocoumarine dans les conditions classiques

Ce travail a été initié dans un premier temps par la reprise du mode opératoire décrit dans la littérature [51] qui nécessite la double utilisation de H_2SO_4 , comme solvant pour dissoudre la coumarine et comme catalyseur avec HNO_3 pour libérer les

ions nitronium nécessaires à la nitration de la coumarine (Schéma II.2). Cette synthèse a été effectuée dans le but de contrôler la reproductibilité de la réaction et d'utiliser le produit nitré comme référence.

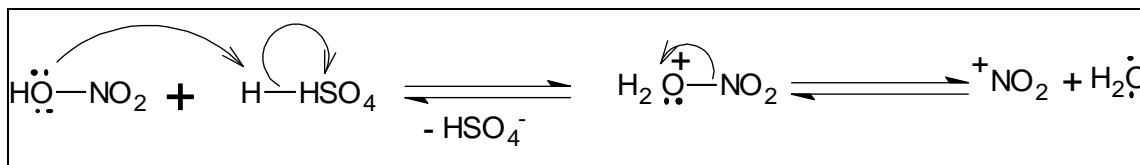


Schéma III.2 : Mécanisme de formation de l'électrophile NO_2^+

Le tableau III.1 représente les résultats expérimentaux comparés à ceux de la littérature [51].

Tableau III.1 : Rendement de la synthèse classique du 6-nitrocoumarine en présence de H_2SO_4 (solvant et catalyseur)

Référence	Rdt %	Pf °C
Littérature [51]	88	185 ± 3
Ce travail	76	189

Ce tableau montre que les résultats obtenus dans le cadre de ce travail sont comparables à ceux de la littérature.

En revanche, malgré ces bons rendements, notre objectif était de s'affranchir de l'utilisation de l'acide sulfurique nocif, corrosif et toxique vis-à-vis de l'homme et l'environnement dans ce protocole de nitration de la coumarine. Ainsi, plusieurs essais ont été effectués dans le cadre d'une étude préliminaire où H_2SO_4 a été totalement substitué par un hétéropolyacide ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), super acide, non toxique et très peu polluant et surtout sans impact environnemental.

I.3. Synthèse du 6-nitrocoumarine en absence de H_2SO_4 / ou en présence de $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$

I.3.1. Etude préliminaire

Lors de cette étude préliminaire qui vise à tester la faisabilité de la synthèse du 6-nitrocoumarine en absence de l'acide sulfurique (Schéma.III. 3) que ce soit comme solvant et comme catalyseur, plusieurs paramètres ont été variés afin de chercher les conditions de formation du produit désiré à savoir l'effet de :

- La température ;
- La masse de catalyseur ;
- Solvant ;
- La nature et la composition du catalyseur ;
- Rapport coumarine / HNO_3

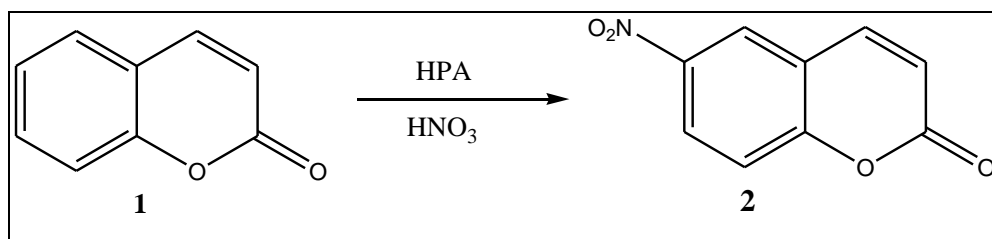


Schéma III. 3 : Nitration de la coumarine en présence de l'HPA et en absence de H_2SO_4

La durée de la réaction est déterminée à chaque fois par CCM qui indique la fin de la réaction. L'ensemble des résultats obtenus sont répartis par paramètre dans les tableaux III.2-III.6 suivants.

❖ Effet de la température

Suite à la faible solubilité de la coumarine dans le petit volume de HNO_3 et au faible contact entre HNO_3 et l'HPA (absence de solvant), nous avons tenté de jouer sur la température afin d'augmenter le contact des réactifs à la surface et les résultats obtenus sont reportés dans le tableau III.2

Tableau III.2 : Effet de la température

Essai	T (°C)	Temps (min)	Pf (°C)	Rdt (%)
1	40	90	/	/
2	60	90	/	/
3	80	30	66	25
4	90	20	112	32
5	100	15	101	40
6	100	150	176	16

Coumarine/HNO₃ = (1/3), catalyseur : 0.5% H₃PMo₁₂O₄₀, sans solvant

D'après les résultats de ce tableau III.2, le chauffage à 100 °C est la température qui donne un produit dont le point de fusion est proche de celui de la 6-nitrocoumarine mais avec un rendement très faible (qui peut être augmenter avec l'augmentation de la quantité du catalyseur). Cette baisse de température (point de fusion 176 < à 189) est due à la non purification du produit.

❖ Effet de la quantité du catalyseur

D'après les résultats précédents, la température de chauffage est fixée à 100°C et des quantités variables de H₃PMo₁₂O₄₀ ont été utilisées. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau III.3.

L'utilisation de 1mol % en H₃PMo₁₂O₄₀ pendant 120 min a offert un produit dont le point de fusion est proche de celui du produit de la nitration **2** mais toujours inférieur à 189 °C, ce qui indique qu'il y a toujours de la coumarine non nitrée mélangée au produit de la nitration. Ces conditions 100°C et 1 mol % en HPA semblent être les meilleures conditions.

Tableau III.3 : Effet de la quantité du catalyseur

Essai	Quantité du catalyseur (mol %)	Temps (min)	Pf (°C)	Rdt (%)
1	0.5	150	176	16
2	1	120	160	25
3	1.5	90	130	37
4	2	20	67	47
5	2.5	20	/	Traces
6	3	67	135	47
7	4	120	/	Traces

Coumarine/HNO₃ = (1/3), catalyseur : H₃PMo₁₂O₄₀, sans solvant, T=100°C

❖ Effet de la composition du catalyseur HPA

Les conditions 100 °C et 1 mol % sont retenus pour la suite de nos tests. Dans le but de trouver un meilleur rendement, nous avons utilisé une série de catalyseurs HPA dont la nature et la composition sont différentes, les résultats sont montrés dans le tableau III.4 suivant.

Tableau III.4 : Effet de la nature et de la composition du catalyseur

Essai	Nature de catalyseur	Temps (min)	Pf (°C)
1	H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀	20	67
2	H ₃ PW ₁₂ O ₄₀	35	67
3	H ₄ SiW ₁₂ O ₄₀	35	/
4	(NH ₄) ₃ PMo ₁₂ O ₄₀	60	/
5	FePMo ₁₂ O ₄₀	1	162

Coumarine/HNO₃ = (1/3), 1% de catalyseur, sans solvant, T=100°C

❖ Effet du solvant

Suite à la non solubilité de la coumarine et de l'HPA dans la réaction sans solvant, nous avons essayé d'utiliser des solvants organiques (éthanol, acide acétique...) et minéral (eau). Aucune réaction n'a eu lieu dans ces solvants (Tableau III.5).

Tableau III.5 : Effet de la présence et de la nature du solvant

Essai	Solvant	Temps (mn)	Pf (°C)	Rdt (%)
1	Eau	20	/	/
2	Ethanol	20	67	75
3	Acétone	100	65	28
4	Acétonitrile	60	100	31
5	Hexane	100	67	47

Coumarine/HNO₃ = (1/3), 1 % de catalyseur, 6ml de solvant, T=100°C

❖ Effet du rapport stoechiométrique coumarine / HNO₃

Le rapport coumarine/ HNO₃ est aussi étudié en portant le mélange réactionnel au chauffage à 100 °C en utilisant 1 mol % d'HPA. Seul le rapport 3/1 a donné un produit de point de fusion très différent de celui de la coumarine Tableau III.6).

Tableau III.6 : Effet du rapport stœchiométrique coumarine / HNO₃

Essai	Rapport coum/HNO ₃	Temps (min)	Pf (°C)	Rdt (%)
1	3/3	135	65	55
2	2/1	135	65	70
3	1/2	290	65	50
4	3/1	220	150	35

1% de H₃PMo₁₂O₄₀, sans solvant, T=100°C

I.3.2. Discussion des résultats de l'étude préliminaire

Après cette panoplie de tests, il en ressort que malgré les différentes tentatives de variation des divers paramètres influençant une réaction de synthèse, en aucun cas, le produit désiré n'a été formé en d'autres termes la nitration n'a pas pu avoir lieu en absence totale de H₂SO₄. En effet, aucun point de fusion des produits obtenu ne correspond à celui du 6-nitrocoumarine. Dans la majorité des essais, le produit isolé, n'est autre que la coumarine de départ.

Toutefois, dans une étude précédente sur la nitration de la 7-hydroxy-4-méthyl coumarine [27], H₂SO₄ a été remplacé avec succès pour son second rôle de catalyseur dans l'étape de formation de l'ion nitronium par un HPA. Ainsi, on peut conclure que seul pour son rôle de solvant, H₂SO₄, ne peut être substitué totalement par un autre acide (HPA) ni par un autre solvant (voir l'effet du solvant Tableau III.5). Il est ainsi indispensable la présence de proton libres comme ceux de H₂SO₄ pour la protonation de la coumarine.

Pour ces raisons, nous avons optés dans un second temps, à une substitution partielle de l'acide sulfurique par l'HPA. En diminuant la quantité du solvant (H₂SO₄) et en augmentant graduellement celle de l'HPA (H₃PMo₁₂O₄₀).

I.4. Synthèse du 6-nitrocoumarine en présence simultanée de H₂SO₄ et H₃PMo₁₂O₄₀

Une variation de la quantité de l'HPA à volume constant de H₂SO₄ (1,2mL, soit réduit de plus d'un tiers que le protocole de la littérature (4mL)) a été effectué pour déterminer quel est le % molaire en HPA qui pourrait remplacer la quantité du solvant diminuée (soit les 2/3 du volume initial). Une fois cette quantité est arrêtée, une nouvelle diminution du volume du solvant a été effectuée (à % mole constant en HPA)

afin de déterminer la quantité de H_2SO_4 minimale requise pour la solubilisation de la coumarine. L'ensemble des résultats obtenus sont rapportés sur le tableau III.7.

Tableau III.7 : Optimisation de la quantité du catalyseur et du volume de H_2SO_4

Essai	HPA (mol %)	H_2SO_4 (mL)	Pf (°C)	Rdt (%)
1	1	1,2	187	36
2	3	1,2	175	92
3	4	1,2	184	93
4	3	1	184	89
5	3	0,8	185	90
6	3	0,6	183	<10

Coumarine/ HNO_3 = (1/3), $T=\text{amb}$, HPA : $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$

Avant de commencer la description et la discussion de ces résultats, il est important de signaler que cette fois ci, le produit isolé après chaque test est de même aspect que le 6-nitrocoumarine de référence (celui préparé avec H_2SO_4 seul) et que le point de fusion correspondant est très proche.

Ainsi, les résultats de ce tableau montrent clairement l'effet du volume de solvant H_2SO_4 et la quantité de l'acide phosphomolybdique sur l'efficacité de la nitration de la coumarine. Le pourcentage optimal en HPA est de 3% et la quantité minimale de H_2SO_4 est de 0,8 mL. Ces conditions ainsi optimisées conduisent à la formation du produit désiré avec un rendement de 90%. Ces résultats peuvent être qualifiés de très satisfaisants pour la réaction de nitration de la coumarine.

Avant de passer à la variation d'autres paramètres, toujours dans un souci de protection de l'environnement, nous nous sommes proposés d'étudier la possibilité de substituer H_2SO_4 partiellement par l'eau toute en fixant la quantité de l'HPA à 3%, autrement dit essayer de réduire à nouveau la quantité du solvant minéral agressif en le remplaçant par l'eau, solvant vert.

I.4.1. Effet du rapport $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$

Différents rapports volumiques ont été examinés soit : (1,2/0mL=100/0%) ; (1/0,2ml= 80/20%) ; (0,9/0,3mL=75/25%) ; (0,6/0,6mL= 50/50%), (0/1,2mL=0%/100%) et le 0,8/0 du tableau III.7. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau III.8.

Tableau III.8 : Effet du rapport H₂SO₄/H₂O sur le rendement en 6-nitrocoumarine **2**

Essai	Rapport H ₂ SO ₄ /H ₂ O (mL)	Temps (h)	Rdt (%)
1	1,2/0	1	92
2	1/0,2	2h30	10
3	0,9/ 0,3	1	Pas de produit
4	0,6/ 0,6	7	Pas de produit
5	0/ 1,2	7	Pas de produit
Tableau III.6	0,8/0	1	90

Coumarine/agent nitrant = (1/3), 3% de H₃PMo₁₂O₄₀, T_{Amb}.

A l'issus de ces résultats on constate que la présence de l'eau indépendamment du rapport est défavorable à la formation du 6-Nitrocoumarine **2**, cette dernière a plutôt un effet inhibiteur. Ceci est probablement dû à la réactivité entre l'eau et l'ion nitronium conduisant à la régénération de l'acide nitrique.

Toutefois, l'absence de l'eau a été beaucoup plus favorable pour une quantité minimale de 0,8 mL en H₂SO₄, confirmant une fois de plus que ce sont les bonnes conditions.

Par la suite, nous avons jugé intéressant d'étudier l'effet de la composition de l'HPA sur cette réaction afin de voir son impact sur la nitration.

I.4.2. Effet de la composition de l'HPA sur le rendement en 6-Nitrocoumarine

Afin d'examiner l'influence de la nature de l'hétéropolyacide sur le rendement de la nitration, quatre compositions d'hétéropolyacides ont été testés : silicomolybdates (H₄SiMo), silicotungstates (H₄SiW), phosphomolybdates (H₃PMo) et phosphovanadomolybdates (H₄PMoV). Le tableau III-9 regroupe les rendements en nitrocoumarine obtenu en fonction de la composition de l'hétéropolyacide.

Tableau III.9 : Effet de la composition de l'hétéropolyacide sur le rendement en 6-nitrocoumarine 2

Essai	Catalyseur	Temps (h)	Rdt (%)
1	H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀	1	90
2	H ₄ PMo ₁₁ VO ₄₀	1h30	78
3	H ₄ SiMo ₁₂ O ₄₀	1h30	53
4	H ₄ SiW ₁₂ O ₄₀	2	59

(Coumarine/agent nitrant) = (1/3), 3% de catalyseur, T_{Amb}, V_{H₂SO₄} = 0.8ml

A l'issue de cette étude, il en ressort que malgré que l'acidité de H₃PMo₁₂O₄₀ < H₄SiMo₁₂O₄₀ < H₄SiW₁₂O₄₀, il s'est avéré le plus actif vis-à-vis de cette réaction avec 90% de rendement suivi de l'acide phosphovanadomolybdique avec 78%. Soit une diminution de rendement de 12% probablement dû à l'effet de substitution d'un atome de molybdène par un atome de vanadium ayant un pouvoir plutôt oxydant qui oxyderait soit la coumarine ou le 6-nitrocoumarine une fois formé. En troisième position, vient l'acide silicotungstique, le plus acide de toute cette série testée avec 59% de rendement. Ces résultats laissent penser que pour la nitration de la coumarine, l'acidité de H₃PMo₁₂O₄₀, quoiqu'elle soit inférieure à celle de H₄SiMo₁₂O₄₀ est largement suffisante pour la nitration efficace de la coumarine.

Toujours dans le but de s'en passer de l'utilisations des acides minéraux, hasardeux, dangereux et surtout agressif pour l'homme et pour l'environnement, dans un dernier temps, nous nous sommes proposés de substituer l'acide nitrique, l'agent nitrant par des nitrates minéraux solides faciles à manipuler et beaucoup moins nocives.

I.4.3. Effet de la variation de l'agent nitrant sur le rendement en 6-Nitrocoumarine

Cinq agents ont été testés en présence de H₃PMo₁₂O₄₀ dans les mêmes conditions. Les résultats soutirés sont reportés dans le tableau III.10.

Tableau III.10 : Effet de l'agent nitrant sur le rendement en 6-nitrocoumarine 2

Essai	Agent nitrant	Temps (h)	Rdt (%)
1	HNO ₃	1 h	90%
2	Fe(NO ₃) ₃	3h	31%
3	Cu(NO ₃) ₂	/	/
4	Ni(NO ₃) ₂	/	/
5	Co(NO ₃) ₂	/	/

(Coumarine/agent nitrant) = (1/3), 3% de catalyseur, T_{Amb}, V_{H₂SO₄} = 0,8 ml

A l'issus de ces résultats on constate que les agents nitrant $\text{Cu}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_3$ et $\text{Co}(\text{NO}_3)_3$ sont inactifs vis-à-vis de la nitration de la coumarine mais par contre en présence de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, 31% de rendement en nitrocoumarine ont été isolés. Certes ce résultat est inférieur à celui obtenu en présence de l'acide nitrique soit 31 contre 90%, il reste acceptable même prometteur pour l'environnement. Dans une étude comparable de nitration de la 7-hydroxy-4-méthyl coumarine [27], le rendement en nitrocoumarine obtenu en présence de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ est de l'ordre de 92% supérieur à celui obtenu avec HNO_3 (76%). Ceci suggère que lorsque la coumarine est fonctionnalisée sa nitration avec $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ est beaucoup plus accessible par rapport à la coumarine non fonctionnalisée cas de ce travail.

En conclusion remplacer l'acide nitrique par $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ mériterait d'être reprise et améliorer en jouant sur d'autres paramètres (Température, ajout d'un co-catalyseur...).

I.5. Caractérisation des 6-Nitrocoumarine

L'ensemble des molécules synthétisées ont été caractérisées d'abord par la mesure de leurs points de fusion, l'enregistrement de leurs spectres Infra rouge et UV- visible.

I.5.1. Mesure des points de fusion (Pf)

Les points de fusion (Pf) des produits obtenus sont représentés dans le tableau III.11. Comme c'est le même produit, nous nous sommes contentés de donner la fourchette ou l'intervalle des différents points de fusion obtenus.

Tableau III.11 : Point de fusion du 6- nitrocoumarine 2

Produit	Pf (°C)	Littérature (°C)
2	183-189	185 [51]

Le point de fusion ci-dessus nous renseigne sur la pureté de notre produit, en effet sa température de fusion est très proche de celle de la littérature. Il s'agit bien du 6-nitrocoumarine 2.

I.5.2. Caractérisation par CCM

L'ensemble des réactions réalisées ont été suivi par CCM, afin de vérifier la formation du produit désiré d'une part d'indiquer la fin de réaction d'autre part. L'éluant utiliser est le chloroforme avec quelques gouttes de méthanol. La valeur du rapport frontal du 6-nitrocoumarine 2 est indiquée dans le tableau III.12.

Tableau III.12 : Résultats d'une CCM effectuée pour la réaction de nitration d'une coumarine.

Produit	Éluant (mL/goutte)	Rf
2	2/4	0,5

I.5.3. Spectroscopie Ultraviolet visible

Les spectres d'absorption UV/Visible de coumarine (C) et 6-nitrocoumarine (6-N) réalisé juste après dissolution dans DMSO sont montrés dans la figure III.1.

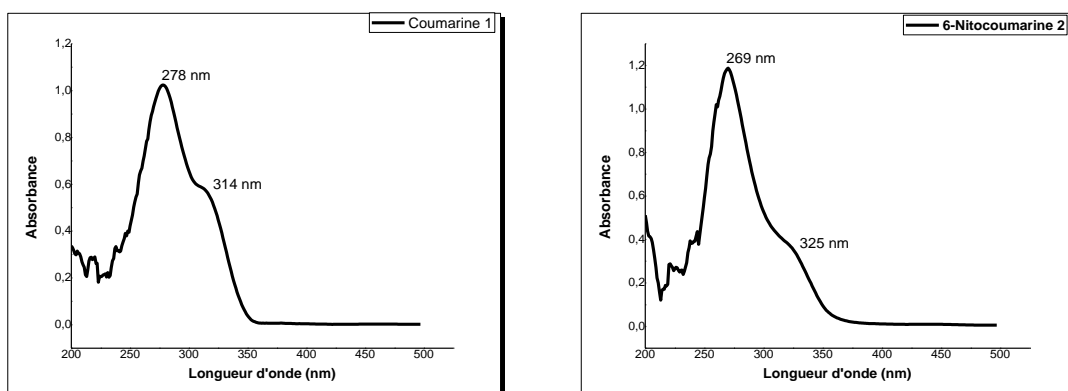


Figure III.1 Spectres UV-Visible de la coumarine 1 et de la 6-nitrocoumarine 2

Les deux spectres montrent deux bandes distinctes. La coumarine 1 montre deux longueurs d'ondes d'absorption à 278 nm et à 314 nm de transitions $n-\pi^*$ et $n-\sigma^*$ respectivement. Un effet hypsochrome est observée sur la première longueur d'onde elle passe de 278 nm à 269 nm de transitions $n-\pi^*$ et un effet bathochrome est enregistré sur la deuxième et passe de 314 nm à 325 nm de transitions $n-\sigma^*$ pour le composé 6-nitrocoumarine 2. Ce déplacement est dû à la présence du groupement électro-attracteur sur le noyau benzénique de la coumarine.

I.5.4. Caractérisation par FT-IR

Le spectre FT-IR enregistré pour le composé 6-nitrocoumarine **2** préparée est illustré sur la figure III.2 et quelques bandes de vibration caractéristiques sont rassemblées dans le tableau III. 13.

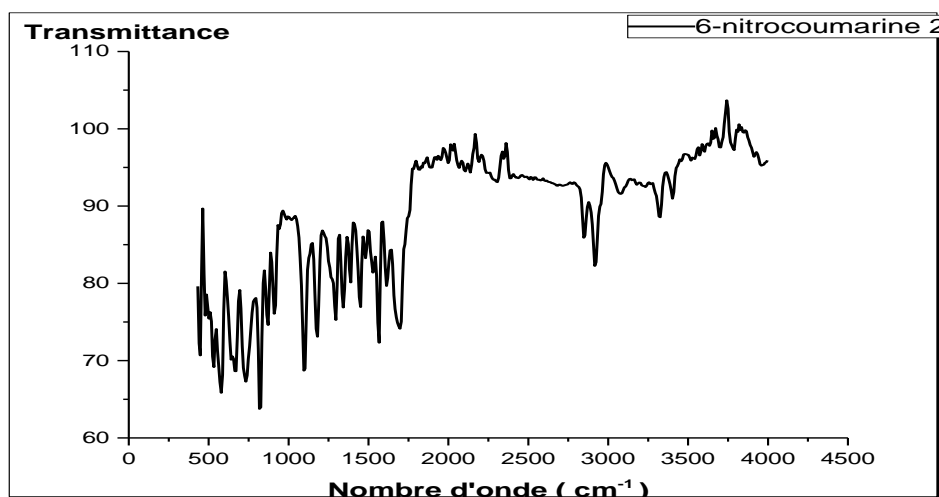


Figure III.2 : Spectre FT-IR du 6-nitrocoumarine **2**.

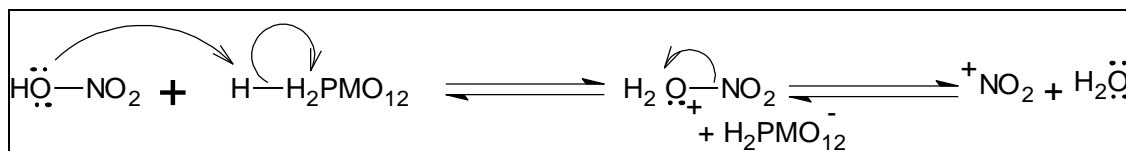
Tableau III.13 : Quelques bandes de vibrations caractéristiques de la 6- nitrocoumarine.

Produit	Bandes caractéristiques observées (cm ⁻¹)				
	=C-H	C=O arom	C=C arom	C-NO ₂	CH ₃
Littérature [51]	3071	1751	1620	1564	1480
Ce travail	3077	1700	1620	1567	1472

Ces résultats de caractérisation confirment la formation du 6-nitrocoumarine et sa pureté par l'apparition des bandes de vibration caractéristiques du groupement NO₂ en IR et le déplacement des bandes en UV.

I.6. Mécanisme de la formation du 6-Nitrocoumarine en présence de H₃PMo₁₂O₄₀

D'abord formation de l'ion nitronium :



Suivi d'une substitution électrophile aromatique :

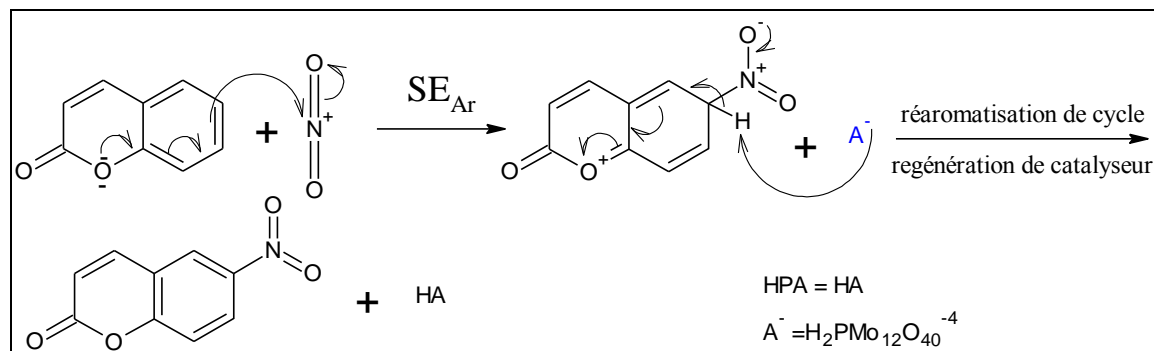


Schéma III.4 : Mécanisme de formation de 6-Nitrocoumarine **2**

II. SYNTHÈSE DU 6-AMINOCOUMARINE (3)

II.1. Présentation de la réaction

La synthèse du 6-aminocoumarine **3** se fait via la réduction du 6-nitrocoumarine **2** par la poudre de fer (Fe) en présence de chlorure d'ammonium, NH_4Cl , selon le protocole décrit dans la littérature (Schéma III.5) [51] :

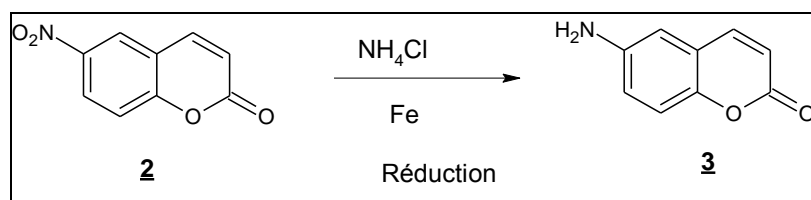


Schéma III.5 : Synthèse du 6-aminocoumarine **3**

Le tableau III.14 présente la comparaison entre les résultats obtenus dans le cadre de ce travail comparé à ceux de la littérature.

Tableau III.14 : Rendement de la synthèse du 6-aminocouamrine **3**

Référence	Rdt (%)	Pf (°C)
Littérature [51]	76	158
Ce travail	92	154 ± 3

Il en ressort de ce tableau, que le 6-aminocoumarine **3** a été formé avec succès lors de ce travail, point de fusion très proche de celui de la littérature, avec un rendement supérieur 92 contre 76%.

II.2. Caractérisation de 6-aminocoumarine

II.2.1. Caractérisation par CCM

De même que pour la nitration, la réduction est aussi suivie par CCM, tableau III.15.

Tableau III.15 : Résultats d'une analyse CCM effectuée pour la réaction de réduction du 6-nitrocoumarine **2** en 6-aminocoumarine **3**

Produit	Eluant (mL/goutte)	Rf
3	2/4	0,45

II.2.3. Spectroscopie Ultraviolet Visible

Le spectre d'absorption UV-Visible du 6-aminocoumarine **3** réalisé juste après dissolution dans le DMSO est montré dans la figure III.3.

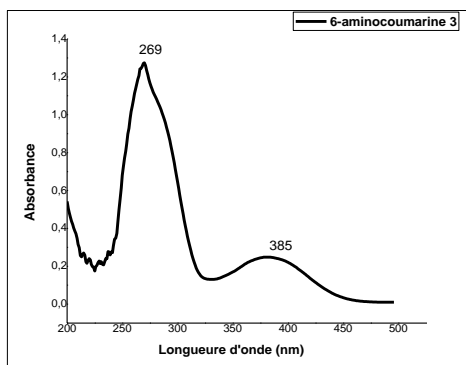


Figure III.3 : Spectres UV -Visible du 6-Aminocoumarine

Le spectre obtenu montre un déplacement bathochrome de la longueur d'onde qui se situe à 314 nm dans le cas du 6-nitrocoumarine **2** et passe à 385 nm de transitions $n-\sigma^*$ pour la 6-aminocoumarine **3** mais aucun changement pour la première longueur d'onde (269 nm).

II.2.4. Caractérisation par FT-IR

Le spectre FTIR du 6-Aminocoumarine **3** est représenté sur la figure III.4 et les bandes de vibration caractéristiques dans le tableau III.16.

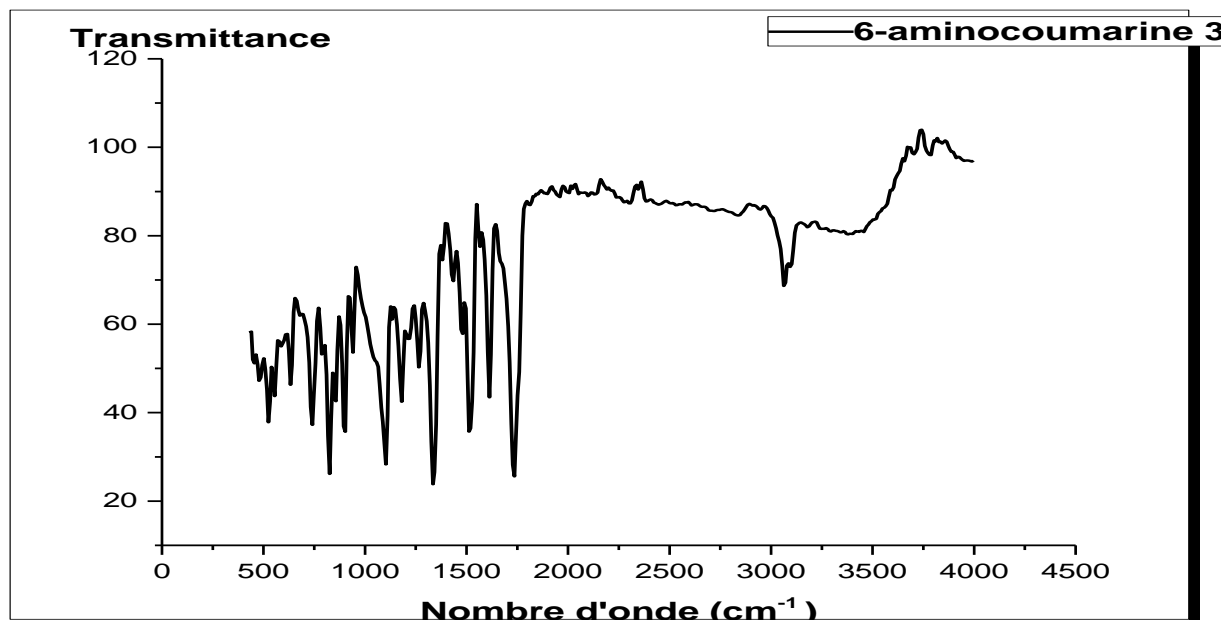


Figure III.4 : Spectre FT-IR du 6-aminocoumarine **3**.

Tableau III.16 : Quelques bandes de vibrations caractéristiques de la 6-aminocoumarine **3**

Produit	Bandes caractéristiques observées (cm ⁻¹)			
	C=O arom	C=C Arom	NH ₃	CH ₃
Littérature [51]	1705	1635	1570	1490
Ce travail	1724	1612	1516	1481

Ces résultats de caractérisation confirment la pureté du produit synthétisé par la formation des liaisons de N-H à la place de celles du N-O.

III. SYNTHÈSE DES BASES DE SCHIFFS

Vue l'intérêt thérapeutique des bases de Schiff d'une part et la non utilisation à ce jour des HPA dans leur synthèse d'autre part et en tenant compte d'une procédure publiée dans la littérature [51], nous nous proposons de synthétiser une série de bases

de Schiffs à partir du 6-aminocoumarine **3**, déjà préparé et de différents aldéhydes aromatiques en présence de l'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_{40}$, comme catalyseur dans le méthanol.

Il est important de signaler, que c'est pour la première fois que l'HPA est utilisé dans la synthèse des bases de Schiff d'une part. D'autre part 3 sur 4 de ces bases de Schiff n'ont jamais été isolées dans la littérature.

Les résultats obtenus sont décrits dans le tableau III.17.

Tableau III.17 : Synthèse des bases de Schiff **4a-d** en présence de l'HPA

Produits	Point de fusion (° C)		Rdt (%)	
	Ce travail	Littérature [51]	Ce travail	Littérature [51]
4a	154	152	92	90
4b	162	/	88	/
4c	180	/	90	/
4d	170	/	83	/

Les résultats obtenus montrent la formation des nouvelles molécules **4a-d** avec d'excellents rendements (83-92%) en un temps record de 2h. La seule base de Schiff connue est la **4a**, préparée dans la littérature en 8h de temps avec 90% de rendement [51]. Ces résultats sont assez prometteurs en termes d'efficacité (rendement), de gain de temps et d'énergie, en plus de l'enrichissement de la bibliothèque des molécules hétérocycliques.

III.1. Caractérisation des bases de Schiff

III.1.1. Mesure des points de fusion (Pf)

Les points de fusion (Pf) des quatre bases de Schiff **4a-d** obtenues sont répertoriés dans le tableau III.17.

III.1.2. Caractérisation par CCM

Idem que les synthèses précédentes, les réactions de préparation des bases de Schiff ont aussi été suivi par chromatographie sur couche mince (Tableau III.18).

Tableau III.18 : Résultats des CCM effectuées pour les quatre bases de schiff **4a-d** synthétisées.

Produit	Éluant (mL/goutte)	Rf
4a	2/4	0,74
4b	2/4	0,52
4c	2/4	0,73
4d	2/4	0,64

III.1.3. Spectroscopie Ultra-violet Visible

Les spectres UV-Visible obtenus en présence des différentes bases de schiff qui ont été synthétisés sont montrés dans la figure III.5

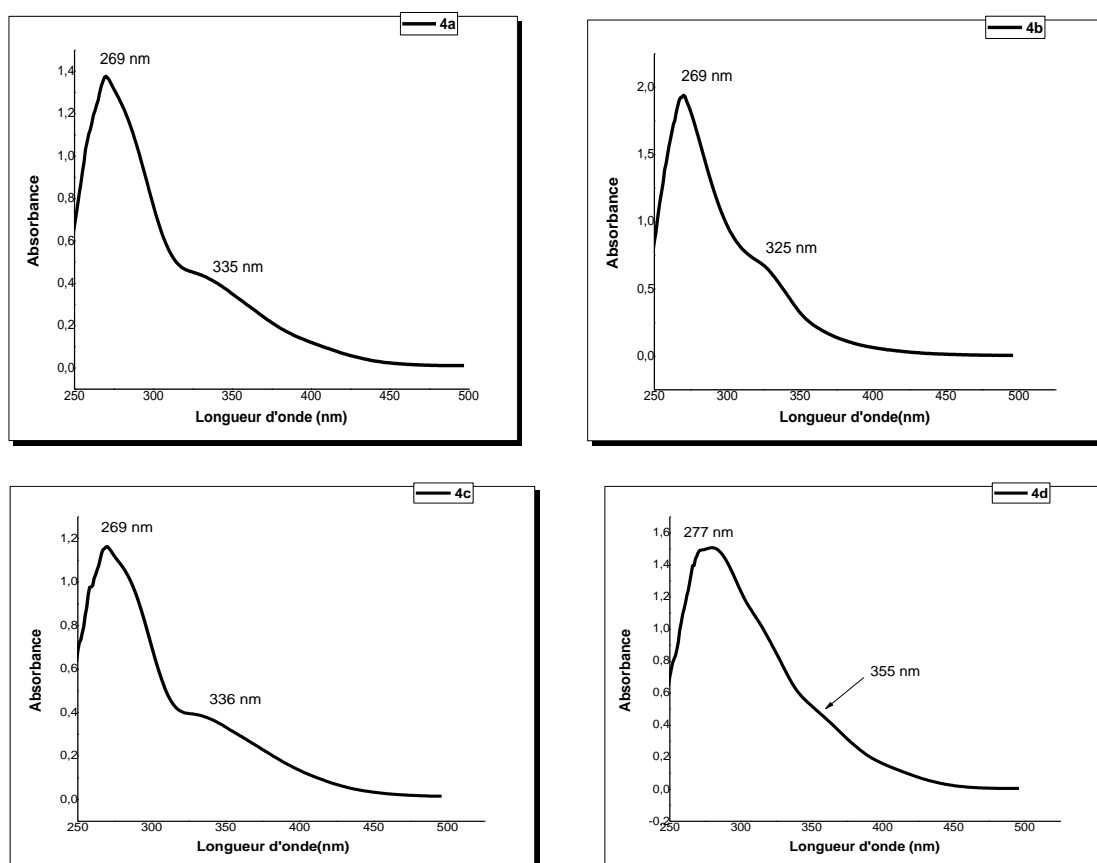


Figure III.5 : Spectres UV Visible des composés **4a-d**

Les spectres d'absorption UV/Visible des composés **4a-c** réalisés juste après dissolution dans le DMSO, montrent deux bandes distinctes. La première apparaît à la longueur d'onde 269 nm de transitions $n-\pi^*$ pour les trois composés tandis que la deuxième apparaît à 225, 235 et 236 respectivement de transitions $n-\sigma^*$.

Dans le cas du composé **4d**, la première et la deuxième bande subissent un effet bathochrome et apparaissent à 277 nm de transitions $n-\pi^*$ et à 355 de transitions $n-\sigma^*$. Ce déplacement peut être dû à la présence de OH en para de la fonction imine.

III.1.4. Caractérisation par FT-IR

Les spectres réalisés en présence des bases de Schiff obtenues sont regroupés sur les figures III.6-III.9.

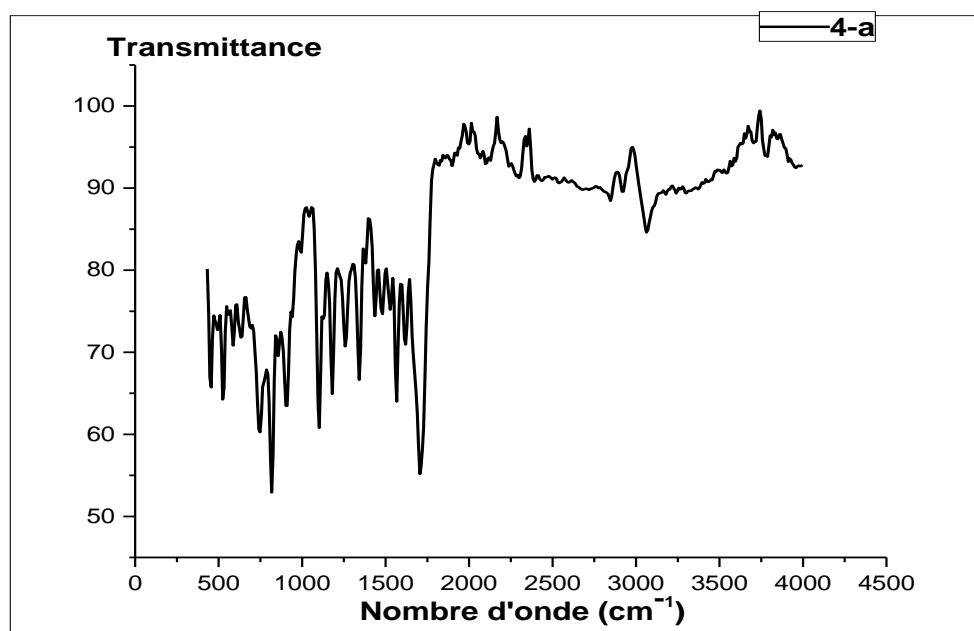


Figure III.6 : Spectre FT-IR du composé **4a**

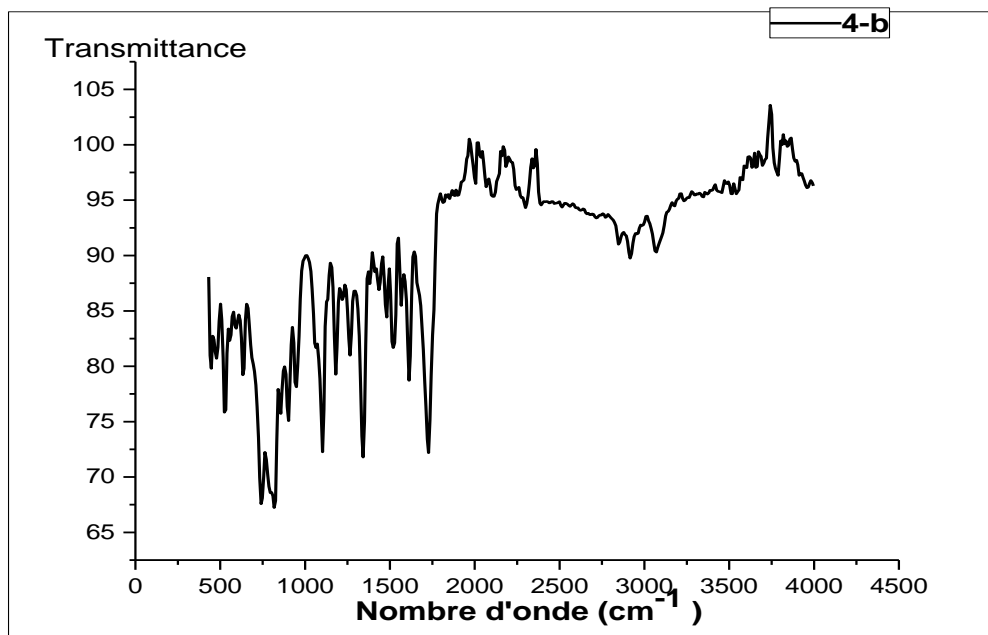


Figure III.7 : Spectre FT-IR du composé 4b

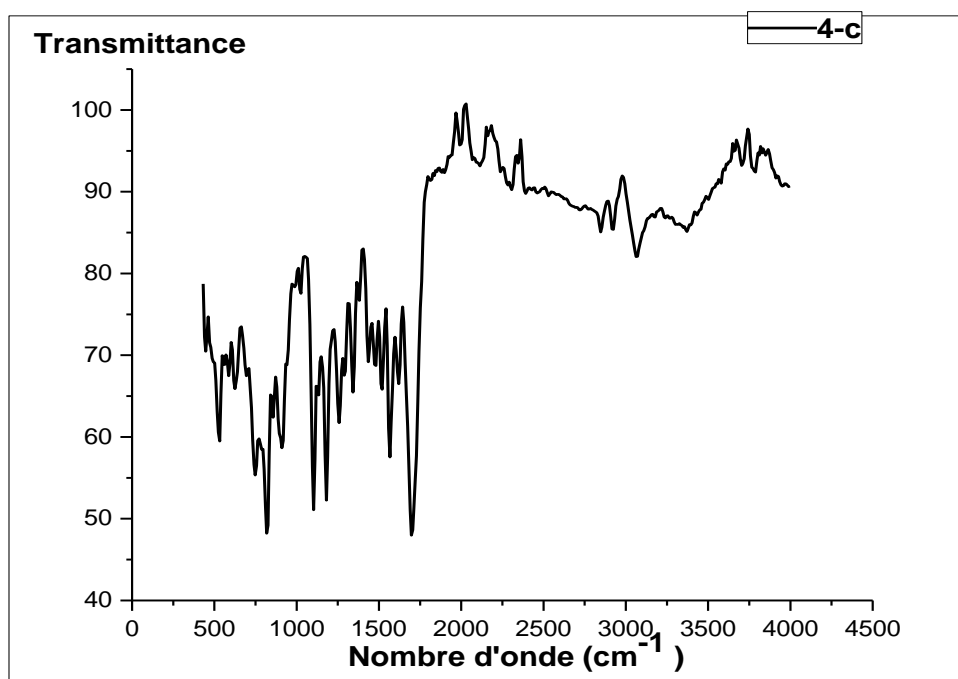


Figure III.8 : Spectre FT-IR du composé 4c

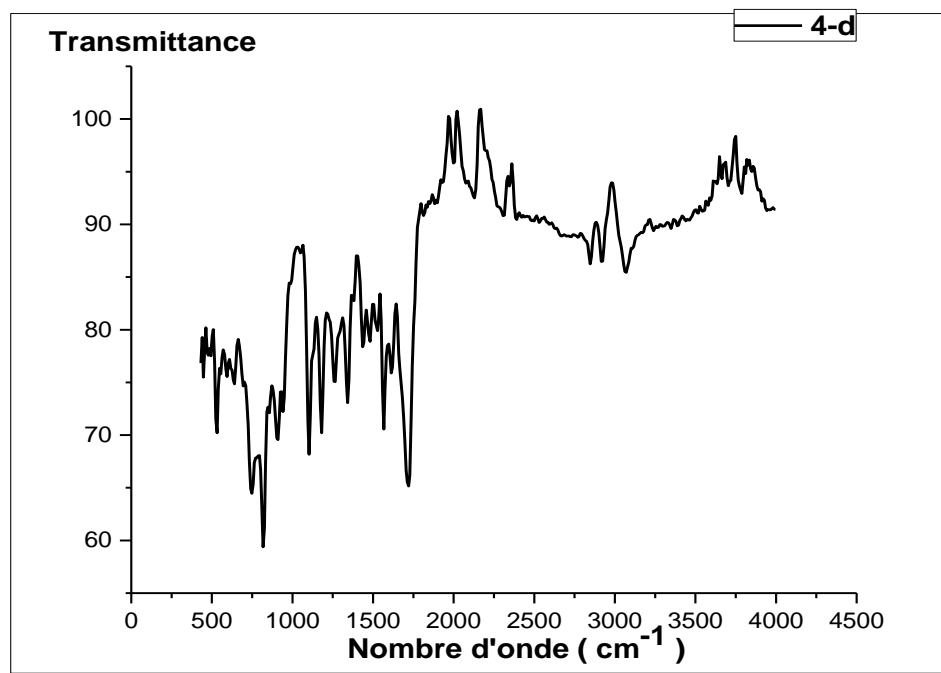


Figure III.9 : Spectre FT-IR du composé **4d**

L'ensemble des bandes de vibration caractéristiques sont répertoriées dans le tableau III.19.

Tableau III.19 : Bandes de vibrations relatives aux quatre bases de Schiff synthétisées à partir de l'analyse FT-IR

Produit	Bandes caractéristiques observées (cm ⁻¹)								
	C=O	C=N	C=C	N-H	C-S	C-O-CH ₃	OH	C=C(arom)	CH ₃
4a	1711	1627	1570	1568	/	/	/	1481	1430
4a [51]	1714	1629	1581	1566	/	/	/	1472	1437
4b	1700	1612	1577	/	629	/	/	1481	1437
4c	1717	1621	1568	/	/	1175	914	1481	1437
4d	1717	1612	1568	/	/	/	914	1481	1437

III.2. Mécanisme de la formation des bases de Schiff

Les bases de Schiff **4 a-d** ont été synthétisées par une réaction de condensation de quatre aldéhydes aromatiques (2-pyridinecarboxaldhyde, 2-thiophèncarboxaldhyde, vanilline, 4-hydroxybenzaldéhyde) avec le composé 6-aminocoumarine **3** en présence de catalyseur HPA et le méthanol absolu.

L'efficacité de ces synthèses est due à la présence de groupe hautement électrophile (groupe carbonyle) et un groupe amine à caractère nucléophile également élevé. Elles se déroulent en deux étapes essentielles :

- La première est une addition nucléophile sur le carbonyle de l'aldéhyde,
- La seconde est une déshydratation pour former une imine (la fonction principale de base de Schiff) par la transposition d'un hydrogène à partir de l'azote, cet intermédiaire formé libère par la suite une molécule d'eau selon le mécanisme réactionnel suivant (Figure III.10) :

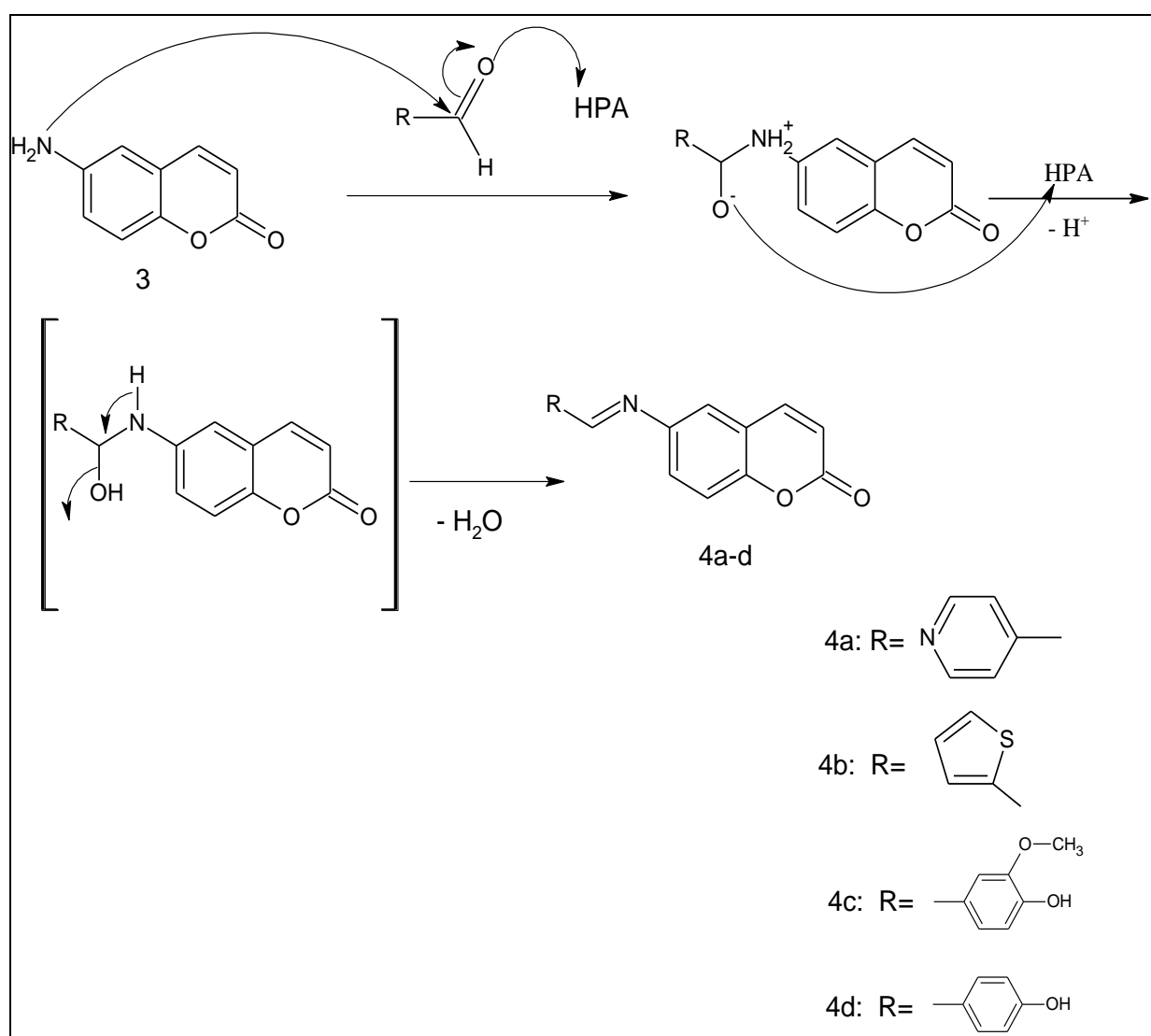


Figure III.10 : Mécanisme de la synthèse des bases de Schiff

La suite du travail a été consacrée à l'évaluation des activités biologiques des différents dérivés synthétisés. Les résultats de cette étude sont décrits et discutés dans la partie II suivante.

PARTIE II : RESULTAS DES ACTIVITES BIOLOGIQUES

I. ACTIVITE ANTIOXYDANTE

L'activité antioxydante des dérivés coumarine **1**, 6-nitrocoumarine **2**, 6-aminocoumarine **3** et de ses dérivés bases de Schiff, synthétisés à partir de la coumarine n'a jamais été décrite dans la littérature. Il nous a paru donc intéressant d'étudier leur activité antioxydante et la comparer à l'acide ascorbique ou vitamine C, composé naturel connu pour son pouvoir antioxydant très élevé. Ceci aura pour avantage de les valoriser.

La Densité Optique ou l'absorbance des produits testés ainsi que la référence utilisée, Acide Ascorbique (AA), en fonction de la concentration est représentée dans la figure III.11. Cette dernière montre que l'absorbance à la longueur d'onde d'absorption du DPPH (à 518 nm) diminue avec l'augmentation de la concentration du produit testé et que cette diminution est beaucoup plus importante pour les composé **4a** et **4c**. Aucune activité antioxydante n'est observée pour la coumarine **1** et la nitrocoumarine **2**, ceci est probablement dû à l'absence de substituants donateurs de radicaux libres H \square . Cette activité augmente légèrement pour l'aminocoumarine **3** et pour les concentrations 0,1M et 0,05 M. Par contre dans le cas des composés bases de Schiff **4a-d** une très bonne activité est observée pour les quatre composés mais reste inférieure à celle de l'acide ascorbique.

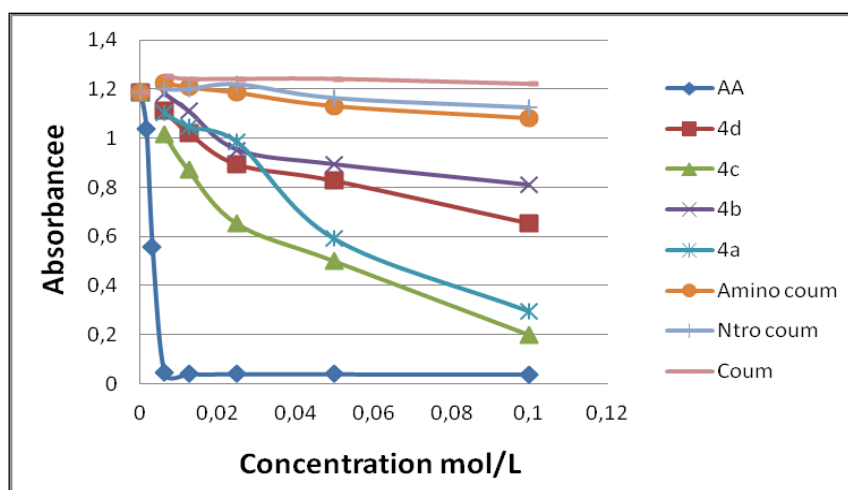


Figure III.11. Densité Optique (absorbance) en fonction de la concentration des composés coumariniques **1**, 6-nitrocoumarin **2**, 6-aminocoumarin **3** et des bases de Schiff **4a-d** et de l'AA

Les valeurs des pourcentages de capture du radical DPPH \cdot (% CR) ou le pourcentage d'inhibition sont calculés par l'équation (1) (voir chapitre II-Partie expérimentale) et sont donnés dans le tableau III.20. Les figures III.12 à III.16 représentent le tracé du % CR en fonction de la concentration pour les produits montrant une activité de piégeage du radical DPPH **4a-d** testés et de l'acide ascorbique.

Tableau III.20 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH \cdot des bases de Schiff **4a-d** et de l'AA

Dilutions Produit	% D'inhibition				
	Solution mère 0,1 mol/L	1 ^{ère} dilution 0,05 mol/L	2 ^{ème} dilution 0,025 mol/L	3 ^{ème} dilution 0,0125 mol/L	4 ^{ème} dilution 0,0062mol/L
AA	96,708	96,624	96,616	96,599	96,202
4a	74,936	50,126	16,962	11,645	06,919
4b	31,729	24,472	19,662	06,244	0,253
4c	83,120	57,805	45,822	26,582	14,092
4d	44,720	30,210	24,641	13,839	06,244

D'après les résultats, tous les composés **4a-d** montrent une très bonne activité antioxydante. En effet, leur pourcentage d'inhibition est de 74,963 %, 31,729 %, 83,12

% et 44,720 % respectivement à la concentration 10^{-1} M et de 50,126 %, 24,472 %, 57,805 % et 30,210 % respectivement à la concentration 5×10^{-2} M.

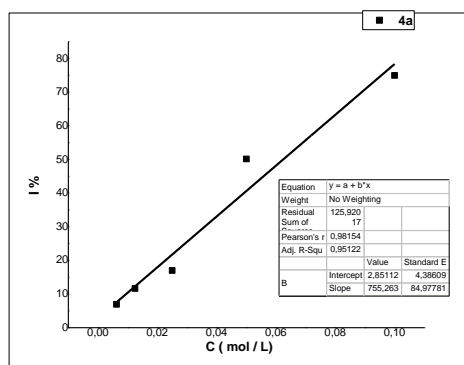


Figure III.12 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH' du composé 4a

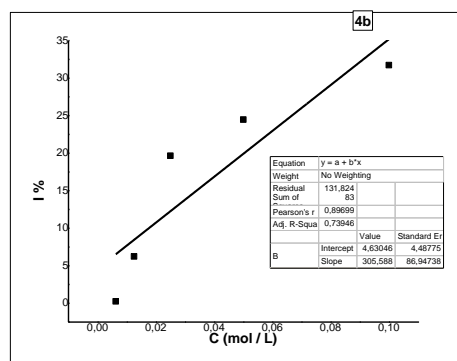


Figure III.13 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH' du Composé 4b

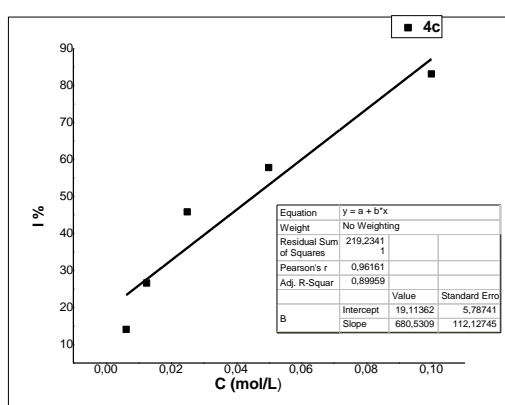


Figure III.14. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH' du Composé 4c

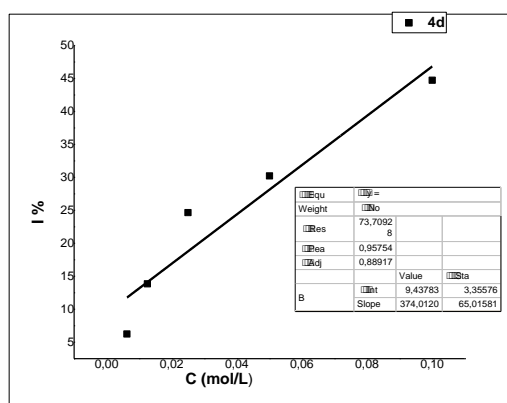


Figure III.15. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH' du Composé 4d

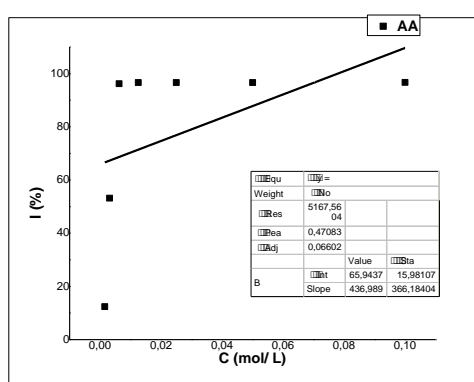


Figure III.16. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH' de l'AA

I.1. Détermination de la CE50 ou IC50

La concentration efficace (CE50) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur de CE50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. La concentration inhibitrice minimale (50) est estimée par extrapolation à % CR= 50% en traçant la courbe % CR en fonction de la concentration ou bien en utilisant la formule de la droite % CR en fonction de la [C],

$Y = a [C] + b$, où a est la pente de cette droite, b est l'ordonné à l'origine.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau III.21 et illustrés dans la figure III.17.

Tableau III.21 : Les valeurs des IC₅₀ % des composés **4a-d** et de l'acide ascorbique AA.

Composé	IC 50 % (mol/L)
4a	0,06
4b	0,15
4c	0,04
4d	0,11
AA	0,00323

A la concentration (0,1 mol/L) les pourcentages de capture du radical du composé **4b** et **4d** sont de 31% et 44% respectivement soient inférieurs à 50 %, donc la concentration nécessaire pour piéger 50 % du radical DPPH[•] est supérieur à 0,1 mol/L. Ce résultat reste positif malgré cette faible activité, ces composés peuvent servir à d'autres fins et être utilisés comme agents antioxydants à pouvoir modérés.

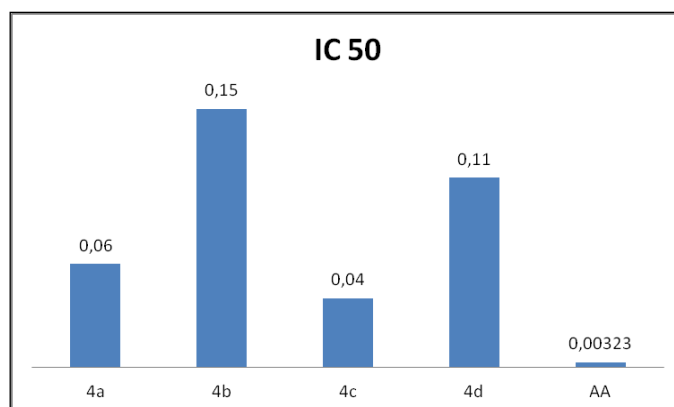


Figure III.17 : Valeur d'IC₅₀ des composés 4a-d et de l'acide ascorbique (AA)

II . Activité Antibactérienne

Le pouvoir antibactérien de la coumarine **1**, du 6-nitrocoumarine **2**, de la 6-aminocoumarine **3** et des quatre bases de Schiff **4a-d** est étudié in vitro par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton). L'incubation est réalisée pendant 24 h à 37 °C.

La figure III.18 montre les résultats de l'activité inhibitrice des composés testés sur les trois souches bactériennes étudiées (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*) respectivement.

La lecture des antibiogrammes se fait par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques à l'aide d'un pied à coulisse. La sensibilité aux différents produits est classée selon le diamètre des zones d'inhibition. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau III.22 et illustrés dans la figure III.19.

Bactéries Molécules	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1 ^{er} test			
Coum 1			
Nitrocoum 2			
Aminocoum 3			
4a			
4b			
4c			
4d			
2 ^{ème} test			
Coum 1			
Nitrocoum 2			
Aminocoum 3			
4a			
4b			
4c			
4d			

Figure III.18 : Résultats de l'activité antibactérienne des composés synthésisés

Tableau III.22 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des molécules testées

Produit testé	Bactéries / diamètre de la zone d'inhibition (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	1 ^{er} test		
Coum 1	13 +	6 -	6 -
Nitrocoum 2	6 -	6 -	6 -
Amino coum 3	6 -	6 -	≤ 8mm -
4a	13 +	9 +	≤ 8mm -
4b	6 -	≤ 8mm -	6 -
4c	9 +	≤ 8mm -	≤ 8mm -
4d	6 -	≤ 8mm -	6 -
	2 ^{ème} test		
Coum 1	14 +	6 -	6 -
Nitrocoum 2	6 -	6 -	6 -
Amino coum 3	6 -	6 -	≤ 8mm -
4a	14 +	12 +	≤ 8mm -
4b	6 -	≤ 8mm -	6 -
4c	9 +	≤ 8mm -	6 -
4d	6 -	≤ 8mm -	≤ 8mm -
Solvant	DMSO	6 -	6 -
Témoin	Chloramphénicol	33 +++	32 +++
		31 +++	

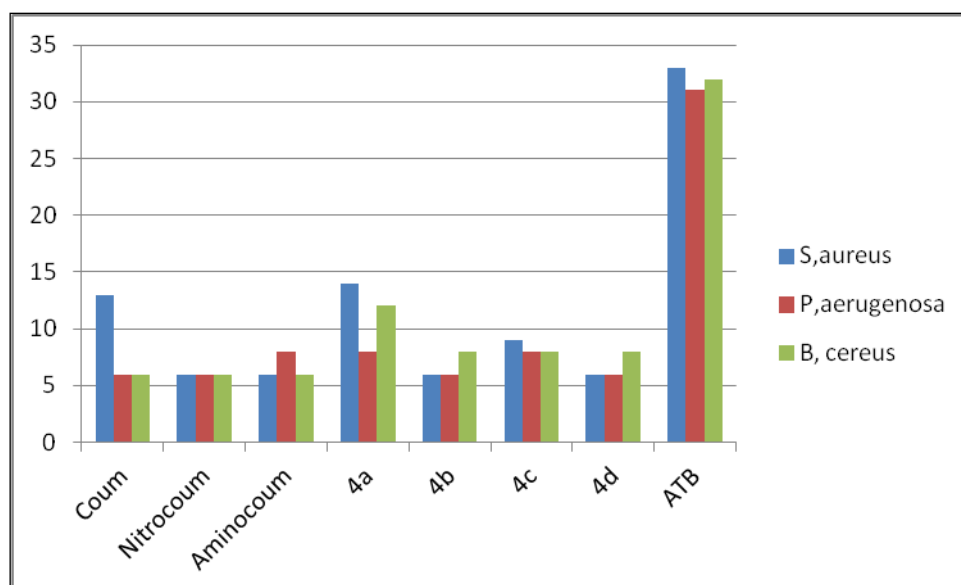


Figure III.19 : Diamètre des zones d'inhibition des composés **1, 2, 3, 4a-d** et le Chloramphénicol (ATB)

L'activité antibactérienne est évaluée en fonction du diamètre des zones d'inhibition (mm) de la croissance bactérienne. L'estimation de cette activité est basée sur une échelle de mesure où les composés sont classés selon les diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne, en quatre classes [52]

- ✓ Fortement inhibitrice (+++) : $D > 20$ mm : Les bactéries sont extrêmement sensibles.
- ✓ Moyennement inhibitrice (++) : $16\text{mm} \leq D \leq 20\text{mm}$: Les bactéries sont très sensibles.
- ✓ Faiblement inhibitrice (+) : $8\text{mm} \leq D \leq 15\text{mm}$: Les bactéries sensibles.
- ✓ Non inhibitrice (-) : $D \leq 8\text{mm}$: les bactéries non sensibles.

D'après les résultats de l'étude *in vitro* obtenus, les souches bactériennes se comportent différemment vis-à-vis des produits testés. Aucune zone d'inhibition n'a été observée pour le DMSO. Ce qui laisse confirmer qu'il n'est pas impliqué dans l'activité antibactérienne. En effet, le DMSO est considéré comme étant un solvant stérile, ne favorisant pas la prolifération bactérienne.

Tous les composés testés ne possèdent aucune activité vis à vis des bactéries *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa* à l'exception du produit **4a** qui présente une légère activité vis-à-vis de la *Bacillus cereus*.

En ce qui concerne la souche *Staphylococcus aureus*, seuls les composés coumarine **1** et **4a** qui ont montrés une activité antibactérienne moyenne contrairement aux autres composés dont leur activité est négative. Cette activité reste inférieure à celle du chloramphénicol, antibiotique pris comme référence.

Conclusion générale

Au terme de ce travail de master, une série de composés hétérocycliques, dérivant de la coumarine a été synthétisée dans des conditions plus au moins douces, à température ambiante, avec un minimum de solvant, en utilisant $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$, comme catalyseur acide propre et efficace.

Ainsi, en partant de la coumarine comme molécule mère :

- Un composé 6-nitrocoumarine a été préparé par nitration ;
- Un composé 6-amino-coumarine a été préparée par réduction du 6-nitrocoumarine ;
- 4 bases de Schiff ont été synthétisées à partir du composé 6-aminocoumarine.

Après synthèse et caractérisations physicochimiques des différentes molécules synthétisées, leurs activités biologiques ont été évaluées.

Notre apport à travers cette étude réside dans la révision des protocoles de synthèse des 6-nitrocoumarine et de celui des bases de Schiff, en appliquant des conditions beaucoup plus douces et plus respectueuses de l'environnement comparativement aux conditions classiques de la littérature. Ainsi :

- Dans le cas de la première synthèse, l'acide sulfurique, acide minéral, toxique et corrosif a été substitué partiellement par un HPA (3%), acide solide, beaucoup plus respectueux de l'environnement. Un rendement très intéressant de 90% est atteint avec uniquement 0,8mL de H_2SO_4 , soit 1/3 du volume initialement utilisé dans la littérature (4mL) avec un minimum de dépense énergétique (température ambiante). De plus, une tentative de substitution de l'acide nitrique par les nitrates de fer, moins agressives, a été prometteuse malgré les 31% de rendement, elle reste moins polluante.
- Dans le cas de la synthèse des bases de Schiff, l'HPA a été appliqué pour la première fois dans le but de réduire le temps de réaction qui est passé de 7h dans la littérature à 2h dans le cas de ce travail. De plus, 3 nouvelles bases de Schiff, jamais synthétisées ont été élaborées avec succès élargissant ainsi la

bibliothèque des hétérocycles. De même, les synthèses ont été faites à température ambiante.

- L'activité antioxydante des bases de Schiff préparées est non négligeable en revanche leurs activité antibactérienne est très intéressante.

Au final, cette initiative pourrait être qualifiée d'une alternative de substitution de l'acide sulfurique et/ou de l'acide nitrique dans les procédés de nitration des coumarines, intéressante sur le plan écologique et efficace sur le plan économique et énergétique. En plus de l'accroissement de l'éventail des molécules organiques hétérocycliques biologiquement actives. Ainsi, ces nouvelles méthodologies seraient d'un grand intérêt pour la synthèse organique moderne.

Références bibliographiques

- [1] Hostettmann K. (1992). Les plantes sources de médicaments phlébotropes, la lettre de la phlébologie. ZymaSA, Nyon, 25.
- [2] Murray R. D. H., Mendez J, et Brown S. A. (1982). The Natural Coumarins: Occurrence, Chemistry and Biochemistry. *Plant, Cell & Environment*, 5, PP. 435– 436.
- [3] Ojala T. (2001). Biological screening of plant coumarins. Université de Helsinki, P.16.
- [4] Thèse de Doctorat de Nassima Khaldi et coll, (2023). Université Mohammed Bougara Boumerdes.
- [5] F. Annunziata , C. Pinna , S. Dallavalle , L. Tamborini , A. Pinto ; *Int. J. Mol. Sci.*; (2020) 21, 4618.
- [6] R. Fethi et F. M. Salem (2017) Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen.
- [7] Waf hy, A.H.M.E., Ismail, A.R., Kana, M.T.H.A., Negm N.A.; (2017) *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 77, 83–91.
- [8] A. Couttolenc, A. Díaz-Porras, C. Espinoza, M. E. Medina, A. Trigos (2020) *J. Phys. Org. Chem.* 33 : 1.
- [9] Bruneton J., (1999), *Pharmacognosie, Photochimie Des Plantes Médicinales*, 3^{ème} Ed., Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 230.
- [10] B. MChougala, S. Samundeeswari, M. Holiyachi, N. S. Naik, L. A. Shastri, S. Dodamani, S. Jalalpure, S. R. Dixit, S. D. Joshi, V. A. Sunagar (2018) *Eur. J. Med. Chem.* 143 : 1744.
- [11] N. Khellafi, D. Oukacha, S. Terrachet, A. Abdoun, M. Makhloufi, F. Dumas, A. M. S. Silva, M. Hamdi, *Chemical Data Collections* 25 (2020)100341.

- [12] Shaikh, M.H. ; Subhedar, D.D. ; Kalam Khan, F.A. ; Sangshetti, J.N. ; Shingate, B.B. (2016) Chin. Chem. Lett. 27 : 295.
- [13] Miyake Y, Murakam A., Sugiyama Y, Isobe M, Koshimizu K, Ohigashi H, Agric J. (1999) ; 47 (8) : 3151-3157.
- [14] Sashidhara KV, Kumar A, Kumar M, Sarkar J, Sinha S. (2010). Synthesis and antihyperlipidemic activity of novel coumarin bisindole derivatives. Bioorganic et Medicinal Chemistry Letters ; 20: 6504-6507.
- [15] Massimo Curini A, Francesco Epifano C, Federica Maltese A, Maria Carla Marcotullio A, Sylvia Prieto Gonzales B and Juan Carlos Rodriguez B. (2003). Synthesis of Collinin, an Antiviral Coumarin. CSIRO PUBLISHING; 56: 59-60.
- [16] Campos Toimil M, Orallo F, Santana L, Uriarte E (2002) . Synthesis and Vasorelaxant Activity of New Coumarin and Furocoumarin Derivatives. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters ; 12:783-786.
- [17] J. R. Johnson (1942) Org. React. 1 : 210.
- [18] G. Jones (1967) Org React 15: 204.
- [19] R. L. Shringer (1942) Org React 1: 1.
- [20] S. Sethna, R. Phadke (1953) Org. React. 7: 1.
- [21] R. Azadi, Z. Nazari-Far (2015) Letters in Organic Chemistry 12: 136.
- [22] K. C. Majumdar, S. K. Ghosh (1994) J. Chem. Soc., 1 : 2889.
- [23] F. Al-Haj Hussien, M. Keshe, K. Alzobar, J. Merza, A. Karam (2016) ILCPA 69: 66.
- [24] Radwan El-Haggar et coll ;(2015). Synthesis of Some Novel 6-Nitro-8-Pyridinyl Coumarin And 6-Nitro-8-Pyranyl.

- [25] H. K. Chaudhari, A. Pahelkar, B. S. Takale (2017) Tetrahedron Letters 58: 4107.
- [26] V. Bansal; R. N. Khanna (2002) 32: 1345.
- [27] Thèse doctorat de Amroune. L et coll. ;(2023) Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- [28] Ben Romdhane, H. cahier 5 fonctions chimique et mécanismes réactionnels Les Amines. orgapolym.com. URL.
- [29] René M, Chimie organique, Stéréochimie, entités réactives et reactions; EDP Sciences, 2003.
- [30] Tadele (2017), Antioxidant Activity of Schiff Bases and Their Metal Complexes : A Recent Review. Journal of pharmaceutical and medicinal research, 3 (1), 73-77.
- [31] Munawar K S, Haroon S M, Hussain S A, et Raza H (2018). Schiff Bases: Multipurpose Pharmacophores with Extensive Biological Applications. Basic and applied sciences, 14, 217-229.
- [32] Al Zoubi, (2013).W. Biological Activities of Schiff Bases and Their Complexes: A Review of Recent Works, International Journal of Organic Chemistry. (Vol.3). P 73.
- [33] A. S. Al-Ayed,(2011). Molecules . 16, 10292.
- [34] R. Borthakur, A. Kumar, A. K. De, et R. A. Lal, «Synthesis, characterization and electrochemical properties of copper(II) complexes derived from succinoyldihydrazine4.
- [35] Kaplancikli z. A., altintop m. D., ozdemir a., zitouni g. T., khan s.i., atli, o., gokalpi. A. (2012). lett. Drug design & discovery, 9, 310.

- [36] Hart T and Shears P. (1997). Atlas de poche de microbiologie, 1er édition, Médecine-Science Flammarion.
- [37] Lullmann H, Mohr K, Ziegler A. (1998). Atlas de poche de pharmacologie 2eme édition. Médecine-Science Flammarion.
- [38] B JBACHMANN. (1990). Linkage map of Escherichia coli K-12, 8ed, Microbiol Rev, 54, 2, 130.
- [39] K. Lokesh *et al.*(2015).Life cycle greenhouse gas analysis of biojet fuels with a technical investigation into their impact on jet engine performance.
- [40] Y. Martinetto (2020) Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay, France.
- [41] W. Salomon (2016) Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay, France.
- [42] M. Attoui (2018) Université de Bordeaux, France.
- [43] V. Kozhevnikov. (1998). Chem. Rev., 98, 171.
- [44] Andrieu. (1997), Thèse de Doctorat de l'Université des sciences et technologies de Lille.
- [45] L. P. Kanzmiskii, M. A. Fedotov (1977) V. I. Spitsyn, dokl. Acad. Nank. USSR. 1977, 233, 152, 1977, 234, 1376.
- [46] N. Mizuno, M. Misnot. (1997). Mol. Sci. 2, 84.
- [47] Y. Centi, F. Lena, D. Trifiro, C. Ghosoub, C. Aissi, J.(1990). Guelton, chemist society farady Trans. 86, 2775.
- [48] M. T. Pope, A. Müller. (1994). (Eds.) in Polyoxometalates, Kluwer Academic Publications, Dordrecht.
- [49] S. Roy, T. Kumar Mondal, P. Mitra, E. Lopez Torres, C. Sinha (2011) Polyhedron. 913 : 922.
- [50] A. S. Al-Ayed. (2011). Molecules, 16, 10292.

Résumé

Au terme de ce travail , une série de composés hétérocycliques, dérivant de la coumarine ont été synthétisée dans des conditions plus au moins douces, à température ambiante, avec un minimum de solvant, en utilisant $H_3PMo_{12}O_{40}$, comme catalyseur acide propre et efficace, un composé 6-nitrocoumarine a été préparé par nitration de la coumarine ; un composé 6-aminocoumarine a été préparé par réduction du 6-nitrocoumarine ; quatre bases de schiff ont été synthétisées à partir du composé 6-aminocoumarine dans laquelle trois nouvelles bases de schiff jamais synthétisées ont été élaborées avec succès. Ces trois composés préparés ont été caractérisées par les méthodes spectroscopiques suivant (UV-Visible, FT-IR).

Enfin, quelques-uns des produits obtenus ont montré une activité antioxydante et antibactérienne intéressante.

Mots clés : Coumarines, nitrocoumarine, aminocoumarine, bases de schiff.