

N° d'ordre :

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

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE

FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

**Synthèse par réaction de Biginelli d'hybrides de coumarines et
du Donepezil potentiellement actifs contre la maladie
d'Alzheimer**

Présenté par :

M^{elle} KHELIL AMIRA

Soutenu publiquement, le 03 / 10 / 2017, devant le Jury composé de :

MEZIANE	DALILA	MCA	UMMTO	Présidente
MAKHOLOUFI	MALIKA	MCA	UMMTO	Promotrice
ISMAILI	LHASSANE	MC HDR	UFR SMP (Besançon)	Co-promoteur
BELKHIR	DRIFA	MAA	USTHB	Examinatrice
IGHILAHIRIZ	KARIMA	MAA	UMMTO	Examinatrice

Remerciements

J'adresse mes remerciements les plus chaleureux à Madame Makhloufi née Chebli Malika, ma directrice de recherche, pour son engagement à mes côtés et sa grande disponibilité tout au long de ce mémoire. Soyez assurée Madame, de toute mon estime et mon profond respect.

Je remercie aussi chaleureusement le docteur Ismaili Lhassane, mon Co -directeur de recherche pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire de chimie organique et thérapeutique et pour tous ses conseils avisés durant toute la durée du stage.

Mes remerciements vont aussi à Monsieur Vincent Luzet qui m'a accompagné tout au long de mon stage pour l'aide précieuse qu'il a su m'apporter au laboratoire.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à Madame Meziane Dalila qui m'a fait l'honneur de prendre connaissance de ce travail et de présider ce jury. Trouvez ici Madame, l'expression de ma profonde reconnaissance.

Toute ma gratitude à Mesdames Ighilahriz et Belkhir, pour m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury.

Je tiens aussi à remercier toutes les personnes qui ont participé à mon encadrement et, tous ceux qui de près ou de loin m'ont soutenue dans la réalisation de ce mémoire dans les meilleures conditions.

Dédicace

Ce mémoire est dédié à mes parents, mon oncle Zine, ma sœur Taous et mon frère Arezki, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études.

Merci d'avoir été là dans les moments de doute.

Merci pour toute la confiance que vous m'avez accordée.

Liste des abréviations

AA	Acide ascorbique
Abs	Absorption.
AChE	Acétylcholinestérase
ACN	Acétonitrile
ADN	Acide Désoxyribose Nucléique
ARN	Acide Ribonucléique
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
DCM	dichlorométhane
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
IC50 %	Concentration inhibitrice médiane
IR	Infra Rouge
MAO	Monoamine oxydase
MHz	Méga Hertz
Rdt	Rendement
RMN ¹H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
RMN ¹³C	Résonance magnétique nucléaire du carbone
RPM	Rotations par minute
TAL	Acide Triacétique Lactone (4-hydroxy-6-méthyl-2 <i>H</i> -pyran-2-one)
TMS	Tétraméthylsilane
UV-Visible	Ultra Violet-Visible

Liste des figures

Figure 1 : Structure de l'aricept	5
Figure 2 : Structure de la coumarine	7
Figure 3 : Structure de la vitamine C	13
Figure 4 : Structure de la vitamine E.....	14
Figure 5 : Structure du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH).....	15
Figure 6 : Formes tautomères des composés 3a-d et 3e	22
Figure 7 : Spectre UV-visible du composé 3a dans le DMSO à 10^{-4} M.....	24
Figure 8 : Spectre UV-visible du composé 3b dans le DMSO à 10^{-4} M.....	24
Figure 9 : Spectre UV-visible du composé 3c dans le DMSO à 10^{-4} M	24
Figure 10 : Spectre UV-visible du composé 3d dans le DMSO à 10^{-4} M.....	24
Figure 11 : Spectre UV-visible du composé 3e dans le DMSO à 10^{-4} M	24
Figure12 : Densité Optique en fonction de la concentration des composés 3a-e	29
Figure 13 : Densité Optique en fonction de la concentration de l'acide ascorbique.....	29
Figure 14 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du composé 3a	30
Figure 15 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du composé 3b	30
Figure 16 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du composé 3c	30
Figure 17 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du composé 3d	30
Figure 18 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du composé 3e	30
Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de l'acide ascorbique	30
Figure 20 : Valeurs d'IC50 des composés 3a-e et de l'A.A	31

Liste des schémas

Schéma 1 : Réaction de Biginelli	11
Schéma 2 : Mécanisme de la réaction de Biginelli	11
Schéma 3 : Synthèse des 3-acétoacétylcoumarines.....	19
Schéma 4 : Synthèse des DHPMs :1-(2-(1-benzylpiperidin-4-yl)ethyl)-6-methyl-5-(2-oxo-2H-chromene-3-carbonyl)-4-phenyl-3,4-dihydropyrimidin-2(1 <i>H</i>)-one.....	21

Liste des tableaux

Tableau 1 : Structure générale des génines et des hétérosides.....	8
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques des composés 3a-e	22
Tableau 3 : Résultats de la spectrophotométrie UV-Visible des composés 3a-e	23
Tableau 4 : Résultats spectroscopie IR des composés 3a-e	25
Tableau 5 : Résultats de la spectroscopie RMN ¹ H des composés 3a-e	26
Tableau 6 : Résultats des spectres RMN ¹³ C des composés 3a-e	27
Tableau 7 : Les valeurs des IC50% des composés 3a-e et A.A	31

Sommaire

Introduction générale	1
Chapitre I : partie théorique	
I. Maladie d'Alzheimer	3
I.1. Définition	3
I.2. Plaques amyloïdes (ou plaques séniles).....	3
I.3. Dégénérescences neurofibrillaires	4
II. Modes d'action préconisés dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.....	4
II.1. Définition de l'acétylcholine et acétylcholinestérase	4
II.1.1. Acétylcholine.....	4
II.1.2. Acétylcholinestérase	4
II.2. Un inhibiteur de l'acétylcholinestérase : Donepezil (aricept).....	5
II.3. Définition de la monoamine oxydase	6
II.4. Inhibiteurs de la MAO-B	6
III. Coumarine	7
III.1. Classification	7
III.2. Propriétés physico-chimiques.....	9
III.3. Caractérisation.....	9
III.4. Propriétés pharmacologiques	9
III.5. Molécules hybrides	9
IV. Réaction multicomposants	10
V. Réaction de biginelli.....	11
VI. Molécules hybrides coumarines-3,4-dihydropyrimidinone	12
VII. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	12
VII.1. Stress oxydant	12
VII.2. Radicaux libres	13
VII.3. Antioxydants	13
VII.3.1. Antioxydants naturels	13
VII.3.2. Antioxydants synthétiques.....	14
VII.3.3. Antioxydants endogènes	15
VII.3.4. Activité antioxydantes des coumarines.....	15
VII.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	15
VII.5. Evaluation du pouvoir antiradicalaire par la méthode de DPPH•.....	15

Chapitre II : Partie expérimentale

I. Appareillages et techniques analytiques	17
II. Matériels et produits	18
III. Manipulations.....	18
III.1. Synthèse des dérivés 3-acétoacétylcoumarines (3a-e).....	18
III.2. Synthèse de molécules hybrides coumarine-3,4-dihydropyrimidinone-donepezil	19
III.2.1. Essais réalisés sous micro-onde	19
III.2.2. Essais réalisés sous chauffage classique	20
III.3. Evaluation de l'activité anti-oxydante des dérivés 3-acétoacétylcoumarines par la méthode de réduction du radical libre du DPPH• (1,1, diphenyl-2-picrylhydrazyle).....	21

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Synthèse des dérivés 3-acétoacétylcoumarines (3a-e).....	22
I.1. Résultats de l'analyse par chromatographie sur couche mince CCM	23
I.2. Analyse par spectrophotométrie UV-Visible.....	23
I.3. Analyse par spectroscopie IR	25
I.4. Analyse par spectroscopie RMN du proton.....	25
I.5. Analyse par spectroscopie RMN du carbone 13.....	26
II. Synthèse des molécules hybrides coumarines-dihydropyrimidinones-donépizil	27
II.1. Résultats de la chromatographie sur couche mince (CCM)	27
II.2. Résultats de la spectroscopie RMN du proton	28
II.3. Conclusion.....	28
III. Résultats de l'activité antioxydante.....	28
III.1. Détermination de la CE50 ou IC50.....	31
III.2. Conclusion	32
Conclusion générale	33
Références bibliographiques	35

Annexes

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

La mémoire est une faculté des plus essentielles pour l'homme. Elle lui permet de garder une identité, d'évoluer en prenant acte du passé, d'avoir des connaissances, de savoir comment réagir devant un problème quelconque. En un mot, elle lui permet de se souvenir du passé pour mieux vivre le présent et envisager l'avenir.

Seulement cette zone du cerveau est la principale cible de la maladie d'Alzheimer. Elle a été comparée à l'effacement d'un disque dur, commençant par les fichiers les plus récents en remontant dans le temps.

C'est en 1907 que le neuropsychiatre allemand Aloïs Alzheimer décrit pour la première fois les altérations anatomiques observées sur le cerveau de sa patiente Auguste D.

La maladie d'Alzheimer, la démence dégénérative la plus répandue, est un fléau qui touche 10 % des personnes de plus de 65 ans. Pour 1% des cas de la maladie d'Alzheimer, les causes sont bien connues car la maladie est due à la présence de mutations sur des gènes identifiés. Il s'agit de formes génétiques autosomiques dominantes. Mais dans 99% des cas, les causes sont inconnues, probablement car il n'y a pas une cause unique mais une origine multifactorielle (facteurs environnementaux, facteurs de risques cardiovasculaires, facteurs de risques génétiques...).

Dans les cerveaux atteints, cette maladie se caractérise par deux types de lésions : les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires. Elle détruit les cellules nerveuses de façon lente et progressive. Elle se traduit par des troubles de la mémoire, des troubles cognitifs et du comportement et conduit irrémédiablement à une perte d'autonomie progressive.

En vue de mieux comprendre les mécanismes liés à cette maladie plusieurs recherches ont été lancées ; la finalité étant de déboucher sur de nouveaux outils thérapeutiques capables de stopper la maladie voire inverser le déclin cognitif et la perte de mémoire.

L'objectif recherché dans ce mémoire porte sur le développement de nouveaux inhibiteurs de cholinestérases (Butyryl et acétyl) dont les propriétés permettraient de ralentir la progression de la maladie. Ces inhibiteurs seront dotés d'autres pharmacophores d'intérêt renforçant ainsi leur pouvoir thérapeutique : un fragment coumarine comme inhibiteur de la monoamine oxydase, un fragment benzyl pipéridine issu du donepezil, médicament utilisé dans le traitement de la maladie d'Alzheimer comme inhibiteur de l'acetylcholinestérase. Ils contiendraient également un noyau dihydropyrimidinone dont les dérivées présentent une

Introduction générale

activité similaire à celles des noyaux dihydropyrimidine connu pour leur activité comme bloqueur du canal de calcium. Ces molécules seront synthétisées en une seule étape par la réaction de Biginelli.

Ce mémoire est organisé en trois chapitres :

Le 1^{er} chapitre débutera par une définition de la maladie d'Alzheimer et des lésions qui la caractérisent, suivi d'une présentation des modes d'action préconisés dans le traitement de cette maladie. Il s'agira ensuite de présenter et de définir la coumarine en sa qualité d'inhibitrice de la mono-oxydase et les réactions multicomposants pour aboutir enfin à la réaction de Biginelli, son mécanisme et les différentes conditions de celle-ci.

Le 2^{ème} chapitre sera consacré en premier lieu à la description des équipements et matériels utilisés. Nous aborderons le mode opératoire de la synthèse des dérivées 3-acétoacétylcoumarines pour passer ensuite à la présentation des modes opératoires testés dans le but d'obtenir la molécule hybride coumarine 3,4-dihydropyrimidinone-donepezil par la réaction de Biginelli. Enfin, nous nous intéresserons à l'évaluation de l'activité anti oxydante des dérivées 3-acétoacétylcoumarines par la méthode de réduction du radical libre DPPH• (1,1, diphenyl-2-picrylhydrazyle).

Le 3^{ème} chapitre sera quant à lui consacré aux résultats obtenus et les commentaires qui en découlent.

CHAPITRE I

PARTIE THEORIQUE

I. Maladie d'Alzheimer

I.1. Définition

Définie par l'Organisation Mondiale de la Santé comme l'altération progressive de la mémoire, du raisonnement et de la personnalité. La maladie d'Alzheimer, la forme de démence la plus fréquente chez les personnes âgées, a de quoi dérouter la communauté scientifique. Et pour cause, son origine demeure inconnue.

Si on peut actuellement amoindrir certains symptômes, on ne peut encore enrayer le développement de la maladie. Il est difficile de diagnostiquer et dater un début de cette maladie puisque les symptômes précoces se confondent avec les premiers signes du vieillissement cérébral normal [1].

Pour rappel, c'est l'autopsie de la patiente Auguste D, pratiquée en 1906 qui lèvera le voile sur cette pathologie dévastatrice. Le neuropsychiatre Allemand Aloïs Alzheimer suivit sa patiente de 1901 à 1906 et recueillera les premières descriptions cliniques de la démence qui allait porter son nom. A la mort de cette dernière, Aloïs Alzheimer pratiqua l'examen de son cerveau. Il y observa une atrophie, que l'on constatera plus tard liée à une mort importante des cellules nerveuses, et identifia les deux types de lésions caractéristiques de ce qu'on allait nommer la maladie d'Alzheimer : les **plaques séniles** et les **dégénérescences neurofibrillaires** [1].

I.2. Plaques amyloïdes (ou plaques séniles)

Il s'agit de lésions extracellulaires de la maladie d'Alzheimer. Ces plaques correspondent à l'accumulation d'un peptide anormal et neurotoxique de 42 acides aminés : le peptide bêta-amyloïde. Ce peptide, normalement de 40 acides aminés, provient d'un mauvais clivage de la protéine APP (Amyloid Protein Precursor). Ceci participerait à l'entrée massive de calcium dans le neurone et activerait la microglie (réaction inflammatoire), ce qui entraîne la mort inéluctable du neurone par nécrose ou par apoptose [2].

Le lien entre les ions Ca^{2+} et les peptides bêta-amyloïde a été démontré par l'existence d'une glycoprotéine impliquée dans le mécanisme de production de ces peptides bêta-amyloïde et qui contrôle également les niveaux de concentration en ions Calcium [Ca^{2+}] à l'intérieur des cellules.

Une mutation au sein du gène codant de cette protéine modifie à la fois la concentration en [Ca^{2+}], et la production des peptides bêta-amyloïde. Cette mutation est aussi associée à une augmentation du risque de développer la maladie d'Alzheimer [3]. Ces plaques sont essentiellement localisées dans le néocortex et l'hippocampe [2].

I.3. Dégénérescences neurofibrillaires

Il s'agit de lésions cellulaires secondaires à l'accumulation de la protéine tau (protéine d'association aux microtubules qui font partie du cytosquelette) hyperphosphorylées, responsable de la formation de filaments appariés. Lorsque la protéine tau est hyperphosphorylée, elle va se conformer en paire de filaments hélicoïdaux, puis s'agréger pour former les neurodégénérescences fibrillaires. Les substances nécessaires au bon fonctionnement du neurone ne pourront donc plus être acheminées jusqu'au corps cellulaire et le neurone va mourir [2].

II. Modes d'action préconisés dans le traitement de la maladie d'Alzheimer

Les médicaments de la maladie d'Alzheimer sont regroupés en fonction du mode d'action, en inhibiteurs de la cholinestérase (donépézil, métrifonate et rivastigmine), et antioxydants (sélégiline et vitamine E).

Les inhibiteurs de la cholinestérase consistent à maximiser la quantité d'acétylcholine disponible en contrecarrant sa dégradation alors que les médicaments antioxydants inhibent l'activité des monoamines oxydases dans le cerveau.

II.1. Définition de l'acétylcholine et acétylcholinestérase :

II.1.1. Acétylcholine

L'acétylcholine de formule chimique $C_7NH_{16}O_2^+$ est un neurotransmetteur, c'est-à-dire que cette substance transmet l'information d'un neurone à un autre. Elle est stockée dans des vésicules à l'extrémité d'un premier neurone et est sécrétée lors d'un influx électrique dans la synapse (espace entre deux neurones).

Elle va se lier ensuite aux récepteurs de l'extrémité du second neurone pour propager cet influx avant d'être recaptée par son extrémité d'origine. Elle permet ainsi la propagation d'un potentiel d'action (influx électrique) dans le système nerveux. L'acétylcholine a pour principaux effets une dilatation des artères, une contraction des bronches et du tube digestif ainsi qu'une sécrétion de mucus par les bronches [4]. Elle est entre autres impliquée dans l'éveil, l'attention, la colère, l'agression... [5].

II.1.2. Acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase est une enzyme catalysant spécifiquement l'hydrolyse de l'acétylcholine en acide acétique et choline [6].

II.2. Un inhibiteur de l'acétylcholinestérase : Donepezil (aricept)

Le cerveau des personnes qui ont la maladie d'Alzheimer subit une dégénérescence progressive des cellules nerveuses, plus particulièrement celles qui fabriquent l'acétylcholine, une substance chimique jugée importante pour l'apprentissage et la mémoire. Pour cette raison, les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer ont de plus faibles quantités d'acétylcholine dans le cerveau [7]. Pour pallier à cette carence il est prescrit à ces malades des inhibiteurs de l'AChE qui rendent l'acétylcholine plus disponible dans la fente synaptique en retardant sa dégradation [8]. L'aricept (Figure1) est un puissant inhibiteur, spécifique et réversible de l'acétylcholinestérase, qui freine la dégradation de l'acétylcholine au niveau synaptique du système cholinergique [9]. Il est utilisé pour le traitement de symptômes chez les personnes atteintes aux stades léger, modéré et avancé de la maladie d'Alzheimer [7].

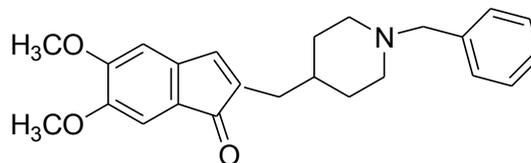


Figure 1: Structure de l'aricept

Premier arrivé sur le marché mondial, il nous apparaît actuellement être le premier choix. Il est le seul de sa classe à avoir une posologie unique quotidienne, et la dose est facile à ajuster (5 mg comme dose initiale pour environ un mois et 10 mg par la suite). Aricept est la forme thérapeutique sur laquelle on dispose de plus de données scientifiques et du plus grand recul [8]. Il est métabolisé par le cytochrome P450 et peut donc interagir avec plusieurs autres médicaments. Il est rare qu'il faille arrêter le traitement à cause d'une interaction médicamenteuse. Les effets secondaires (essentiellement gastro-intestinaux) sont assez fréquents surtout en phase initiale, mais restent habituellement prévisibles. Il est bien toléré en phase d'entretien, soit à la dose de 10 mg par jour [8]. Il aide à contrôler les symptômes mais il serait sans effet sur la neurodégénérescence et ne modifierait pas la durée de la maladie.

Les données tirées d'expériences menées sur des animaux semblent indiquer que le médicament améliore l'action de l'acétylcholine en augmentant la réactivité des récepteurs du cerveau avec lesquels elle interagit. Dans la région du cerveau qui est touchée en premier lieu par la maladie d'Alzheimer, c'est-à-dire la région associée aux facultés cognitives et à la mémoire, il n'y a pas assez d'acétylcholine à la jonction des neurones pour permettre la transmission de messages d'un neurone à un autre. Le médicament améliore cette situation, non seulement en empêchant l'acétylcholinestérase de détruire l'acétylcholine, mais en

augmentant aussi la réactivité des récepteurs, ce qui leur permet de réagir à des quantités moindres d'acétylcholine. On ignore cependant si cela se produit également chez l'être humain [7].

Les bienfaits potentiels de l'aricept pourraient diminuer à mesure que la maladie évolue et que le cerveau a de moins en moins de cellules capables de produire l'acétylcholine [7].

II.3. Définition de la monoamine oxydase

Les amines oxydases sont des enzymes largement distribuées chez les organismes vivants (bactéries, plantes, animaux). Elles catalysent la déamination oxydative des amines (mono-, di- et polyamines), consommant de l'oxygène O_2 et de l'eau, et produisant l'aldéhyde correspondant : du NH_3 et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) [10].

La monoamine oxydase (MAO) a été isolée pour la première fois en 1928 par Hare et dénommée tyramine oxydase pour sa capacité à catalyser une déamination oxydative de la tyramine [7].

Il existe deux isoformes de MAO : la MAO-A et la MAO-B qui diffèrent selon la spécificité du substrat : les MAO-A désaminent de préférence la sérotonine et la norépinéphrine alors que les MAO-B agissent de préférence sur la Phényléthylamine [11].

Les deux isoformes de la MAO présentent chez l'homme des poids moléculaires légèrement différents : 60kDa pour la MAO-A et 58 kDa pour la MAO-B.

La MAO-A est souvent présente au niveau des neurones catécholaminergiques alors que la MAO-B se trouve au niveau des neurones sérotoninergiques [10].

En raison du rôle vital que jouent les MAO dans l'inactivation des neurotransmetteurs, la régulation de l'activité de la MAO-A et de la MAO-B a constitué une cible importante pour le traitement de diverses pathologies [11].

Certaines maladies dues à un défaut dans la synthèse de monoamines (maladie de Parkinson, d'Alzheimer) sont soignées par des inhibiteurs de monoamine oxydases (IMAOs). C'est un fait connu que le taux de MAO-B dans le cerveau s'élève de façon naturelle avec l'âge, et qu'il est accru de façon importante chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer.

A des niveaux très élevés, cette enzyme peut entraîner une lésion neurochimique fonctionnelle réversible [10].

II.4. Inhibiteurs de la MAO-B

Les approches thérapeutiques tiennent en grande partie à la mise en évidence d'un stress oxydatif chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer.

Parmi les antioxydants connus, la sélégiline, appelée également l-déprényl (Eldepryl® aux USA.), il s'agit d'un inhibiteur irréversible de la monoamine oxydase (MAO) à action centrale et périphérique.

Les inhibiteurs de la MAO-B ont été l'une des premières approches thérapeutiques développées pour augmenter la biodisponibilité de dopamine et ainsi ralentir l'évolution de cette maladie. Ils restent encore actuellement l'un des traitements les plus utilisés. Par ailleurs, d'autres travaux ont attribué un rôle aux métabolites (aldéhydes) produits lors de la dégradation de leur substrat dans la maladie d'Alzheimer par exemple [10].

Certains dérivés de coumarine ont été décrits comme étant bons Inhibiteurs de la MAO. Les recherches menées ces dernières années ont porté sur la réalisation de la synthèse de différentes 3-arylcoumarines avec une activité inhibitrice intéressante de MAO-B [11].

III. Coumarine

Le nom de coumarine vient de "cumaru" qui, dans la langue amazonienne signifie arbre de Tonka dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine. Son odeur est décrite comme une odeur de foin fraîchement coupé [12] et dont la saveur est généralement amère [13].

La coumarine (Figure 2) est stockée dans la plante sous forme de glucoside de l'acide coumarique et se transforme en coumarine sous l'action d'enzymes ou de soleil [12].

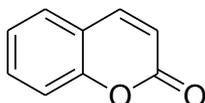


Figure 2 : Structure de la coumarine

III.1. Classification

Il existe deux types de coumarines : coumarines simples et coumarines complexes [13].

III.1.1. Coumarines simples

Ce sont les coumarines les plus répandues dans le règne végétal [13].

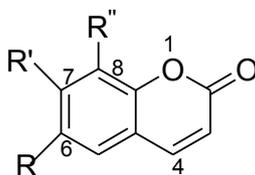


Tableau 1 : Structure générale des génines et des hétérosides

	R	R'	R''
Coumarine	H	H	H
Ombélliférone	H	OH	H
Esculétole	OH	OH	H
Esculine=Esculoside	O-Glc	OH	H
Scopolétole	OCH ₃	OCH ₃	H
Scopoline=Scopoloside	OCH ₃	O-Glc	H
Fraxétole	OCH ₃	OH	OH
Fraxoside	OCH ₃	O-Glc	OH

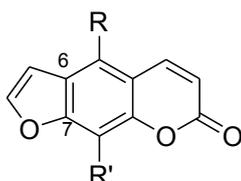
III.1.2. Coumarines complexes :

Elles se constituent d'un noyau furane ou pyrane associé au noyau benzo- α -pyrone. La prénylation est à l'origine des coumarines polycycliques.

III.1.2.1. Les furanocoumarines (furocoumarines)

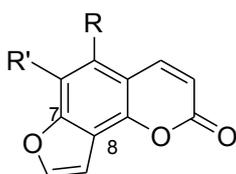
Elles sont composées d'un hétérocycle furane lié au noyau benzo- α -pyrone, et se trouvent principalement chez les Rutacées et les Apiacées [13].

✓ **6,7-furocoumarines** : C'est la forme linéaire



Génine	R	R'
Psoralène	H	H
Bergaptène	OCH ₃	H
Xanthotoxine	H	OCH ₃

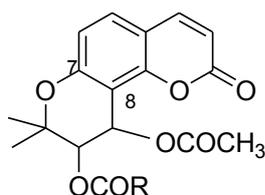
✓ **7,8-furocoumarines** : C'est la forme angulaire



Génine	R	R'
Angélicine	H	H
Pimpinelline	OCH ₃	OCH ₃

III.1.2.2. Pyranocoumarine

Composés d'un hétérocycle pyrane lié au noyau benzo- α -pyrone.



Génine	R
Samidine	-CH=C(CH ₃)-CH ₃
Visnadine	-CH(CH ₃)-CH ₂ -CH ₃

III.2. Propriétés physico-chimiques

La coumarine simple et non substituée est un solide cristallisé blanc ou jaunâtre dont la température de fusion est de 69 à 70°C.

Elle est soluble dans l'eau et encore plus dans le phtalate d'éthyle, stable en milieu modérément alcalin, mais hydrolysée en milieu très basique en sel de l'acide coumarique [12]. Certaines coumarines sont sublimables et entraînaient à la vapeur d'eau. Les coumarines hydroxylées possèdent une intense fluorescence bleue en lumière UV [13].

III.3. Caractérisation

Les coumarines ont un spectre UV caractéristique de par leur fluorescence. Leur CCM présentent des taches dont la coloration est exaltée en présence d'ammoniac, celle-ci varie du blanc au jaune au pourpre [13].

III.4. Propriétés pharmacologiques

Les coumarines ont une action vitaminique P : augmentation de la résistance des capillaires et diminution de leur perméabilité. On les emploie ainsi pour traiter les troubles veineux (esculoside et esculétol).

Les coumarines ont été utilisées pour leurs propriétés anti-œdémateuses, anti-inflammatoires, immunostimulantes mais la multiplication des cas d'hépatites a conduit au retrait des spécialités correspondantes.

Elles sont aussi employées dans la fabrication de denrées alimentaires (caramels, confiseries et gommes à mâcher) et également en parfumerie.

Les furocoumarines sont surtout photosensibilisantes, elles sont indiquées pour le traitement du psoriasis et du vitiligo. Les pyranocoumarines sont des antispasmodiques [13].

III.5. Molécules hybrides

Le développement de médicaments est de plus en plus onéreux. Par ailleurs, le délai qui sépare le brevet et la mise sur le marché étant devenu très long, les coûts de recherche et développement de nouvelles molécules ont explosé [14].

Si l'on fait une extrapolation simpliste, dès 2020, il ne resterait que trois à quatre molécules industrialisées, dont le coût de développement serait excessivement élevé. Il s'agirait alors d'une crise sans précédent pour l'industrie pharmaceutique qui ne peut donc vraisemblablement pas survivre avec ce modèle économique. Cette situation va déboucher sur la recherche de nouvelles voies vers de nouveaux médicaments [14]. C'est ainsi que l'hybridation moléculaire va jouer un rôle important dans le développement de nouvelles molécules pour le traitement de nombreuses maladies multi-factorielles [15].

Au cours de ces dernières années, la stratégie d'hybridation moléculaire a adopté une nouvelle approche qui implique la conglomération de deux ou plusieurs pharmacophores dans un échafaudage moléculaire pour développer des molécules multifonctionnelles hybrides [15]. Ces dernières ont des activités biologiques multiples, un profil de sélectivité modifié, une diversité ou dualité des modes d'action et / ou des effets secondaires indésirables réduits en raison du mélange de pharmacophores dans une molécule.

En utilisant cette approche, plusieurs groupes de recherche ont conçu et synthétisé de nombreuses molécules hybrides [15].

L'hybridation ou le couplage de coumarine avec des molécules bioactives variées telles que resvératrol, maléimide sulfonamides, pyrazoline, chalcone, tria-Zoles et l'acide α -lipoïque a produit de nouvelles molécules hybrides, douées de vasorelaxant, anti-agrégation des plaquettes, anticancéreux, inhibiteur de monoamine oxydase-B (MAO-B), antimicro-Bial, antioxydant et anti-inflammatoire [15].

IV. Réaction multicomposants

Les méthodes traditionnelles de synthèse dites séquentielles et/ou divergentes ne sont pas les plus judicieuses. En effet, elles impliquent l'utilisation d'une grande quantité de solvants, ce qui génère un coût important, et une perte de temps significative du fait des multiples opérations d'extraction et de purification qu'il est nécessaire d'effectuer. Le rendement d'une synthèse séquentielle est, en outre, relativement médiocre, puisqu'il résulte des rendements successifs des différentes réactions mises en jeu. La synthèse idéale est celle qui permettrait d'obtenir avec un bon rendement, le composé désiré en un minimum d'étapes, et ce, en utilisant des réactifs peu onéreux et qui permettent de réduire l'impact environnemental autant que faire se peut [16].

C'est ainsi que s'est développée la recherche en synthèse combinatoire, qui permet d'accéder à un grand nombre de molécules avec un minimum d'étapes. Les réactions multicomposants, visant à synthétiser des produits hautement fonctionnalisés en un seul pot, s'inscrivent précisément dans ce contexte. Les réactions multicomposants (MCR) sont définies comme étant des processus permettant d'assembler en une seule réaction au moins trois réactifs qui vont participer à la structure du produit final. Ces réactions sont des procédés très efficaces qui réunissent rapidité, diversité et complexité moléculaire. Lorsque de telles réactions permettent de combiner des produits de départ majoritairement commerciaux ou aisément accessibles, elles deviennent de bons outils pour les industries pharmaceutiques, afin de créer des chimiothèques destinées au criblage à haut débit [17].

V. Réaction de Biginelli

La synthèse de la dihydropyrimidine de Pietro Biginelli (Schéma 1) est l'une des réactions à plusieurs composants les plus importantes et les plus anciennes [18].

Le produit de cette nouvelle synthèse à trois composants, en présence d'un catalyseur acide de Bronsted donne un seul précipité par refroidissement du mélange réactionnel correctement identifié par Biginelli en tant que 3,4-Dihydropyrimidin-2 (*1H*)-one [19].

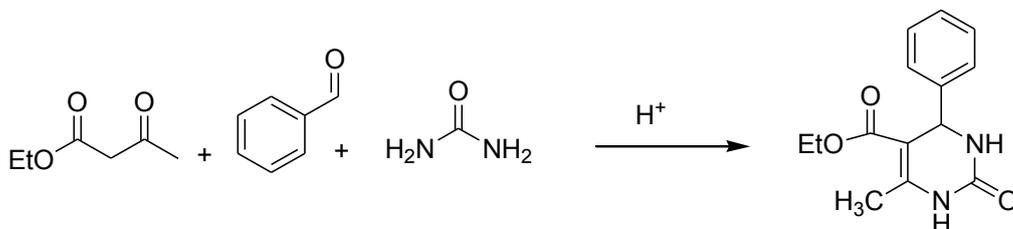


Schéma 1 : Réaction de Biginelli.

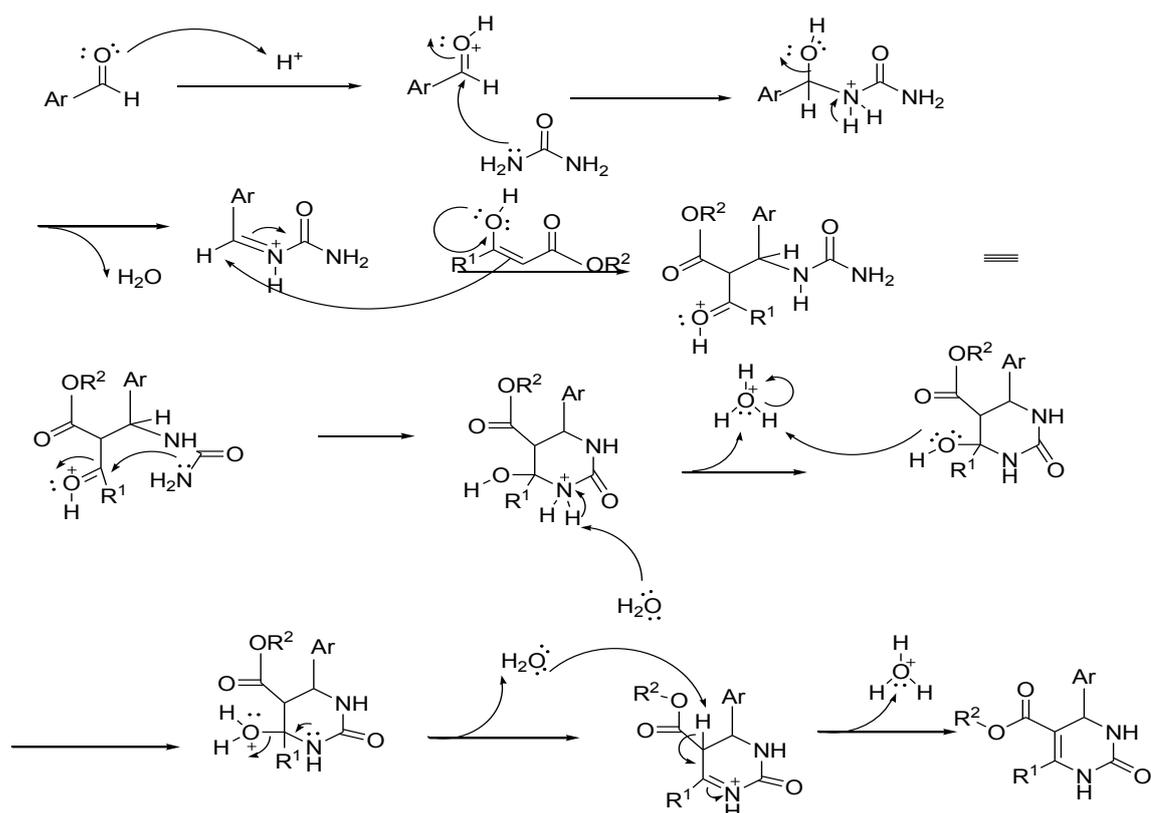


Schéma 2 : Mécanisme de la réaction de Biginelli.

VI. Molécules hybrides coumarines-3,4-dihydropyrimidinone

Les dihydropyrimidinones (DHPMs) sont bien connues pour leur large gamme de bioactivités. Leurs applications dans le domaine de la recherche sur les médicaments ont conduit à la conception d'une large gamme de méthodes de synthèse.

Sur les cinq bases principales des acides nucléiques, trois sont des dérivés de pyrimidine qui comprennent de la cytosine (1) qui se trouve dans l'ADN et l'ARN, l'uracile (2) dans l'ARN et la thymine (3) dans l'ADN. En raison de leur implication comme base dans l'ADN et l'ARN, ils sont devenus très importants dans le monde de la chimie organique synthétique.

L'Aryl-substitué, la 3,4-dihydropyrimidin-2(1*H*)-one et leurs dérivés sont une classe importante de substances en chimie organique et médicale [20].

Récemment Benazzouz Amina et *Coll* [21]/[22] ont synthétisé une série de molécules hybrides coumarines-3,4-dihydropyrimidinones en utilisant les 3-acétoacétylcoumarines, l'urée/thiourée et les aldéhydes aromatiques. Dans ce travail, les auteurs ont utilisé la technique de RMC de Biginelli, au reflux de l'acétonitrile et en présence de H₂SO₄.

Dans notre étude, le but que nous nous étions fixés était de concevoir de nouvelles molécules hybrides coumarines-3,4-dihydropyrimidinone-donepezile capables de ralentir la progression de la maladie d'Alzheimer. Ces molécules seraient dotées de plusieurs pharmacophores d'intérêt, la coumarine comme inhibiteur de monoamine oxydase, la pyrimidinone comme bloqueur du canal de calcium et le benzylopiérydine comme inhibiteur d'acétylcholine estérase, donnant ainsi des molécules multi-cibles.

Cependant, partant du fait que dans cette étude nous utilisons des urées monosubstituées sous irradiation dans un micro-onde de synthèse, plusieurs tests sont réalisés et ce, afin d'adapter le mode opératoire initial aux nouvelles conditions.

En outre nous avons procédé à d'autres tests au moyen d'un chauffage classique.

VII. Evaluation du pouvoir antioxydant

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines [23].

VII.1. Stress oxydant

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières [24].

VII.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules chimiques instables produites en faible quantité par l'organisme. Ils sont principalement synthétisés dans la cellule lors de réactions avec l'oxygène. Cette instabilité chimique fait que ces substances sont très réactives et certaines de ces réactions avec des structures de la cellule entraînent des dégâts en leur sein. Des radicaux libres en surnombre auront ainsi un effet visible sur le vieillissement de la peau, et seraient impliqués dans de nombreuses pathologies comme des cancers, des maladies cardiaques, des maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer, des intoxications médicamenteuses, etc..[4].

VII.3. Antioxydants

Les antioxydants sont des substances naturellement présentes dans l'organisme, capables de le protéger des influences néfastes, notamment des réactions d'oxydation également appelées stress oxydant [25].

Le radical libre arrache un électron à l'antioxydant et non pas aux constituants de nos cellules. Grâce à cette réaction, le radical libre devient stable. C'est un déchet sans danger qui sera éliminé naturellement par l'organisme. L'antioxydant, auquel il manque un électron a l'avantage de ne pas se transformer en radical libre, il devient inactif. La réaction en chaîne est stoppée. La propagation des radicaux libres dans l'organisme cesse et les lésions sont ainsi limitées. Il existe un très grand nombre de molécules antioxydantes. Elles peuvent être biologiques (naturellement fabriquées par notre organisme) ou bien fournies par l'alimentation. Chaque antioxydant a une localisation bien spécifique et cible des radicaux libres particuliers.

Selon leur mode d'action les antioxydants sont classés en deux catégories : les systèmes de défense primaire et secondaire, et ils sont soit naturels soit synthétiques [26].

VII.3. 1. Antioxydants naturels

A/ Vitamine C

Appelée également acide ascorbique, elle est le plus puissant des antioxydants hydrosolubles capable de réagir directement avec les espèces réactives oxygénées et azotées. Elle réduit l'anion superoxyde sous forme acide ou basique [27].

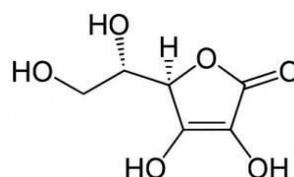


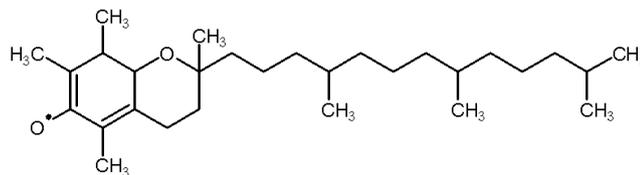
Figure 3 : structure de la vitamine C**B/ Caroténoïdes**

Ce sont des pigments naturels liposolubles de couleur orange ou jaune, que l'on trouve aussi bien dans les plantes que chez les animaux ou l'homme.

L'action antioxydante des caroténoïdes aide l'organisme à transformer les radicaux libres en radicaux moins nocifs jusqu'à leur totale élimination. Ainsi l'oxygène singulet extrêmement néfaste pour l'organisme devient oxygène superoxyde, sous l'action d'enzymes eau oxygénée pour se diviser enfin en eau et en oxygène [26].

C/ Vitamine E

Elle protège in vivo les structures sensibles à l'oxydation et a un rôle préventif dans les maladies neurodégénératives (comme la maladie d'Alzheimer) [28].

**Figure 4** : Structure de la vitamine E**D/ Zinc**

Le zinc intervient dans plus de 200 réactions enzymatiques et son déficit augmente la production d'espèces oxydantes et le stress oxydatif [29].

E/ Sélénium

Le sélénium intervient dans la synthèse des enzymes liées à la fonction oxydante, telles que la glutathion peroxydase qui, comme son nom l'indique, élimine les groupes peroxyde y compris le peroxyde d'oxygène. Ce minéral est incorporé dans des protéines sous forme de sélénoprotéines et, de cette manière aide à prévenir les dommages cellulaires [29].

VII.3.2. Antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques sont utilisés pour empêcher les aliments gras de rancir et pour protéger les vitamines liposolubles (A, D, E et K) contre l'oxydation. Les esters d'acides galliques, le butylhydroxytoluène et le butylhydroxyanisole appartiennent à cette catégorie. Les vitamines C et E ont également des propriétés antioxydantes et ont l'avantage d'augmenter la valeur nutritive des aliments. Ils sont généralement préparés au laboratoire, et principalement à partir de composants chimiques.

VII.3.3. Antioxydants endogènes

Le corps repose sur plusieurs mécanismes endogènes de défense pour aider à la protection contre les dommages cellulaires induits par les radicaux libres [30].

VII.3.4. Activité antioxydante des coumarines

Les coumarines ont été utilisées pour réduire la formation et stimuler le balayage des ROS, présentant ainsi des propriétés antioxydantes protectrices contre les dommages tissulaires. La position et le type de substituant attaché au cycle aromatique des molécules de coumarine ont une grande influence sur leur activité antioxydante [31].

VII.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante. Par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes ROO•, par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) [32], les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) [33], ou les radicaux ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique) [34] ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphényl-picrylhydrazyle) [35]. Il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement avec précision [36]. Dans ce mémoire c'est la méthode utilisant le radical libre DPPH• qui a été choisie.

VII.5. Evaluation du pouvoir antiradicalaire par la méthode de DPPH•

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, avec une absorption visible maximale à 515-517 nm. La structure du DPPH est indiquée dans la figure ci-dessous :

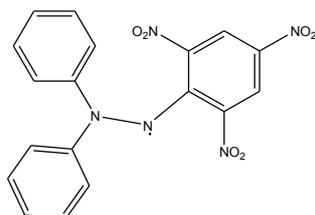


Figure 5 : Structure du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH).

Sa couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH• est réduit en diphényl picrylhydrazine par un composé à propriété anti radicalaire, entraînant ainsi une décoloration. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron singulet au radical synthétique DPPH• de coloration violette pour le stabiliser en DPPH-H de coloration jaune. L'intensité de la

couleur est proportionnelle à la capacité de l'antioxydant à donner des protons [37]. On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation:



Où : (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH \cdot (violet) pour le transformer en diphényle picrylhydrazine (jaune) [38].

L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant la méthode DPPH est exprimée en pourcentage d'inhibition selon la relation (1) suivante :

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

Avec : A_0 : Absorbance à 517nm du standard (contient tous les éléments mais sans aucun échantillon).

A_1 : Absorbance à 517nm de l'échantillon.

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur d'IC₅₀, sachant que la IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH.

CHAPITRE II

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Appareillages et techniques analytiques

Dans le cadre de ce projet nous avons utilisé l'appareillage qui suit :

I.1. Points de fusion

Les points de fusion, exprimés en °C, sont déterminés à l'aide d'un appareil scientifique SMP30 équipé d'un microscope.

I.2. Spectroscopie RMN

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C des molécules dérivés 3-acétoacétylcoumarines (**3a-e**) ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre BRUKER Avance 300, carbone : 75,47 MHz et proton : 300,13 MHz, dans le CDCl_3 e comme solvants, et le TMS comme référence interne. Les valeurs des déplacements chimiques sont exprimées en ppm par rapport au signal du TMS.

Les spectres RMN ^1H des produits de la réaction de Biginelli ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre BRUKER Avance 400 MHz, dans le CDCl_3 pour deux des tests. Le troisième test a été réalisé dans le DMSO. Le TMS a été pris comme référence interne. Les valeurs des déplacements chimiques sont exprimées en ppm par rapport au signal du TMS.

I.3. Spectrophotométrie UV-Visible

Les mesures en spectrophotométrie UV-Visible sont réalisées dans le laboratoire LPCM de l'UMMTO. Les bandes d'absorption ont été enregistrées sur un appareil scientifique de marque Thermo à EVOLUTION 220, UV-Visible spectrophotomètre.

I.4. Spectroscopie IR

Les résultats obtenus en IR ont été réalisés sur un appareil de type FTIR- 8400 de marque SHIMADZU.

I.5. Étude par chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) des composés 3-acétoacétylcoumarines a été effectuée sur des plaques en aluminium recouvertes de gel de silice, type 60 F254 (épaisseur 0,2 mm), de marque Merck et révélée dans l'iode saturé. L'éluant utilisé au cours de cette analyse est constitué d'un mélange de solvants chloroforme-méthanol (2ml/ 4 gouttes).

En ce qui concerne les produits obtenus par la réaction de Biginelli, la révélation a été réalisée par une lampe UV. L'éluant utilisé au cours de cette analyse est constitué d'un mélange de solvants dichlorométhane/(MeOH,1% NH_3) à (9ml/1ml).

I.6. Micro-onde à synthèse

La synthèse des molécules a été réalisée au moyen d'un micro-onde de laboratoire monowave 400 de l'entreprise anton paar.

I.7. Chromatographie flash

La purification des molécules a été réalisée à l'aide d'un appareil à chromatographie combi flash Rf TELEDYNE isco.

II. Matériels et produits

Les solvants utilisés : le toluène, le méthanol, le chloroforme, le diméthylsulfoxyde (DMSO), le dichlorométhane et l'acétonitrile sont apportés par sigma aldrish, scharlau, ARCOS organics, carlo ERBA.

L'acide triacétique lactone ou TAL est synthétisé au laboratoire à partir de l'acide déhydroacétique DHA fabriqué par sigma aldrish. Le salicylaldéhyde, le 2,5-dihydroxybenzaldéhyde et le 2,4-dihydroxybenzaldéhyde sont commerciaux, fabriqués par sigma aldrish.

Le 2-hydroxynaphtaldéhyde est préparé au laboratoire par la méthode décrite dans la littérature [39].

La 1-(2-(1-benzylpiperidin-4-yl)éthyl)urée a été synthétisée au laboratoire de Chimie thérapeutique, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université de Franche Comté, Besançon. L'hydrogénosulfate de sodium est fabriqué par carlo ERBA.

III. Manipulations

III.1. Synthèse des dérivés 3-acétoacétylcoumarines (3a-e)

La première partie de ce mémoire a été réalisée au sein du LPCM UMMTO Tizi-Ouzou.

Dans un ballon de 250 mL, surmonté d'un réfrigérant et muni d'une agitation magnétique sont introduits 1,26 g (0,01 mole) de TAL (**1a** et **1b**), 25 ml de toluène et 0,25 mL de triméthylamine. La TAL est insoluble à froid mais soluble à chaud. On ajoute ensuite 0,01 mole d'aldéhyde aromatique α -hydroxylé (**2a-e**). Le mélange est porté au reflux pendant 01heure et 30 mn. A chaud, il se forme un précipité jaune.

Néanmoins avec le 2-hydroxybenzaldéhyde le produit se précipite après refroidissement sous forme de poudre jaune. Après filtration, le solide est lavé avec du méthanol chaud et on récupère un produit qui ne nécessite pas une recristallisation.

La pureté a été contrôlée par la chromatographie sur couche mince (CCM) qui donne une seule tache d'un R_f d'à peu près 0.8 différent de celui du produit de départ.

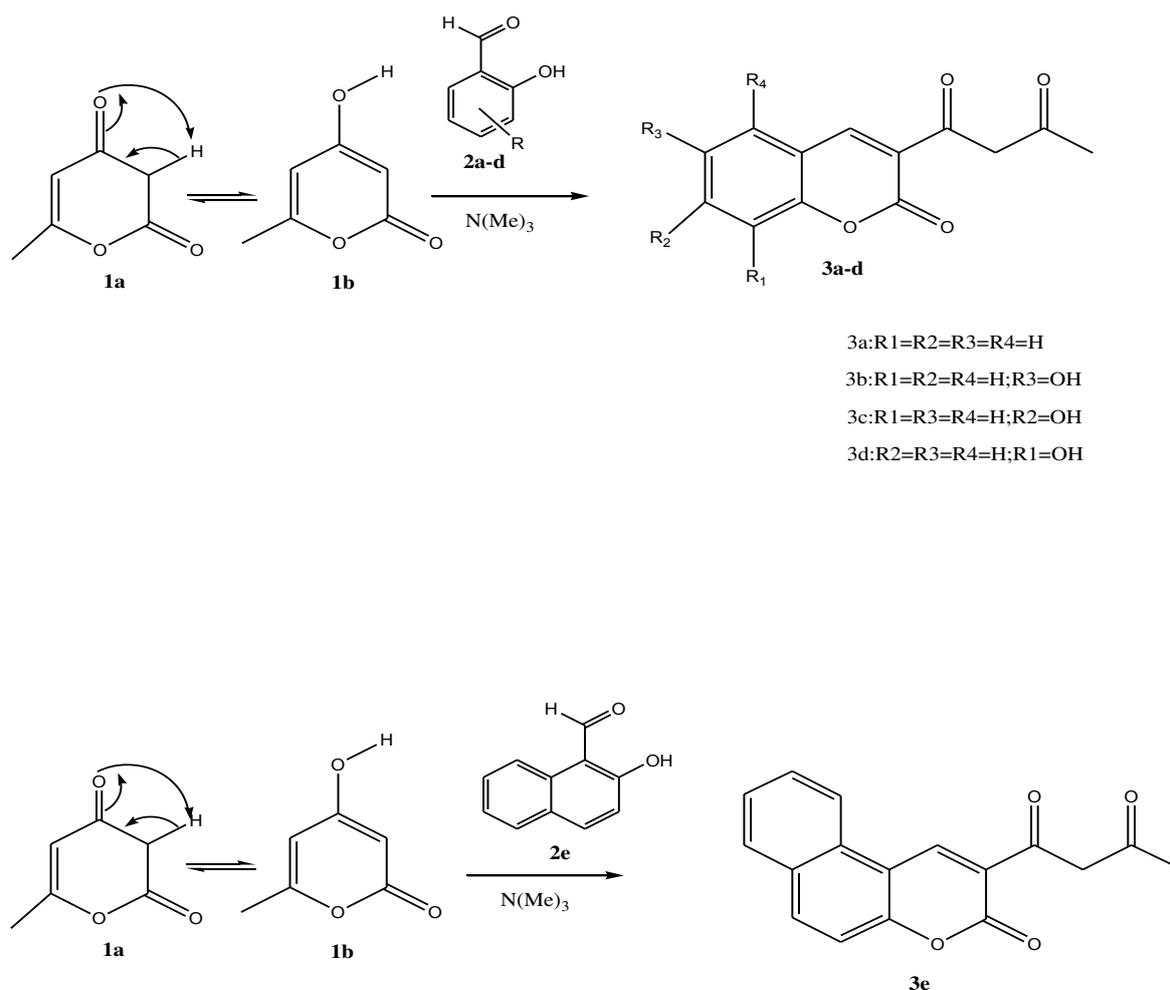


Schéma 3: Synthèse des 3-acétoacétylcoumarines.

III.2. Synthèse de molécules hybrides coumarine-3,4-dihydropyrimidinone-donepezil

La seconde partie de ce mémoire a été réalisée au laboratoire de Chimie thérapeutique, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université de Franche Comté, Besançon, France.

III.2. 1. Essai réalisé sous micro-onde

Dans un tube G30 d'une contenance maximale de 14 mL sont introduits 0,5 mmole de 1-(2-oxo-2*H*-chromèn-3-yl) butane-1,3-dione **3a**, 0,5 mmole de benzaldéhyde **5** et 0,75 mmole de 1-(2-(1-benzylpiperidin-4-yl)éthyl)urée **4**. L'acide sulfurique (à raison de 20 gouttes) a été utilisé comme catalyseur et l'acétonitrile (5 mL) comme solvant.

Le mélange est ensuite placé dans un micro-onde de laboratoire à 160 °C et 180 rpm et ce, pendant 05h et 20 mn par fraction de temps de 20 mn.

A la fin de la réaction, de l'eau glacée a été ajoutée, le solide formé a été filtré et recristallisé avec de l'éthanol.

Le solide obtenu a été purifié par chromatographie flash, l'éluant utilisé étant DCM/(MeOH, 1% NH₃) (90%,10%).

III.2. 2. Essais réalisés sous chauffage classique

Un premier essai a été réalisé sans solvant et sans catalyseur à 100°C sous agitation magnétique pendant 04h avec les proportions de réactifs suivantes :

0,5 mmole de 1-(2-oxo-2*H*-chromèn-3-yl) butane-1,3-dione **3a** 0,5 mmole de benzaldéhyde **5** et 0,75 mmole de 1-(2-(1-benzylpiperidin-4-yl)éthyl)urée **4**.

La poudre obtenue a été purifiée par chromatographie flash, l'éluant utilisé étant DCM / (MeOH, 1% NH₃) (90%,10%).

Un second essai a été effectué selon le protocole suivant :

0,5 mmole de benzaldéhyde **5**, 10 mL d'acide acétique et 0,6 mmole 1-(2-(1-benzylpiperidin-4-yl)éthyl)urée **4** ont été placés dans un ballon de 50 mL et portés sous agitation magnétique pendant 02h à température ambiante. Par la suite, 0,6 mmole de 1-(2-oxo-2*H*-chromèn-3-yl) butane-1,3-dione **3a** et 0,5 mmole d'hydrogénosulfate de sodium (utilisé comme catalyseur) ont été ajoutés.

La réaction a été menée sous agitation magnétique pendant 60h à température ambiante puis au reflux pendant 04h. A l'issue de cette étape, le catalyseur a été filtré et le solvant évaporé sous pression.

L'huile obtenue a été purifiée par chromatographie flash, l'éluant utilisé étant DCM / (MeOH, 1% NH₃) (90%,10%).

Un troisième essai a été réalisé avec le mode opératoire suivant :

Un mélange de 0,5 mmole de benzaldéhyde **5**, 10 mL d'acide acétique et 0,6 mmole de 1-(2-(1-benzylpiperidin-4-yl)éthyl)urée **4** a été placé sous agitation magnétique à température ambiante. Après 02h, 0,6 mmole de 1-(7-hydroxy-2-oxo-2*H*-chromèn-3-yl) butane-1,3-dione **3a** et 0,5 mmole de L'hydrogénosulfate de sodium (utilisé comme catalyseur) ont été ajoutés.

La réaction a été portée sous agitation magnétique pendant 24h à température ambiante puis au reflux pendant 64h et 30 min. A l'issue de cette étape, le catalyseur a été filtré et le solvant évaporé sous pression.

L'huile obtenue a été purifiée par chromatographie flash, l'éluant utilisé étant DCM / (MeOH, 1% NH₃) (90%,10%).

La structure des produits recherchés est donnée dans le schéma 3 ci-dessous

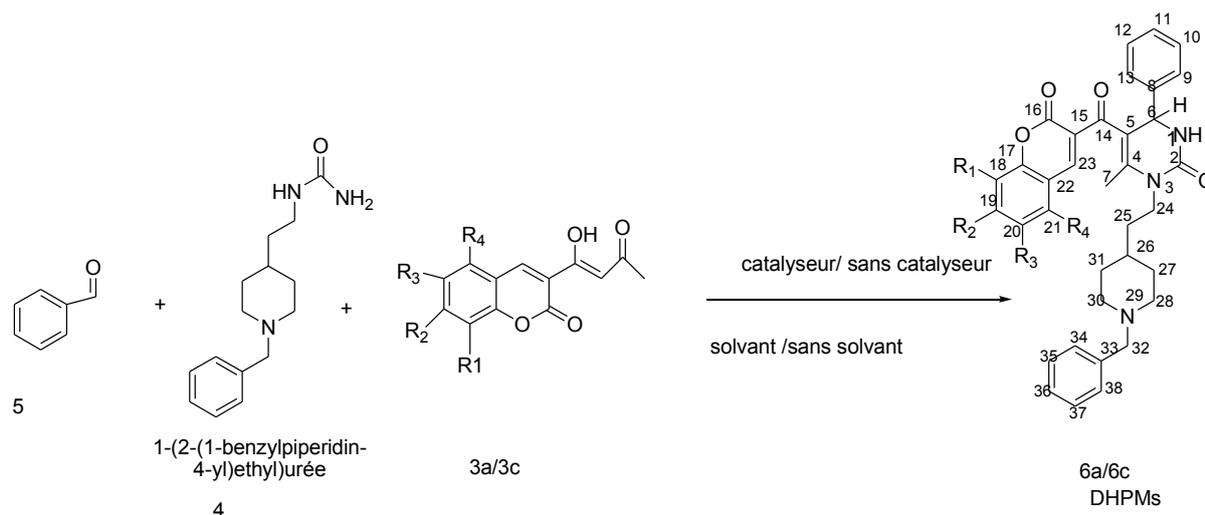


Schéma 4 : Synthèse des DHPMs : 1-(2-(1-benzylpiperidin-4-yl)éthyl)-6-méthyl-5-(2-oxo-2H-chromène-3-carbonyl)-4-phenyl-3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-one.

III.3. Evaluation de l'activité anti-oxydante des dérivés 3-acétoacétylcoumarines par la méthode de réduction du radical libre du DPPH• (1,1, diphenyl-2-picrylhydrazyle)

Les produits testés sont préparés à des concentrations de 10^{-1} mole/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 100mL d'éthanol.

Un volume de 50 μ L, de chaque échantillon de chacune des concentrations est ajouté à 2ml d'une solution de radicaux DPPH• dissoute dans l'éthanol. 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 Visible à 517nm.

Les résultats obtenus pour chaque produit testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique pris comme contrôle positif.

Le blanc ou le standard est préparé à partir de 2ml de la solution éthanolique du radical DPPH• et 50 μ L de DMSO puis laissé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant une heure.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Synthèse des dérivés 3-acétoacétylcoumarines (3a-e)

L'action du salicylaldéhyde et de ses dérivés ou du 2-hydroxynaphtaldéhyde sur la TAL **1**, en présence de la triméthylamine comme catalyseur conduit à la formation des composés

3-acétoacétylcoumarines **3a-e**. Ces derniers sont obtenus avec de bons rendements. Leur pureté est confirmée par CCM et leur structure est identifiée par différentes techniques d'analyses, spectrophotométrie UV-visible, IR, spectroscopie RMN du proton et du carbone 13. Ces analyses montrent que ces composés existent en solution sous deux formes tautomères en équilibre, dicétones et céto-énolique (figure 6). Les propriétés physico-chimiques de ces composés sont données dans le tableau 2 ci-dessous.

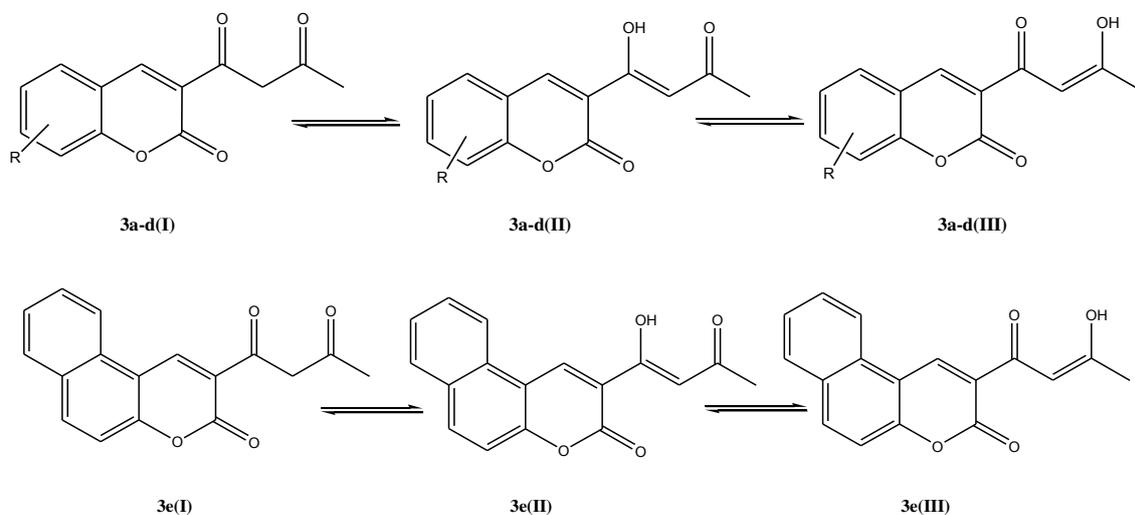


Figure 6 : Formes tautomères des composés 3a-d et 3e

Tableau 2: Propriétés physico-chimiques des composés 3a-e

Composés	R	Nom	Aspect	Pf	Pf litt [21]	Rdt	Rdt litt [21]
3a	H	3-acétoacétylcoumarine	cristaux jaune	146	150	84	59
3b	6-OH	3-acétoacétyl-6-hydroxycoumarine	poudre jaune	243	240	36	70
3c	7-OH	3-acétoacétyl-7-hydroxycoumarine	poudre jaune	215- 217	215- 217	50	51
3d	8-OH	3-acétoacétyl-8-hydroxycoumarine	poudre jaune	232	232	50	70
3e	C ₆ H ₄ [f]	3-acétoacétyl benzo[f]coumarine	poudre orange	198	202	30	60

I.1. Résultats de l'analyse par chromatographie sur couche mince CCM

La chromatographie sur couche mince (CCM) des composés 3-acetoacétylcoumarines utilisant un éluant constitué d'un mélange de solvants chloroforme-méthanol (2ml/ 4 gouttes) a révélé la présence d'une seule tache pour tous les produits **3a-e** avec des Rf de l'ordre de 0,8 à peu près, pour tous les composants.

I.2. Analyse par spectrophotométrie UV-Visible

Les spectres d'absorption UV-Visible des composés **3a-e** sont réalisés dans du DMSO à une concentration de 10^{-4} M. Ces derniers montrent deux bandes distinctes dont les valeurs et les transitions électroniques sont reportées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Résultats de la spectrophotométrie UV-Visible des composés **3a-e**

Composés	$\lambda_{\text{abs 1}}$ C=O ($n-\pi^*$)	$\lambda_{\text{abs 2}}$ énonol ($\pi-\pi^*$)
3a	272	365
3b	337	385
3c	256	376
3d	266	354
3e	275	408

L'analyse par spectrophotométrie UV-Visible des composés **3a-e** est schématisée dans les figures 7 à 11

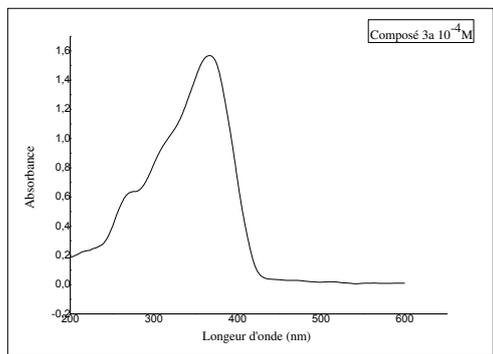


Figure 7 : Spectre UV-Visible du composé **3a** dans le DMSO à 10^{-4} M

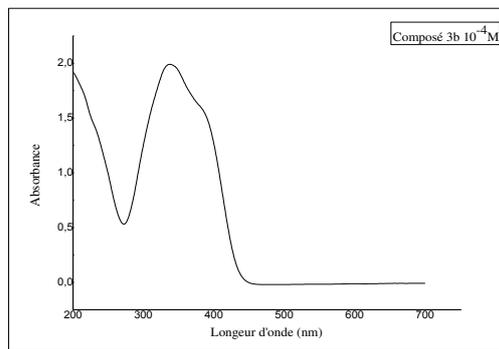


Figure 8 : Spectre UV-Visible du composé **3b** dans le DMSO à 10^{-4} M

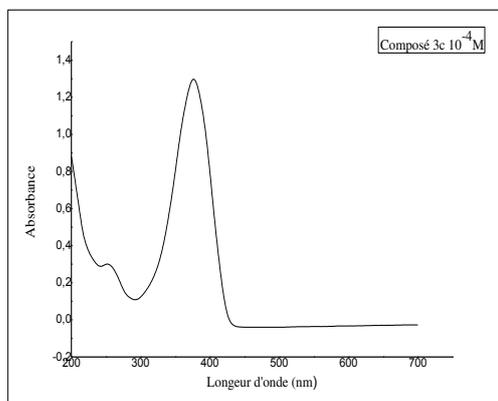


Figure 9 : Spectre UV-Visible du composé **3c** dans le DMSO à 10^{-4} M

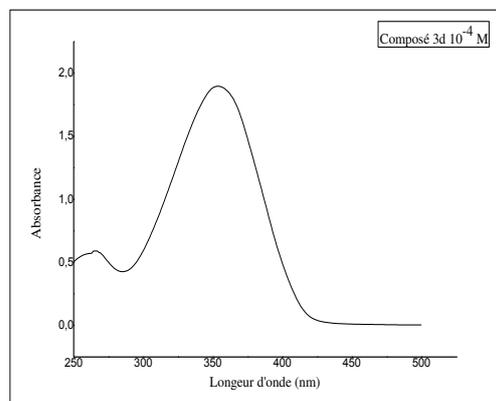


Figure 10 : Spectre UV-Visible du composé **3d** dans le DMSO à 10^{-4} M

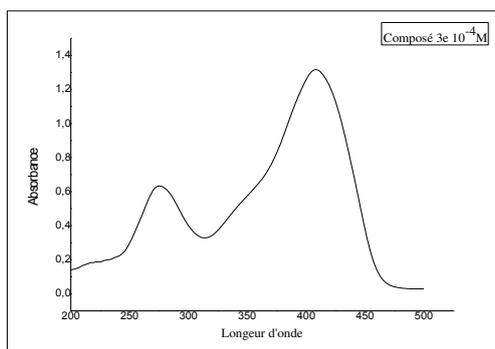


Figure 11 : Spectre UV-Visible du composé **3e** dans le DMSO à 10^{-4} M

I.3. Analyse par spectroscopie IR

Les spectres infra rouge sont représentés en annexes par les figures allant de 21 à 25.

L'analyse par spectroscopie IR confirme l'obtention des composés **3a-e** par apparition des bandes caractéristiques de la coumarine et du groupement acétoacétyle. Les principales bandes obtenues dans du KBr en pastilles sont données dans le tableau 4.

Tableau 4 : Résultats spectroscopie IR des composés **3a-e**

Composés	Nombre d'onde cm^{-1}
3a	3479 (OH, éno) – 2250(C=O acétoacétyle)- 1617 (O-C=O(2)) - 1381 -1048 -754
3b	3205(OH, éno) – 3050(OH, 6)- 2737(C=O acétoacétyle)- 1723(O-C=O(2)) - 1300- 818
3c	3474 (OH, éno) -3242 (OH, 7)– 2250 (C=O acétoacétyle)-1650 (O-C=O (2)).
3d	3475 (OH, éno) – 3198 (OH, 8)- 2260 (C=O acétoacétyle) – 1750 (O-C=O(2))
3e	3470 (OH, éno) – 2250 (C=O acétoacétyle)-1750 (O-C=O (2)).

I.4. Analyse par spectroscopie RMN du proton

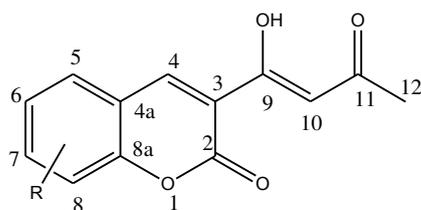
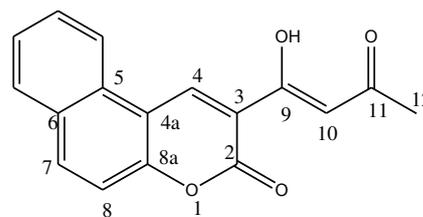
Les spectres RMN du proton sont représentés en annexes par les figures 26, 28, 30, 32 et 33.

Les spectres RMN du proton des composés **3a-e** se caractérisent par les déplacements chimiques significatifs de la forme céto-énolique du groupement acétoacétyle [40].

En effet, la présence d'un tel groupe donne en RMN du proton deux signaux singulets correspondant à CH_2 (dione) et à CH (éno).

En plus de ces signaux, apparaissent aussi d'autres pics qui correspondent aux protons du carbone C_4 du noyau coumarine et ceux qui correspondent aux protons du noyau aromatique.

L'apparition du pic large dans les champs forts attribuable au groupement OH confirme la présence de la forme cétoénolique. Dans le tableau 5 sont reportés l'ensemble des déplacements chimiques de toute la série **3a-e**.

**3a-d****3e****Tableau 5** : Résultats de la spectroscopie RMN ^1H des composés **3a-e**

Composé	δ (ppm)						
	CH ₃ (12)	CH ₂ (10)	=CH (10)	C-H (4)	H-Ar	-OH (coum)	-OH (énol)
3a	2,26	4,22	7,01	8,63	7,31-7,65	/	15,85
3b	/	/	/	/	/	/	/
3c	2,20	4,10	6,74	8,72	6,83-7,77	11,16	16,6
3d	2,22	4,16	6,89	8,72		10,40	16,02
3e	2,27	4,26	7,06	9,31	7,39-8,29	/	16,00

I.5. Analyse par spectroscopie RMN du carbone 13

Les spectres RMN du carbone 13 sont représentés en annexes par les figures 27, 29, 31 et 34.

Les spectres RMN ^{13}C réalisés montrent que le nombre de pics qui apparaissent sont compatibles avec le nombre d'atomes de carbone de chaque composé.

Dans le domaine des carbones sp^3 , nous observons un pic qui ne peut être attribué qu'au groupement méthyle CH_3 (12) et dans le domaine des carbones sp^2 , apparaissent les pics qui correspondent à C (4), C (5), C (6), C (7), C (8) et C (12) sous la forme énolique. Nous observons aussi un pic dans les champs forts correspondant à C (12) de la forme dione (CH_2). Dans les champs faibles apparaissent les signaux attribuables aux carbones C (8a), C (9), C (11), C (2) et C (3).

Dans le tableau 6 sont donnés l'ensemble des résultats obtenus.

Tableau 6 : Résultats des spectres RMN ^{13}C des composés **3a-e**.

Composés	δ (ppm)									
	C (12)	C(10) Dicétone	C(10) cétone-énol	C (4)	C-Ar	C-OH (coum)	C-OH (9) (énol)	C=O (2)	C=O (9)	C=O (11)
3a	27,45	56,34	101,49	154,27	116,44-129,46	/	191,40	171,83	199,6	202,94
3b	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
3c	26,59	56,51	100,4	164,22	101,71-132,26	157,83	191,41	174,80	197,56	203,36
3d	27,03	56,49	100,96	157,29	119,23-124,93	146,51	191,83	173,05	199,02	203,35
3e	27,37	57,00	101,38	140,77	112,90-135,66	/	199,31	158,02	172,50	199,80

II.Synthèse des molécules hybrides coumarines-dihydropyrimidinones-donépizile

II.1.Résultats de la chromatographie sur couche mince (CCM)

L'étude par CCM réalisée dans un éluant constitué d'un mélange de solvants DCM / (MeOH , 1% NH₃) (90%,10%) pour les deux produits obtenus respectivement par micro-onde et par chauffage conventionnel, sans catalyseur et sans solvant, a montré plusieurs taches dont une qui correspond au produit de départ.

En ce qui concerne les autres composés de l'essai deux et trois obtenus par chauffage conventionnel avec catalyseur et solvant, l'étude par CCM a montré également plusieurs taches mais cette fois ci avec la disparition du produit de départ.

Après la séparation par chromatographie flash, une analyse par spectroscopie RMN du proton a été effectuée.

II.2. Résultats de la spectroscopie RMN du proton

Les spectres RMN du proton sont représentés en annexes par les figures 35, 36 et 37.

Le spectre RMN du ^1H réalisé pour le produit obtenu sous micro-onde montre l'absence des pics caractéristiques du groupement acétoacétyle du composé **3a** à 15,85 ppm (OH éno) et à 7,01 ppm (=CH, éno), ce qui implique la disparition de ce dernier.

L'apparition du pic H(6) à 5,29 ppm caractéristique d'une dihydropyrimidinone [21] laisse supposer la formation de cette dernière.

Le spectre RMN du ^1H réalisé pour le produit obtenu par chauffage conventionnel sans catalyseur et sans solvant montre l'absence des pics caractéristiques du produit de départ et ne montre aucun pic caractéristique d'une dihydropyrimidinone.

Le spectre RMN du ^1H réalisé pour le produit obtenu par chauffage classique avec catalyseur et solvant ne montre aucun pic caractéristique du produit de départ, ce qui implique la disparition de celui-ci. Par contre le pic de H(6) à 5,21 ppm supposerait la formation d'une dihydropyrimidinone [21].

II.3. Conclusion

Compte tenu des résultats obtenus selon la spectroscopie RMN du proton, le composé obtenu par chauffage classique avec catalyseur et solvant a le plus de chance de se rapprocher d'une molécule hybride contenant un noyau dihydropyrimidinone. En outre il présente le spectre RMN le plus résolu et donc le plus facile à lire et à interpréter.

III. Résultats de l'activité antioxydante

A notre connaissance, l'activité antioxydante des dérivés 3-acétoacétylecoumarines **3a-e** n'a jamais été rapportée 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 valoriser ces composés avant de les utiliser comme matière première dans la synthèse de molécules hybrides, dans la perspective de la recherche de molécules capables de ralentir le vieillissement des cellules et, d'agir ainsi contre la maladie d'Alzheimer.

Les résultats obtenus par ce test sont indiqués dans les figures 12 et 13, qui représentent la Densité Optique des produits testés ainsi que la référence utilisée, Acide Ascorbique, en fonction de la concentration. Ces figures montrent que la Densité Optique diminue avec

l'augmentation de la concentration et que cette observation est beaucoup plus importante pour les composés possédant un groupement –OH lié à la coumarine.

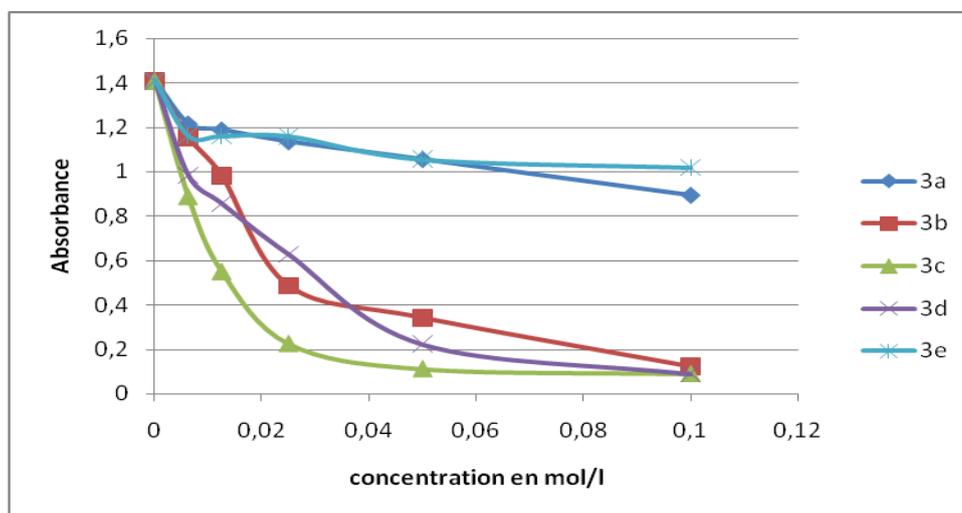


Figure 12 : Densité Optique en fonction de la concentration des composés **3a-e**

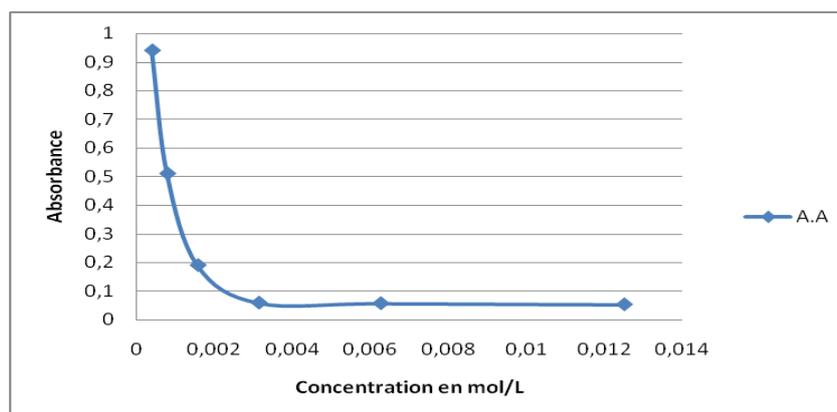


Figure 13 : Densité Optique en fonction de la concentration de l'acide ascorbique

Les pourcentages de capture du radical DPPH \cdot (% CR) ou les pourcentages d'inhibition sont calculés par la relation (1) (voir chapitre I).

D'après les résultats, les composés **3b**, **3c** et **3d** s'avèrent être les plus antioxydants de cette série de cinq composés. En effet, leur pourcentage d'inhibition est de 91,19 %, 93,69 %, et 92% respectivement, pour la première concentration 10^{-1} M. Par ailleurs en parcourant les pourcentages d'inhibition de ces trois composés pour les quatre autres concentrations on constate que ces derniers sont nettement supérieurs pour le composé **3c**. Ceci pourrait avoir un lien avec la position du groupement hydroxyle qui est en position méta du groupement ester cyclique de la coumarine dans le composé **3c**.

Les figures de 14 à 19 représentent le % CR en fonction de la [C] pour les différents produits testés et de l'acide Ascorbique.

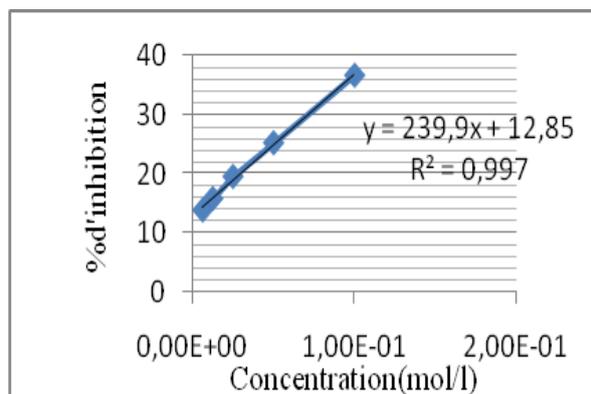


Figure 14 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du composé **3a**

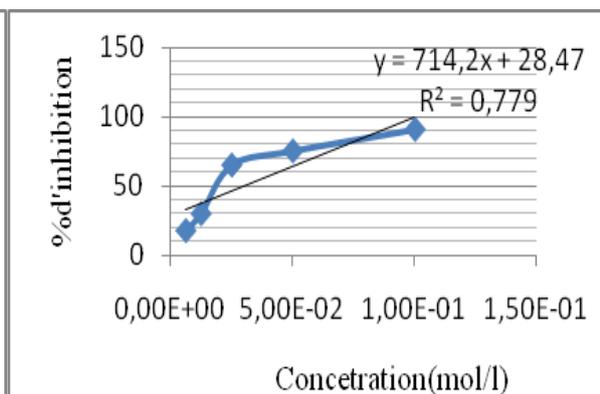


Figure 15 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du composé **3b**

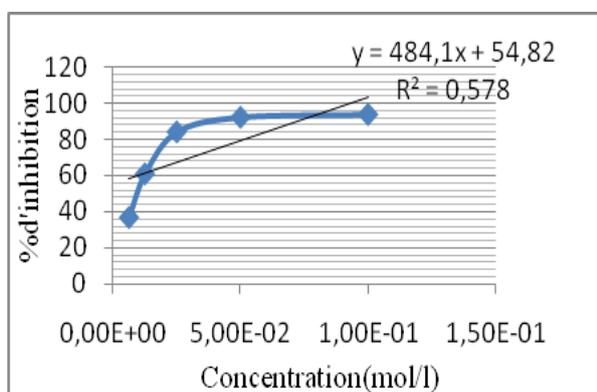


Figure 16 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du composé **3c**

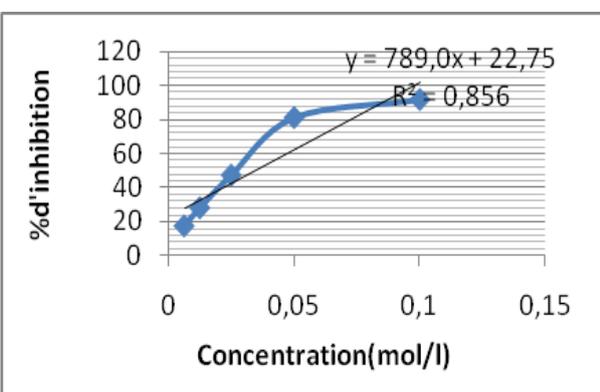


Figure 17 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du composé **3d**

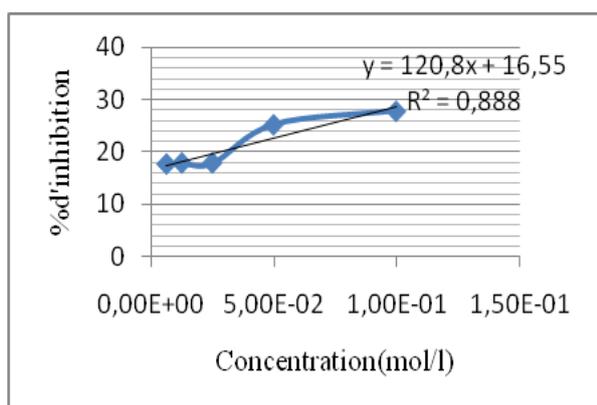


Figure 18 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH du composé **3e**

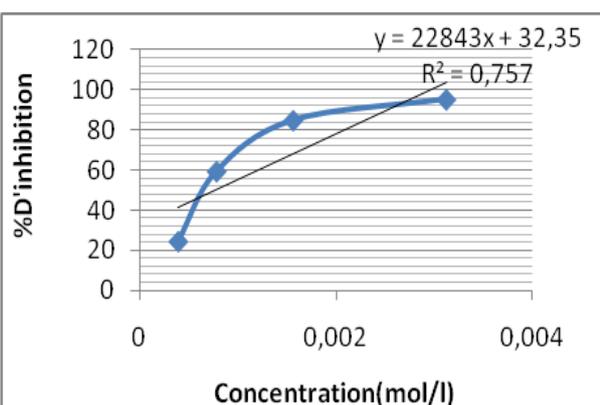


Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de l'acide ascorbique

III.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. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 7 et illustrée dans la figure 20.

Tableau 7 : Les valeurs des IC50% des composés **3a-e** et AA

Produit	IC 50%
3a	0,15mol/l
3b	$3,014 \cdot 10^{-2}$ mol/l
3c	$9,68 \cdot 10^{-3}$ mol/l
3d	$3,45 \cdot 10^{-2}$ mol/l
3e	0,27mol/l
A.A	$7,7 \cdot 10^{-4}$ mol/l

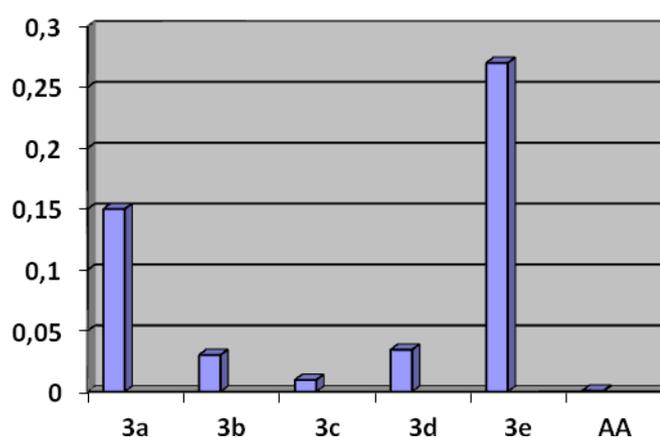


Figure 20 : Valeurs d'IC50 des composés **3a-e** et de l'**A.A**

III.2. Conclusion

La lecture de ces résultats révèle que l'activité antioxydante des cinq composés en question dépend du groupement lié à la coumarine. Ainsi la présence d'un second noyau benzénique inhibe l'activité antioxydante de la molécule, dans le cas du composé **3e**. En outre, pour les autres produits **3a-3d**, l'activité antioxydante élevée s'explique par la présence et la position du groupement hydroxyle lié au noyau coumarinique. Par conséquent le composé **3c** recèle la plus grande activité antioxydante de cette série de composés testés.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

A l'issue de ce mémoire nous avons pu synthétiser des molécules 3-acétoacetyl coumarine et ses dérivés, par la technique reflux conventionnel du toluène en présence d'une base avec des rendements plus ou moins élevés. Les produits obtenus sous forme de poudre ou de cristaux ont fait l'objet d'études spectroscopiques UV-Vis, IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C afin d'être caractérisés.

L'étude par spectrophotométrie UV-Vis reflète par la nature n , σ et π des niveaux impliqués la nature des groupements fonctionnels. C'est les groupements $=\text{CH-OH}$ (énol) et $-\text{C}=\text{O}$ (cétone) qui ont été identifiés dans les molécules **3a-e**.

La spectrophotométrie IR permet quant à elle de déterminer le type de liaison ainsi que la présence de groupements fonctionnels dans les molécules organiques. En effet, chaque bande est caractéristique d'un certain type de liaison. Les principales bandes des produits **3a-e** sont celles qui présentent des groupements $\text{C}=\text{O}$, $-\text{OH}$, $-\text{O}-\text{C}=\text{O}$.

La spectroscopie RMN du proton et du carbone 13 de chaque molécule possède des pics qui lui sont caractéristiques. En ce qui concerne nos produits **3a-e**, c'est les deux déplacements de l'ordre de 4 ppm (dione) et ~ 15 ppm (énol) qui leur sont caractéristiques en spectroscopie RMN du proton. L'activité antioxydante des composés **3a-e** a été évaluée par la méthode du radical libre DPPH \bullet . Cette dernière a montré que les composés **3b**, **3c** et **3d** sont les plus antioxydants de cette série de cinq composés. Néanmoins le composé **3c** présente l'activité antioxydante la plus grande. Ceci est dû à la position du groupement OH qui est en position méta du groupement ester cyclique de la coumarine dans le composé **3c**. Celle-ci pourrait même être comparable à celle de l'acide ascorbique.

En ce qui concerne les produits obtenus par la réaction de Biginelli, respectivement par micro-onde en utilisant l'ACN et l' H_2SO_4 et par reflux conventionnel de l'acide acétique, au moyen d'un catalyseur basique l'hydrogénosulfate de sodium, nous suspectons la présence du produit attendu et ce, par apparition de pics à $\delta = 5,29$ ppm et 5,21 ppm. Ces pics sont caractéristiques du proton du cycle dihydropyrimidione. Néanmoins, la faible quantité obtenue ne nous a pas permis de procéder à une deuxième purification afin d'isoler la fraction susceptible de contenir le produit attendu et encore moins d'analyser l'activité de celui-ci.

Conclusion générale

Perspectives

Au terme de cette modeste contribution, et dans la perspective d'une recherche plus approfondie, il nous paraît judicieux de tester de nouveaux protocoles en variant d'une part les catalyseurs et, utiliser des benzènes plus réactifs que le benzaldéhyde d'autre part.

Une fois ces molécules synthétisées il serait intéressant de poursuivre nos recherches par la réalisation de tests portant sur l'étude de leur activité biologique et notamment leurs propriétés anti Alzheimer.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] ALTAIRAC S. 2005. Alzheimer : quand la personnalité s'égaré. Prolune protéine à la une
- [2] LECLERC M.J. La maladie d'Alzheimer. 2007
<http://www.cpoq.org/pathologies/fichiers/pathologies_19.pdf >
- [3] AMOUYEL P., LAMBERT J.C. 2008. Calcium à l'intérieur des neurones : élément-clé de la production des peptides amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer ?. INSRM.
- [4] HORDÉ P. Acétylcholine– Définition. 2014. Santé medecine.net
- [5] Le cerveau a tous les niveaux.les neurotransmetteurs. <<http://lecerveau.mcgill.ca>>
- [6] Dictionnaire français LAROUSSE .définition de l'acétylcholinestérase
- [7] Société Alzheimer du Canada. ARICEPT^{MD} et ARICEPT^{MD}RDT (aussi connu sous l'appellation de donépézil ou E2020). 2014. < <http://www.alzheimer.ca>>
- [8] RIOUX S. 2002. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. le médecin du québec .37,4, 89
- [9] LACOMBLEZ L. 1998. Donepezil (Aricept®) : inhibiteur de l'acétylcholinestérase et maladie d'Alzheimer. La Lettre du Pharmacologue.12,6 ,125
- [10] WOLFSON C., MORIDE Y., PERRAULT A ., MOMOLI F., DEMERS L., OREMUS M .2000.Pharmacothérapie de la maladie d'Alzheimer. Office canadien de coordination de l'évaluation des technologies de la santé. 17-18
- [11] SERRA S., JOAO MATOS M., DELOGU G., SANTANAB L.,URIARTEB E .2010 . Synthesis of new possible monoamine oxidase inhibitors. The 14th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry.
- [12] GIRARD C. 2013. Les parfums dans les produits cosmétiques. Thèse de doctorat : pharmacie : faculté de pharmacie universite de lorraine.
- [13] SAHRAOUI W. les coumarines .laboratoire de pharmacognosie
- [14] MEUNIER B. 2008. Molécules hybrides pour de nouveaux médicaments : mythe ou réalité ?. La chimie et la santé. 126-129
- [15] SANDHU S., BANSAL Y., SILAKARI O., BANSAL G.2014. Coumarin hybrids as novel therapeutic agents. Elsevier. 3806–3814
- [16] GIZZI M. 2010 .réactions multicomposant, couplages catalysés au palladium, et synthèses d'hétérocycles. thèse de doctorat : chimie organique :ecole polytechnique Paristech
- [17] OBLE J. 2007. nouvelles réactions multicomposant avec des phénols et des isonitriles thèse de doctorat : chimie organique : ecole polytechnique.
- [18] ChemViews. 2011. pierto biginelli :the man behind reaction. european journal of organic chemistry/wiley-VCH

Références bibliographiques

- [19] FABIO S.F., KAPPE C.O. 2001. the biginelli dihydropyrimidone synthesis using polyphosphate ester as a mild and efficient cyclocondensation/dehydration reagent . ARKIVOC. 2001,2,122
- [20] PHUCHO I.T., NONGPIUR A., TUMTIN S., NONGRUM R., NONGKHLAW R.L. 2009. RECENT PROGRESS IN THE CHEMISTRY OF DIHYDROPYRIMIDINONES .*rasayan j.chem* . 2,3,662-673
- [21] BENAZOUZ A. 2016. Synthèse de nouvelles séries hétérocycliques d'intérêts thérapeutiques, valorisation en UV-visible et fluorescence. Thèse de doctorat : Chimie des Matériaux et de l'Environnement Option : Chimie Pharmaceutique : UMMTO Tizi Ouzou .
- [22] BENAZOUZ A ; MAKHLOUFI CHEBLI M ;KHATIR HAMDY N ; BOUTEMEUR KHEDIS B ; M.S.SILVA A ; HAMDY M . 2015. A facile synthesis of new coumarin-3,4-duhydropyrimidin-2(1H)-ones/thiones dyads.Elsevier , 3892
- [23] FAVIER A. 2003. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. l'actualité chimique
- [24] CAMPOS P.E. 2017. Biodiversité des invertébrés marins : de l'isolement à la modélisation moléculaire de métabolites secondaires pour la découverte de nouveaux candidats médicaments. Thèse de doctorat : Sciences Technologies Santé :université de la reunion
- [25] BASHARAT S. 2015. Le pouvoir antioxydant des additifs phytogéniques. Biomin .
- [26] Laboratoire yves pronroy <www.ponroy.com>
- [27] SEKLI-BELAÏDI F. 2011. Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly (3,4- éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin. Thèse de doctorat. Génie des Procédés et de l'Environnement : université de toulouse
- [28] LEGER C.L. 2000. La vitamine E : état actuel des connaissances, rôle dans la prévention cardio-vasculaire, biodisponibilité.*ocl-journal*,7,3
- [29] CHEHUE ROMERO A., G. OLVERA HERNANDEZ E., FLORES CERON T., ÁLVAREZ CHAVEZ A.2013.oxidative stress and chronic degenerative diseases - a role for antioxidants. The Exogenous Antioxidants. intech.
- [30] KUMAR S. 2014. The importance of antioxidant and their role in pharmaceutical science - a review. Asian Journal of Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences.
- [31]BORGES BUBOLSA G., DA ROCHA VIANNAC D., MEDINA-REMOND A., VON POSERB G., MARIA LAMUELA-RAVENTOSD R., EIFLER-LIMAB V L., GARCIAA S

Références bibliographiques

C .2013. The Antioxidant Activity of Coumarins and Flavonoids. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 13,3.

[32] RICARDO DA SILVA J.M., DARMON N., FERNANDEZ Y., Mitjavila S. 1991. Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39, 549-1552.

[33] BENZIE I. F., STRAIN J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239, 70-76.

[34] RE R., PELLEGRINI N., PROTEGGENTE A., PANNALA A., YANG M., RICE-EVANS C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine, 26, 1231-1237.

[35] Sharma Om P., Bhat T.K., DPPH antioxidant assay revisited. Food chemistry, 113 ,4, 1202.

[36] POPOVICI C., SAYKOVA I., TYLKOWSKI B. 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH . Revue de Génie Industriel, 4, 25-39

[37] AL-AYED A.S. 2011. Synthesis of New Substituted Chromen [4,3-c]pyrazol-4-ones and Their Antioxidant Activities Molecules, 16, 10292-10302.

[38] PATIL R. B, SAWANT S. D., REDDY K. V., SHIRSAT M. 2015. Synthesis, Docking Studies and Evaluation of Antioxidant Activity of Some Chromenone Derivatives, Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 6, 2, 381 -391.

[39] MAKHLOUFI-CHEBLI M., HAMDI M., SILVA A. M. S., BALEGROUNE F., J. SOS. 2009. Alger. Chim., Makhloufi-Chebli Malika, Thèse de doctorat U.S.T.H.B. 18,1,91-101

[40] BOUTEMEUR-KHEDDIS B. 2001. Thèse de doctorat d'état U.S.T.H.B.

ANNEXES

Annexes

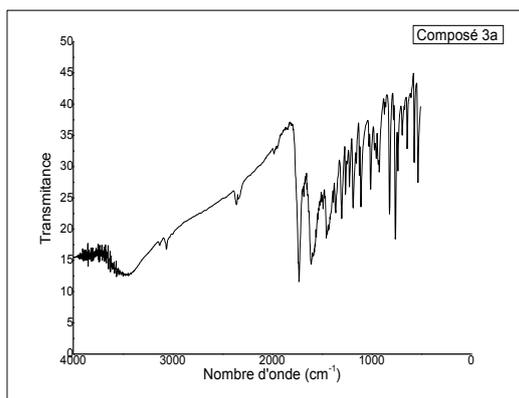


Figure 21 : Spectre IR du composé **3a**
Dans du KBr

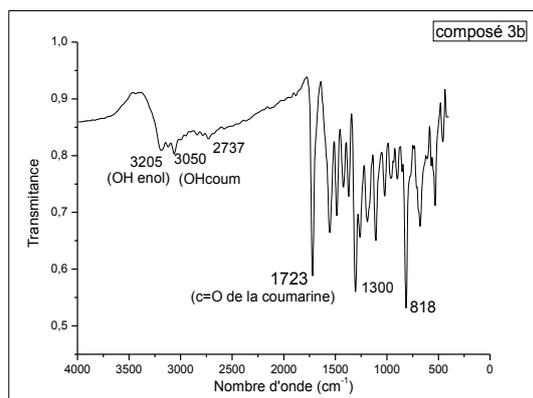


Figure 22 : Spectre IR du composé **3b**
dans du KBr

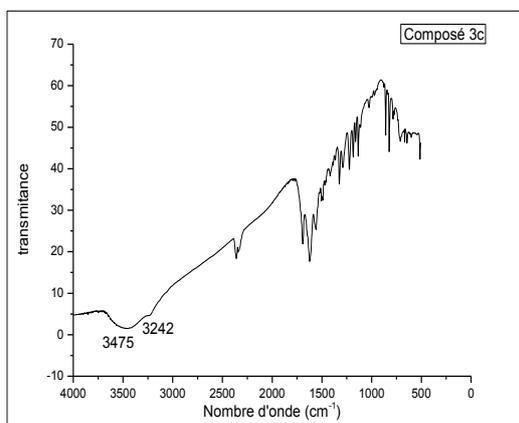


Figure 23 : Spectre IR du composé **3c**
dans du KBr

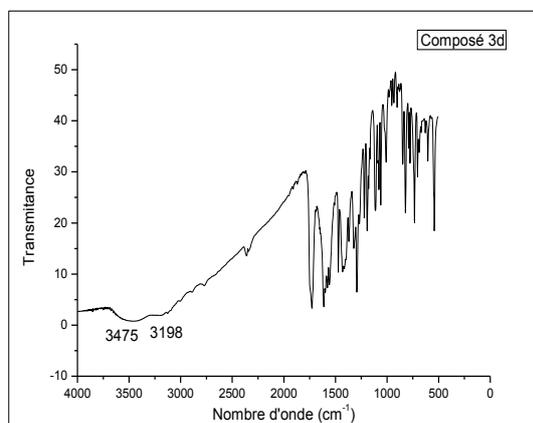


Figure 24 : Spectre IR du composé **3d**
dans du KBr

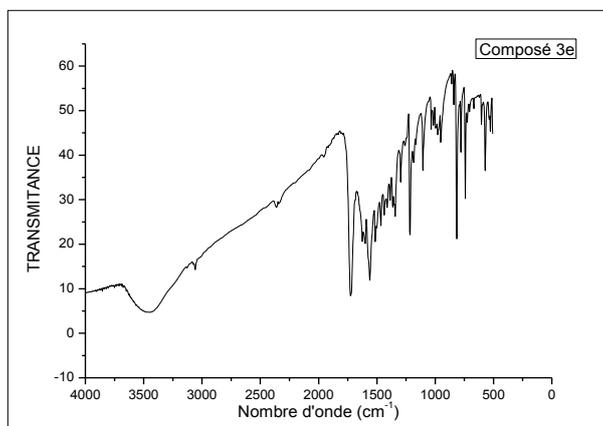


Figure 25 : Spectre IR du composé **3e**
Dans du KBr

Annexes

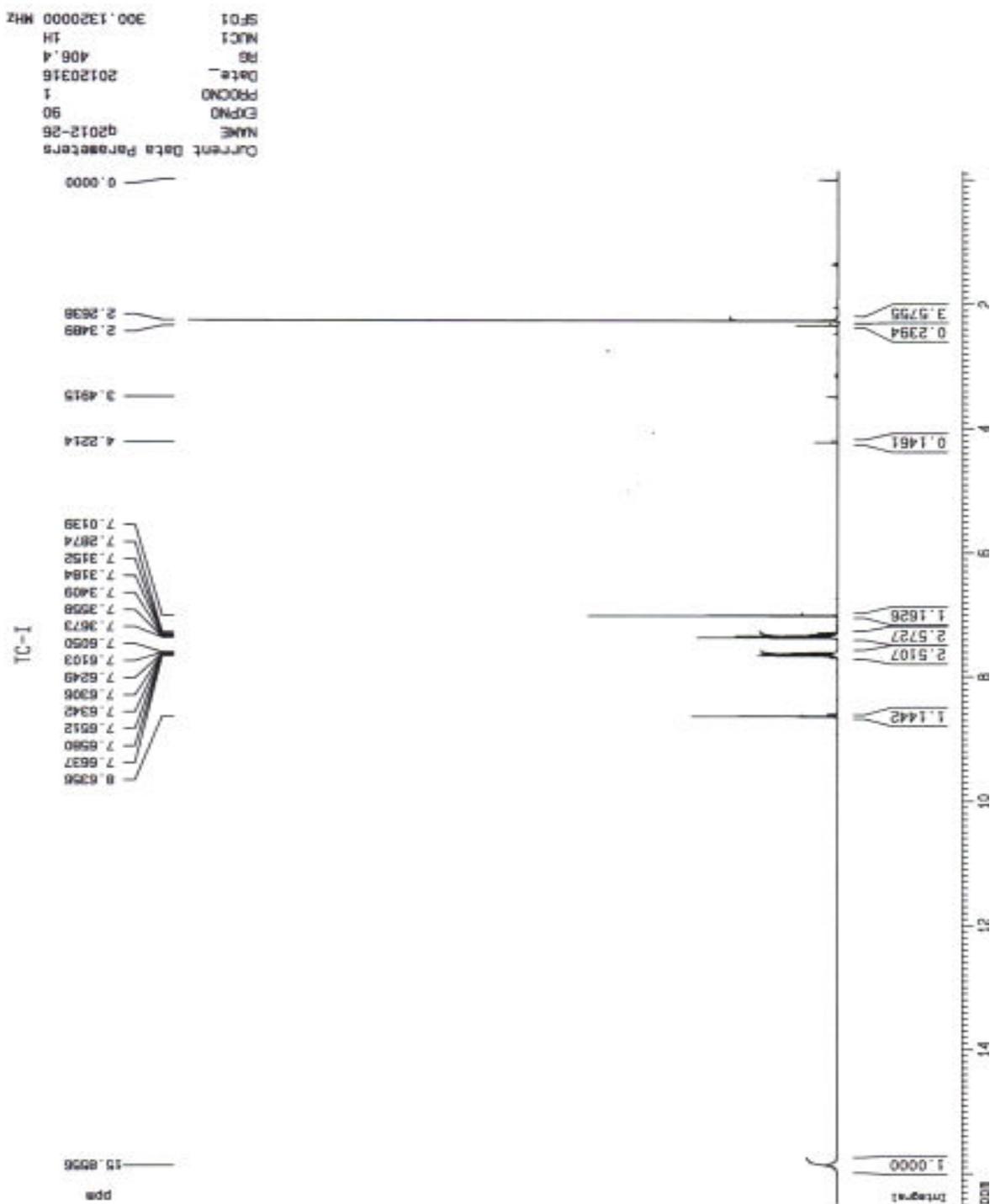


Figure 26 : Spectre RMN ¹H à 300.13 MHz du composé 3a

Annexes

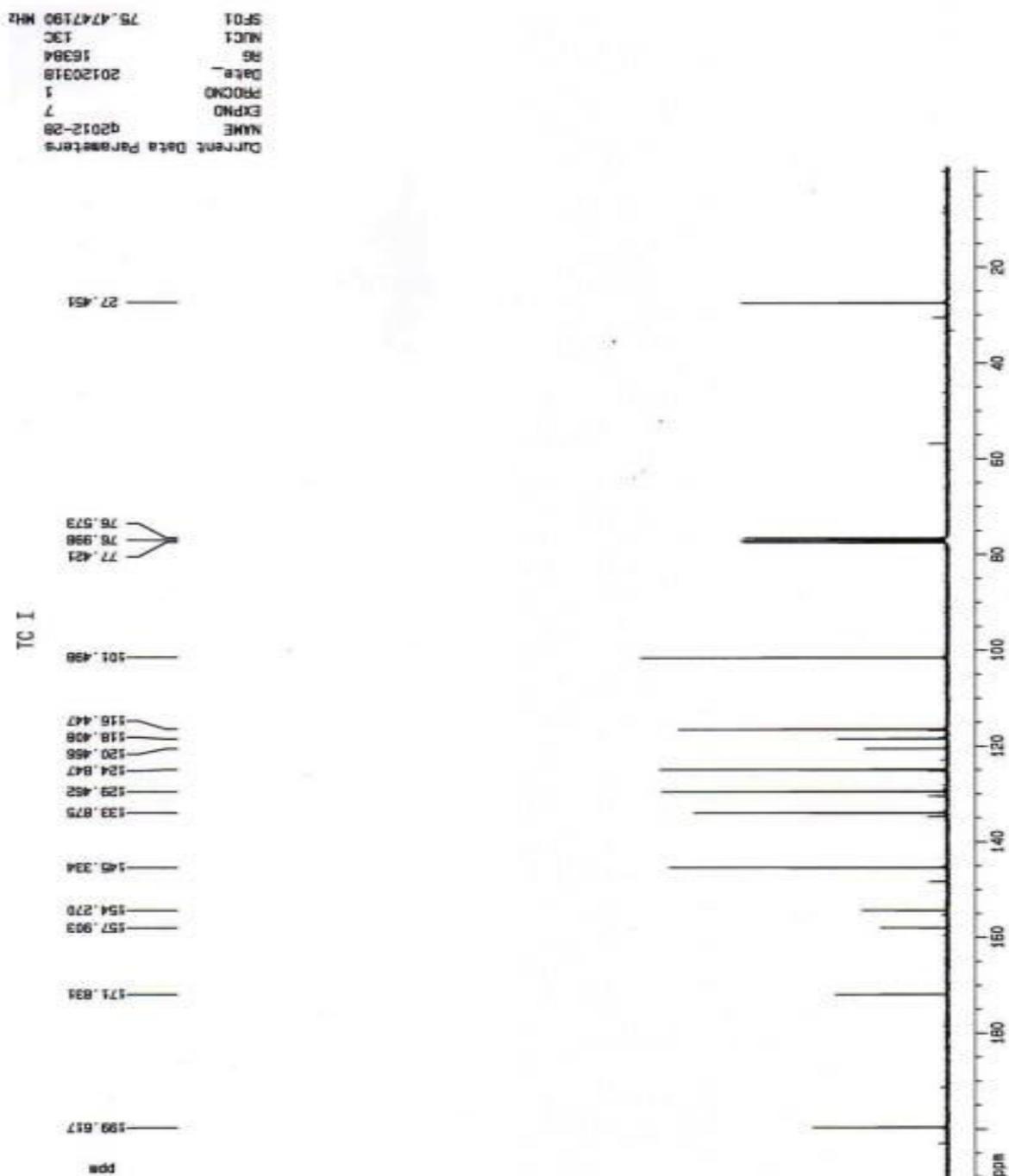


Figure 27 : Spectre RMN ¹³C à 75.47 MHz du composé 3a

Annexes

Current Data Parameters
 NAME: g2012-28
 EXPNO: 4
 PROCNO: 1
 Date_: 20120318
 RB: 645.1
 IN: 3H
 SFO1: 300.132000 MHz

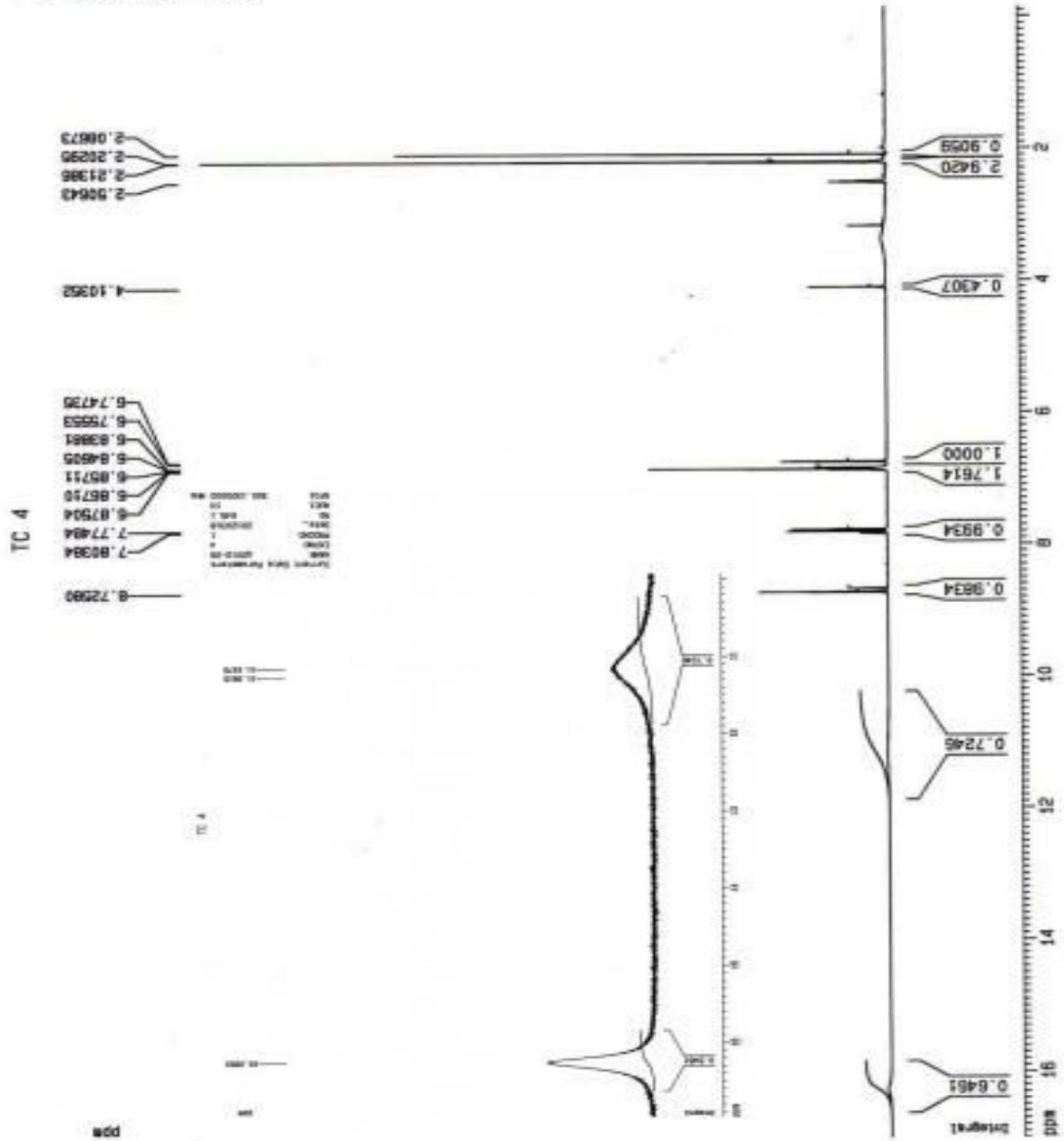


Figure 28 : Spectre RMN ^1H à 300.13 MHz du composé **3c**

Annexes

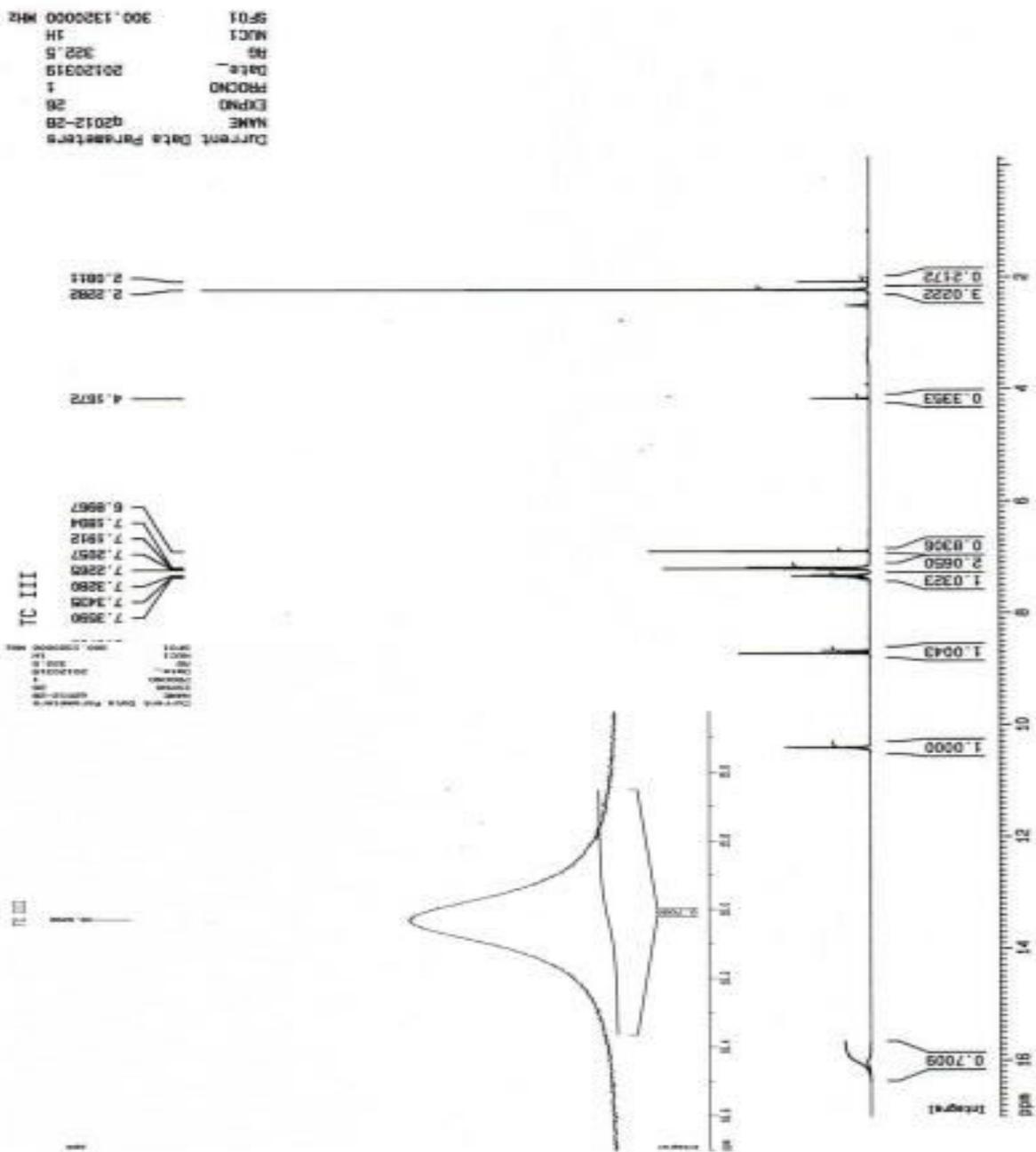


Figure 30 : Spectre RMN ^1H à 300.13 MHz du composé **3d**

Annexes

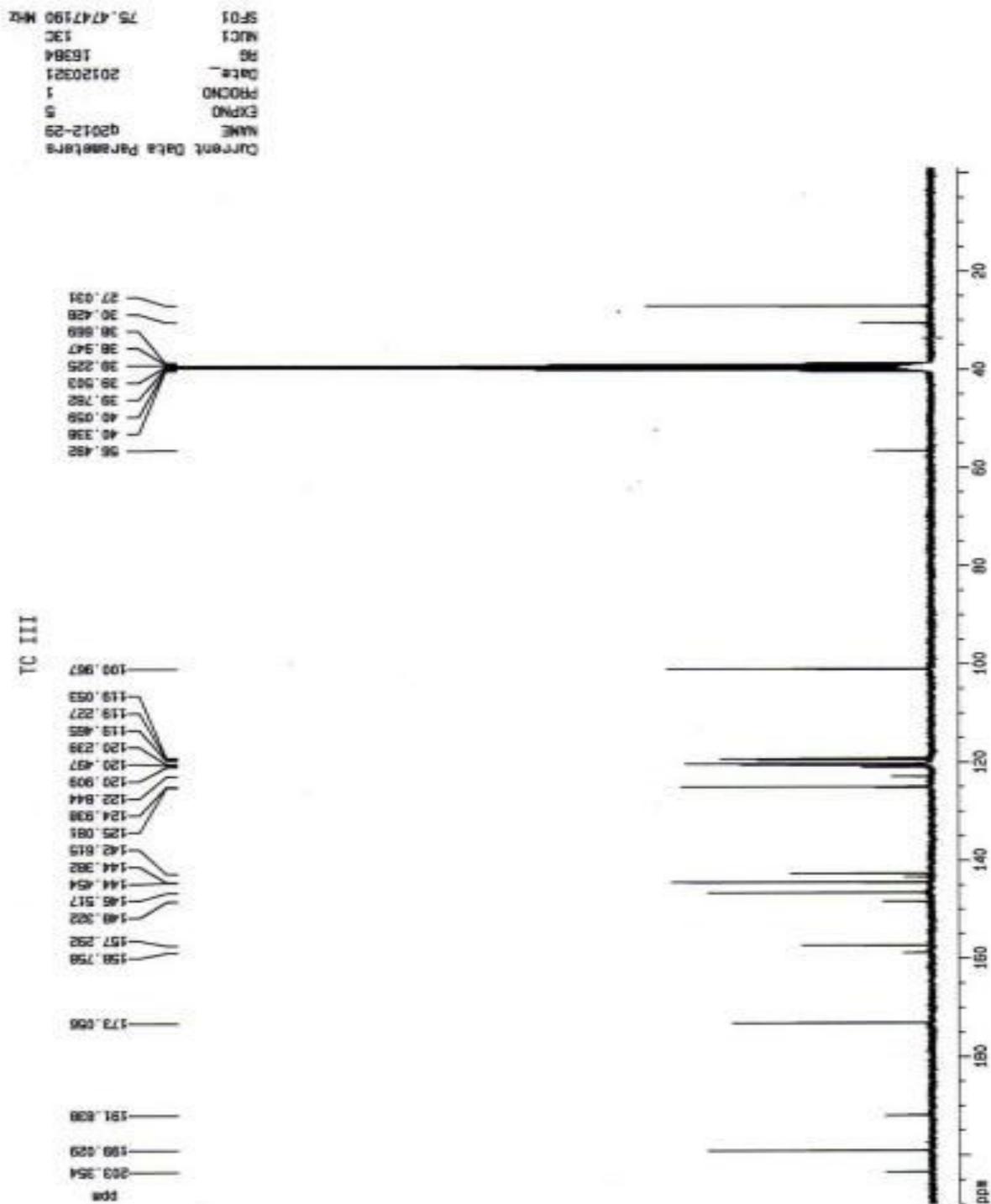


Figure 31 : Spectre RMN ^{13}C à 75.47 MHz du composé **3d**

Annexes

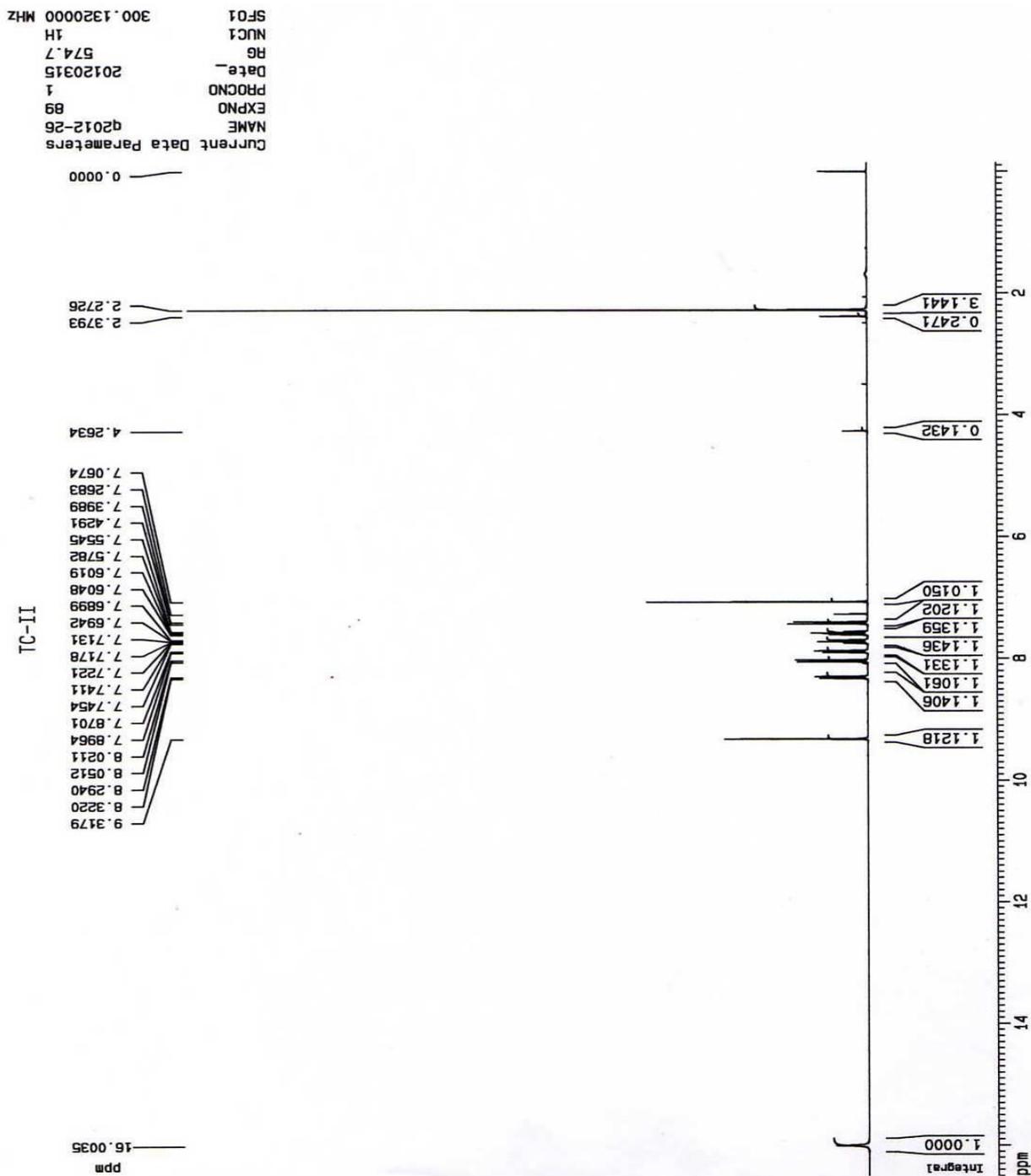


Figure 32 : Spectre RMN ¹H à 300.13 MHz du composé **3e**

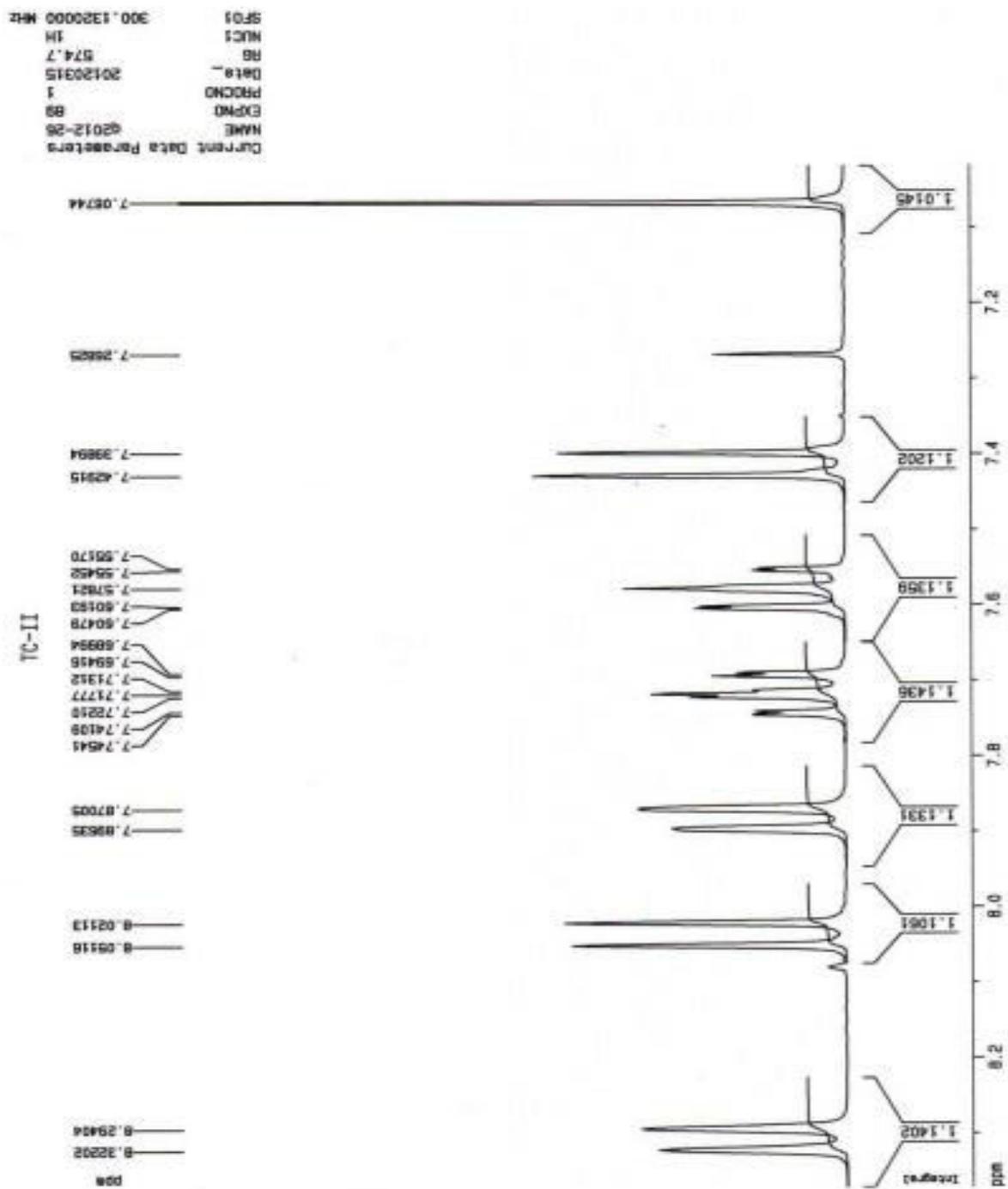


Figure 33 : Spectre RMN ¹H à 300.13 MHz étalé du composé **3e**

Annexes

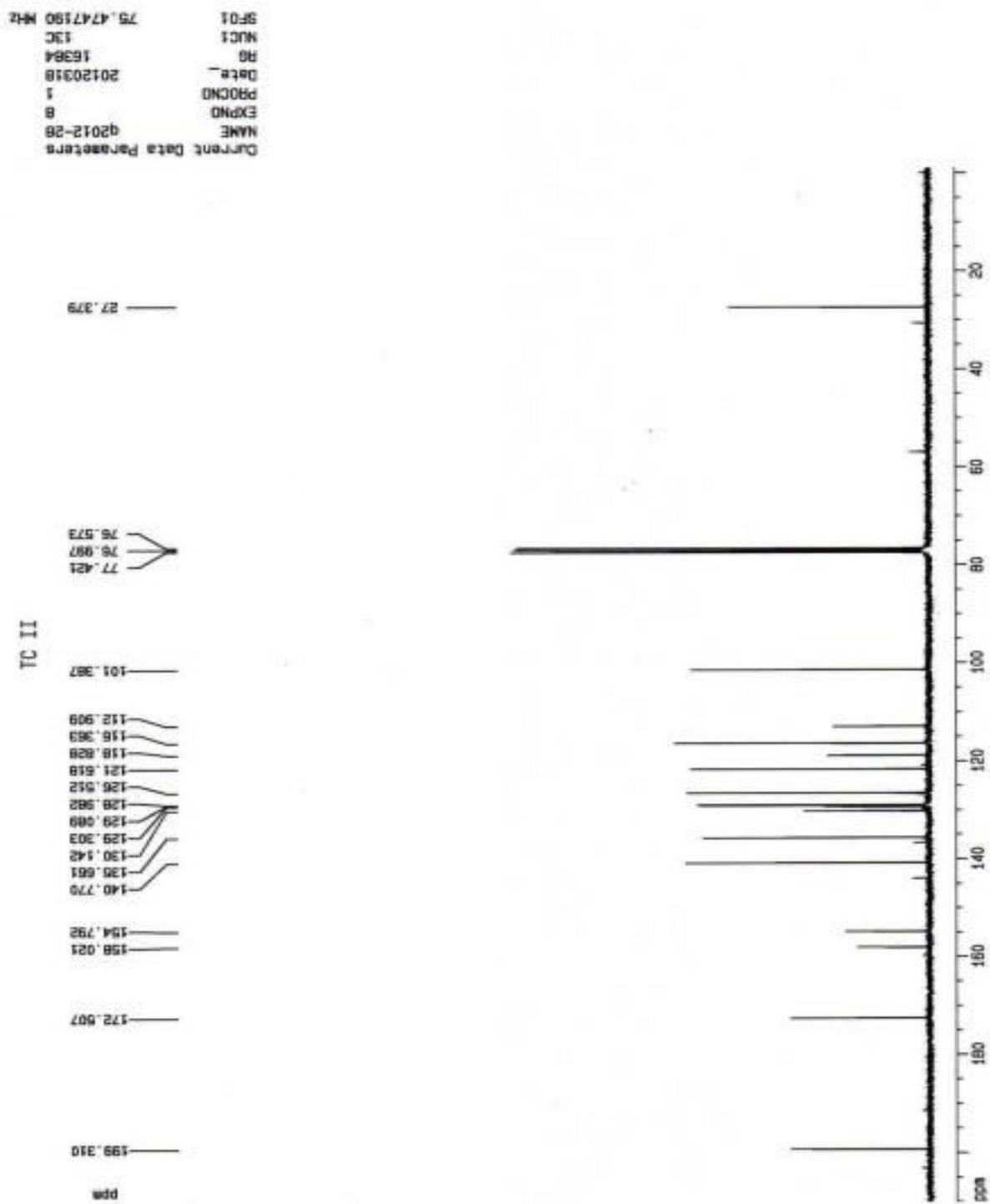


Figure 34 : Spectre RMN ^{13}C à 75.47 MHz du composé **3e**

Annexes

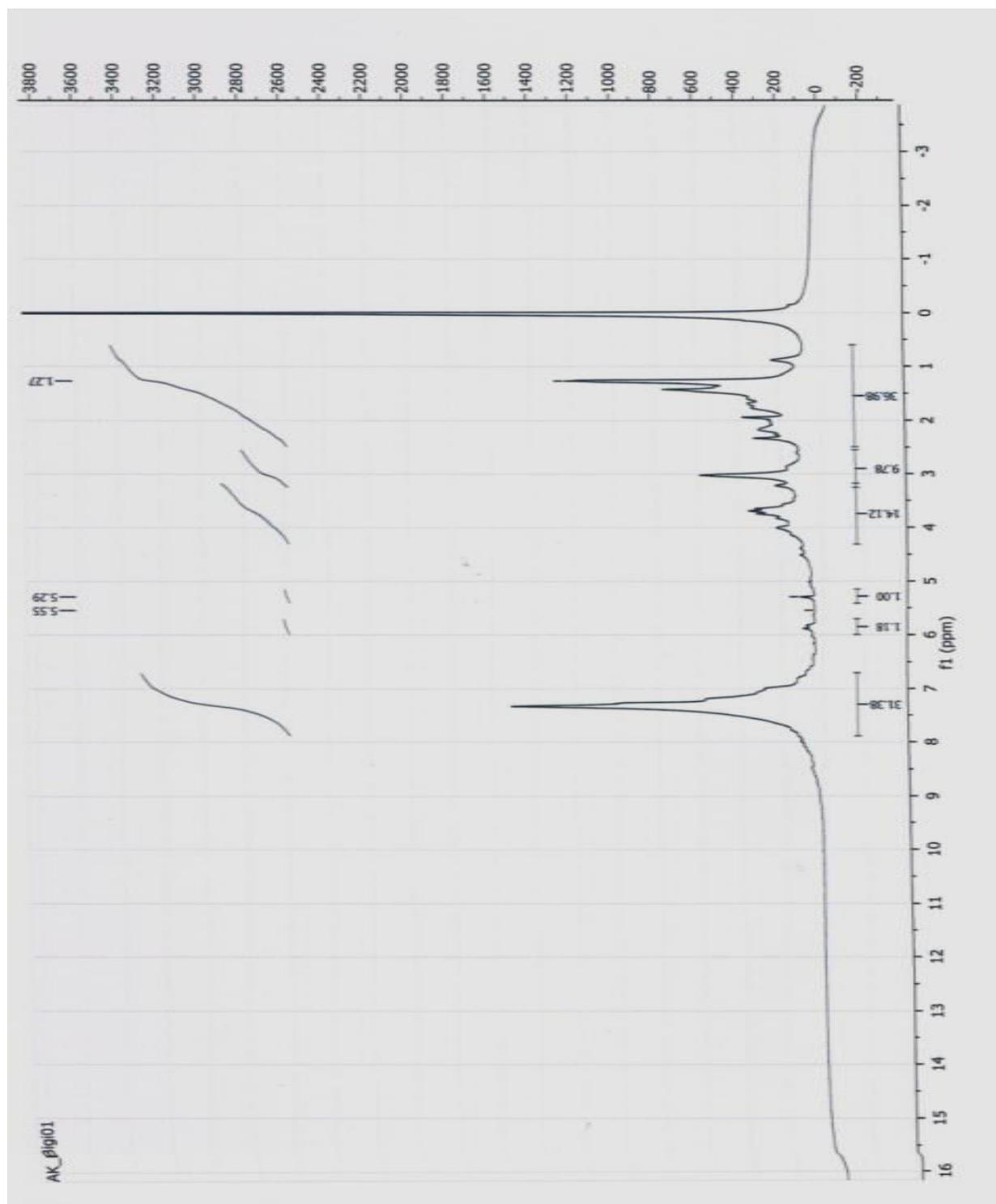


Figure 35 : Spectre RMN ^1H à 400 MHz du composé de la réaction de biginelli réalisée sous micro-onde avec catalyseur et solvant

Annexes

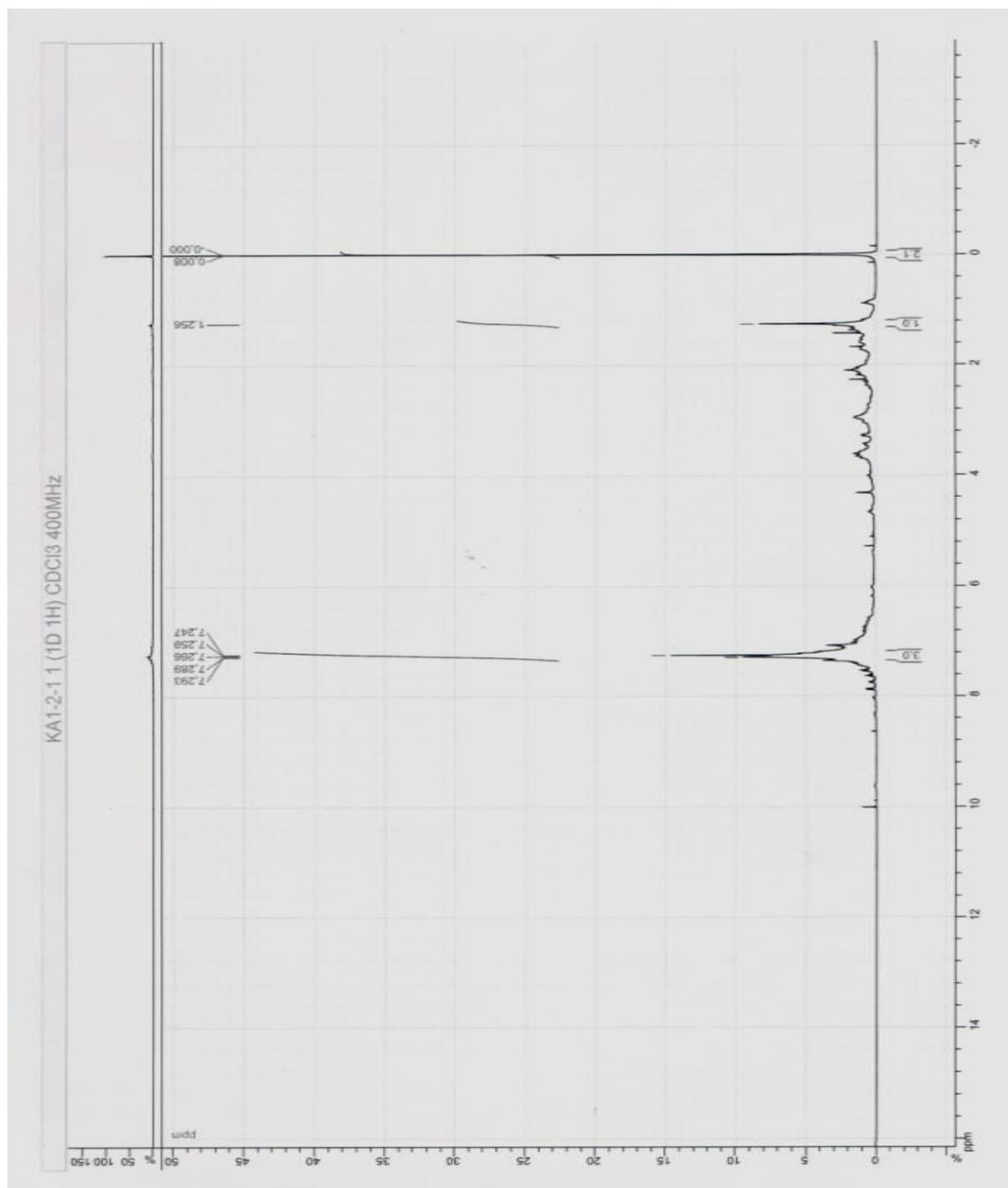


Figure 36 : Spectre RMN ^1H à 400 MHz du composé de la réaction de biginelli réalisée par chauffage conventionnel sans catalyseur et sans solvant

Annexes

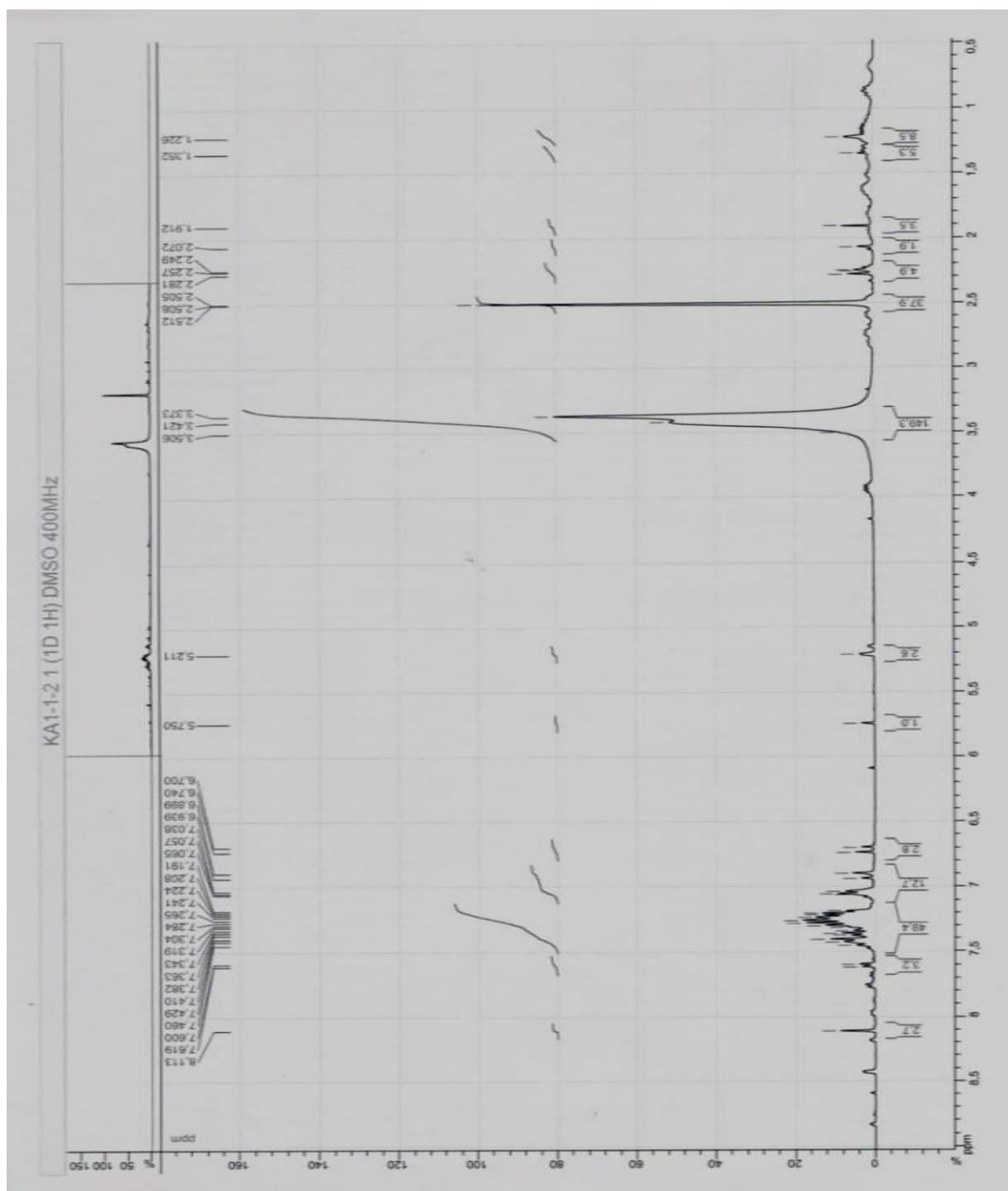


Figure 37 : Spectre RMN ^1H à 400 MHz du composé de la réaction de biginelli réalisée par chauffage conventionnel avec catalyseur et solvant

Résumé

Ce mémoire porte sur le développement de nouvelles molécules hybrides à activité anti Alzheimer. Pour ce faire, nous avons dans un premier temps procédé à la synthèse puis à la caractérisation de nos produits par plusieurs méthodes spectroscopique (UV-Vis, IR et RMN) des molécules acétoacétylcoumarine et à l'évaluation de leur activité antioxydante. Cette étape est d'autant plus importante que ce sont ces molécules qui vont servir de matière première à la synthèse de molécules hybrides par la réaction de Biginelli. Ces molécules hybrides ont été ensuite caractérisées par spectrométrie RMN ^1H . Après analyse, une possibilité d'apparition du produit a été suspecté néanmoins, le flou qui entoure les résultats obtenus ne nous permet pas de confirmer cette hypothèse.

Mots clés : Molécules hybrides, Alzheimer, UV-Vis, IR, RMN, Acétoacétylcoumarine, Activité antioxydante, Réaction de Biginelli.

Abstract

This master deals with the development of new hybrid molecules with anti-Alzheimer's activity. In order to do this, we first carried out the synthesis and then the characterization of our products by several spectrophotometric methods (UV-Vis, IR and NMR) of the acetoacetyl-coumarin molecules and the evaluation of their antioxidant activity. This step is all the more important as it is these molecules which will serve as raw material for the synthesis of hybrid molecules by the biginelli reaction. These hybrid molecules were then characterized by ^1H NMR spectrometry. After analysis, a possibility of appearance of the product was suspected nevertheless, the fuzzy surrounding the results obtained does not allow us to confirm this hypothesis.

Keywords : Hybrid molecules, Alzheimer, UV-Vis, IR, NMR, Acetoacetyl-coumarin Antioxidant activity, Biginelli reaction.