

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI, TIZI-OUZOU

FACULTÉ DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



MEMOIRE DE MASTER2

Spécialité : chimie

Option : chimie pharmaceutique

*Présenté par : M^{elle} CHABHA TEBAKH et
M^{me} FADHELA IMERZOUKENE épouse HARCHAOU*

Thème :

***Synthèse et caractérisation de quelques molécules
anticoagulantes dérivées de la coumarine.***

Soutenue le 09 juillet 2012 devant la commission d'examen :

| | | |
|---|---------------------------------|--------------|
| M ^{me} F.FERNANE | : Maître de conférences A UMMTO | Présidente |
| M ^{me} M.CHEBLI épouse MAKHLOUFI | : Maître de conférences B UMMTO | Encadreur |
| M ^{elle} DERMECHE | : Maître de conférences B UMMTO | Co-encadreur |
| M ^{me} S.DELLAH | : Maître de conférences A UMMTO | Examinatrice |
| M ^{me} K.IGHIL AHRIS | : Maître assistante B UMMTO | Examinatrice |

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le bon Dieu pour le courage qu'il nous a donné afin de mener ce travail à terme

Ce travail a été effectué au Laboratoire de Master Chimie pharmaceutique du département de chimie, faculté des sciences de l'université de Mouloud Mammeri, dirigé par Madame **CHEBLI épouse MAKHLOUFI Malika** et Mademoiselle **DERMECHE Leila** Co-encadreur, que nous remercions chaleureusement d'avoir encadrés ce travail, avec beaucoup de compétence, d'enthousiasme et de disponibilité. Merci Mesdames pour vos conseils, votre optimisme et la confiance que vous nous avez accordés et permis de réaliser ce travail de recherche.

Nos remerciements vont également

A Monsieur le Professeur **M. S. Artur Silva**, Professeur à l'Université d'Aveiro au Portugal de nous avoir effectué les analyses en RMN.

A Madame **FERNANE Farida** Maître de conférences à l'UMMTO, qui nous fait le grand honneur de présider notre jury.

Nous adressons tous nos remerciements à Madame **DELLAH Saliha** MCCA et Madame **IGHIL AHRIZ Karima** MCAB à l'UMMTO qui ont accepté de juger ce travail.

Nous remercions Madame **AIGOUN Safia** responsable du laboratoire de toxicologie de nous avoir mis à notre disponibilité tous le matériel et réactifs dont nous avons besoins.

Enfin nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à tous ceux qui nous ont soutenues de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Liste des abréviations

RMN 1H : résonance magnétique nucléaire du proton

RMN 13C : résonance magnétique nucléaire du carbone -13

IR : infra rouge

DMSO-D6 : diméthylsulfoxyde six fois deutéré

CDCl₃ : chloroforme deutéré

TMS : tétraméthylsilane

TAL : Triaceti Lactone Acid

Pf : point de fusion

Rf : rapport frontal

S : singulet

d : doublet

t : triplet

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Résumé



| | |
|------------------------------------|----|
| INTRODUCTION GENERALE | 01 |
|------------------------------------|----|

PREMIERE PARTIE

Chapitre I : Les anticoagulants

| | |
|--|----|
| I. Définition | 02 |
| II. Coagulation et anticoagulation | 02 |
| III. Indications et usages..... | 03 |
| IV. Les différentes classes des anticoagulants | 05 |
| V. Différents types des anticoagulants | 05 |
| V.1.Les coumarines symétriques ou asymétriques..... | 05 |
| V.2.Les 2-phenyl-indan-1,3-diones..... | 06 |

Chapitre II : Les coumarines

| | |
|--|----|
| I-Généralités | 07 |
| I.1.Définition | 07 |
| I.2.Répartition botanique et localisation | 07 |
| I.3.Structure chimique et classification | 07 |
| I.4.Biogenèse..... | 10 |
| I.5.Propriétés physicochimiques, extraction, caractérisation et dosage | 11 |
| 1. Propriétés physicochimiques..... | 11 |
| 2. Extraction | 12 |
| 3. Caractérisation..... | 12 |
| 4. Dosage..... | 12 |
| II. Les différents types des coumarines | 12 |
| II.1.Coumarines simples..... | 12 |
| II.2.Coumarines complexes..... | 14 |

| | |
|------------------------------------|----|
| III. Toxicité des coumarines | 19 |
|------------------------------------|----|

Chapitre III : Synthèse de quelques dérivés de la 4-hydroxycoumarine d'activité thérapeutique comme anticoagulants

| | |
|--|-----------|
| I. Action du formaldéhyde sur la 4-hydroxy coumarine : synthèse du dicoumarol | 21 |
| I.1 Etude en chromatographie sur couche mince | 22 |
| I.2 Etude en spectroscopie RMN du proton ^1H | 23 |
| I.3 Etude en spectroscopie RMN ^{13}C | 24 |
| I.4 Etude en spectroscopie UV/visible | 26 |
| I.5 Etude en spectroscopie Infra rouge IR..... | 28 |
| I.6 Propriété pharmacologique du dicoumarol..... | 29 |
| II. Action du benzaldéhyde sur la 4-hydroxycoumarine | 29 |
| II.1 Etude en chromatographie sur couche mince | 30 |
| II.2 Etude en spectroscopie RMN du proton ^1H | 30 |
| II.3 Etude en spectroscopie RMN ^{13}C | 32 |
| II.4 Etude en spectroscopie UV/visible..... | 34 |
| II.5 Etude en spectroscopie Infra rouge IR | 34 |
| Conclusion..... | 36 |
| Partie expérimentale | 37 |
| ANNEXE | 40 |

DEUXIEME PARTIE : Synthèse de coumarines par action des aldéhydes aromatiques 2-hydroxylés sur la 4-hydroxy-6-méthyl- 2- pyrone

| | |
|---|-----------|
| I. Action du 2-hydroxybenzaldéhyde (Salicyaldéhyde)..... | 41 |
| I.1 Etude en chromatographie sur couche mince | 46 |
| I.2 Etude en spectroscopie RMN du proton ^1H | 46 |
| I.3 Etude en spectroscopie RMN ^{13}C | 48 |
| I.4 Etude en spectroscopie UV / visible..... | 49 |

| | |
|---|----|
| I.5 Etude en spectroscopie Infra Rouge IR | 50 |
| II. Action du 2,3-dihydroxybenzaldéhyde | 51 |
| II.1 Etude en chromatographie sur couche mince | 52 |
| II.2 Etude en spectroscopie RMN du proton ^1H | 52 |
| II.3 Etude en spectroscopie RMN ^{13}C | 53 |
| II.4 Etude en spectroscopie UV / visible | 54 |
| II.5 Etude en spectroscopie Infra Rouge IR | 55 |
| III. Action du 2,4-dihydroxybenzaldéhyde | 56 |
| III.1 Etude en chromatographie sur couche mince | 57 |
| III.2 Etude en spectroscopie RMN du proton ^1H | 57 |
| III.3 Etude en spectroscopie RMN ^{13}C | 58 |
| III.4 Etude en spectroscopie UV / visible | 60 |
| III.5 Etude en spectroscopie Infra Rouge IR | 60 |
| IV. Action du 2-hydroxynaphaldéhyde | 61 |
| IV .1 Etude en chromatographie sur couche mince | 62 |
| IV.2 Etude en spectroscopie RMN du proton ^1H | 62 |
| IV.3 Etude en spectroscopie RMN ^{13}C | 64 |
| IV.4 Etude en spectroscopie UV / visible | 65 |
| IV.5 Etude en spectroscopie Infra Rouge IR | 66 |
| CONCLUSION | 69 |
| Partie expérimentale | 70 |
| ANNEXE II | 73 |
| CONCLUSION GENERALE | 82 |
| BIBLIOGRAPHIE | 83 |

Résumé

Les anticoagulants sont largement utilisés dans le traitement préventif de la maladie thrombo-embolique (en particulier dans la période post-opératoire) et dans le traitement curatif des thromboses veineuses constituées. Deux grandes classes d'anticoagulants sont actuellement disponibles : les héparines (héparine standard, héparines de bas poids moléculaire) et les antivitamines K. Le choix de l'anticoagulant doit tenir compte du contexte clinique (traitement préventif ou curatif) mais également des propriétés pharmacologiques et pharmacocinétiques de l'anticoagulant. L'instauration d'un tel traitement impose une surveillance biologique adaptée à l'anticoagulant choisi.

Les antivitamines K (AVK) sont des substances anticoagulantes dérivées de l'hydroxycoumarine ou de l'indane dione. Ces médicaments interfèrent avec la régénération de la vitamine K au niveau hépatique.

La synthèse des antivitamines K a fait l'objet de nombreux travaux particulièrement les dérivés de la 4-hydroxycoumarine. Nous avons essayé dans un premier temps de reprendre la synthèse de deux AVK à partir de la 4-hydroxy-coumarine pour lesquels l'activité thérapeutique comme anticoagulants est connue, nous avons bien séparé les produits avec de bons rendements.

La 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone (TAL) et la 4-hydroxycoumarine possèdent une même réactivité vis à vis des aldéhydes aromatiques en milieu basique. Le carbone en position 3 possède une réactivité particulière et cela est dû à son entourage car il est situé entre deux groupements électroattracteurs qui lui donnent la facilité d'obtenir un carbanion et de libérer un proton. Nous avons réalisé la condensation de la TAL vis-à-vis des aldéhydes aromatiques 2-hydroxylés et qui a donné naissance de quelques coumarines pour lesquels l'activité biologiques n'est pas encore connue.

Introduction générale

Les molécules biologiquement actives occupent aujourd'hui une place prépondérante dans notre société puisqu'elles sont à la base de nombreux principes actifs utilisés en pharmacie, cosmétique et parfumerie. L'origine de ces molécules peut être naturelle, semisynthétique ou totalement synthétique.

Les dérivés de la 2-pyrone et de la coumarine constituent deux classes importantes de composés hétérocycliques naturels ou synthétiques. Leurs activités biologiques est amplement décrite dans la littérature elles figurent aussi bien dans les classes thérapeutiques que dans les classes de diagnostics. Ce sont des composés qui appartiennent à des classes importantes en chimie thérapeutique et constituent un squelette de nombreux composés naturels. Leur application dans de nombreux domaines de la médecine humaine, animale et phytochimie a permis le développement d'une recherche intense utilisant comme structure de base la 4-hydroxycoumarine **1** et la 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone (triacétic acid lactone TAL) **3**. Parmi tous ces travaux c'est la réactivité de **1** et de **3** vis-à-vis des aldéhydes aromatiques et aliphatiques.

Nous nous sommes proposé dans une première partie, après un bref rappel bibliographique sur les anticoagulants et les coumarines, de reprendre la synthèse du dicoumarol et un de ses dérivés qui possèdent une activité biologique comme anticoagulants et décrits récemment comme anticancéreux et qui a retenue notre attention pour plusieurs raisons :

- Préciser le mécanisme de formation des dimères de la 4-hydroxycoumarine
- Vérifier le temps et le rendement de la réaction.
- Mettre en évidence la formation d'un seul produit qui est le dimère de la 4-hydroxycoumarine avec un pont méthyle.

Dans la deuxième partie nous avons réalisé quelques réactions de condensation des aldéhydes aromatiques 2-hydroxylés avec la TAL **3** au reflux conventionnel pour quatre composés dont l'un n'est pas décrit dans la littérature et qui donnent la formation de coumarines pour lesquels l'activité biologique sera étudié ultérieurement.

Les anticoagulants

I. Définition

D'une manière générale, un anticoagulant est une substance qui a pour propriété de limiter le potentiel de coagulation du sang et de le fluidifier. Le but est de prévenir la formation ou le développement de caillots sanguins, des thrombus. Ces derniers en effet, sont susceptibles de provoquer une thrombose (ou une embolie) pulmonaire ou cérébrale.

Ce sont donc des médicaments destinés à limiter l'extension d'une thrombose déjà existante (éviter la formation d'un nouveau caillot). Ils ne peuvent en aucun cas dissoudre un caillot existant. Dans un but préventif, ils sont donnés pour éviter la formation d'un caillot chez un patient à haut risque (absence de caillot existant).

Cette famille de médicaments est prescrite dans différentes indications. Aux patients souffrant de troubles cardiaques – fibrillation auriculaire, athérosclérose des coronaires – ou vasculaires comme dans les suites d'une thrombose veineuse profonde (TVP). Ils sont également prescrits en cas de risque reconnu de TVP, ou dans les suites d'infarctus du myocarde par exemple.

Les anticoagulants peuvent également être prescrits en prévention. Par exemple à des patients immobilisés à la suite d'une fracture de jambe, ou d'une intervention chirurgicale. Dans ce cas, l'objectif est de prévenir l'apparition d'une phlébite.

II. Coagulation et anti coagulation

La coagulation est un phénomène physiologique, procédant en cascade et faisant intervenir plusieurs protéines plasmatiques. Ce processus une fois mis en jeu aboutit à la formation d'un caillot (un clou plaquettaire), qui dans le fonctionnement physiologique non pathologique permet de freiner ou de juguler les hémorragies. La coagulation du sang peut être induite par un processus mécanique : en cas de stase, le sang immobile coagule par disparition de l'effet de pompe ; ou encore par mise en jeux de réactions physiologiques.

La coagulation sanguine naturelle est régulée par la présence de divers facteurs de coagulation qui de concert se chargent d'un équilibre normal entre les tendances naturelles à la coagulation et celles à l'anti-coagulation.

La production des facteurs de coagulation activant la coagulabilité dépend de la vitamine K. Les dérivés de la coumarine, tels l'acénocoumarol (*Sintrom*®) ou le fenprocoumone (*Marcoumar*®) permettent une inhibition de la production de ces facteurs, cette production étant dépendante de la vitamine K.

Dans certains cas, ce processus de coagulation (l'hémostase) doit d'être corrigé ou modifié à l'aide d'un anticoagulant, en traitement ou en prévention de certains troubles et le degré d'anti-coagulation lors de l'utilisation de ces médicaments dépend d'un grand nombre de facteurs, souvent peu connus. Ce qui implique un contrôle régulier du degré d'anti-coagulation au moyen d'un examen sanguin, la mesure du temps de Quick.

III. Indications et usages

Les anticoagulants sont principalement indiqués en prévention et/ou en traitement des troubles thrombo-emboliques. Ils ont pour but de rendre le sang plus clair afin de prévenir la formation de caillots et d'embolie.

Les maladies ou états les plus fréquemment en cause sont :

- *L'embolie pulmonaire*
- *La thrombose veineuse des membres inférieurs*
- *La fibrillation auriculaire*
- *La présence d'une valve cardiaque mécanique*
- *L'infarctus du myocarde*

À moins de contre-indication, de la warfarine est administrée. La warfarine se présente sous forme de comprimé de 1 mg (rose), 2 mg (lavande), 2,5 mg (vert), 3 mg (beige), 4 mg (bleu), 5 mg (pêche), 6 mg (bleu vert), 10 mg (blanc). Les comprimés peuvent être coupés, car parfois nous sommes appelé à prendre des demi-comprimés.

Ces troubles sont induits par un ralentissement de la perfusion du plasma sanguin dans les tissus et les causes sont nombreuses. Elles peuvent être mécaniques ou fonctionnelles : le flux sanguin normal peut être perturbé, provoquant une stase sanguine et induisant un risque de formation d'un thrombus.

Les causes d'origines mécaniques se manifestent par un retour sanguin s'effectuant de façon inefficace, comme dans le cas de l'insuffisance veineuse ou artérielle : phlébite, thrombose veineuse profonde et embolie pulmonaire ou encore AOMI notamment ; la perfusion sanguine peut être perturbée en cas de pathologies ischémiques comme l'accident vasculaire cérébral ischémique, l'accident ischémique transitoire ou l'infarctus du myocarde (l'ischémie provoquant un ralentissement de la perfusion de liquide).

Les causes fonctionnelles sont liées à d'autres maladies, comme dans le cas de l'insuffisance cardiaque: c'est le cas de la fibrillation auriculaire ou ventriculaire (les battements du cœur étant irréguliers, il y a un risque de stase sanguine augmentée) ; ou encore dans le cas de développement de cellules métastatiques, celles-ci conduisant à des complications mécaniques de type phlébite.

En prévention, les anticoagulants sont indiqués par exemple en cas de pose de valve cardiaque (la valve, corps étranger, favorise la formation de caillots), en cas d'alitement prolongé ou de perte de la mobilité majeure, pour des causes mécaniques.

Les anticoagulants sont également indiqués en traitement de maladies ou de syndromes agissant sur la concentration des thrombocytes, comme dans le cas de la coagulation intra vasculaire disséminée.

Certains anticoagulants sont indiqués en renfort thérapeutique ou en relais d'autres anticoagulants en cas d'hémostase augmentée.

- **En dehors de la pathologie cardiaque.**

Les anticoagulants sont très utilisés après une intervention chirurgicale (orthopédie, urologie, gynécologie, chirurgie digestive). Des anticoagulants sont notamment utilisés comme raticides (warfarine).

Les anticoagulants sont par ailleurs utilisables in vitro afin de rendre le sang prélevé incoagulable lors de la mise en place de dispositifs médicaux comme la circulation extra corporelle (héparine) ou encore en technique laboratoire (citrate, héparine, oxalate, EDTA).

IV. Les différentes classes d'anticoagulants

a/ Les anticoagulants oraux :

- antivitamines K ou AVK ;
- inhibiteurs directs de la thrombine ;
- inhibiteurs du facteur X (ou facteur Dix).

b / Les anticoagulants injectables : Ils comportent :

- les héparines non fractionnées ;
- les héparines de bas poids moléculaire ;
- les inhibiteurs sélectifs du facteur X.

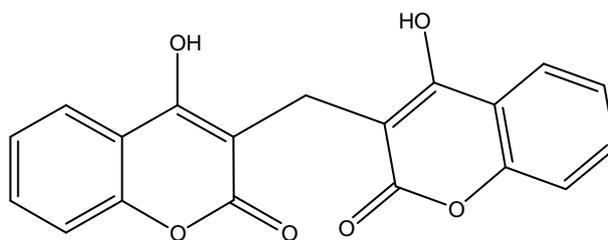
V. Différents types d'AVK

Les AVK sont des médicaments anticoagulants oraux, très largement prescrits et souvent pour des périodes longues. Leur utilisation suppose une surveillance biologique régulière de leur efficacité en raison des risques hémorragiques.

Les dérivés anti-vitamine, K, ordinairement appelés anticoagulants, sont constitués de deux grands groupes chimiques :

V.1. Les coumarines, symétriques ou asymétriques:

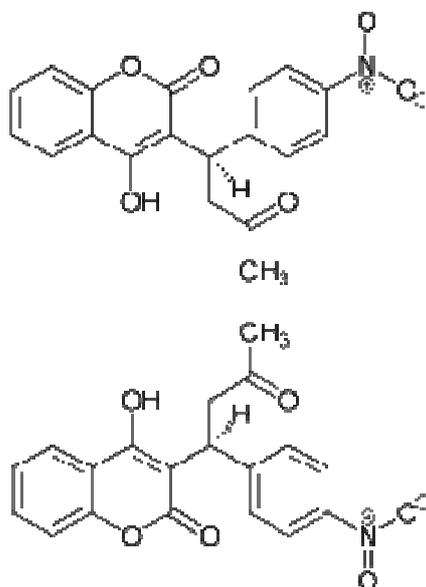
AVK à demi-vie courte (Acénocoumarol, Sintrom) ou longue (Tiocoumarol, Préviscan) qui procurent une anti coagulation plus stable et plus prolongée. Les posologies dépendent de la molécule et de la sensibilité du malade à ce médicament. Cette sensibilité est imprévisible et donc, la posologie doit être adaptée et contrôlée régulièrement en fonction des tests de coagulation. Il existe grossièrement une équivalence thérapeutique entre les comprimés de chaque AVK.



Dicoumarol (coumarine symétrique)

L'acénocoumarol (Sintrom[®]) est un anticoagulant oral dérivé de la coumarine. Son mode d'action consiste à inhiber la synthèse de la vitamine K

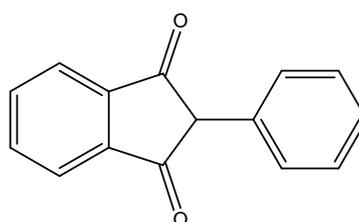
Ce médicament est utilisé en traitement des maladies thrombo-embolique ou en prévention des états d'hypercoagulabilité.



Acénocoumarol (coumarine asymétrique)

L'énantiomère R de l'acénocoumarol (en haut) et S-acénocoumarol (en bas)

V.2. Les 2-phenyl-indan-1,3-diones.



2-Phenyl-indan-1,3-dione

Les coumarines

I. Generalites

I.1.Définition

Les coumarines sont des substances naturelles dont la structure comporte le noyau benzo- α pyrone (coumarine) résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy- cis cinnamique.



L'acide ortho-hydroxy- cis cinnamique

coumarine

Les coumarines tirent leur nom de (coumarou) nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipteryx odorata* Willd., Fabaceae) d'où fut isolée, en 1820, la coumarine.

I.2. Répartition botanique et localisation

Elles sont surtout présentes chez les Dicotylédones et abondantes dans certaines familles : **Rutaceae, Fabaceae, Apiaceae, Oléaceae, Loganiaceae, Solanaceae, Asteraceae** et Hippocastanaceae.

Les coumarines sont formées dans les feuilles et s'accumulent surtout dans les racines et les écorces, ainsi que dans les tissus âgés ou lésés.

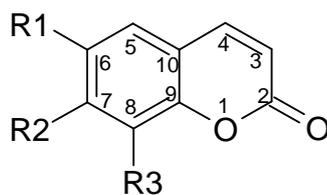
I.3. Structure chimique et classification

Ces constituants possèdent une ou plusieurs fonctions phénoliques, étherifiées ou non (à l'exception de la coumarine proprement dite) ; c'est pourquoi on les rattache souvent aux polyphénols. On les divise en :

Coumarines simples et Coumarines complexes où un noyau furanne ou pyranne est associé au noyau benzo α pyrone.

1) Coumarines simples

Les coumarines les plus répandues dans le règne végétal possèdent des substitutions (OH ou OCH₃) en 6 et 7. Exemples :



Les génines

| | R1 | R2 | R3 |
|---------------|------------------|------------------|----|
| Ombelliférone | H | OH | H |
| Escul tol | OH | OH | H |
| Scopol tol | OCH ₃ | OH | H |
| Herniarine | H | OCH ₃ | H |
| Frax tol | OCH ₃ | OH | OH |

Les hétérosides

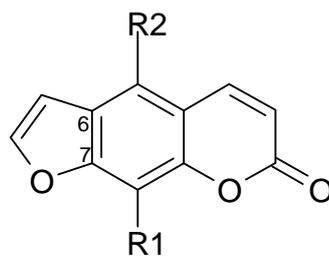
| | R1 | R2 | R3 |
|--------------------------|------------------|-------|----|
| Esculoside (=Esculine) | O-Glu | OH | H |
| Cichorioside(=Cichorine) | OH | O-Glu | H |
| Scopoloside(=Scopoline) | OCH ₃ | O-Glu | H |
| Fraxoside | OCH ₃ | O-Glu | OH |

2) Coumarines complexes :

On distingue :

- **les furocoumarines** (ou furanocoumarines) :

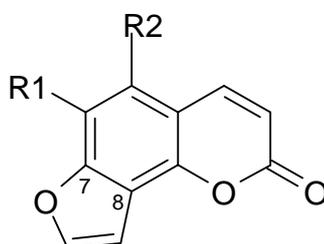
➤ **6,7 furocoumarines (linéaire)**



$R_1=R_2=H$: psoralène ; $R_1=OCH_3$ $R_2=H$: xanthotoxine

$R_1=H$ $R_2=OCH_3$: bergaptène ; $R_1=OCH_2-CH=C-(CH_3)_2$ $R_2=H$: impérorine.

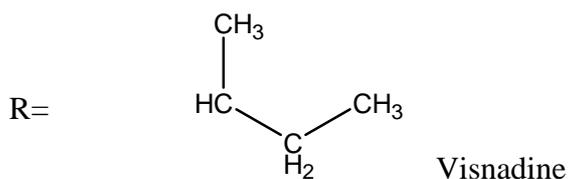
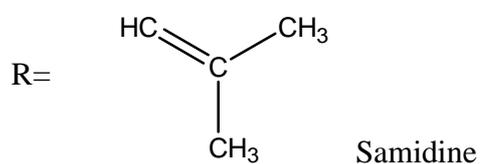
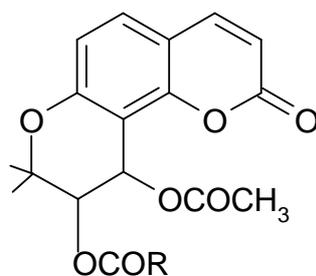
➤ **7,8- furocoumarines (angulaire):**



$R_1=R_2=H$ angélicine

$R_1=R_2=OCH_3$ pimpinelline

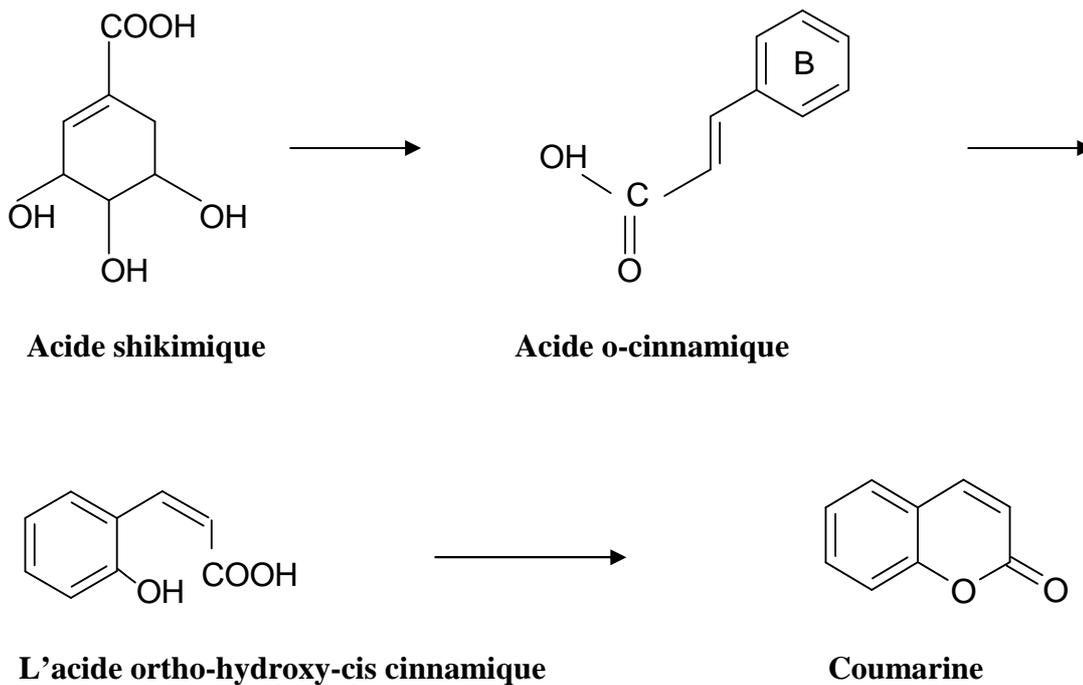
➤ **Les pyranocoumarines**



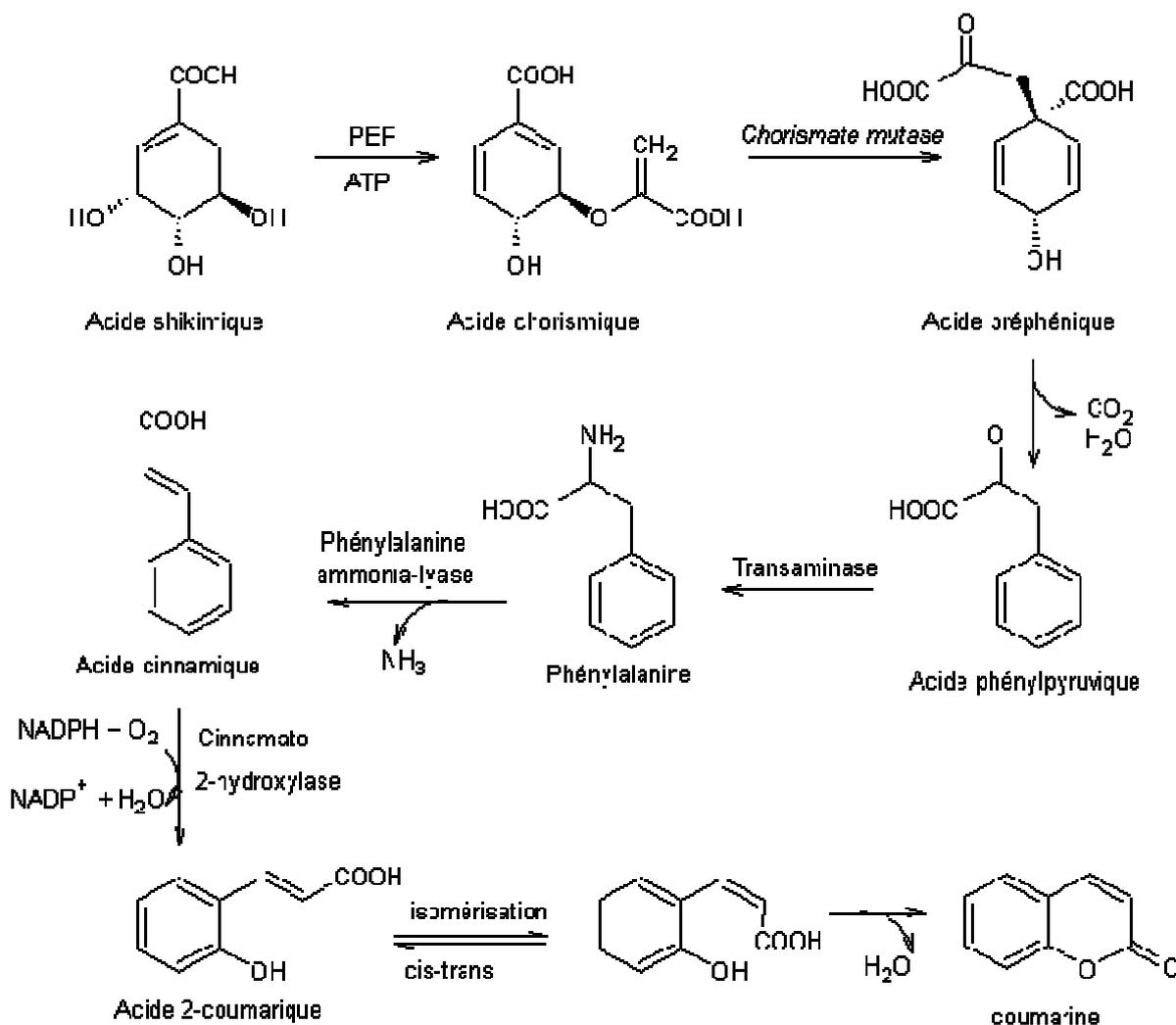
I.4. Biogénèse

Le phénylpropane (ensemble C₆-C₃) est à l'origine du noyau aromatique et de l'hétérocycle pyronique. Il se forme à partir de l'acide shikimique et de l'acide pyruvique; les intermédiaires sont la phényl-alanine, l'acide cinnamique, l'acide o-coumarique.

La cyclisation de l'acide o-coumarique aboutit directement aux coumarines.



La biosynthèse de la coumarine à partir de l'acide shikimique qui a lieu dans les végétaux supérieurs est schématisée ci-dessous :



I.5. Propriétés physico-chimiques, extraction, caractérisation et dosage

1) Propriétés physico-chimiques :

Les coumarines sont des solides cristallisés blancs ou jaunâtres de saveur généralement amère ; certaines sont sublimes.

Les hétérosides sont assez solubles dans l'eau et solubles dans l'alcool.

Les génines sont solubles dans l'alcool et les solvants organiques

-Les coumarines hydroxylées possèdent une intense fluorescence bleue en lumière ultraviolette. Leur spectre U.V est également caractéristique et sert à leur identification.

Les propriétés chimiques sont principalement dues à la fonction lactone insaturée, notamment l'ouverture de l'anneau lactonique en milieu alcalin.

Avec les sels de plomb, on obtient des combinaisons insolubles.

2) **Extraction :**

- L'extraction est faite par l'alcool ou les solvants organiques ; on peut les isoler à l'état de complexes plombiques.
- Entraînement à la vapeur d'eau.

3) **Caractérisation :**

- Les coumarines ont un spectre UV caractéristique modifié en milieu alcalin.
- En CCM la coloration des taches des coumarines est exaltée en présence d'ammoniac.

4) **Dosage :**

Le dosage des coumarines peut être réalisé par la Spectrofluorométrie, par la spectrophotométrie UV/vis et par l'HPLC.

II. Les différents types des coumarines

II.1. Les coumarines simples

II.1.1/Coumarine

Elle très répandue chez divers végétaux auquel elle communique une odeur agréable (de foin coupé) ; flouve odorante, aspérule odorante, mélilot.

Elle est extraite de la fève tonka.

- ✦ La fève tonka, *Coumarouna odorata*, *Dipteryx odorata* Willd., Fabaceae.

Cultivé en Amérique de sud, cet arbre est utilisé pour sa graine qui contient de 1 à 3 % de coumarine. Les graines, ainsi que celles d'une autre espèce de *Dipteryx*, sont utilisées pour l'aromatisation des tabacs.

La coumarine a été utilisée pour ses propriétés anti-œdémateuses, anti-inflammatoire, immunostimulante et développerait une activité cytotoxique (hépatonécrose sévère).

II.1.2/Ombelliférone :

Présente dans de nombreuses Apiaceae

Pas d'utilisation importante à signaler, peut être utilisée comme anti-inflammatoire.

II.1.3/Esculétol :

Il existe à l'état naturel sous forme d'hétéroside (esculoside).

L'esculoside est très utilisé en thérapeutique pour ses propriétés vitaminique P (augmente la résistance et diminue la perméabilité des capillaires, veinotonique et vasculoprotecteur).

Il est abondant dans :

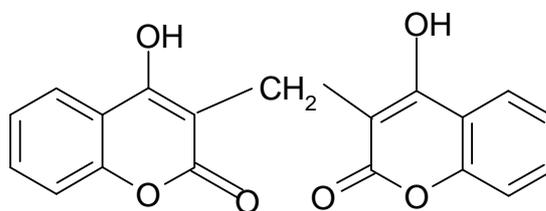
➤ MARRONNIER D'INDE, *Aesculus hippocastanum* L, Hippocastanaceae.

Les écorces du tronc contiennent des dérivés coumariniques représentés par l'esculoside et le fraxoside(2 à3 %) tandis que la graine renferme des saponosides dont le principal est l'escine.

➤ *Bursaria spinosa*. , Pittosporaceae.

C'est une plante australienne, ces feuilles renferment 5% d'esculoside et sont utilisées comme matière première pour l'extraction de cette molécule.

II.1.4/Dicoumarol :



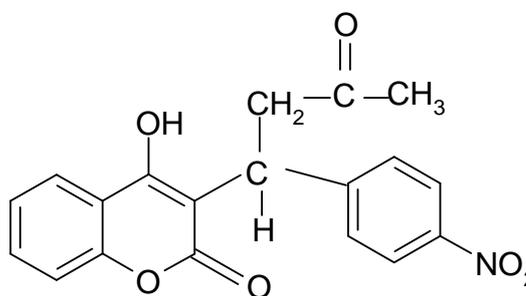
Il a été découvert dans le mélilot.

➤ MÉLILOT, *Melilotus officinalis* (L) Pallas, Fabaceae.

Les sommités fleuries contiennent un hétéroside donnant par hydrolyse la coumarine ; celle-ci, au cours d'une dessiccation mal menée, se transforme en dicoumarol.

Le dicoumarol agit par ses propriétés **antivitamines K**. Il a été préparé par synthèse [11]. Il a servi de modèle à certaines molécules (préparée par synthèse) à activité anti-vitaminiques K et à propriétés anticoagulantes.

Ex acénocoumarol SINTROM^R.



II.2. Les coumarines complexes

II.2.1/Furanocoumarines

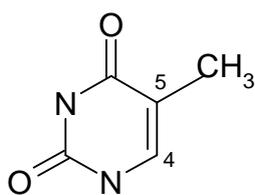
a/Propriétés pharmacologique

Les Furanocoumarines, surtout linéaires, ont des propriétés photosensibilisantes.

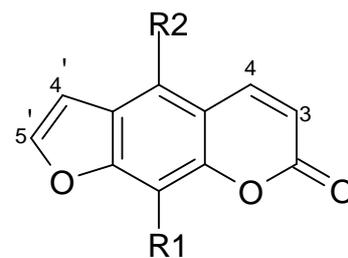
Ces propriétés sont liées à des processus photochimiques induits par les furanocoumarines en présence d'oxygène, sous l'influence du rayonnement UV solaire.

-Ces processus photochimiques entraînent l'oxydation et la polymérisation des catécholamines, conduisant à la formation de **mélanine** et donc à la pigmentation cutanée.

- Ces processus photochimiques entraînent également, malheureusement, la **formation des composés d'addition covalents** entre les furanocoumarines et les bases pyrimidiques de l'ADN (cytosine, uracile, thymine)

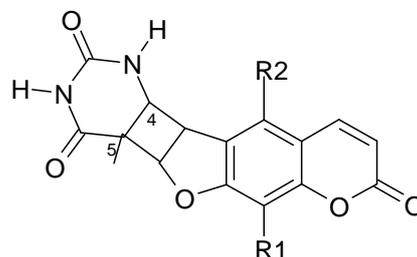
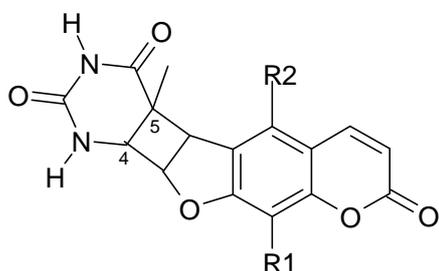


Base pyrimidique

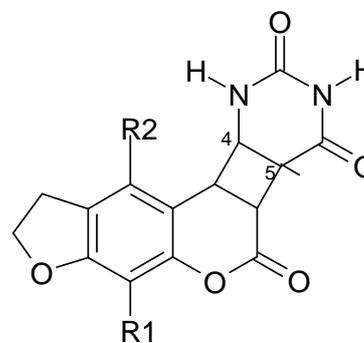
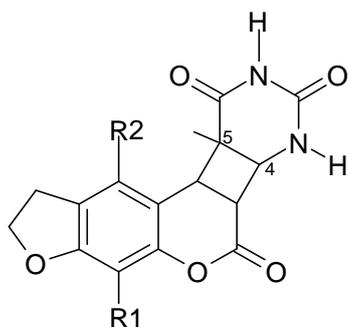


furanocoumarines

✓ photodimère avec 4'-5'

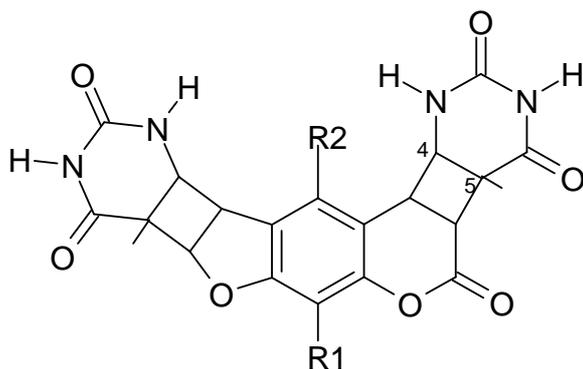


✓ Photodimère avec 3-4



En plus de ces dérivés de monoaddition peuvent se former des composés de diaddition, chacune des doubles liaisons concernées (3-4 et 4'-5') s'additionnant sur une base pyrimidique appartenant à chacune des deux chaînes de la molécule d'ADN.

✓ **Photodimère avec 3-4 et 4'-5'**

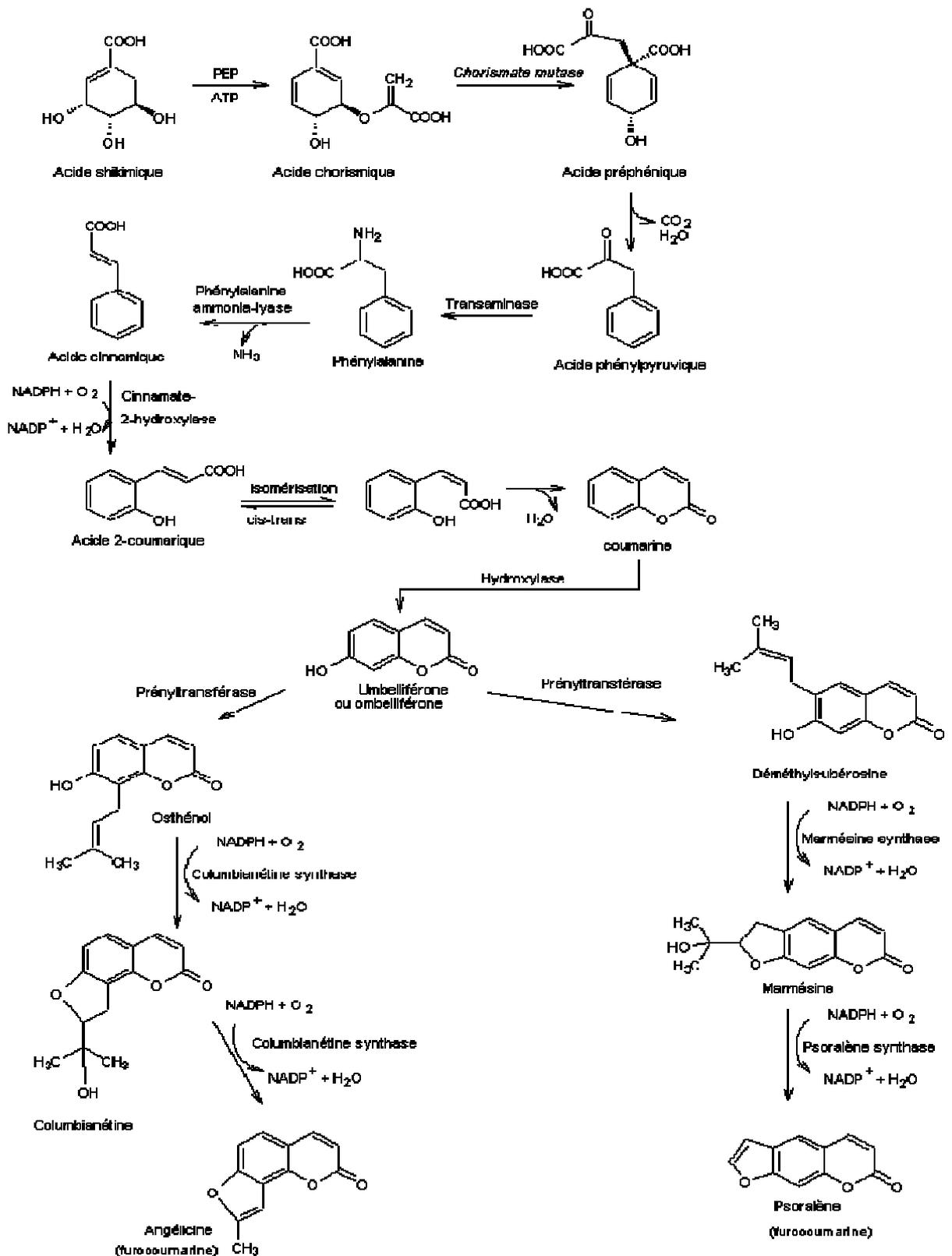


La formation de ces composés, surtout des composés de diaddition, laisse craindre une certaine action cancérogène de ces substances, surtout si elles pénètrent dans les tissus en forte concentration.

Les furanocoumarines linéaires et angulaires (angélicine) ne peuvent pas donner des dérivés de diaddition et de ce fait moins dangereux.

b/ Biosynthèse

La biosynthèse du psoralène et de l'angélicine à partir de l'acide shikimique dans les végétaux supérieurs est rappelée ci-dessous :



c/ Emplois

Les furanocoumarines sont utilisées pour ses propriétés photosensibilisantes.

c.1/ En thérapeutique

Les propriétés photodynamisantes du bergaptène et de la xanthotoxine les font utiliser en Puvathérapie (sous UV): traitement photochimiothérapique du psoriasis et d'autres affections dermatologiques et dans le traitement du vitiligo.. Cette technique consiste à administrer, en général par voie orale, la furanocoumarine (0,6 mg/kg de 8-méthoxypsoralène ou 1,2 mg/kg de 5-méthoxypsoralène), deux ou trois heures après, on procède à une exposition au rayonnement d'une lampe UV émettant dans la zone des UV longs (320-380 nm). Cependant, risques de cancérisation avérés.

c.2/ Autres applications

Produits cosmétiques :

Les produits naturels tels que l'huile essentielle de bergamote ont longtemps été utilisés comme photodynamisants dans les produits solaires (produit de brunissage).

Ils augmentent le nombre de mélanocytes et accroissent la production de mélanine par ceux-ci ; c'est à ce titre qu'ils assurent une meilleure protection contre les radiations UV.

Principales sources :

➡ BERGAMOTIER. *Citrus bergamia*, Rutaceae.

Drogue : écorce du fruit.

L'essence de Bergamote contient 5 % de bergaptène, responsable de son action photosensibilisante.

➡ ANGELIQUE OFFICINALE. *Angelica archangelica* L, Apiaceae.

Drogues : feuille, souche radicante, fruit.

L'essence des fruits renferme du bergaptène et de l'impérorine.

➡ AMMI. *Ammi majus*, Apiaceae.

Drogue : fruit.

C'est une plante d'Egypte dont le fruit contient des furocoumarines représentées par la xanthotoxine, l'impératorine et le bergaptène. Les extraits de fruits, à propriétés photosensibilisantes, sont utilisés dans le vitiligo (dyschromie cutanée).

Spécialités : ex. Meladinine^R.

2/ Pyrannocoumarines

2.1/ Propriétés pharmacologique

La visnadine a été commercialisée pour ses propriétés vasodilatatrices coronariennes et présentée comme ayant une action favorable sur les troubles de la sénescence cérébrale.

2.2/ Principale source

✚ KHELLA. *Ammi visnaga* L. Apiaceae.

Drogue : fruit.

Cette Ombellifère de la région méditerranéenne (Egypte, Maroc) est encore appelée herbe aux cure-dents, en raison de l'utilisation des rayons de l'ombelle comme cure-dents.

C'est une grande herbe annuelle à tige dressée et feuilles très découpées ; les fleurs, disposées en ombelles composées, sont de couleur blanche. A la fructification, tous les rayons de l'ombelle se redressent et se courbent. Les fruits sont des akènes ovoïdes et très petits.

Du point de vue chimique, plusieurs principes actifs, de structure différente, sont présents dans le fruit ; ce sont :

- des pyrannocoumarines : samidine et visnadine,

III. Toxicité des coumarines

La coumarine n'est pas toxique en soi, elle peut être convertie par les champignons, en une toxine le dicoumarol qui est typiquement présent dans le foin moisi ; chez le bétail, le dicoumarol provoque des hémorragies fatales en inhibant la vitamine K qui est un facteur de coagulation du sang (Schorderet, 1992 [1]; Repcak et *al.*, 2001 [2]; Khan et *al.*, 2005 [3]).

Chez l'homme la consommation des espèces végétales qui renferment des furanocoumarines linéaires ou angulaires provoque, s'il est accompagné d'une exposition à la lumière solaire,

une dermatite phototoxique d'intensité variable allant du simple érythème jusqu'à l'apparition de bulles et de vésicules au niveau des zones exposées, quelques jours après le contact, les zones touchées présentent une hyperpigmentation (Bruneton, 1999 [4]).

Les furanocoumarines linéaires peuvent être le support de cycloaddition avec les bases pyrimidiques de l'ADN ou de l'ARN, la duplication des brins est alors bloquée ainsi que la traduction des ARN. Cette propriété est souvent invoquée pour expliquer les caractères mutagènes et carcinogènes de ces molécules (Bruneton, 1999 [4]).

Synthèse des dimères de la 4-hydroxycoumarine d'activité anticoagulants

Les coumarines et leurs dérivés sont caractérisés par une excellente réactivité chimique et différentes bioactivités [5-8]. Leur potentiel biologique remarquable est la raison qui pousse les chercheurs à synthétiser de nombreux produits, convenables pour les applications de la thérapie moderne.

Un grand nombre de dérivés de synthèse ont montré une activité pharmacologique, et beaucoup d'entre eux sont appliqués en thérapie comme anticoagulants [9], agents antibactériens [10] et antifongiques [11].

L'intérêt des coumarines a récemment augmenté significativement parce qu'il a été constaté qu'elles réduisent l'activité du VIH [12, 13]. En outre, les dérivés de la coumarine ont montré une activité cytostatique et peuvent donc être considérés comme des candidats potentiels pour le traitement anticancéreux (14).

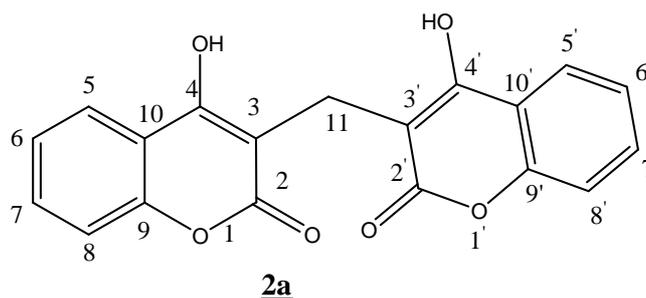
Récemment, les dérivés de la coumarine de type dimère et tétramère ont été signalés à posséder l'activité inhibitrice de l'intégrase du VIH-1. Ces faits ont exhorté les recherches à effectuer la synthèse de dérivés de la coumarine et d'étudier leur activité biologique.

I. Action du formaldéhyde sur la 4-hydroxy coumarine : synthèse du dicoumarol

Le dicoumarol **2a** est un composé organique de la famille des coumarines. Il s'agit formellement des deux molécules de 4-hydroxycoumarine **1** liées par un pont méthyle.

Il est utilisé comme raticide et comme médicament pour infarctus du myocarde (I.D.M). Il a pour origine: la fermentation du mélilot, graminées, ombellifères, aspérule odorante.

La série des anticoagulants a été inaugurée par l'héparine (F. C. Mac Lean, 1917) et par le dicoumarol (K. Link, 1941). Il s'agit du 3,3'-methylenebis-(4-hydroxy-2H-chromen-2-one



Nous avons tenté de reprendre la synthèse du dicoumarol **2a** en appliquant les techniques décrites dans la littérature [15] par action de deux molécules de 4-hydroxycoumarine **1** vis-à-vis d'une molécule de formaldéhyde au reflux de l'éthanol. Nous avons bien séparé le produit dont la structure a été confirmée par plusieurs techniques spectroscopiques.

I.1 Etude en chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélange complexes de métabolites) et aux échantillons biologiques. La phase stationnaire est constituée d'une couche mince et uniforme de 0,25mm d'épaisseur, d'une substance séchée et finement pulvérisée, appliquée sur un support approprié ; dans notre cas, nous avons utilisé des plaques de gel de silice 60 F254 (phase normale) prêtent à l'emploi à support en aluminium, La phase mobile ou éluant (généralement un mélange binaire ou ternaire de solvant) migre à la surface de la plaque par capillarité.

La CCM n'est pas suffisante pour identifier un produit mais elle apporte des renseignements susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structures, Par exemple: fluorescence, coloration, Rapport frontal (Rf).

L'étude en chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée dans un éluant constitué d'un mélange de solvants chloroforme-méthanol (2ml/13 gouttes). Nous avons obtenus une seule tache différente de celle du produit de départ dont le Rf obtenu est donnée par la relation suivante :

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

$$R_f = 0.71$$

I.2 Etude en spectroscopie RMN du proton ^1H

Dans cette partie tous les spectres RMN du ^1H sont réalisés dans un appareil spectromètre Bruker Avance 300, proton : « 300.13 MHz, en utilisant le DMSO comme solvant et le TMS comme référence interne. Les valeurs des déplacements chimiques sont exprimées en ppm par rapport au signal du TMS.

➤ Estimation théorique

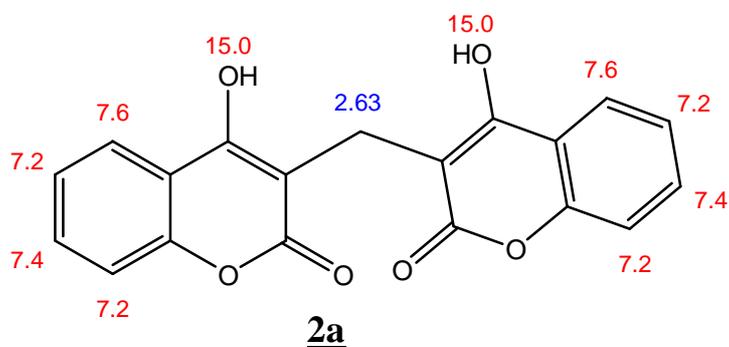


Schéma 1

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau I-I-1 suivant :

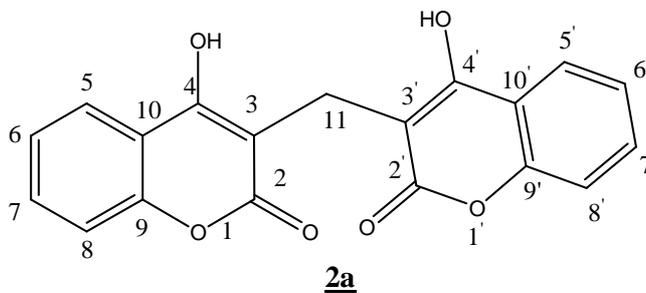


Tableau I-I-1 Résultats du spectre RMN ^1H du composé dicoumarol 2a

| δ théorique (ppm) | δ expérimentale (ppm) | multiplicité | Attribution |
|--------------------------|---|--------------|----------------------|
| 2,63 | 3,78 | S (2H) | CH ₂ (11) |
| 7,2 | 7,31 | t (1H) | CH (6) |
| 7,2 | 7,35 | d (1H) | CH (8) |
| 7,4 | 7,57 | t (1H) | CH (7) |
| 7,6 | 7,90 | d (1H) | CH (5) |
| 15,0 | Dispersé dans le pic de l'eau du DMSO à 4 ppm | Large | OH (4) |

Le dicoumarol est une molécule symétrique, le spectre RMN montre les pics d'une seule partie de la molécule.

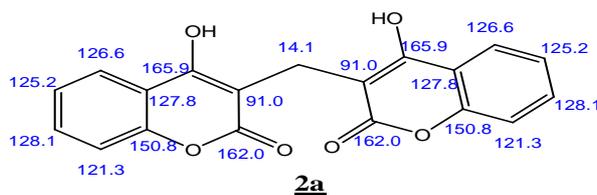
De même, l'apparition du pic à 3.78 ppm correspondant à CH₂ (11) confirme l'existence du groupe méthylène.

I.3 Etude en spectroscopie RMN ^{13}C

Les spectres RMN ^{13}C sont réalisés dans un appareil spectromètre Bruker Avance 300, carbone : 75.47 MHz, en utilisant le DMSO comme solvant et le TMS comme référence interne. Les valeurs des déplacements chimiques sont exprimées en ppm par rapport au signal du TMS.

L'apparition du pic à $\delta = 19,41$ ppm correspondant au carbone en position 11 confirme amplement l'existence du groupe méthylène qui relie les deux noyaux coumariniques.

➤ Estimation théorique



Dans le tableau I-I-2, sont rapportés les résultats obtenus :

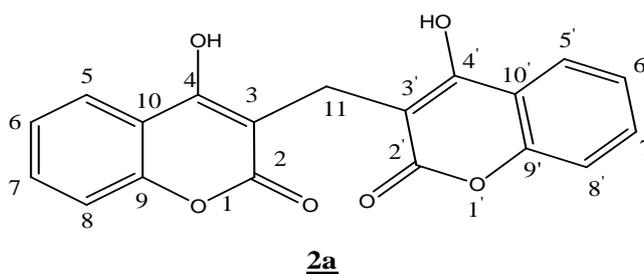


Tableau I-I-2 Résultats du spectre RMN ¹³C du composé dicoumarol 2a

| δ Théorique (ppm) | δ expérimentale (ppm) | Attribution |
|--------------------------|------------------------------|-----------------|
| 14,1 | 19,41 | C (11) |
| 91,0 | 102,28 | C (3)-C (3') |
| 121,3 | 116,00 | C (8)- C (8') |
| 125,2 | 117,08 | C (6)- C (6') |
| 126,86 | 123,44 | C (5)- C (5') |
| 127,8 | 123,78 | C (10)- C (10') |
| 128,1 | 131,62 | C (7)- C (7') |
| 150,8 | 151,96 | C (9)- C (9') |
| 162,0 | 162,89 | C (2)- C (2') |
| 165,9 | 163,64 | C (4)- C (4') |

I.4 Etude en spectroscopie UV/visible

La spectrophotométrie UV-visible est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution.

Principe :

Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité I de la lumière transmise est donc inférieure à I_0 . On définit l'absorbance de la solution comme :

$$A = \log \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

On parle aussi de transmittance définie par la relation :

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \text{C'est-à-dire que} \quad A = -\log T.$$

L'absorbance est une valeur positive, sans unité. Elle est d'autant plus grande que l'intensité transmise est faible.

La relation de Beer-Lambert décrit que, à une longueur d'onde λ donnée, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à sa concentration, et à la longueur du trajet optique (distance sur laquelle la lumière traverse la solution).

Alors, pour une solution limpide contenant une seule substance absorbante :

$$A_\lambda = \epsilon_\lambda l c$$

- A_λ est l'absorbance ou la densité optique (sans unité) de la solution pour une longueur d'onde λ ;
- c (en mol.m^{-3}) est la concentration de la substance absorbante ;
- l (en m) est la longueur du trajet optique ;

- ϵ_{λ} (en $\text{mol}^{-1} \cdot \text{m}^2$) est le coefficient d'extinction molaire de la substance absorbante en solution. Il rend compte de la capacité de cette substance à absorber la lumière, à la longueur d'onde λ .

Coefficient d'extinction ϵ (ou absorption molaire)

Il relie la quantité de lumière absorbée, pour une longueur d'onde donnée à la concentration du fluorophore en solution ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$). Cette valeur est comprise entre 5000 et 250000 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$.

Dans de nombreux cas, l'absorbance suit la loi de Beer-Lambert :

Dans le cas de notre produit le spectre UV/visible est réalisé dans l'acétate d'éthyle. Les concentrations étaient de 10^{-5}M et 10^{-4}M .

Nous observons une longueur d'onde à $\lambda=309 \text{ nm}$ (fig.1a-b)

Figure I.I.1.a : Spectre UV/vis du composé 2a dans l'acétate d'éthyle à 10^{-5}M

$$\epsilon = 37500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}.$$

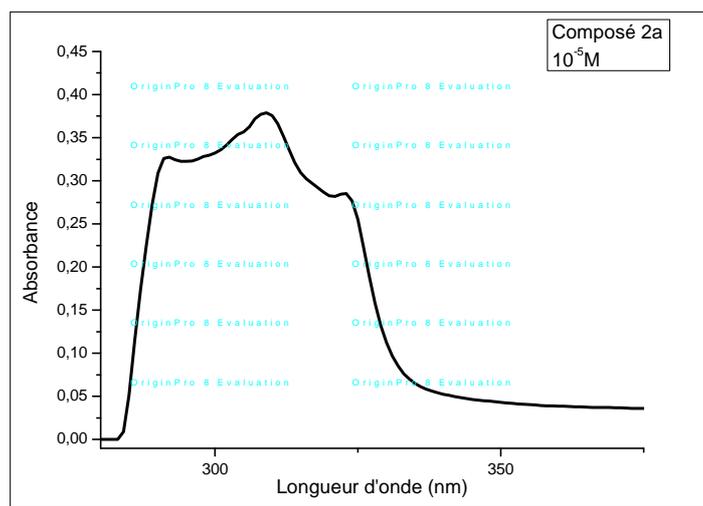
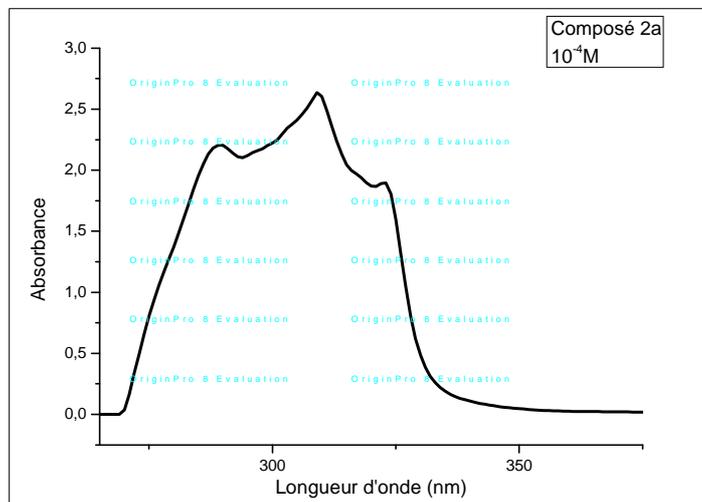


Figure I.I.1.b: Spectre UV/vis du composé 2a dans l'acétate d'éthyle à 10^{-4} M
 $\epsilon = 29000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.



I.5 Etude en spectroscopie Infra Rouge IR

Les bandes principales enregistrées :

IR (KBr, Cm^{-1}): 3490 (OH), 3000, 2750 (C-H aliphatique), 1650 ($-\text{C}=\text{O}$), 1500, 1400 (C=C-aromatiques), 1100 déformation vibrationnel (OH).

Le spectre IR est réalisé dans le KBr spectroscopique en pastille. La bande principale obtenue est à $\nu = 3490 \text{ Cm}^{-1}$ attribuable à C-OH (4). Cette bande est large ce qui implique que OH est engagé dans une liaison hydrogène, cela signifie que le dicoumarol est stable sous la structure ci-dessous à l'état solide :

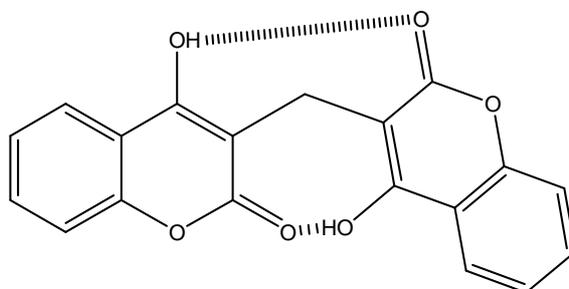
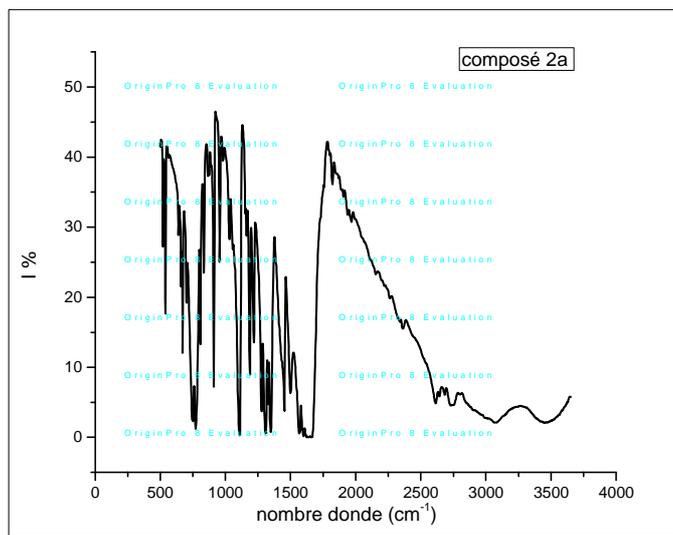


Figure I.I.2 : Spectre IR du composé 2a

I.6 Propriété pharmacologique du dicoumarol

Le dicoumarol a les propriétés pharmacologiques suivantes :

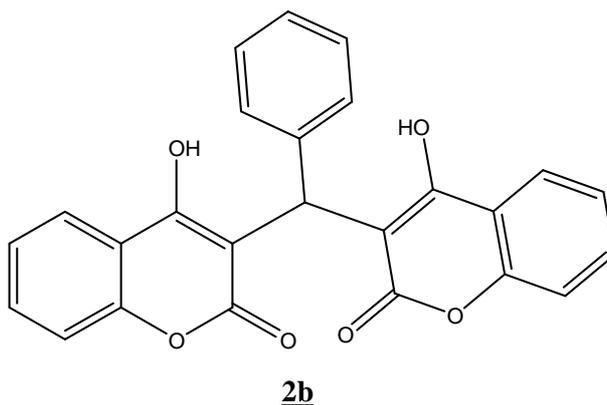
Une action anticoagulante indirecte liée à la baisse de la synthèse hépatique de facteur coagulation dépendant.

Le dicoumarol absorbe, circule et se lie à l'albumine (donc inactif) ce qui explique l'action prolongé du dicoumarol après arrêt du traitement et la difficulté de l'adaptation des doses

Le dicoumarol bénéficie d'une forte absorption digestive, d'un transport sanguin avec une forte fixation protéique, puis d'un métabolisme hépatique. Ces particularités sont responsables de nombreuses interactions médicamenteuses et alimentaires.

II. Action du benzaldéhyde sur la 4-hydroxycoumarine

L'action de deux molécules de 4-hydroxycoumarine 1 vis-à-vis du benzaldéhyde dans les mêmes conditions que celles appliquées pour la synthèse du dicoumarol a conduit à un dimère symétrique dérivé du dicoumarol, il s'agit du : 3,3'-benzylidène-bis-(4-hydroxy-2H-chromen-2-one) 2b :



La structure de ce dernier a été confirmée par les différentes techniques spectroscopiques suivantes :

II.1 Etude en chromatographie sur couche mince

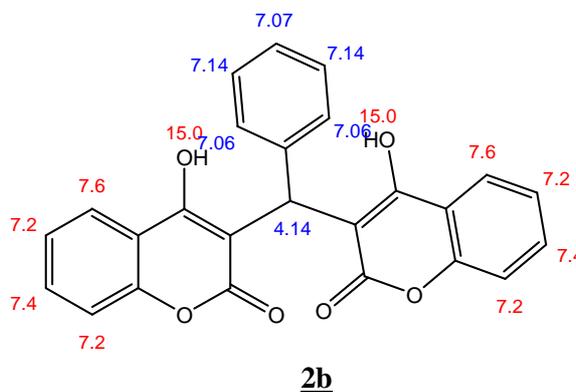
L'étude en chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée dans un éluant constitué d'un mélange de solvants chloroforme-méthanol (2ml/ 13 gouttes). Nous avons obtenus une seule tache différente de celle du produit de départ.

Rf=1

II.2 Etude en spectroscopie RMN du proton ^1H

Le spectre RMN du proton est réalisé dans le CDCl_3 comme solvant et le TMS comme référence interne. Ce dernier a confirmé la structure par apparition des pics caractéristiques de cette molécule. Les valeurs des déplacements chimiques et leurs attributions sont données dans le tableau suivant :

Estimation théorique :



Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau **I-II-1** suivant :

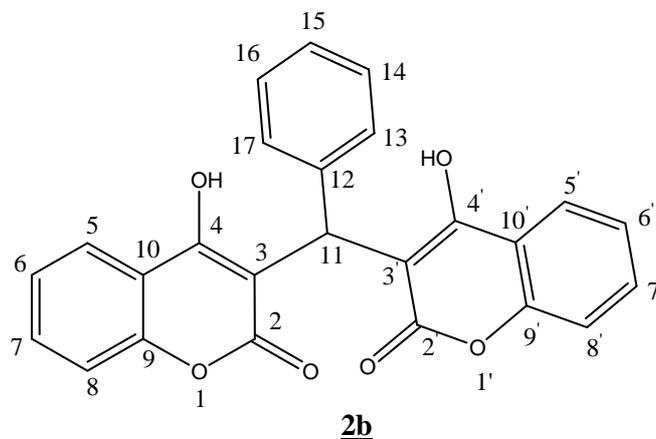


Tableau I-II-1 Résultats du spectre RMN ^1H du composé 2b

| δ théorique (ppm) | δ expérimental (ppm) | multiplicité | Attribution |
|--------------------------|-----------------------------|--------------|----------------------|
| 4,14 | 6,09 | S (1H) | CH ₂ (11) |
| 7,06 | 7,20 | d | CH (13), C (17) |
| 7,07 | 7,23 | t | CH (15) |
| 7,14 | 7,35 | t | CH (14), C (16) |
| 7,20 | 7,59 | t | CH (6), C (6') |
| 7,20 | 7,64 | d | CH (8), C (8') |
| 7,40 | 7,61 | t | CH (7), C (7') |
| 7,60 | 8,01 | d | CH (5), C (5') |
| 15,00 | 11,30 | Large | OH (4) |
| 15,00 | 11,52 | Large | OH (4') |

L'intégration entre 7,20 ppm et 8,01 ppm donne 13 protons (domaine des H aromatiques) ce qui est compatible avec le nombre de protons aromatiques de notre molécule.

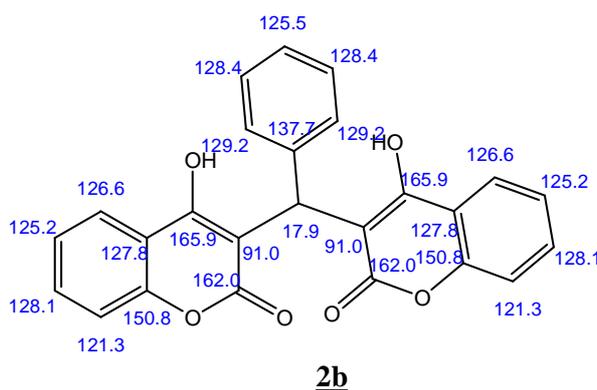
De même l'apparition du pic à 6,09 ppm confirme aussi l'existence de CH (11).

Dans le domaine des champs faibles nous observons deux pics larges à 11,30 ppm et à 11,52 ppm attribuables aux deux groupements OH en positions 4 et 4' cela signifie que les deux noyaux coumariniques ne sont pas dans un même plan.

II.3 Etude en spectroscopie RMN ^{13}C

Le spectre RMN du carbone-13 est réalisé dans le CDCl_3 comme solvant et le TMS comme référence interne. Le nombre de pics qui apparaissent sur le spectre correspond au nombre de d'atomes de carbone de la molécule ce qui confirme sa formule brute.

Estimation théorique :



Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau suivant :

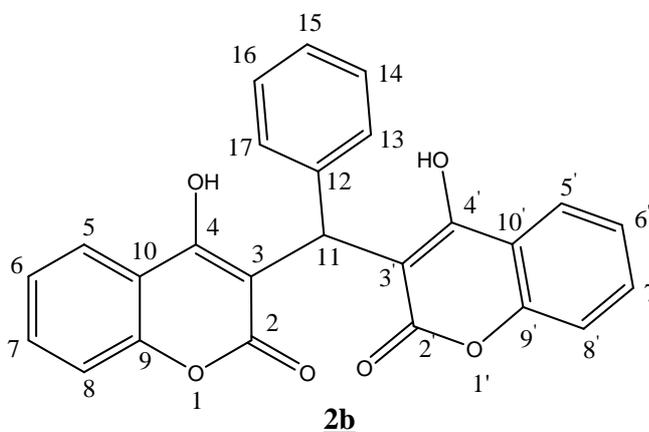


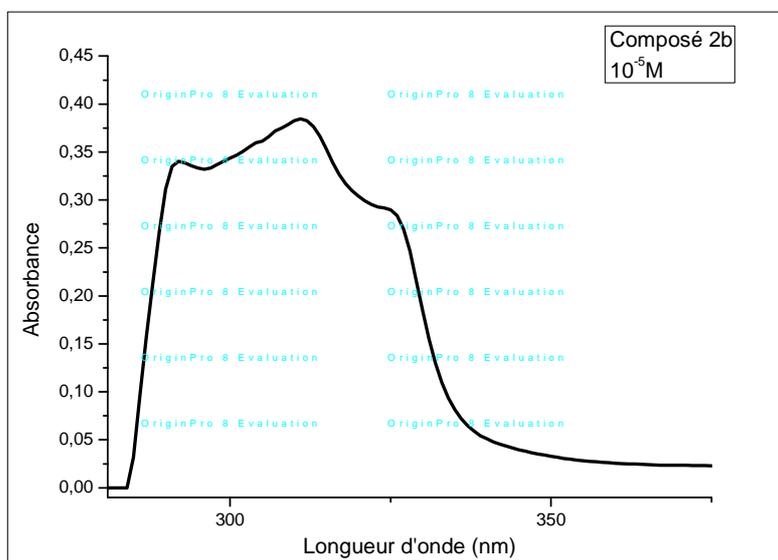
Tableau I-II-2 Résultats du spectre RMN ^{13}C du composé 2b

| δ théorique (ppm) | δ expérimental (ppm) | Attribution |
|--------------------------|-----------------------------|----------------|
| 17,9 | 36,09 | C (11) |
| 91,0 | 103,81 | C (3)-C (3') |
| 121,3 | 116,57 | C (8)-C (8') |
| 125,2 | 124,31 | C (6)-C (6') |
| 125,5 | 124,82 | C (15) |
| 126,6 | 126,40 | C (5)-C (5') |
| 127,8 | 126,80 | C (10)-C (10') |
| 128,1 | 128,56 | C(7)-C (7') |
| 128,4 | 132,80 | C (16)-C (14) |
| 129,2 | 135,11 | C (13)-C(17) |
| 137,7 | 152,41 | C (12) |
| 150,8 | 164,53 | C (9)-C (9') |
| 162,0 | 165,71 | C (2)-C (2') |
| 165,9 | 169,22 | C (4)-C (4') |

II.4 Etude en spectroscopie UV/visible

Nous observons une longueur d'onde à $\lambda=311$ nm (figure 2) caractéristique de la fonction énoI en position 4.

Figure I.II.1 : Spectre UV/vis du composé 2b dans l'acétate d'éthyle à 10^{-5} M
 $\epsilon = 37500 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$



II.5 Etude en spectroscopie Infra Rouge IR

Les bandes principales enregistrées :

IR (KBr, Cm^{-1}): 3500 (OH), 3080, 2850 (C-H aliphatique), 1640 ($-\text{C}=\text{O}$), 1610, 1500 (C=C-aromatiques), 1199 déformation vibrationnel (OH).

La bande correspondant à OH en position 4 est obtenue à $\nu = 3500 \text{ Cm}^{-1}$ sous forme d'une bande large cela signifie que OH est engagée dans une liaison hydrogène. La structure

de la molécule se trouve donc à l'état solide sous la forme ci-dessous :

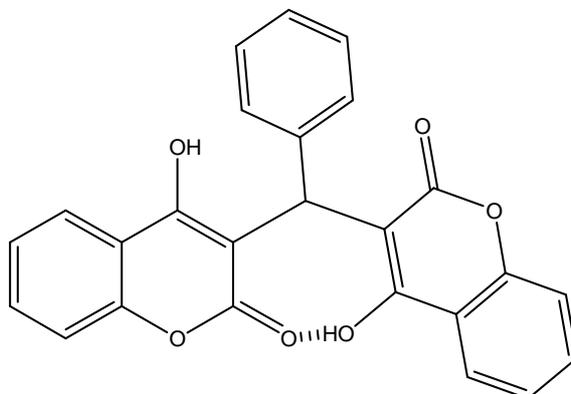
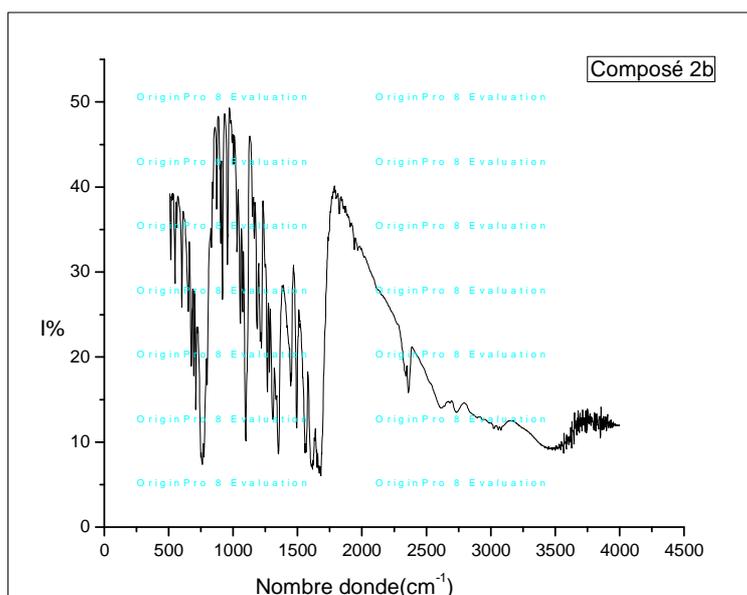


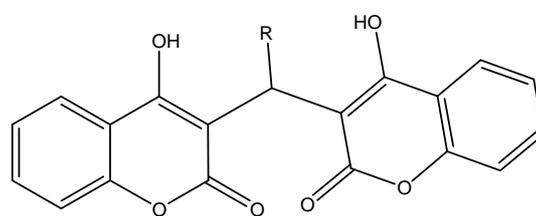
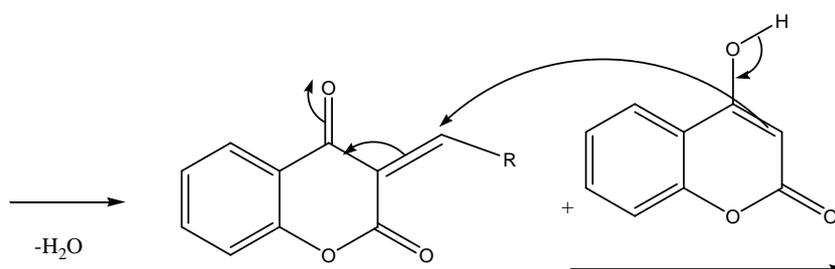
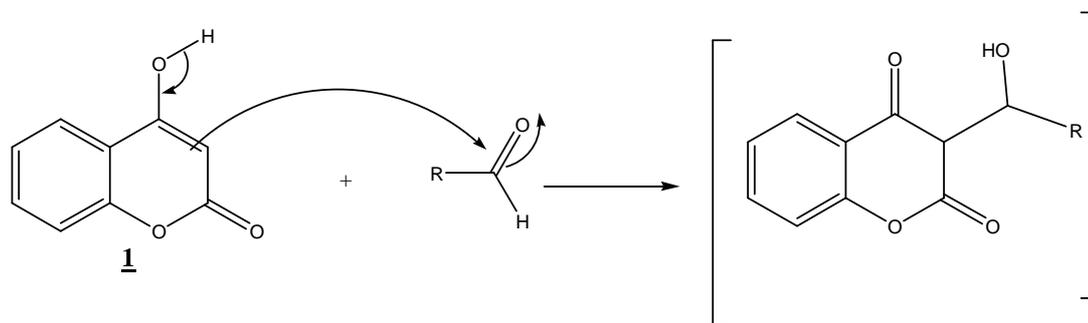
Figure I.II.2 : spectre IR du composé 2b



Mécanisme de la réaction :

La synthèse a été effectuée à partir du 4-hydroxycoumarine 1 et divers aldéhydes. La première étape de la synthèse est une condensation aldolique, suivie par la déshydratation, ce qui a entraîné la création d'une chromone stable. Dans la dernière étape, la chromone conjuguée en présence de la deuxième molécule de la 4-hydroxycoumarine, donne des

dimères de type 3,3'-(méthylène) bis (4-hydroxycoumarine) **2a** et 3,3'-(benzylidene)bis(4-hydroxycoumarine) **2b**.

**2a-b****2a: R= H****2b: R= C₆H₅**

Conclusion :

Dans cette partie le but que nous nous étions fixé est de maîtriser la synthèse du dicoumarol et un de ses dérivés a été atteint.

Les points de fusion et les méthodes d'analyses confirment amplement la pureté et la structure de nos produits.

PARTIE EXPERIMENTALE

I/ Appareillage

Pour cette partie, les points de fusion sont déterminés par un appareil banc à tube capillaire de marque SPM11. Les spectres RMN ^1H et ^{13}C sont réalisés à l'aide d'un spectromètre BRUKER Avance 300, carbone : 75.47 MHz et proton : 300.13 MHz, dans le DMSO- d_6 comme solvants et le TMS comme référence interne. Les valeurs des déplacements chimiques sont exprimées en ppm par rapport au signal du TMS.

Les mesures en spectrophotométrie UV-visible sont réalisées à température ambiante du laboratoire. Les mesures d'absorbance ont été enregistrées sur un appareil de marque SHIMADZU de type UV-1601PC, dans des cellules en quartz suprasil Hellma. L'estimation sur les erreurs expérimentales est de 2 nm sur le maximum des bandes et 5 % pour les coefficients d'extinction molaire.

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

II/ Matériels

Pour la synthèse, l'éthanol utilisé est celui de SIGMA ALDRICH. La 4-hydroxycoumarine utilisée apporté par FLUKA.

L'acétate d'éthyle utilisé pour l'absorbance en UV/Visible est apporté de RIEDEL-DE HAËN de degré de pureté 99.5%.

III/ Manipulation

Action du formaldéhyde/ou du benzaldéhyde sur la 4-hydroxy coumarine:

Dans un ballon de 250 ml, on introduit 2,5 g (0,020 mole) de 4-hydroxy coumarine et 25 ml d'éthanol puis on additionne 0,01 mole d'aldéhyde formique/ ou du benzaldéhyde.

A froid la 4-hydroxy coumarine est soluble dans l'éthanol. On met au reflux et il se forme un précipité blanc à chaud juste 10 mn après le début de la réaction. On laisse la réaction au reflux en maintenant l'agitation pendant 2 heures ensuite on filtre à chaud. Le produit est lavé avec de l'éthanol chaud, on récupère un produit blanc qui n'a pas nécessité la recristallisation.

La pureté a été contrôlée par la chromatographie sur couche mince (CCM) qui donne une seule tache différente de celle du produit de départ.

IV/ Chromatographie sur couche mince

Les conditions de réalisation de la CCM :

1°) Les substances pures ont été dissoutes dans le chloroforme.

A remarquer que les dérivés coumariniques donnent des solutions incolores.

2°) Les plaques CCM utilisées sont à base de gel de silice sur des plaques d'aluminium

3°) Révélateur :

Nous avons appliqué un révélateur constitué de :

- 5g de K_2CO_3
- 0.75g de $KMnO_4$
- 75 ml d'eau
- 0.63 ml de NAOH 10%

4°) Solvants :

L'éluant est constitué d'un mélange de deux solvants de polarités différentes, les quantités et les résultats obtenus sont exprimés dans le Tableau I-III-1.

Tableau I-III-1. Résultats de la CCM des composés 2a et 2b

| Composé | Eluant (chloroforme /methanol) | Rf |
|----------------|---|-----------|
| 2a | 2 ml/13gouttes | 0,71 |
| 2b | 2 ml/13gouttes | 1 |

V/ Résultats spectroscopiques

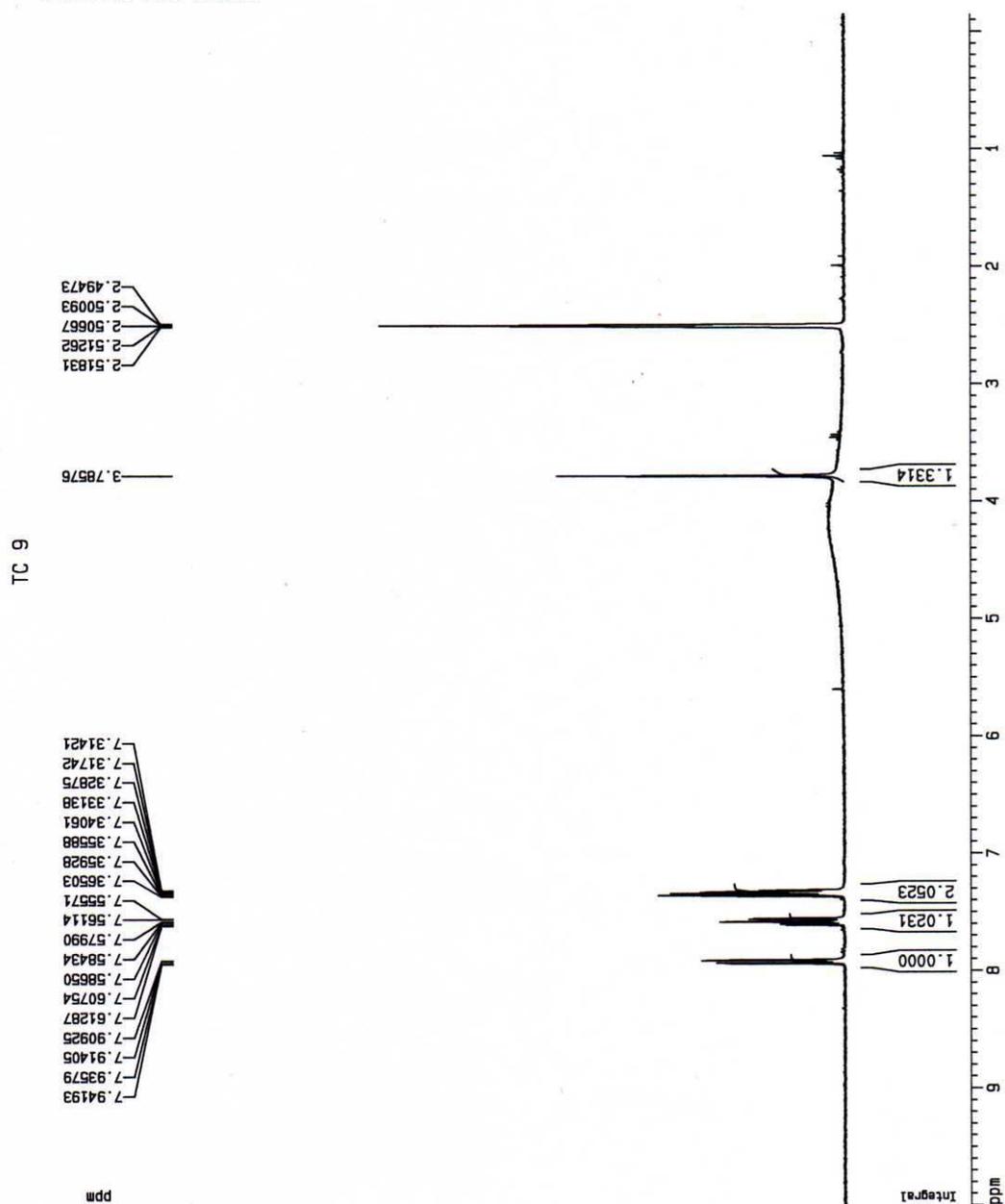
3,3'-(méthylène) bis (4-hydroxycoumarine) 2a

Ce composé est obtenu sous forme d'une poudre blanche, $P_f=292^\circ\text{C}$; Rendement = 52% ($m=1.54\text{g}$); RMN ^1H (DMSO- D_6): δ (ppm) : 3.78 (s, 2H, CH_2), 7.31 (d, 1H, H-8), 7.35 (t, 1H, H-6), 7.57 (t, 1H, H-7), 7.90 (d, 1H, H-5), dispersé dans le DMSO (S large, 1H, OH, enol); RMN ^{13}C (DMSO- D_6): δ (ppm) : 19.41($\text{CH}_2(11)$), 102.28 (C-3, C-3'), 116.00 (C-8, C-8'), 117.08 (C-6, C-6'), 123.44 (C-5, C-5'), 123.78 (C-10, C-10'), 131.62 (C-7, C-7'), 151.96 (C-9, C-9'), 162.89 (C-2, C-2'), 163.64 (C-4, C-4'), IR ν (cm^{-1}): 3490 (OH), 3000, 2750 (C-H aliphatique), 1650 ($-\text{C}=\text{O}$), 1500, 1400 (C=C- aromatiques), 1100 déformation vibrationnel (OH phénolique); UV-vis: $\lambda_{\text{abs}}=309\text{nm}$

3,3'-(benzylidene)bis(4-hydroxycoumarine) 2b

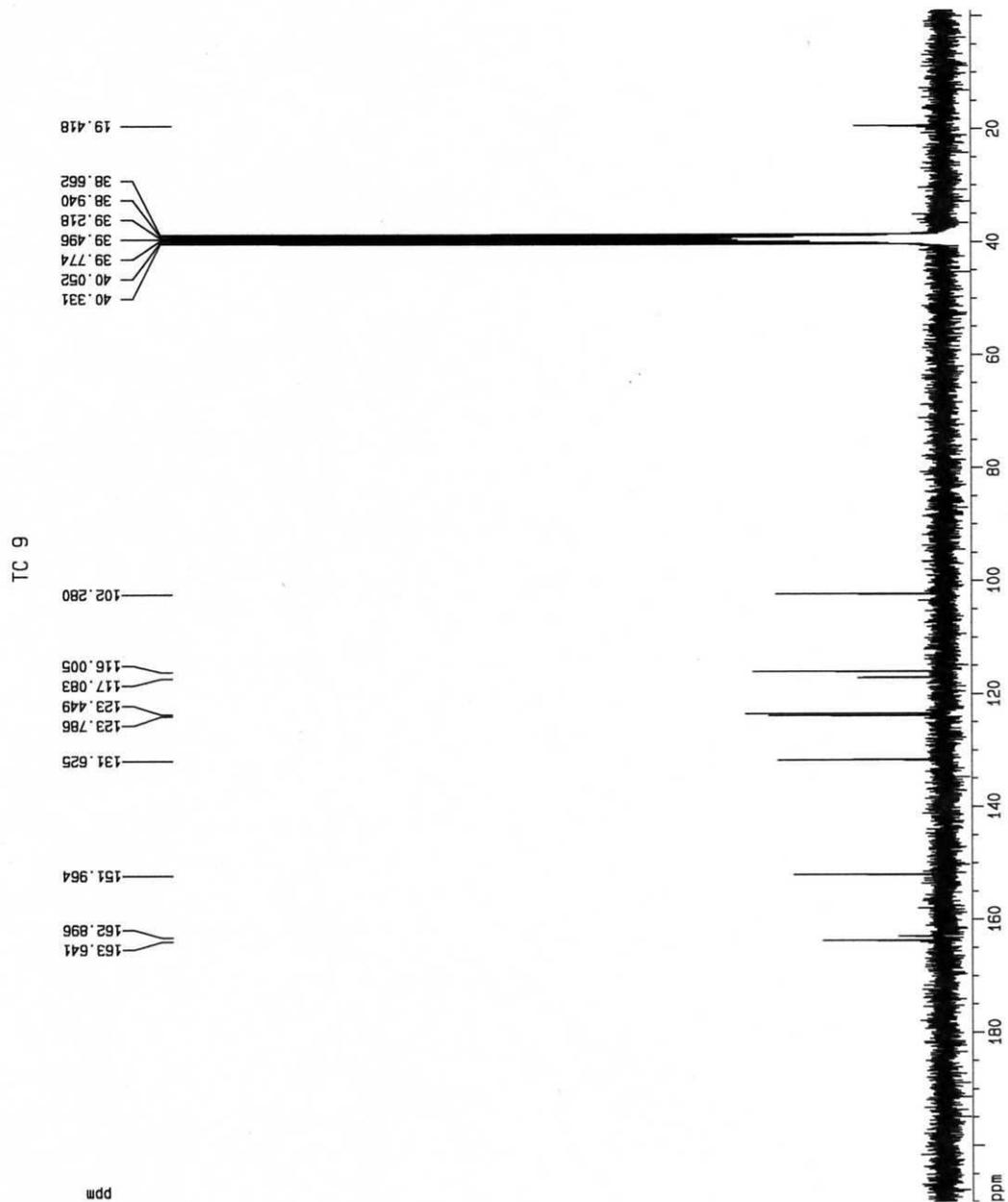
Ce composé est obtenu sous forme de poudre blanche, $P_f=233^\circ\text{C}$; Rendement= 54% ($m=2.05\text{g}$); RMN ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 4.85 (s, 2H, CH_2), 7.20 (d, 1H, H-13, H-17), 7.23 (t, 1H, H-15), 7.35 (t, 1H, H-5), 7.59 (t, 1H, H-6, H-6'), 7.64 (d, 1H, H-8, H-8'), 7.61 (t, 1H, H-7, H-7), 8.01 (d, 1H, H-5, H-5'), 15.30 (S large, 1H, OH-4), 15.52 (S large, 1H, OH-4'); RMN ^{13}C (CDCl_3): δ (ppm) 36.09 (C-11), 103.81(C-3,C-3'), 116.57 (C-8,C-8'), 124.31 (C-6,C-6'), 124.82 (C-15), 126.40 (C-5,C-5'), 126.80(C-10,C-10'), 128.56 (C-7,C-7'), 132.80 (C-14,C-16), 135.11 (C-13-C-17), 152.41 (C-12), 164.53(C-9C-9'), 165.71 (C-2C-2'), 169.22 (C-4C-4); IR (KBr, Cm^{-1}): 3500 (OH), 3080, 2850 (C-H aliphatique), 1640 ($-\text{C}=\text{O}$), 1610, 1500 (C=C- aromatiques), 1199 déformation vibrationnel (OH); UV-vis: $\lambda_{\text{abs}}=311\text{nm}$

Current Data Parameters
NAME q2012-26
EXPNO 95
PROCNO 1
Date_ 20120316
RG 1149.4
NUC1 1H
SFO1 300.1320000 MHz

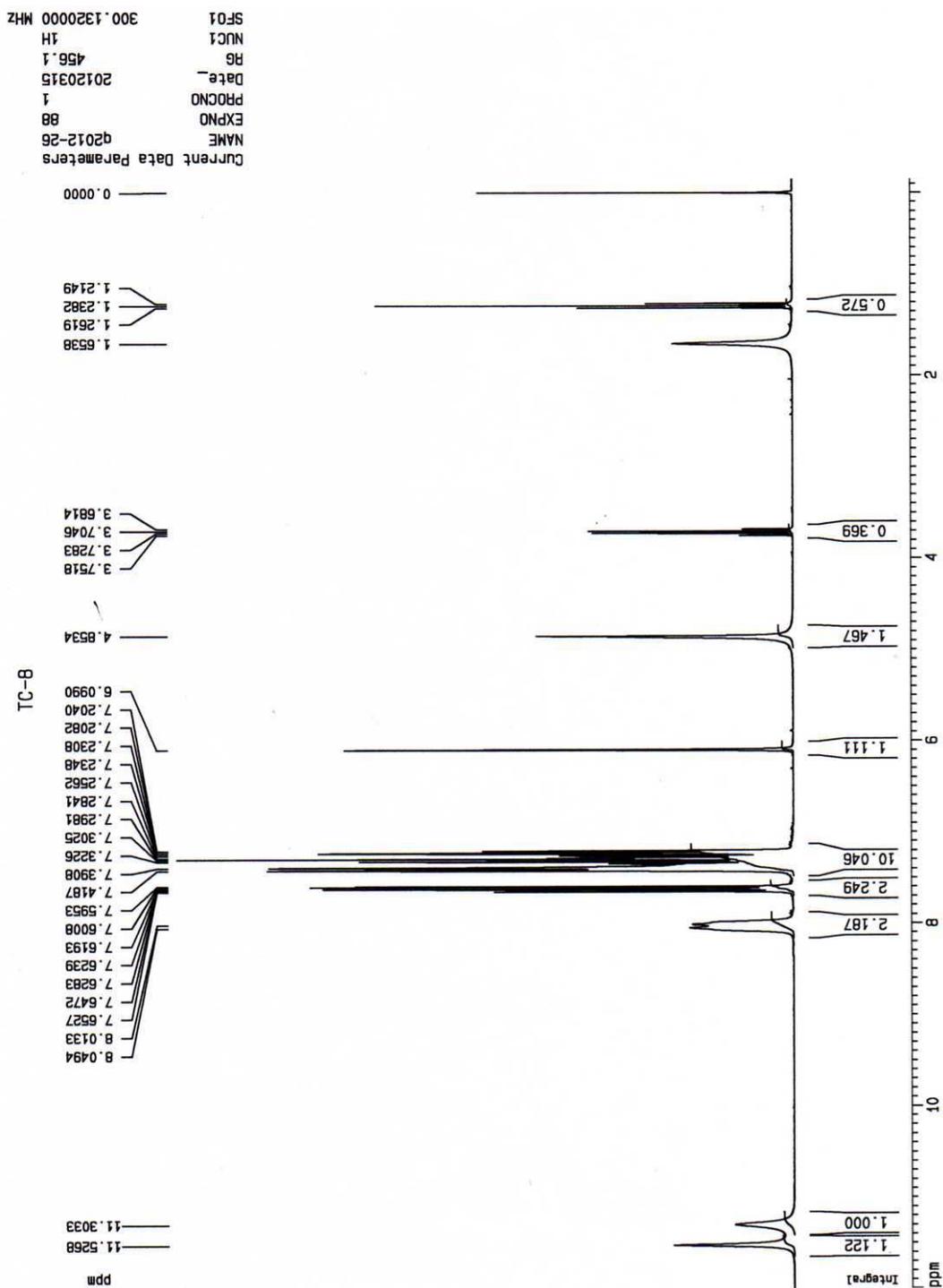


Spectre RMN ^1H à 300.13 MHz du composé 2a

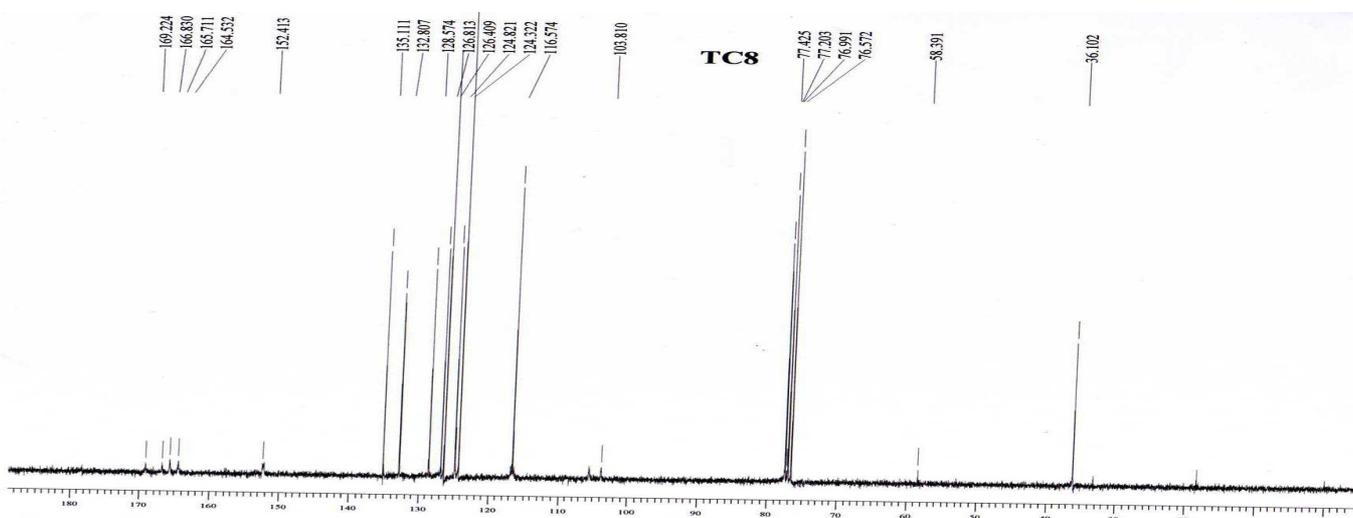
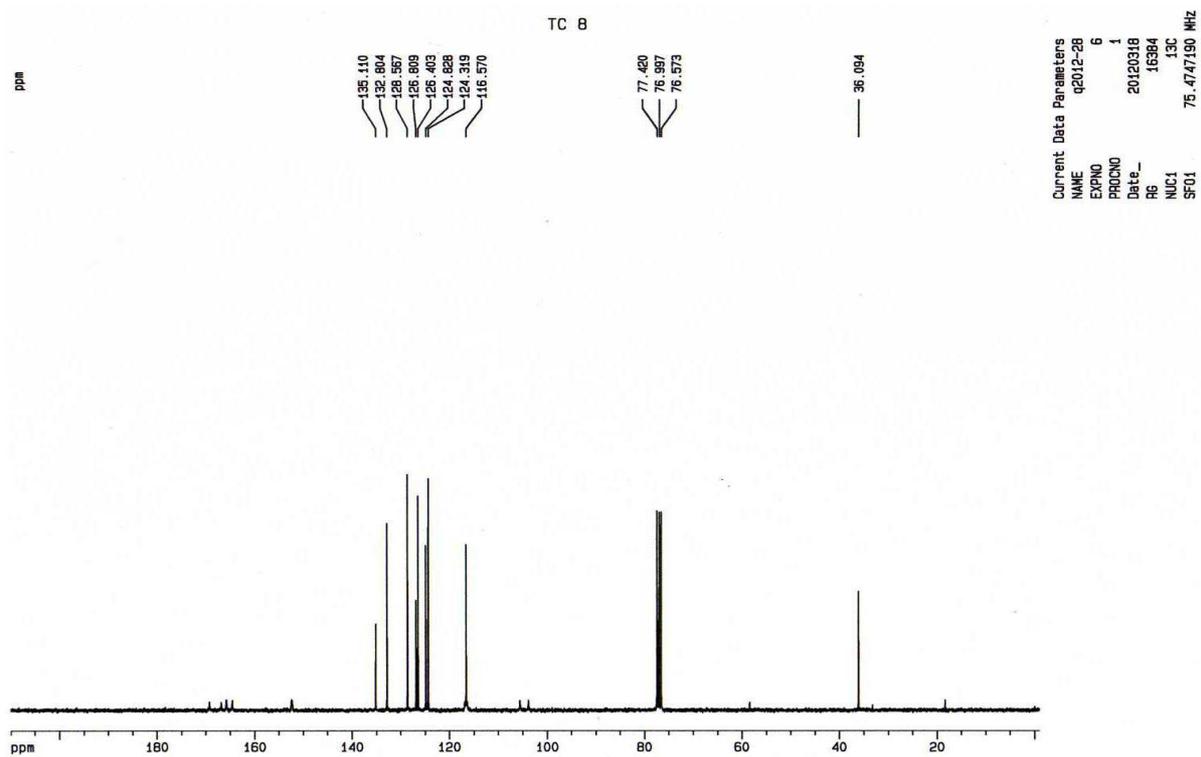
Current Data Parameters
NAME q2012-28
EXPNO 9
PROCNO 1
Date_ 20120318
RG 16384
NUC1 13C
SF01 75.4747190 MHz



Spectre RMN ^{13}C à 75.47 MHz du composé 2a



Spectre RMN ¹H à 300.13 MHz du composé 2b

Spectre RMN ^{13}C à 75.47 MHz du composé 2b

Synthèse de coumarines par action des aldéhydes aromatiques 2-hydroxylés sur la 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone

Les coumarines occupent une importante classe des produits naturels et synthétiques qui manifestent des propriétés variées. Elles ont une activité comme drogues et elles sont utilisées comme marqueurs fluorescents en biochimie. Les coumarines sont souvent utilisées comme intermédiaires dans la synthèse organique [16,17]. Dans notre travail, nous avons repris les réactions de 4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one (TAL) **3** avec quatre aldéhydes aromatiques.

A notre connaissance P. de March et al [18-22] ont été les premiers auteurs à décrire la réaction de translactonisation intramoléculaire qui a lieu en traitant la 4-hydroxy coumarine **1** ou la 4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one (acide triacétique lactone TAL) **3** par un équivalent de 2-hydroxy benzaldéhyde. Ils ont montré que la réaction a lieu au reflux de l'éthanol et en absence de catalyseur. Plus récemment R. P. Hsung et Coll [23] ont décrit la même réaction en utilisant l'éthanol, l'acétate d'éthyle ou l'acétonitrile comme solvants en présence de l'acétate de pipéridinium. Dans ces deux différents travaux le même produit intermédiaire **B**, non isolé est suggéré pour expliquer la formation du produit final de la réaction (schéma1). D'autre part nous avons relevé dans la littérature [24, 25] que la réaction de la TAL avec les aldéhydes aromatiques 2-hydroxylés en présence de la triéthylamine avec le toluène comme solvant conduit au mêmes composés. Dans tous les cas ces réactions sont menées soit au reflux du solvant soit à basse température pendant plusieurs heures.

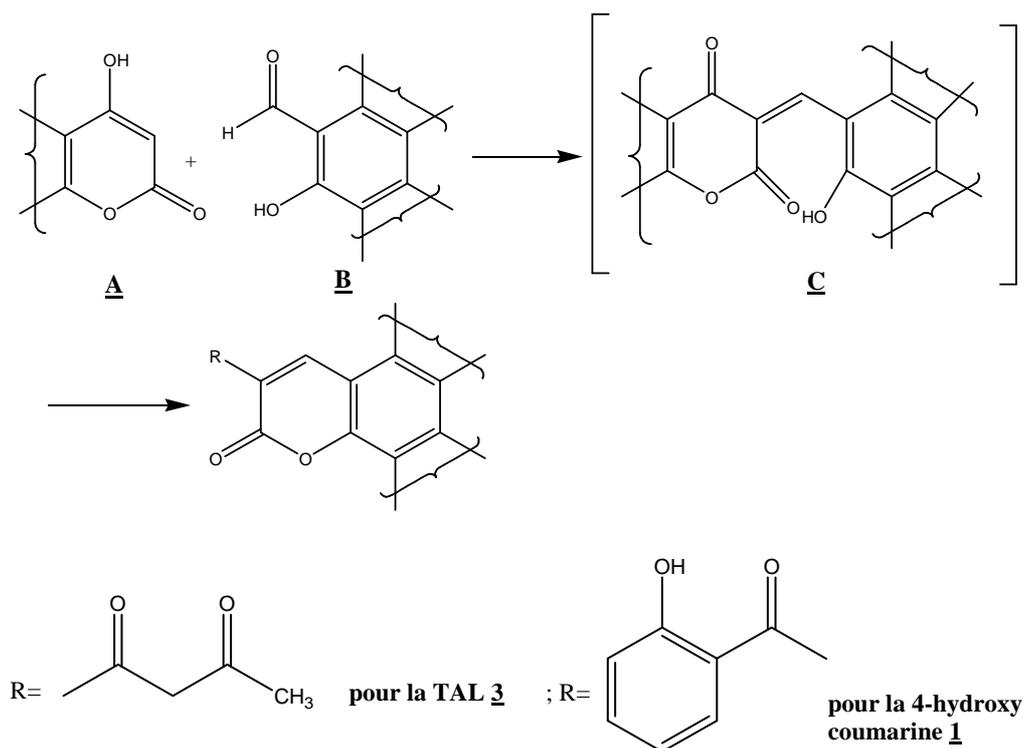


Schéma 1

Nous nous sommes alors proposés de reprendre ces réactions dans un solvant aprotique et en présence d'amine tertiaire, au reflux du toluène par la voie conventionnelle d'une part pour montrer, quel est le composé qui se forme, et d' autre part pour comparer le temps du déroulement de la réaction et le rendement du composé obtenu avec une étude spectroscopique détaillée aussi bien, pour les composés connus que pour les nouveaux non décrits dans la littérature.

I. Action du 2-hydroxybenzaldéhyde (Salicyaldéhyde)

La réaction de condensation de la TAL **3** vis-à-vis du salicyaldéhyde au reflux du toluène et en présence du catalyseur basique et en proportion équimolaire pendant une heure et 30 mn, conduit à la formation du composé 1-(2-oxo-2H-chromen-3-yl) butane-1,3-dione **4**.

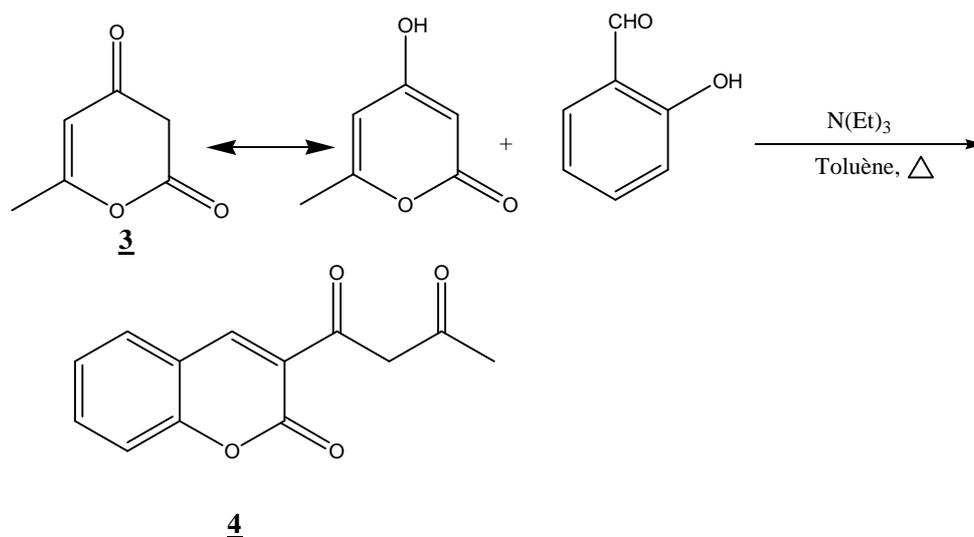


Schéma 2

La structure de ce composé a été confirmée par une étude spectroscopique détaillée.

I.1 Etude en chromatographie sur couche mince

L'étude en chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée dans un éluant constitué d'un mélange de solvants chloroforme-méthanol (2ml/ 7 gouttes). Nous avons obtenus une seule tache différente de celle du produit départ.

Rf= 0.66

I.2 Etude en spectroscopie RMN du proton ^1H :

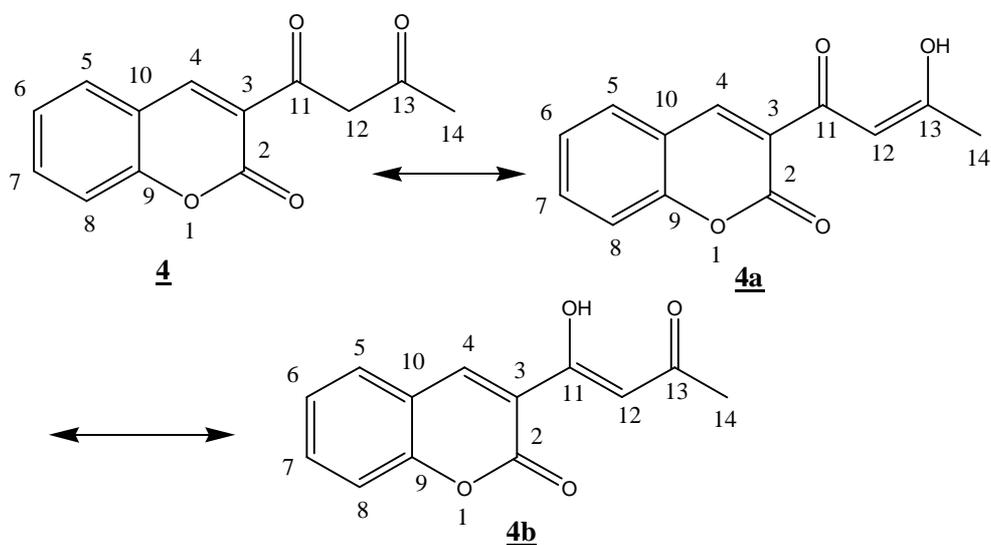
Le spectre RMN du ^1H est réalisé dans un appareil spectromètre Bruker Avance 300, proton à 300.13 MHz, en utilisant le CDCl_3 comme solvant et le TMS comme référence interne. Les valeurs des déplacements chimiques sont exprimées en ppm par rapport au signal du TMS.

Le spectre RMN du proton de **4** se caractérise par les déplacements chimiques significatifs de la forme cétoénolique du groupement acétoacétyl [24-30].

En effet la présence d'un tel groupe donne en RMN du proton deux signaux : à $\delta = 4,22$ ppm (CH_2 , dione) et à $\delta = 7,01$ ppm (CH, éno).

-Le signal qui apparaît à $\delta = 8,63$ ppm correspond au proton du carbone C_4 du noyau chromène, et ceux à $\delta = 7,31$ ppm (CH (8)), à $\delta = 7,34$ (CH (6)), à $\delta = 7,60$ ppm (CH (7)) et à $\delta = 7,65$ ppm (CH (5)) sont les pics qui correspondent aux protons du noyau aromatique.

-L'apparition du pic à $\delta = 15,85$ ppm correspondant au groupement OH confirme la présence de la forme cétoénolique **4a**, **4b** (schéma 3).



Formes tautomériques du composé 4

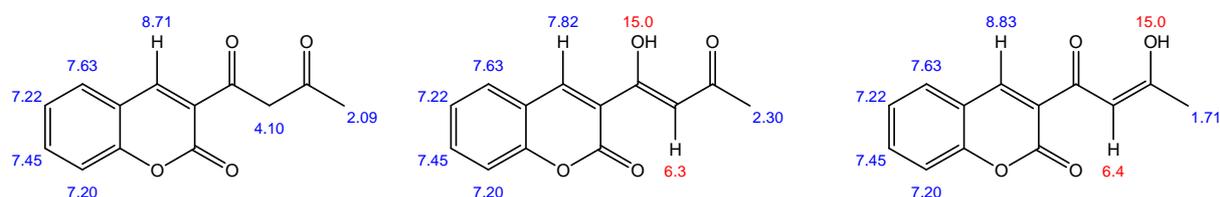
Schéma 3

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau II-I-1 suivant :

Tableau II-I-1 Résultats du spectre RMN ^1H du composé 4

| δ théorique (ppm) | δ expérimental (ppm) | multiplicité | Attribution |
|--------------------------|-----------------------------|--------------|-------------------------------------|
| 2,09 | 2,26 | S | CH ₃ (14) (dicétones) |
| 2,30 | 2,35 | S (3H) | CH ₃ (14)(céto-énolique) |
| 4,10 | 4,22 | S (2H) | CH ₂ (12, dione) |
| 6,3 | 7,01 | S (1H) | CH (12, éno) |
| 7,20 | 7,31 | d (1H) | CH(8) |
| 7,22 | 7,34 | t (1H) | CH(6) |
| 7,45 | 7,60 | t (1H) | CH (7) |
| 7,63 | 7,65 | d (1H) | CH (5) |
| 8,71 | 8,63 | S (1H) | CH(4) |
| 15 | 15,85 | Large | OH (éno) |

Estimation théorique



I.3 Etude en spectroscopie RMN ^{13}C

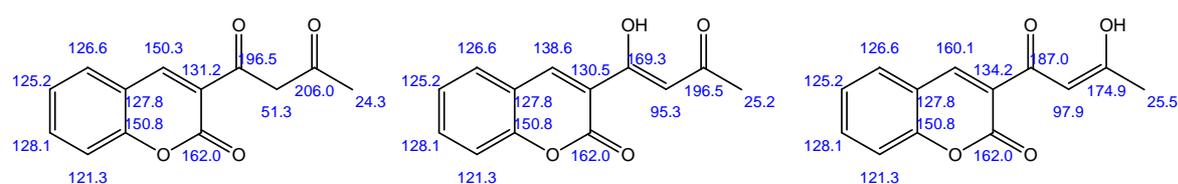
Les spectres RMN ^{13}C sont réalisés dans un appareil spectromètre Bruker Avance 300, carbone : 75.47 MHz, en utilisant le CDCl_3 comme solvant et le TMS comme référence interne. Les valeurs des déplacements chimiques sont exprimées en ppm par rapport au signal de TMS.

-Dans ce spectre, nous remarquons que tous les pics qui apparaissent sont compatibles avec les carbones du composé **4**.

-Dans le domaine des carbones sp^3 , nous observons un pic qui ne peut être attribué qu'au groupement méthyle CH_3 (14) et dans le domaine des carbones sp^2 , apparaissent 6 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 à $\delta = 56,34$ ppm correspondant à C (12) sous la forme diones (CH_2).

-Dans les champs faibles apparaissent sept signaux attribuables aux carbones C (9), C(11), C (13, énol) , C(13, diones), C(2) et C(3).

Estimation théorique :



Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau II-I-2 suivant :

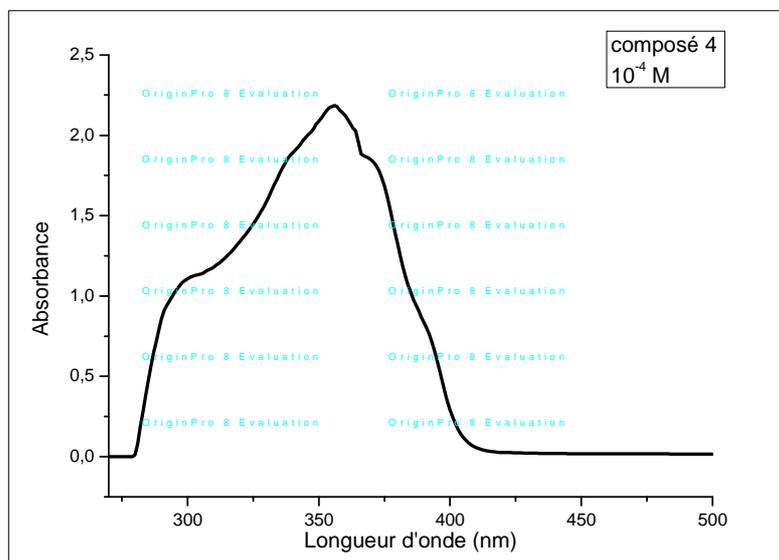
Tableau II-I-2 Résultats du spectre RMN ^{13}C du composé 4

| δ Théorique (ppm) | δ expérimentale (ppm) | Attribution |
|--------------------------|------------------------------|---------------------------|
| 24,3 | 27,45 | CH_3 (14) |
| 51,3 | 56,34 | CH_2 (12.diones) |
| 95-97 | 101,49 | CH (12, énoI) |
| 121,3 | 116,44 | C(8) |
| 125,2 | 118,40 | C (6) |
| 126,6 | 120,46 | C (5) |
| 127,8 | 124,84 | C (10) |
| 128,1 | 129,46 | CH (7) |
| 134,2 | 133,87 | C (3) |
| 150,8 | 145,33 | C (9) |
| 160,1 | 154,27 | C(4) |
| 150,8 | 157,90 | C(9) |
| 162,0 | 171,83 | C (2) |
| 174,9 | 191,4 | C (13, énoI) |
| 187,0 | 199,61 | C (11) |
| 206,0 | 202,94 | C (13, cétone) |

I-4- Etude en spectroscopie UV / visible :

Pour les spectres d'absorption U.V/Visible mesurés, les concentrations étaient de 10^{-4}M .

Le spectre d'absorption est réalisé juste après dissolution dans l'acétate d'éthyle qui donne deux bandes distinctes : $\lambda_{\text{abs1}} = 290 \text{ nm}$ (C=O) et $\lambda_{\text{abs2}} = 350 \text{ nm}$ (OH, énoI) (Fig. II.1)

Fig.II.1 Spectre d'absorption UV/vis du composé 4 dans l'acétate d'éthyle à 10^{-4} M

I.5 Etude en spectroscopie Infra Rouge IR

Les principales bandes obtenues dans KBr en pastilles se répartissent comme suit :

ν (Cm^{-1}) : 3479 - 2250-1617.3 - 1381 -1048 -753.83

La bande fine distincte 1617 Cm^{-1} suggère la présence de la liaison $\text{C}=\text{O}$ (2) de la coumarine. Et la bande à 2250Cm^{-1} confirme la présence d'un carbonyle extra cyclique ($\text{C}=\text{O}$ du groupement acétoacétyle)

Quand à la bande large 3479 Cm^{-1} , elle correspond à la liaison $\text{C}-\text{OH}$ (énol) associée par une liaison à hydrogène :

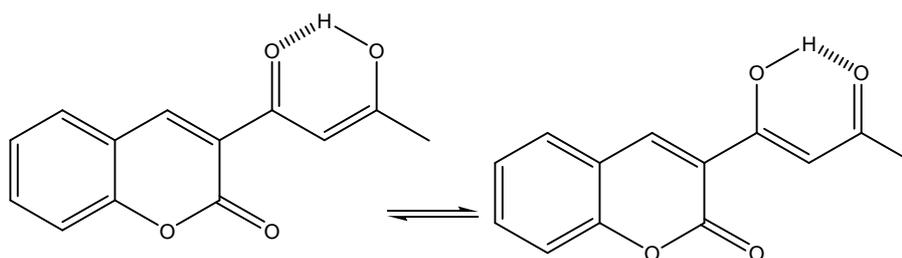
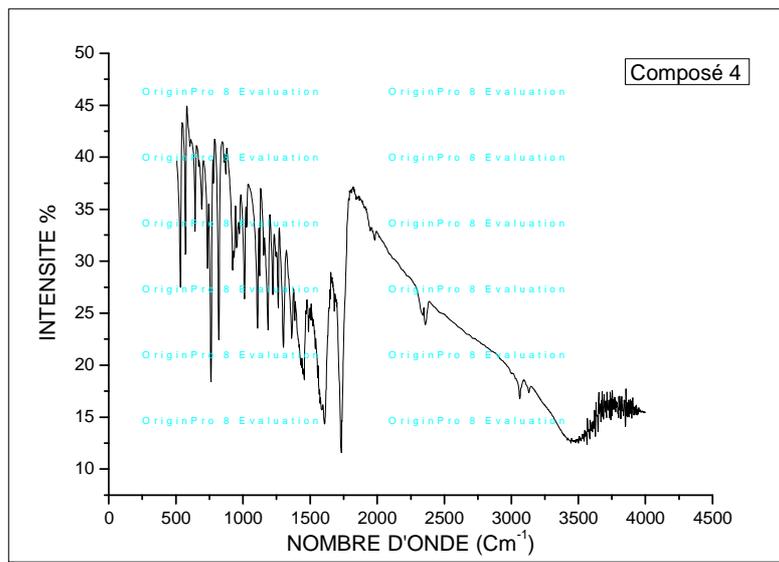


Fig.II.2 Spectre IR du composé 4 dans KBr



II. Action du 2,3-dihydroxybenzaldéhyde

L'action du 2,3- dihydroxybenzaldéhyde sur la 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone (ou triacétique lactone TAL) au reflux du toluène et en présence de la triéthylamine, conduit à la formation du 1-(8-hydroxy-2-oxo-2H-chromén-3-yl) butane-1,3-dione 5. A notre connaissance, ce dernier composé n'est pas décrit dans la littérature.

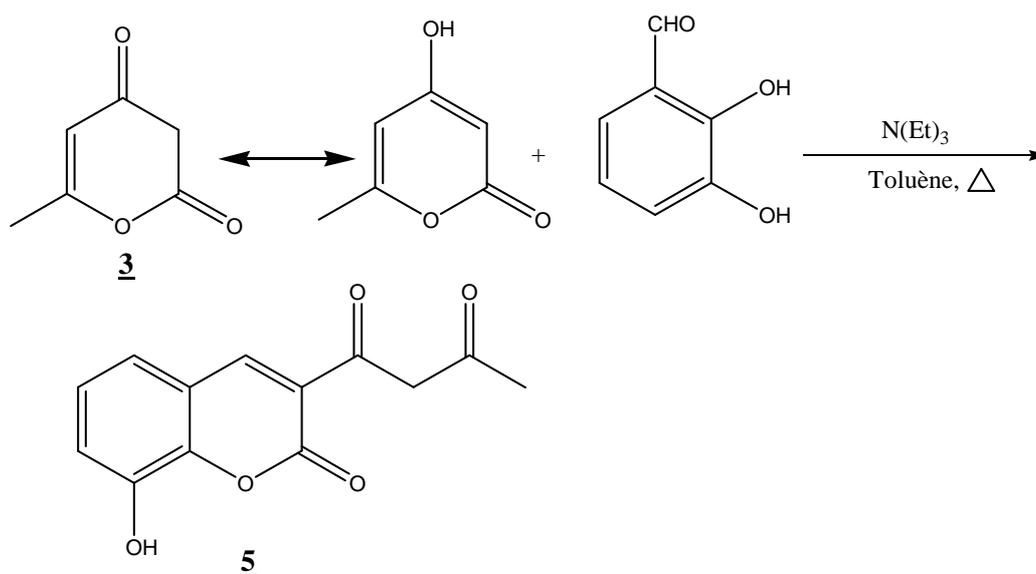


Schéma 4

La structure a été confirmée par les différentes techniques d'analyses suivantes :

II.1 Etude en chromatographie sur couche mince

L'étude en chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée dans un éluant constitué d'un mélange de solvants chloroforme-méthanol (2ml/ 7 gouttes). Nous avons obtenus une seule tache différente de celle du produit de départ.

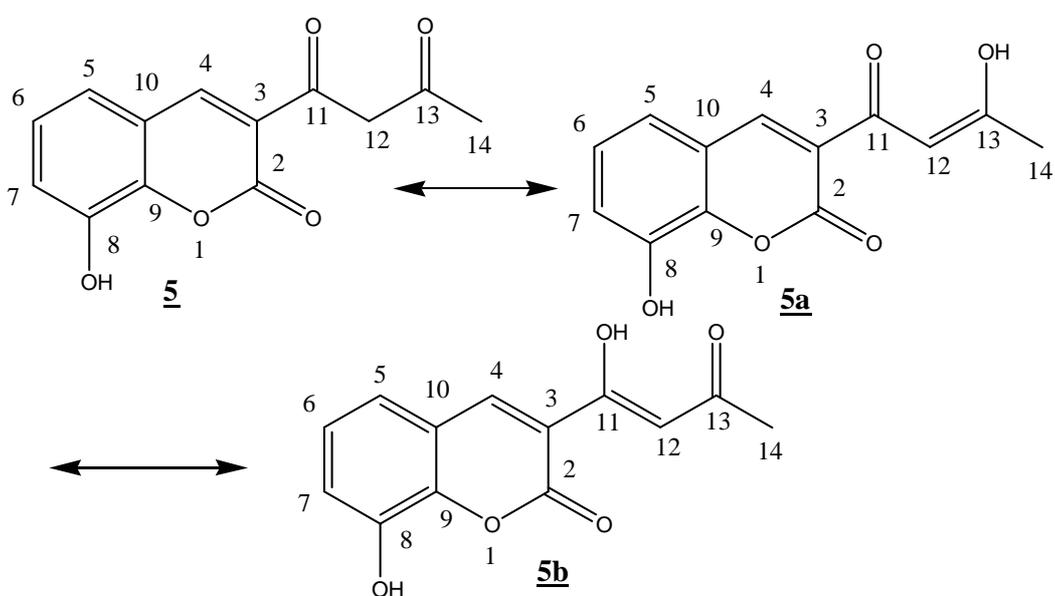
Rf=0,58

II.2 Etude en spectroscopie RMN du proton ^1H

Dans Les spectres RMN du ^1H réalisés, on observe les pics caractéristiques du groupement acétoacétyl à $\delta = 2,22$ ppm (s, CH_3 (14)), à $\delta = 4,16$ ppm (s, CH_2 , dione), à

$\delta = 6,89$ ppm (s, CH éno) et un pic large à $\delta = 16,02$ ppm (OH, éno).

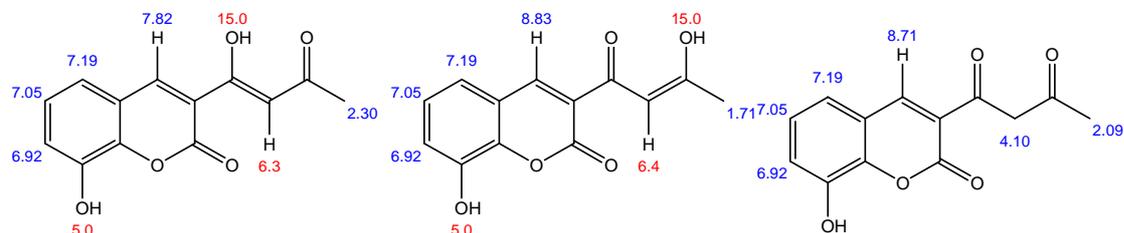
- Ils apparaissent aussi d'autres signaux à $\delta = 7,18$ ppm (d, 1H), à $\delta = 7,20$ ppm (t, 1H) et à $\delta = 7,34$ ppm (d, 1H) ce sont les protons du noyau aromatique avec la présence d'un pic large à $\delta = 10,40$ ppm correspondant au groupement OH du noyau aromatique. Nous observons aussi un singulet à $\delta = 8,72$ ppm qui est attribuable au proton H (4) du noyau chromène.



Formes tautomériques du composé 5

Schéma 5

Estimation théorique



Dans le tableau II-II-1 ci-dessous sont reportés les résultats du spectre RMN du proton.

Tableau II-II-1: RMN ^1H à 300 MHz du composé 5

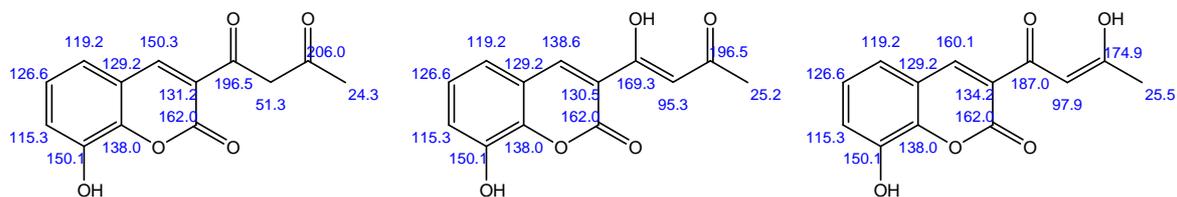
| δ théorique (ppm) | δ expérimental (ppm) | multiplicité | Attribution |
|--------------------------|-----------------------------|--------------|------------------------------|
| 2,09 | 2,22 | S (3H) | CH ₃ (14) |
| 4,10 | 4,16 | S (2H) | CH ₂ (12, diones) |
| 6,4 | 6,89 | S (1H) | CH (12, éno) |
| 6,92 | 7,18 | d (1H) | CH(7) |
| 7,05 | 7,20 | t (1H) | CH(6) |
| 7,19 | 7,34 | d (1H) | CH (5) |
| 8, 83 | 8,72 | S (1H) | H (4) |
| 5,00 | 10,40 | S (1H) | OH (8) |
| 15,00 | 16,02 | Large | OH (céto-énolique) |

II.3 Etude en spectroscopie RMN ^{13}C

-Dans le spectre RMN ^{13}C réalisé, nous remarquons que tous les pics qui apparaissent sont compatibles avec le type des carbones du composé **5**.

Les résultats du spectre RMN ^{13}C sont reportés dans le tableau II-II-1 ci-dessous et sont comparés au spectre obtenue par l'estimation théorique :

Estimation théorique

Tableau II-II-2: Résultats du spectre RMN ^{13}C à 75 MHz du composé 5

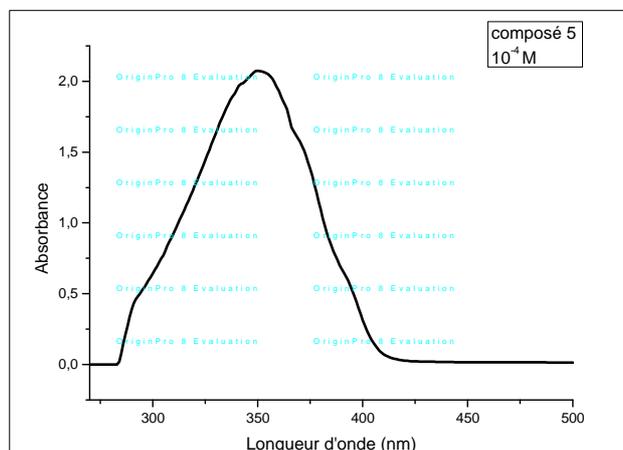
| δ Théorique (ppm) | δ expérimentale (ppm) | Attribution |
|--------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| 24,3 | 27,03 | CH_3 (14, diones) |
| 25,5 | 30,42 | CH_3 (14, céto-énolique) |
| 51,3 | 56,49 | CH_2 (12, diones) |
| 95-97 | 100,96 | CH (12, énoI) |
| 119,2 | 119,22 | C (7) |
| 126,6 | 120,23 | C (5) |
| 129,2 | 124,93 | C (6) |
| 131,2 | 142,61 | CH (3) |
| 138,0 | 144,38 | C (9) |
| 150,1 | 146,51 | C (8) |
| 150,3 | 157,29 | C(4) |
| 162,0 | 173,05 | C(2) |
| 174,9 | 191,83 | C (13, énoI) |
| 196,5 | 199,02 | C (11) |
| 206,6 | 203,35 | C (13, diones) |

II.4 Etude en spectroscopie UV/visible

Pour les spectres d'absorption U.V/Visible mesurés, les concentrations étaient de 10^{-4}M .

Le spectre d'absorption est réalisé juste après dissolution dans l'acétate d'éthyle qui donne une seule bande $\lambda_{\text{abs}} = 354 \text{ nm}$ (OH, éno) (Fig. II.3)

Fig.II.3 Spectre d'absorption UV/vis du composé 5 dans l'acétate d'éthyle à 10^{-4} M



II.5 Etude en spectroscopie Infra Rouge IR

Les principales bandes obtenues dans KBr en pastilles se répartissent comme suit :

$\nu \text{ (Cm}^{-1}\text{)} : 3500 - 2260 - 1750 - 1381 - 1048 - 753.83$

La bande fine distincte 1750 Cm^{-1} suggère la présence de la liaison $\text{C}=\text{O}$ (2) de la coumarine. Et la bande à 2260 Cm^{-1} confirme la présence d'un carbonyle extra cyclique ($\text{C}=\text{O}$ du groupement acétoacétyle)

Quand à la bande large 3500 Cm^{-1} , elle correspond à la liaison $\text{C}-\text{OH}$ (éno) associée par une liaison à hydrogène

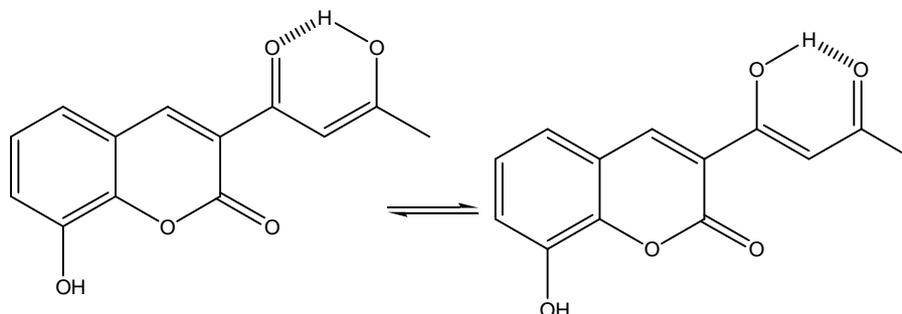
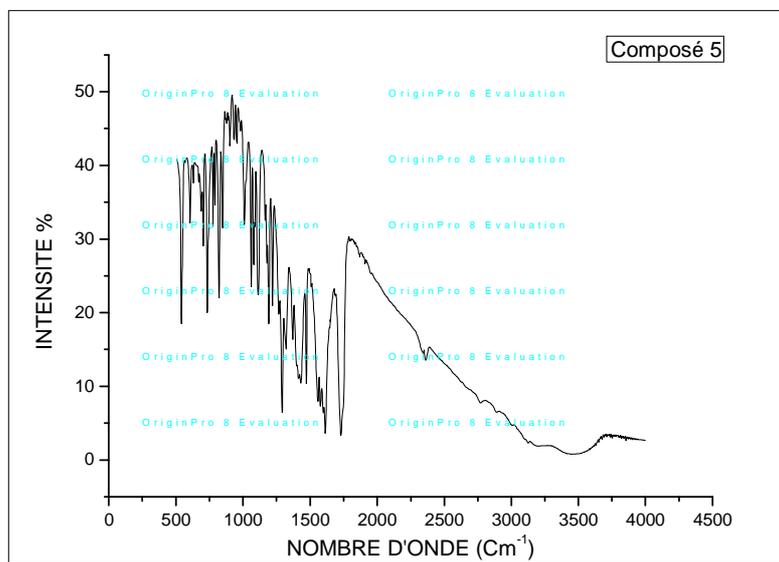


Fig.II.4 Spectre IR du composé 5 dans KBr



III. Action du 2,4-dihydroxybenzaldéhyde

En travaillant dans les mêmes conditions opératoires que celles décrites précédemment, on obtient le composé : 1-(7-hydroxy-2-oxo-2H-chromén-3-yl) butane-1,3-dione : 6

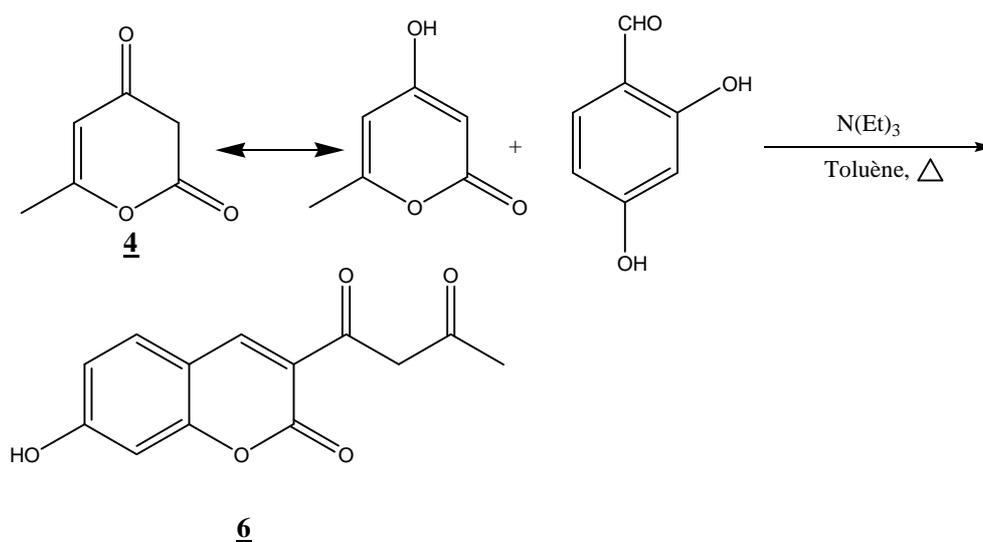


Schéma 6

III.1 Etude en chromatographie sur couche mince

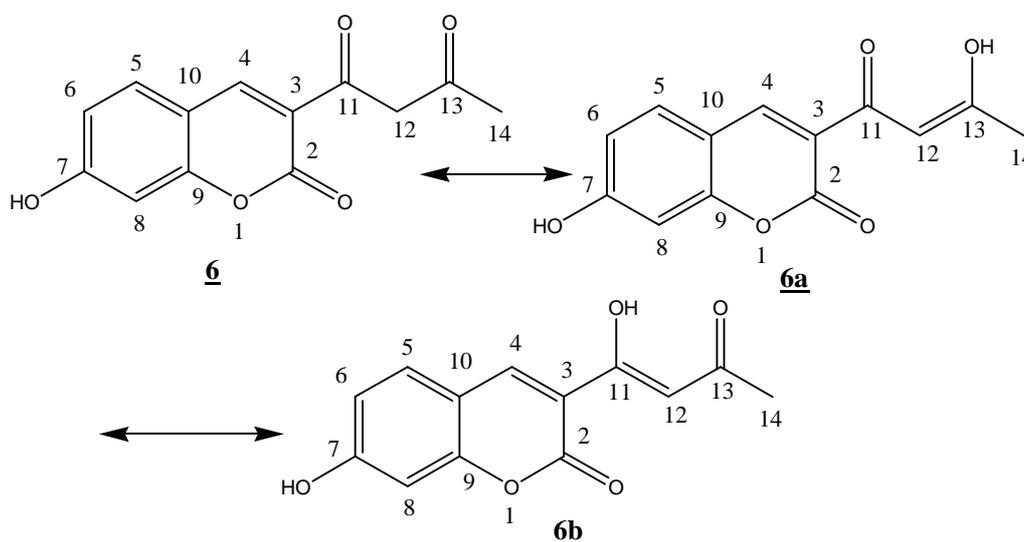
La CCM a été réalisée dans un éluant constitué d'un mélange de solvants chloroforme-méthanol (2ml/ 15 gouttes). Nous avons obtenu une seule tache différente de celle du produit de départ.

Rf=0.55

III.2 Etude en spectroscopie RMN du proton ^1H

Les pics caractéristiques du groupement acétoacétyl apparaissent à $\delta = 2,20$ ppm (s, CH_3 (14)), à $\delta = 4,10$ ppm (s, CH_2 , dione), à $\delta = 6,74$ ppm (s, CH éno) et un pic large à $\delta = 16,26$ ppm (OH, éno).

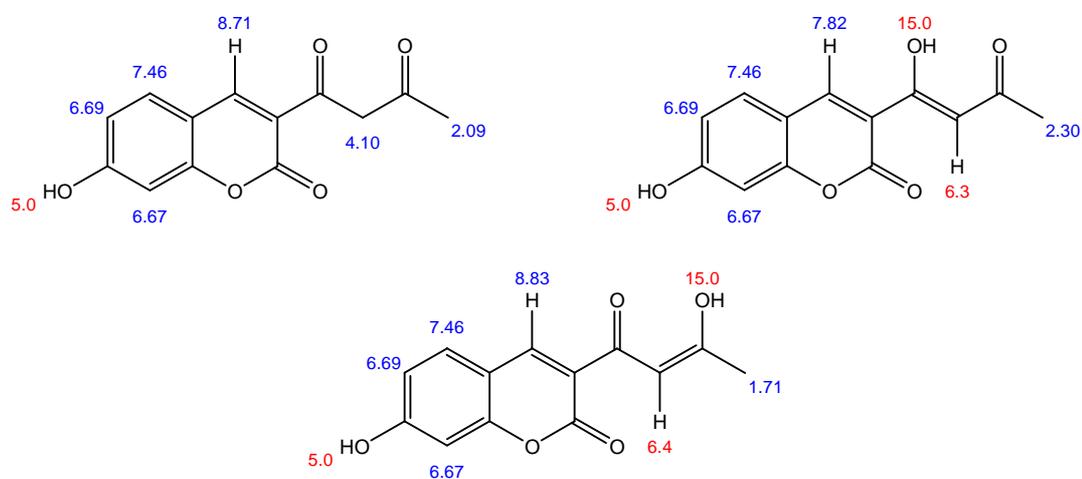
- Ils apparaissent aussi d'autres signaux à $\delta = 6,83$ ppm (s, 1H), à $\delta = 6,85$ ppm (d, 1H) à $\delta = 7,77$ ppm (d, 1H) ce sont les protons du noyau aromatique avec la présence d'un pic large à $\delta = 11,16$ ppm correspondant au groupement OH (7) du noyau aromatique. Nous observons aussi un singulet à $\delta = 8,72$ ppm qui est attribuable au proton H (4) du noyau chromène.



Formes tautomériques du composé **6**

Schéma 7

Estimation théorique



Dans le tableau II-III-1 ci-dessous sont reportés les résultats du spectre RMN du proton.

Tableau II-III-1: Résultats du spectre RMN ^1H à 300 MHz du composé 6

| δ théorique (ppm) | δ expérimental (ppm) | multiplicité | Attribution |
|--------------------------|-----------------------------|--------------|----------------------------|
| 2,30 | 2,20 | S (3H) | CH_3 (14) |
| 4,10 | 4,10 | S (2H) | CH_2 (12, diones) |
| 6,4 | 6,74 | S (1H) | CH (12, éno) |
| 6,67 | 6,83 | S (1H) | CH(8) |
| 6,69 | 6,85 | d (1H) | CH(6) |
| 7,46 | 7,77 | d (1H) | CH (5) |
| 8,83 | 8,72 | S (1H) | H (4) |
| 5,0 | 11,16 | Large | OH (7) |
| 15,0 | 16,26 | Large | OH (céto-énolique) |

III.3 Etude en spectroscopie RMN ^{13}C

Le spectre RMN ^{13}C révèle tous les pics correspondants aux carbones du composé **6**.

Dans le tableau II-III-2, nous reportons les résultats du spectre RMN ^{13}C du composé **6** comparés aux résultats de l'estimation théorique :

Estimation théorique :

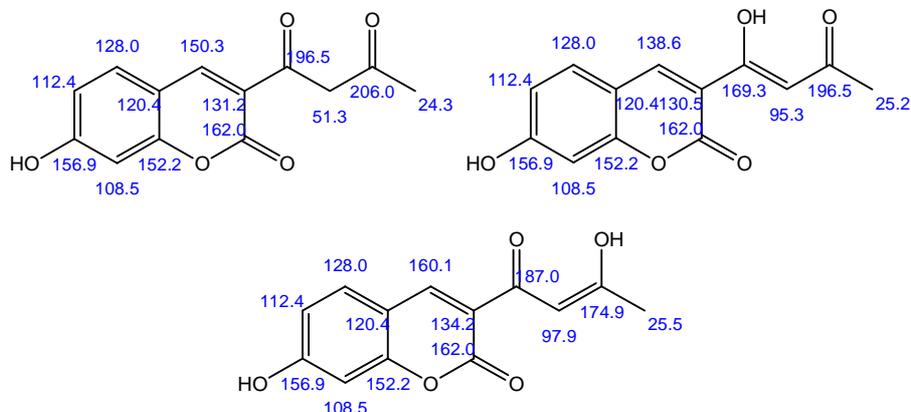


Tableau II-III-2: Résultats du spectre RMN ^{13}C à 75 MHz du composé **6**

| δ Théorique (ppm) | δ expérimentale (ppm) | Attribution |
|--------------------------|------------------------------|----------------------------|
| 25 ,5 | 26,59 | CH ₃ (14) |
| 51,3 | 56,51 | CH ₂ (12.dione) |
| 95-97 | 100,04 | CH (12, énoI) |
| 108,5 | 101,71 | C(8) |
| 112,4 | 110,85 | C (6) |
| 120,4 | 114,28 | C (10) |
| 128,0 | 132,26 | C (5) |
| 134,2 | 146,65 | CH (3) |
| 152,2 | 156,55 | C (9) |
| 156,9 | 157,83 | C (7) |
| 160,1 | 164,22 | C(4) |
| 162,2 | 174,80 | C(2) |
| 174,9 | 191,41 | C (13, énoI) |
| 187,0 | 197,56 | C (11) |
| 206,0 | 203,36 | C(13 ,diones) |

III.4 Etude en spectroscopie UV/visible

Pour les spectres d'absorption U.V/Visible mesurés, les concentrations étaient de 10^{-5} M.

Le spectre d'absorption est réalisé juste après dissolution dans l'acétate d'éthyle qui donne deux bandes distinctes : $\lambda_{\text{abs1}} = 280$ nm (C=O) et $\lambda_{\text{abs2}} = 383$ nm (OH, éno) (Fig. II.5)

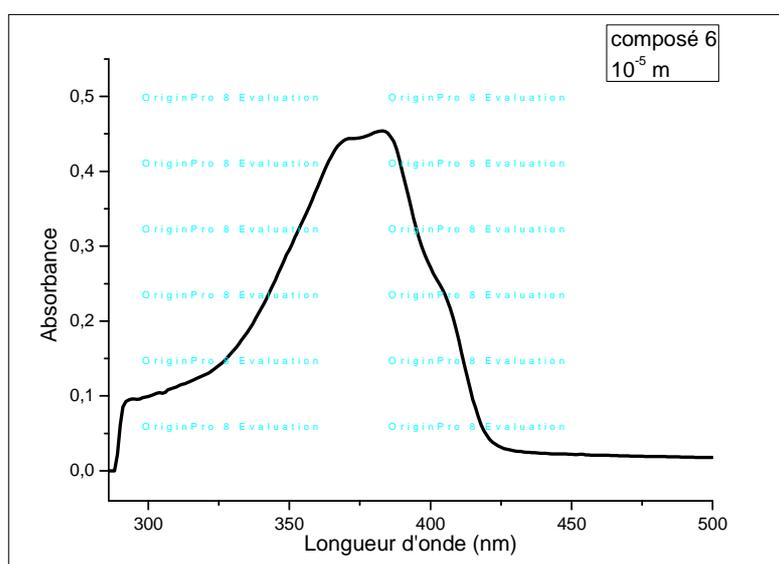


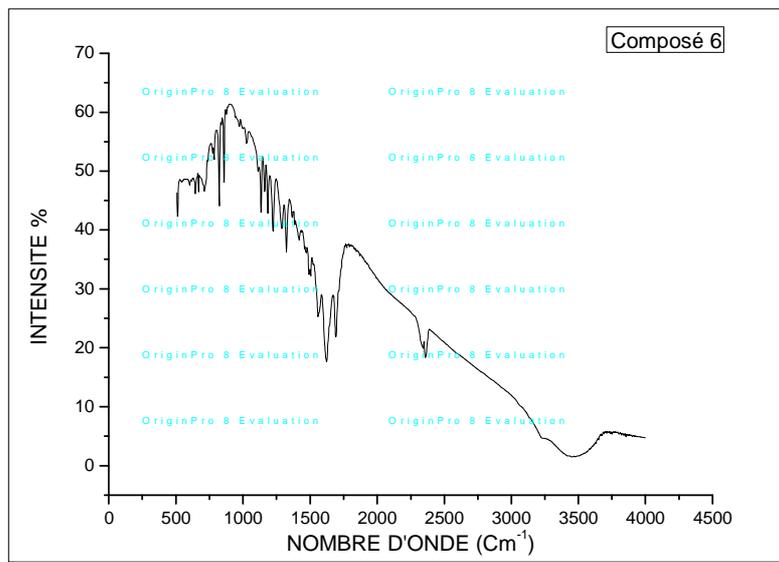
Fig.II.5 Spectre d'absorption UV/vis du composé 6 dans l'acétate d'éthyle à 10^{-5} M

III.5 Etude en spectroscopie Infra Rouge IR

Les principales bandes obtenues dans KBr en pastilles se répartissent comme suit :

ν (Cm^{-1}) : 3470 (OH, éno) – 2250 (C=O acétoacétyle)-1650 (C=O position 2).

Fig.II.6 Spectre IR du composé 6 dans KBr



IV. Action du 2-hydroxynaphtaldéhyde

La condensation du 2-hydroxy naphaldéhyde sur la TAL donne le composé 1-(3-oxo-3H-benzo[f]chromen-2-yl) butane-1,3-dione **7**.

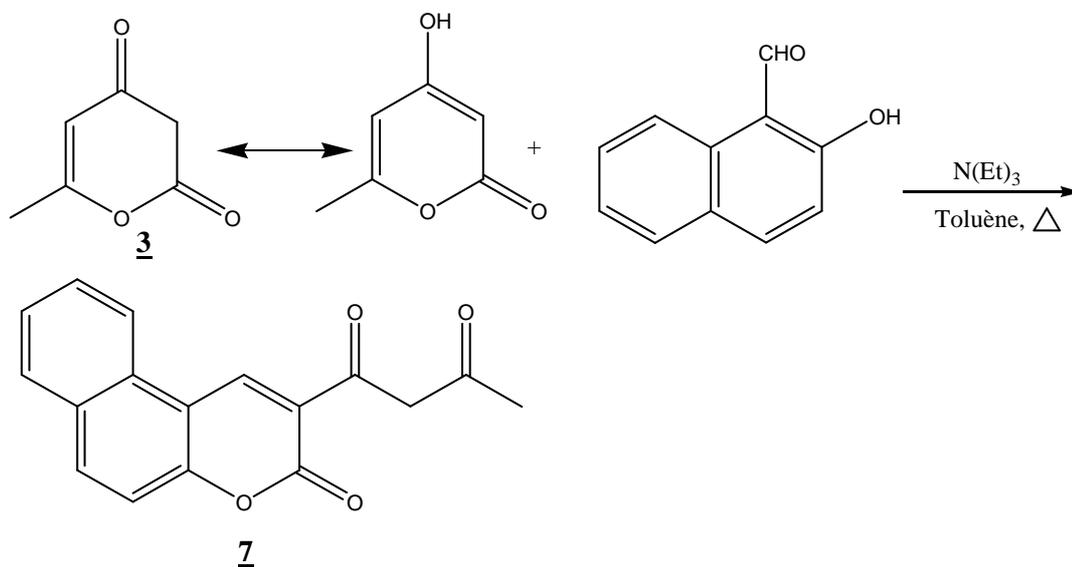


Schéma 8

IV.1 Etude en chromatographie sur couche mince

La CCM a été réalisée dans un éluant constitué d'un mélange de solvants chloroforme-méthanol (2ml/ 15 gouttes). Nous avons obtenus une seule tache différente de celle du produit de départ.

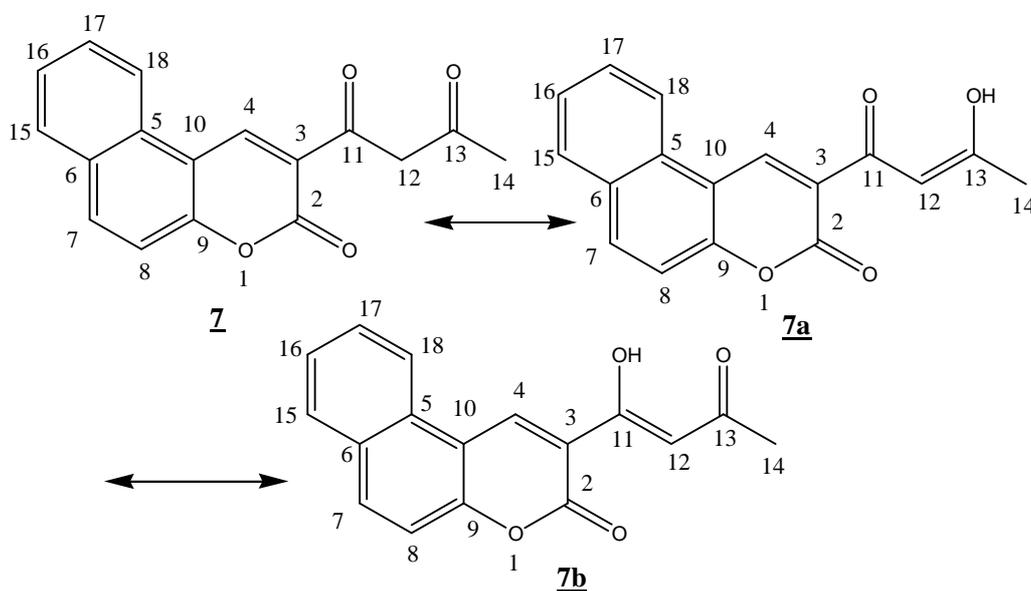
Rf=0.55

IV.2 Etude en spectroscopie RMN du proton ^1H

Comme pour les composés précédents, ils apparaissent les pics significatifs du groupement acétoacétyle à $\delta = 2,27$ ppm (CH_3 (14)), à $\delta = 4,26$ ppm (CH_2 , dione) et à $\delta = 7,06$ ppm (CH , éno).
-Le pic à $\delta = 9,31$ ppm correspond à CH (4) et l'autre à $\delta = 16,00$ ppm (large, OH) confirme la présence de la forme céto énoïque.

Nous relevons aussi des pics significatifs des deux noyaux aromatiques, qui sont reportés dans le tableau II-IV-1.

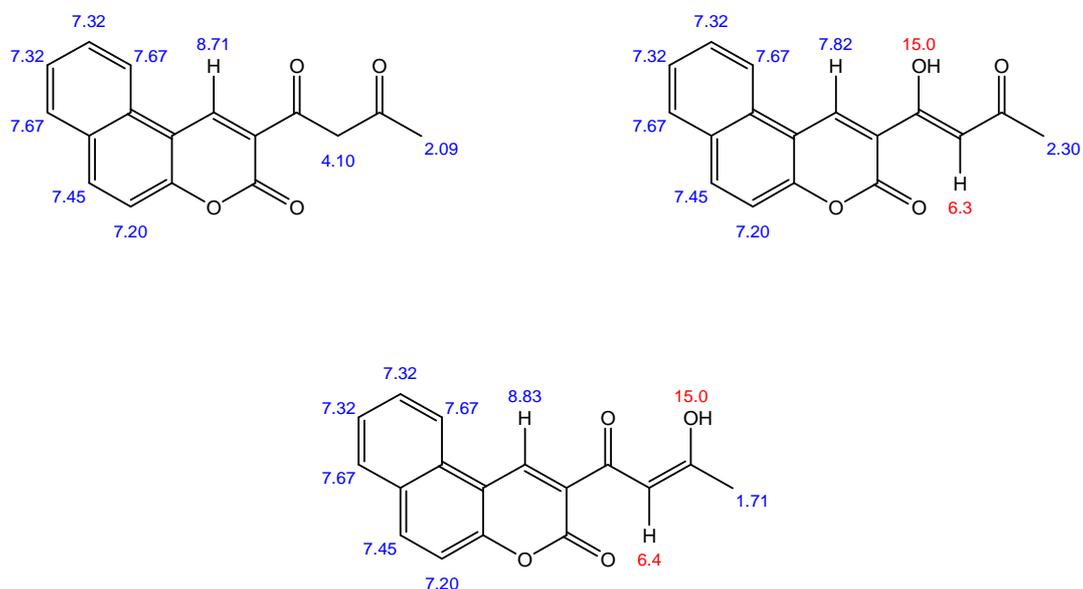
Nous relevons aussi des pics significatifs des deux noyaux aromatiques, qui sont reportés dans le tableau II-IV-1.



Formes tautomériques du composé 7

Schéma 9

Estimation théorique :

Tableau II-III-1 Déplacements chimiques en spectroscopie RMN ^1H du composé 7

| δ théorique (ppm) | δ expérimental (ppm) | multiplicité | Attribution |
|--------------------------|-----------------------------|--------------|-----------------------------|
| 2,30 | 2,27 | S (3H) | CH ₃ (14, éinol) |
| 4,10 | 4,26 | S (2H) | CH ₂ (12, dione) |
| 6,4 | 7,06 | S (1H) | CH (12, éinol) |
| 7,20 | 7,39 | d (1H) | CH(8) |
| 7,32 | 7,55 | t (1H) | CH(16) |
| 7,32 | 7,68 | t (1H) | CH(17) |
| 7,45 | 7,87 | d (1H) | CH (7) |
| 7,67 | 8,02 | d (1H) | CH (15) |
| 7,67 | 8,29 | d (1H) | CH (18) |
| 7,82 | 9,31 | S (1H) | CH(4) |
| 15,00 | 16,00 | Large | OH (éinol) |

IV.3 Etude en spectroscopie RMN ^{13}C

Le spectre RMN du ^{13}C enregistré, montre que le nombre de signaux qui apparaissent est compatible avec le nombre de carbone du composé 7.

Dans le domaine des carbones sp^3 , nous observons deux signaux qui ne peuvent être attribués qu'aux groupements méthyle en position (14) et CH_2 en position (12, forme diones).

Dans le domaine des carbones sp^2 , apparaissent les pics qui correspondent aux carbones $\text{CH}(4)$, C (9), C (10), C(3), C(13), et C(11).

Dans les tableaux II-IV-2, nous reportons les résultats du spectre RMN du ^{13}C comparés aux résultats de l'estimation théorique.

Estimation théorique :

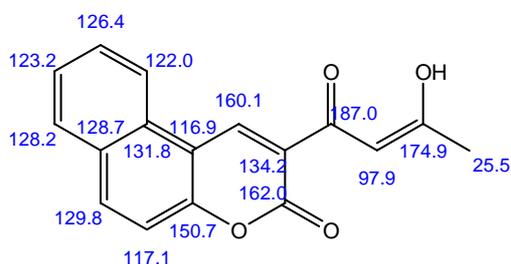
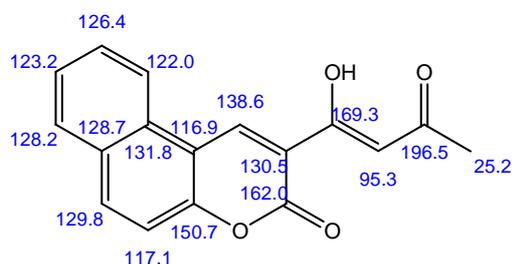
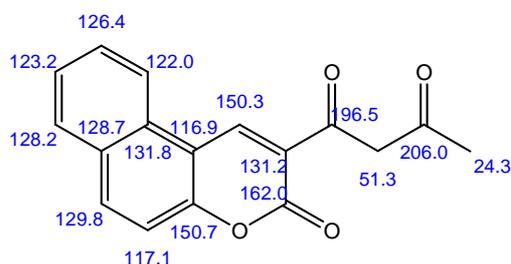


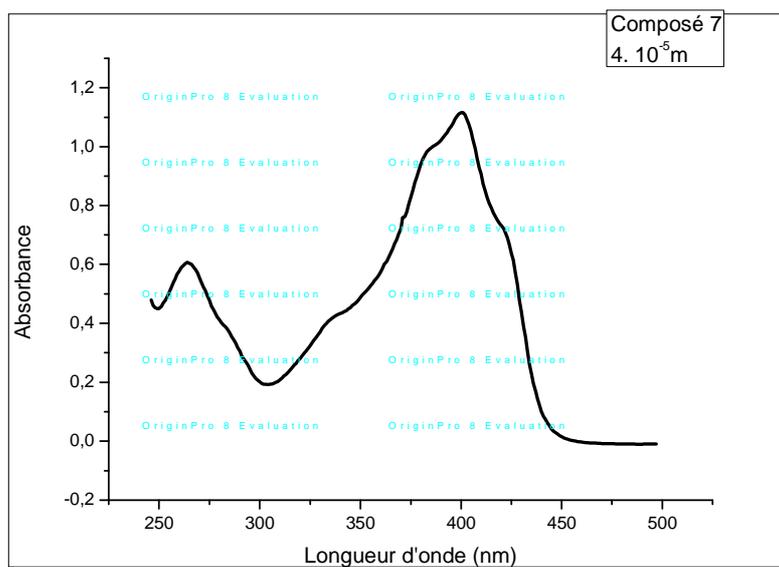
Tableau II-IV-2: Résultats du spectre RMN ^{13}C à 75 MHz du composé 7

| δ Théorique (ppm) | δ expérimentale (ppm) | Attribution |
|--------------------------|------------------------------|----------------------------|
| 25,2 | 27,37 | CH_3 (14) |
| 51,3 | 57,0 | CH_2 (12, diones) |
| 95-97 | 101,38 | CH (12, énoI) |
| 116,9 | 112,90 | CH(10) |
| 117,1 | 116,36 | CH (8) |
| 122,0 | 118,82 | CH (18) |
| 123,2 | 121,61 | C (16) |
| 126,4 | 126,51 | C (17) |
| 128,2 | 128,98 | C (15) |
| 128,7 | 129,08 | C (6) |
| 129,8 | 129,30 | C(7) |
| 130,5 | 130,14 | C (3) |
| 131,8 | 135,66 | C (5) |
| 138,6 | 140,77 | C (4) |
| 150,7 | 154,79 | C (9) |
| 162,0 | 158,02 | C (2) |
| 169,3 | 172,5 | C (11) |
| 196,5 | 199,31 | C (13, énoI) |
| 206,0 | 199,8 | C (13, diones) |

IV.4 Etude en spectroscopie UV/visible

Pour le spectre d'absorption U.V/Visible mesuré, la concentration était de $4 \cdot 10^{-5}$ M.

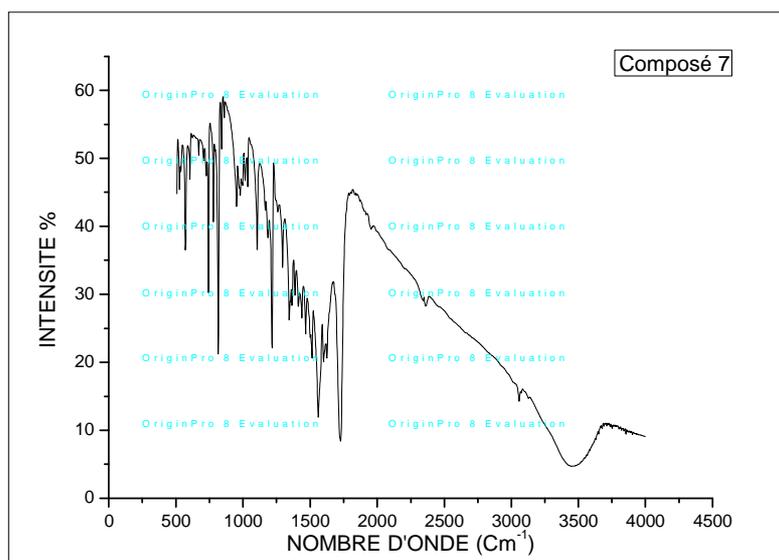
Le spectre d'absorption est réalisé juste après dissolution dans l'Acétate d'éthyle qui donne deux bandes distinctes : 268 nm (C=O) et 401 nm (OH de l'énoI)

Fig.II.7 Spectre d'absorption UV/vis du composé 7 dans l'acétate d'éthyle à 4.10^{-5} M

IV.5 Etude en spectroscopie Infra Rouge IR

Les principales bandes obtenues dans KBr en pastilles se répartissent comme suit :

ν (Cm^{-1}) : 3470 (OH, éno) – 2250 (C=O acétoacétyle)-1750 (C=O position 2).

Fig.II.8 Spectre IR du composé 7 dans KBr

Mécanisme de la réaction :

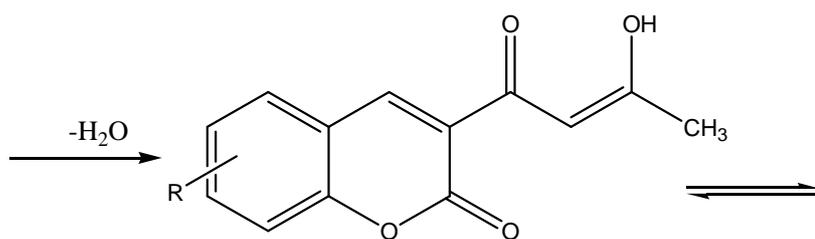
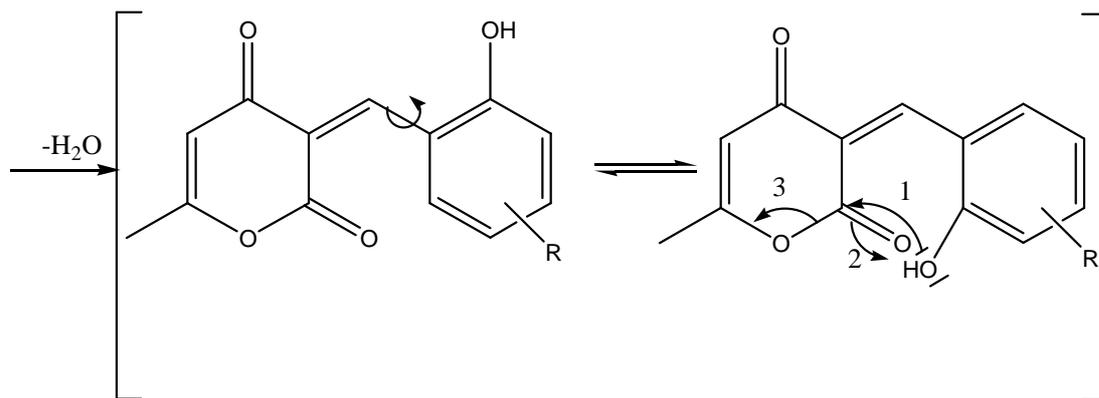
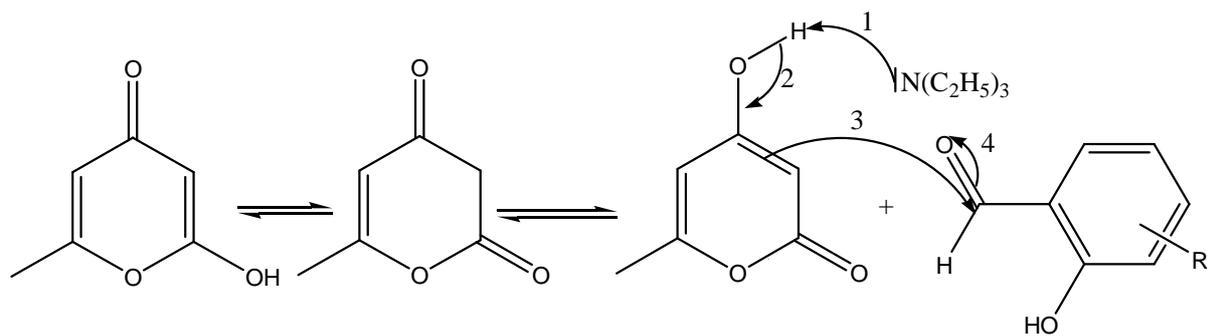
*** La réaction de Knoevenagel**

Les condensations d'un composé portant un groupe méthylène actif, autre qu'un aldéhyde ou une cétone, avec un composé carbonylé sont nommées condensations de Knoevenagel [31].

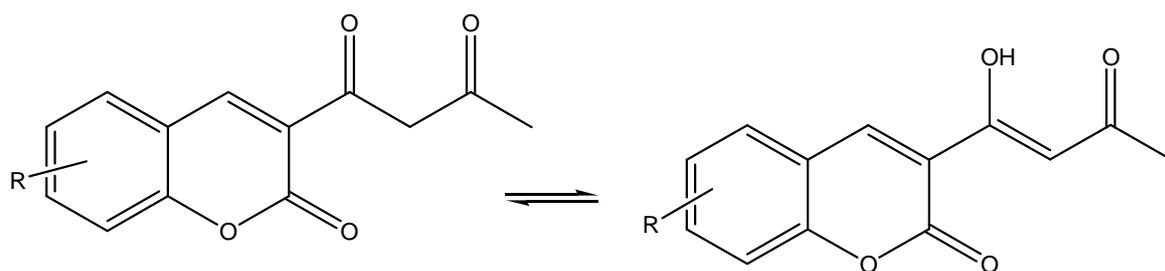
A la différence des réactions de Wittig ou de Heck, qui conduisent à des enchaînements similaires, la réaction de Knoevenagel est une condensation purement thermique. Elle présente l'avantage d'être moins contraignante que les couplages organométalliques et ne produit que de l'eau comme produit secondaire.

Les groupes méthylènes actifs étant plus acides que les aldéhydes ou les cétones, les bases utilisées comme catalyseur sont plus faibles que celles nécessaires pour effectuer une aldolisation. La pipéridine, la diéthylamine et la triéthylamine sont parmi les catalyseurs les plus utilisés.

D'après la littérature, la condensation de Knoevenagel, dont le mécanisme réactionnel est présenté ci dessous, est plus couramment conduite en catalyse basique :



4, 5, 6, 7



4, 5, 6, 7

4, 5, 6, 7

CONCLUSION

Dans cette partie le but que nous étions fixé est de réaliser la synthèse de coumarines autre que le dicoumarol est atteint.

Les structures des composés ont été confirmées par les différents points de fusion et les différentes techniques d'analyses structurales et qualitatives.

Le nouveau produit **5** a fait l'objet d'une étude particulière. Ainsi pour la détermination de sa structure nous avons fait appel aux différentes techniques d'analyses.

PARTIE EXPERIMENTALE

I/ Appareillage

Les points de fusion sont déterminés par un appareil scientifique SPM3 équipé d'un microscope. Les spectres RMN ^1H et ^{13}C sont réalisés à l'aide d'un spectromètre BRUKER Avance 300, carbone : 75.47 MHz et proton : 300.13 MHz, dans le CDCl_3 comme solvant et le TMS comme référence interne. Les valeurs des déplacements chimiques sont exprimées en ppm par rapport au signal du TMS.

Les mesures en spectrophotométrie UV-visible sont réalisées à température ambiante du laboratoire. Les mesures d'absorbance ont été enregistrées sur un appareil de marque SHIMADZU de type UV-1601PC, dans des cellules en quartz suprasil Hellma. L'estimation sur les erreurs expérimentales est de 2 nm sur le maximum des bandes et 5 % pour les coefficients d'extinction molaire.

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

II/ Matériels

Pour la synthèse, le toluène utilisé est celui de Fluka. Les aldéhydes aromatiques utilisés sont commerciaux.

L'acétate d'éthyle utilisé pour l'absorbance en UV/Visible est apporté de RIEDEL-DE HAËN de degré de pureté 99.5%.

III/ Manipulation :

Action Des aldéhydes aromatiques α - hydroxylés sur la 6-méthyl-4-hydroxy-2H-pyran-2-one (TAL):

Dans un ballon de 250 ml, on introduit 2,5 g (0,020 mole) de TAL et 50 ml de toluène puis on additionne 0,02 mole d'aldéhyde aromatique α - hydroxylé et 0,5 ml de triéthylamine.

A froid la TAL est partiellement soluble et à chaud elle se dissout complètement. On met au reflux pendant 1 heure et 30 mn, il se forme un précipité jaune à chaud, on filtre. Le

produit est lavé avec du méthanol chaud, on récupère un produit jaune qui n'a pas nécessité la recristallisation.

La pureté a été contrôlée par la chromatographie sur couche mince (CCM) qui donne une seule tache différente de celle du produit de départ.

IV/ Résultats spectroscopiques

1-(2-oxo-2H-chromen-3-yl) butane-1, 3-dione (4) .

Ce composé est obtenu sous forme de cristaux Jaunes, Pf = 150°C; Rendement= 59% masse (2.95 g) ; RMN ¹H (CDCl₃): δ 2.26 (S, 3H, 14-CH₃, dicétone), 2.35 (S, 3H, 14-CH₃, céto-énolique), 4.22 (S, 2H, 12-CH₂, dione), 7.01 (S, 1H, 12-CH, enol), 7.31 (d, 1H, H-8), 7.34 (t, 1H, H-6), 7.60 (t, 1H, H-7), 7.65 (d, 1H, H-5), 8.63 (S, 1H, H-4), 15.85 (S, large, 1H, OH, enol) ; RMN ¹³C (CDCl₃): 27.45 (14-CH₃), 56.34 (12-CH₂, dione), 101.49 (12-CH, enol), 116.44 (C-8), 118.40 (C-6), 120.46 (C-5), 124.84 (C-10), 129.46 (C-7), 133.87 (C-3), 145.33 (C-9), 154.27 (C-4), 157.90 (C-9), 171.83 (C-2), 191.4 (C-13, enol), 199.61 (C-11), 202.94 (C-13, cétone); IR ν (cm⁻¹): 3479-2250-1617.3-1381-1048-753.83 ; UV-vis: λ_{abs1} = 290 nm (C=O) et λ_{abs2} = 350 nm (OH, éno).l).

1-(8-hydroxy-2-oxo-2H-chromen-3-yl) butane-1, 3-dione (5) .

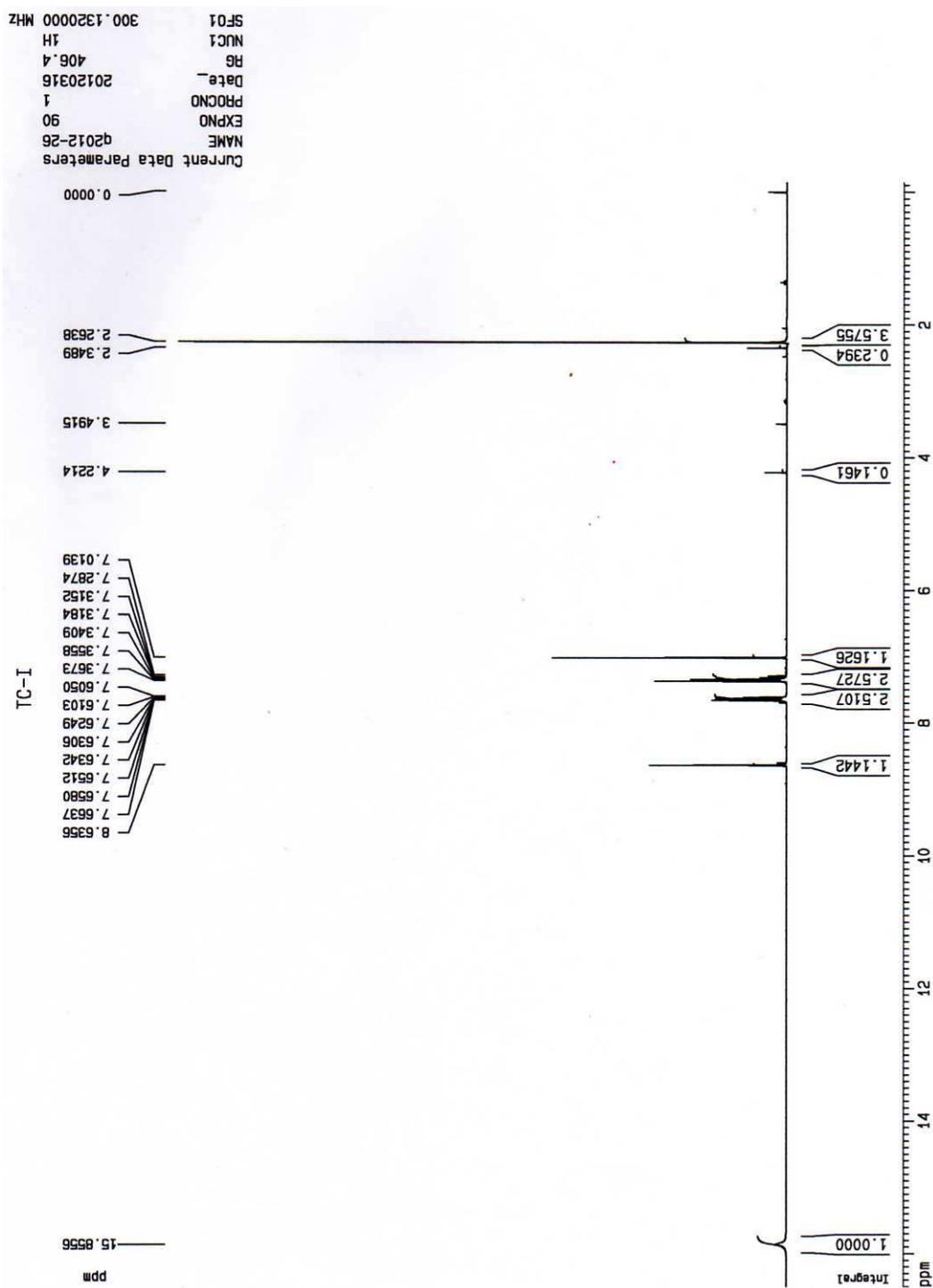
Ce composé est obtenu sous forme d'une poudre Jaune, Pf= 232°C ; Rendement = 54% masse (2.85 g) ; RMN ¹H (DMSO-D₆): δ 2.22 (S, 3H, 14-CH₃), 4.16 (S, 2H, 12-CH₂, diones), 6.89 (S, 1H, 12-CH, enol), 7.18 (d, 1H, H-7), 7.20 (t, 1H, H-6), 7.34 (d, 1H, H-5), 8.72 (S, 1H, H-4), 10.40 (S, 1H, OH-8), 16.02 (S large, 1H, OH, céto-enolique) ; RMN ¹³C (DMSO-D₆): 27.03 (14-CH₃, diones), 30.42 (14-CH₃, céto-enolique), 56.49 (12-CH₂, dione), 100.96 (12-CH, enol), 119.22 (C-7), 120.23 (C-5), 124.93 (C-6), 142.61 (C-3), 144.38 (C-9), 146.51 (C-8), 157.29 (C-4), 173.05 (C-2), 191.83 (C-13, enol), 199.02 (C-11), 203.35 (C-13, diones); IR ν (cm⁻¹): 3500-2260-1750-1381-1048-753.83; UV-vis: λ_{abs} = 354 nm (OH, éno).l).

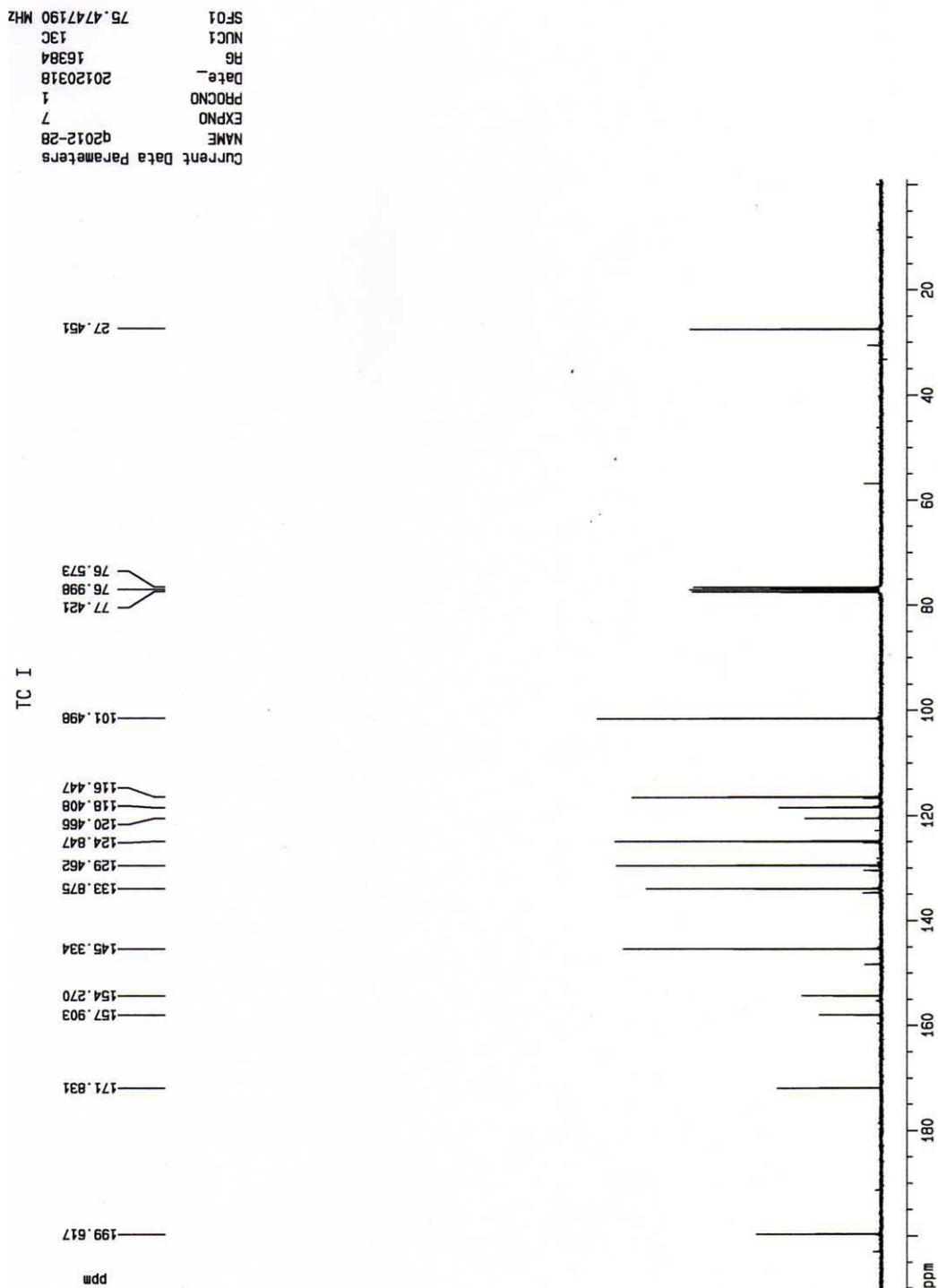
1-(7-hydroxy-2-oxo-2H-chromen-3-yl) butane-1,3-dione (6).

Ce composé est obtenu sous forme d'une poudre Jaune, Pf= 215-217 202 °C; Rendement = 51% masse (2.05 g) ; RMN ¹H (DMSO-D6): δ 2.20(S, 3H, 14-CH₃) , 4.10 (S, 2H, 12-CH₂, dione), 6.74 (S, 1H, 12-CH, enol), 6.83 (S, 1H, H-8), 6.85 (d, 1H, H-6), 7.77 (d, 1H, H-5), 8.72 (S , 1H, H-4) , 11.16 (Large, 1H, OH-7) , 16.26 (S,large ,OH , céto-enolique); RMN ¹³C (DMSO-D6): 26.59(14-CH₃), 56.51 (12-CH₂ , dione), 100.04 (CH-12,enol) , 101.71 (C-8) , 110.85 (C-6) , 114.28 (C-10) , 132.26 (C-5) ,146.65(C-3), 156.55 (C-9), 157.83 (C-7), 164.22 (C-4) , 174.80 (C-2) , 191,41 (C-13, enol), 197.56 (C-11) , 203.36 (C-13, diones); IR v (cm⁻¹) : 3470-2250-1650 ; UV-vis: λ_{abs1} = 280 nm (C=O) et λ_{abs2} = 383 nm (OH, éno).

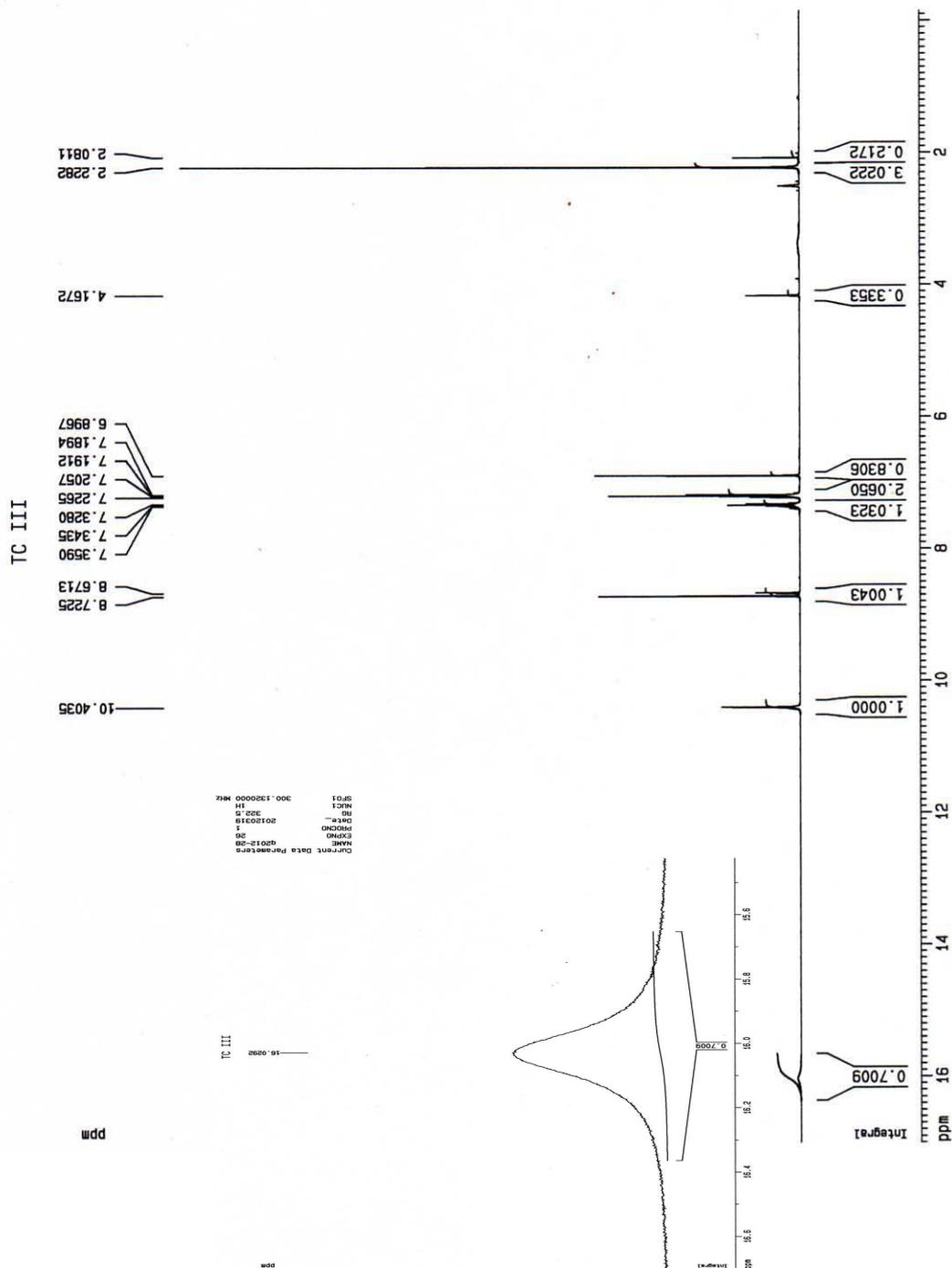
1-(3-oxo-3H-benzo[f]chromen-2-yl) butane-1, 3-dione (7) .

Ce composé est obtenu sous forme de cristaux oranges, Pf = 202 °C ; Rendement= 60 % (3,16 g); RMN ¹H (CDCl₃): δ 2.27 (S, 3H, 14-CH₃) , 4.26 (S, 2H, 12-CH₂, dione), 7.06 (S, 1H, 12-CH, enol), 7.39 (d, 1H, H-8), 7.55 (t, 1H, H-16), 7.68 (t, 1H, H-17), 7.87 (d, 1H, H-7), 8.02 (d, 1H, H-15), 8.29 (d, 1H, H-18), 9.31 (S , 1H ,H-4), 16.00 (S, large ,1H, OH, enol); RMN ¹³C (CDCl₃): 27.37 (14-CH₃), 57.00 (12-CH₂ , dione), 101.38 (12-CH, enol), 112.90 (CH-10), 116.36 (CH-8), 118.82 (CH-18), 121.61 (C-16), 126.51 (C-17), 128.98 (C-15), 129.08 (C-6), 129.30 (C-7) , 130.14 (C-3), 135.66 (C-5), 140.77 (C-4) , 154.79 (C-9), 158.02 (C-2) , 172.5 (C-11) , 199.31 (C-13, enol), 199.8 (C-13, dione); IR v (Cm⁻¹) : 3470-2250-1750 ; UV-vis: λ_{abs1} = 268 nm (C=O) et λ_{abs2} = 401 nm (OH, éno).

Spectre RMN ¹H à 300.13 MHz du composé 4

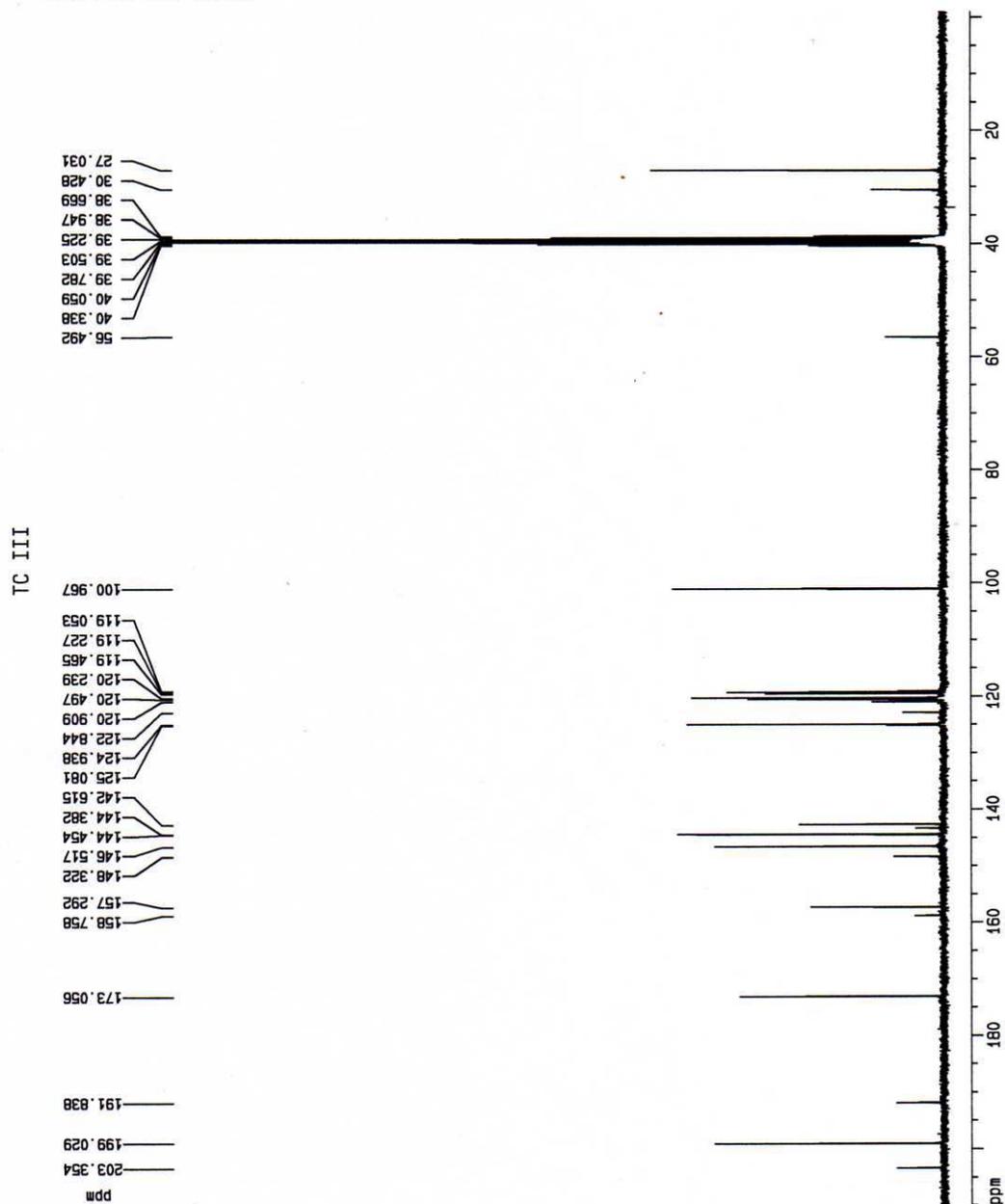
Spectre RMN ^{13}C à 75.47 MHz du composé 4

Current Data Parameters
 NAME q2012-28
 EXPNO 26
 PROCNO 1
 Date_ 20120319
 RG 322.5
 NUC1 1H
 SFO1 300.1320000 MHz

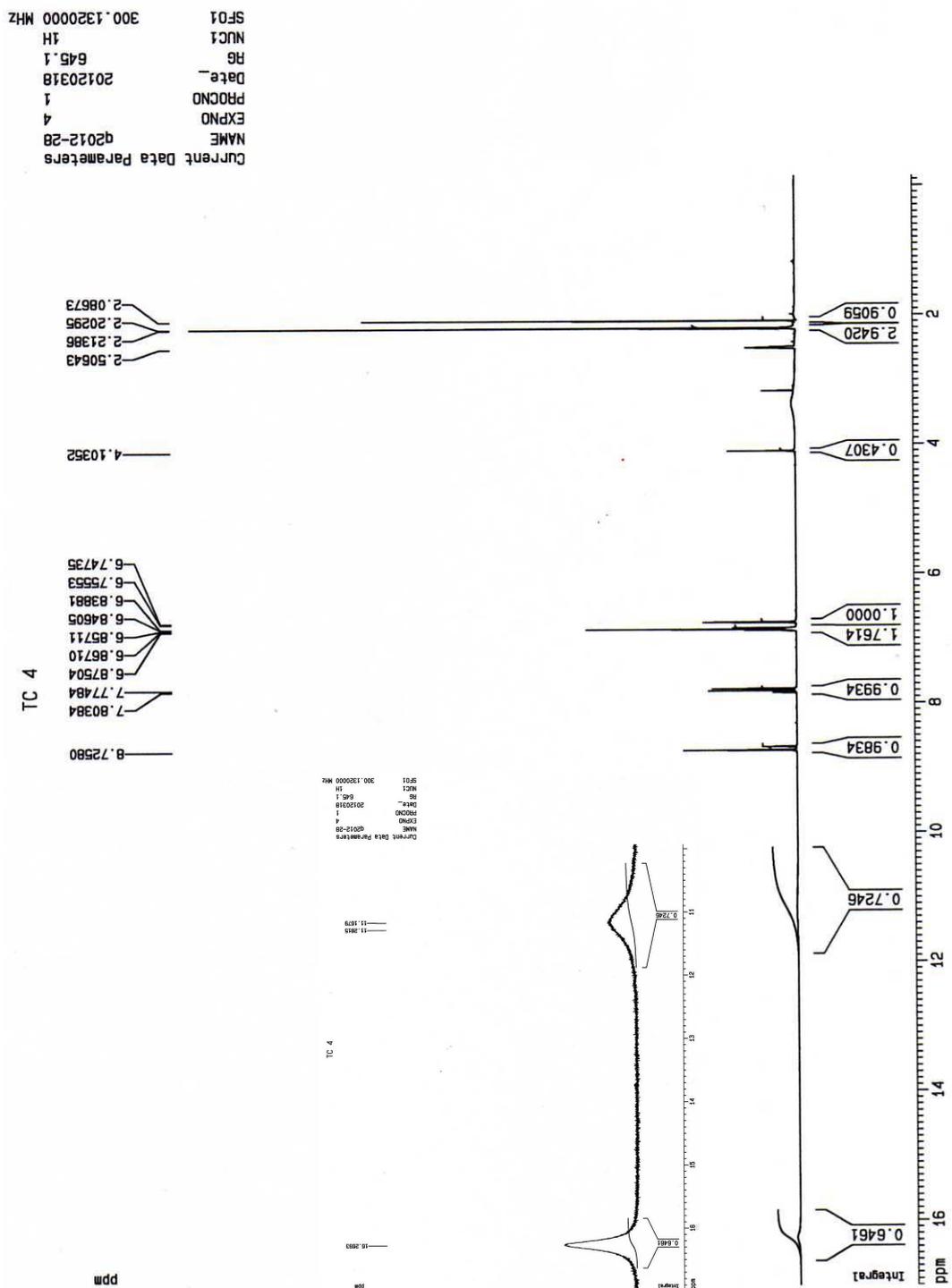


Spectre RMN ¹H à 300.13 MHz du composé 5

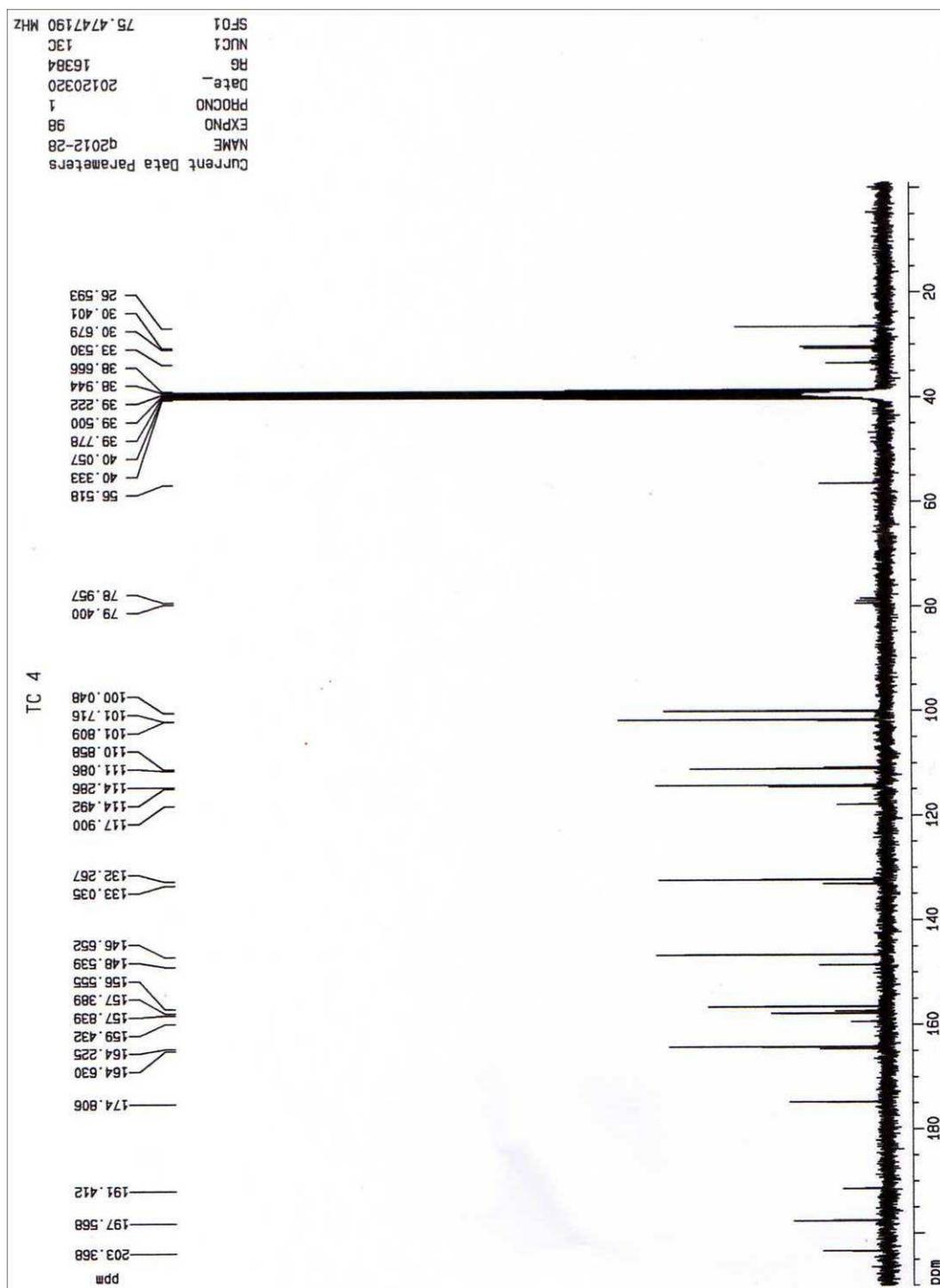
Current Data Parameters
NAME q2012-29
EXPNO 5
PROCNO 1
Date_ 20120321
RG 16384
NUC1 13C
SF01 75.4747190 MHz

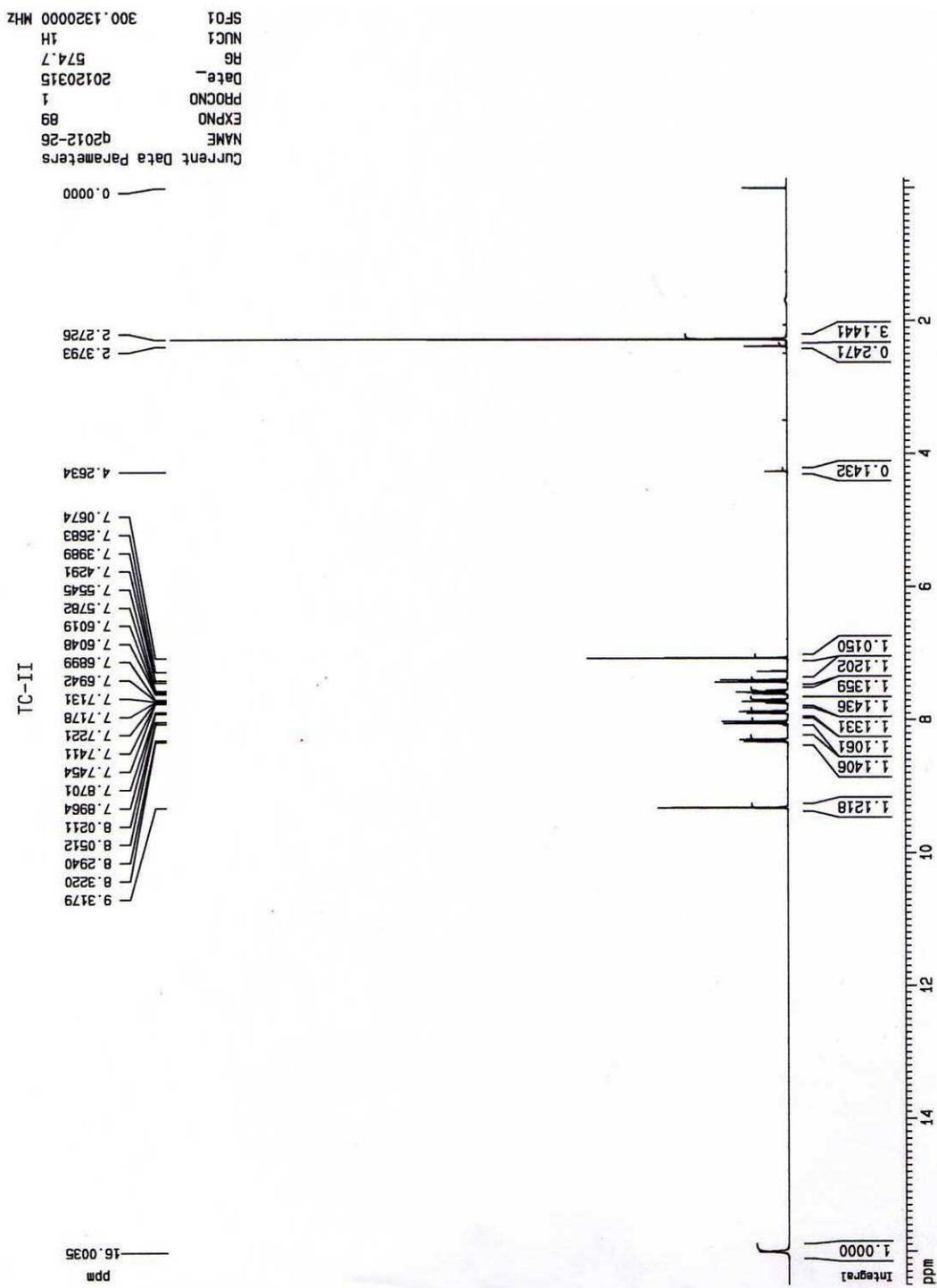


Spectre RMN ^{13}C à 75.47 MHz du composé 5

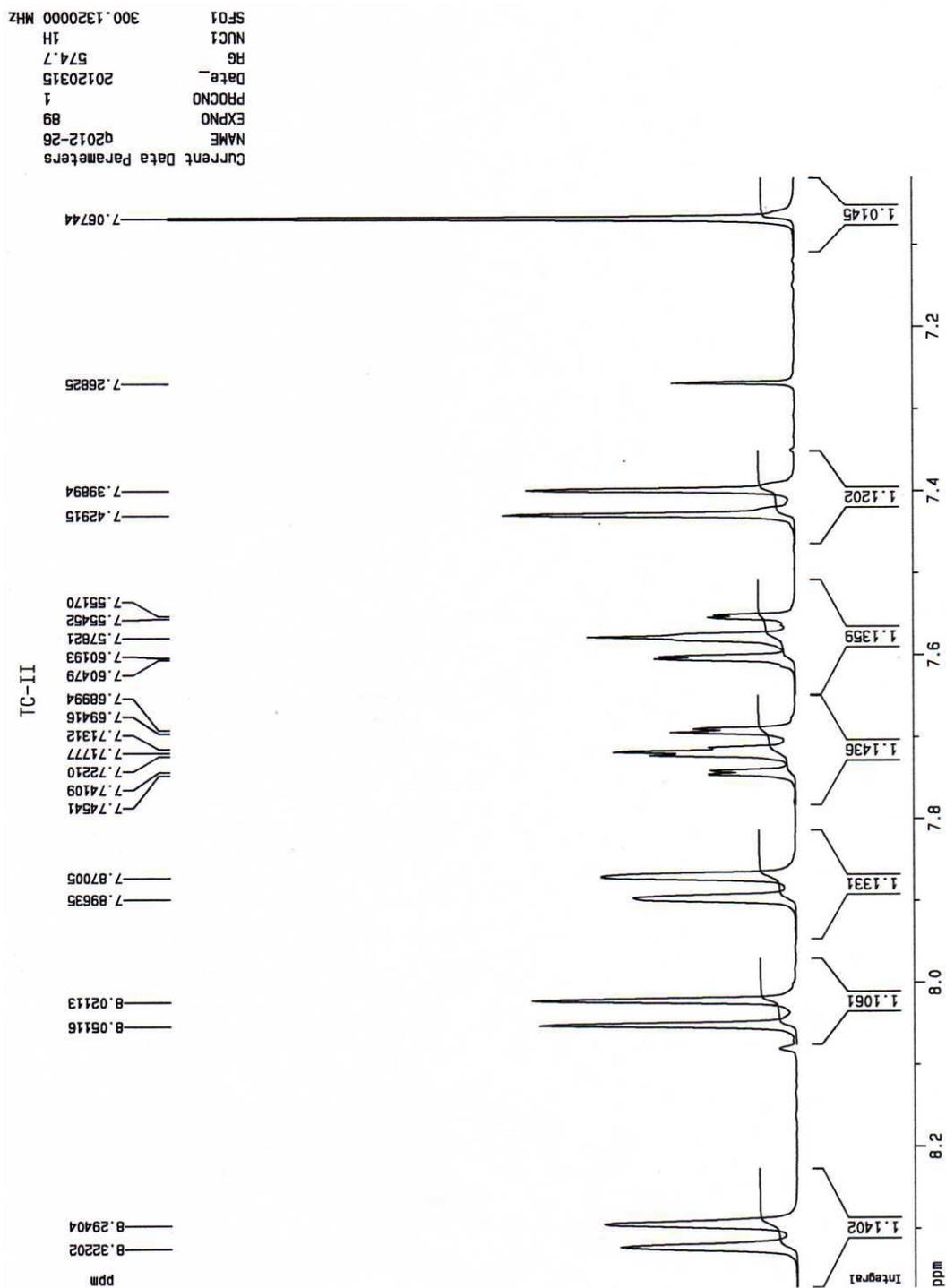


Spectre RMN ^1H à 300.13 MHz du composé 6

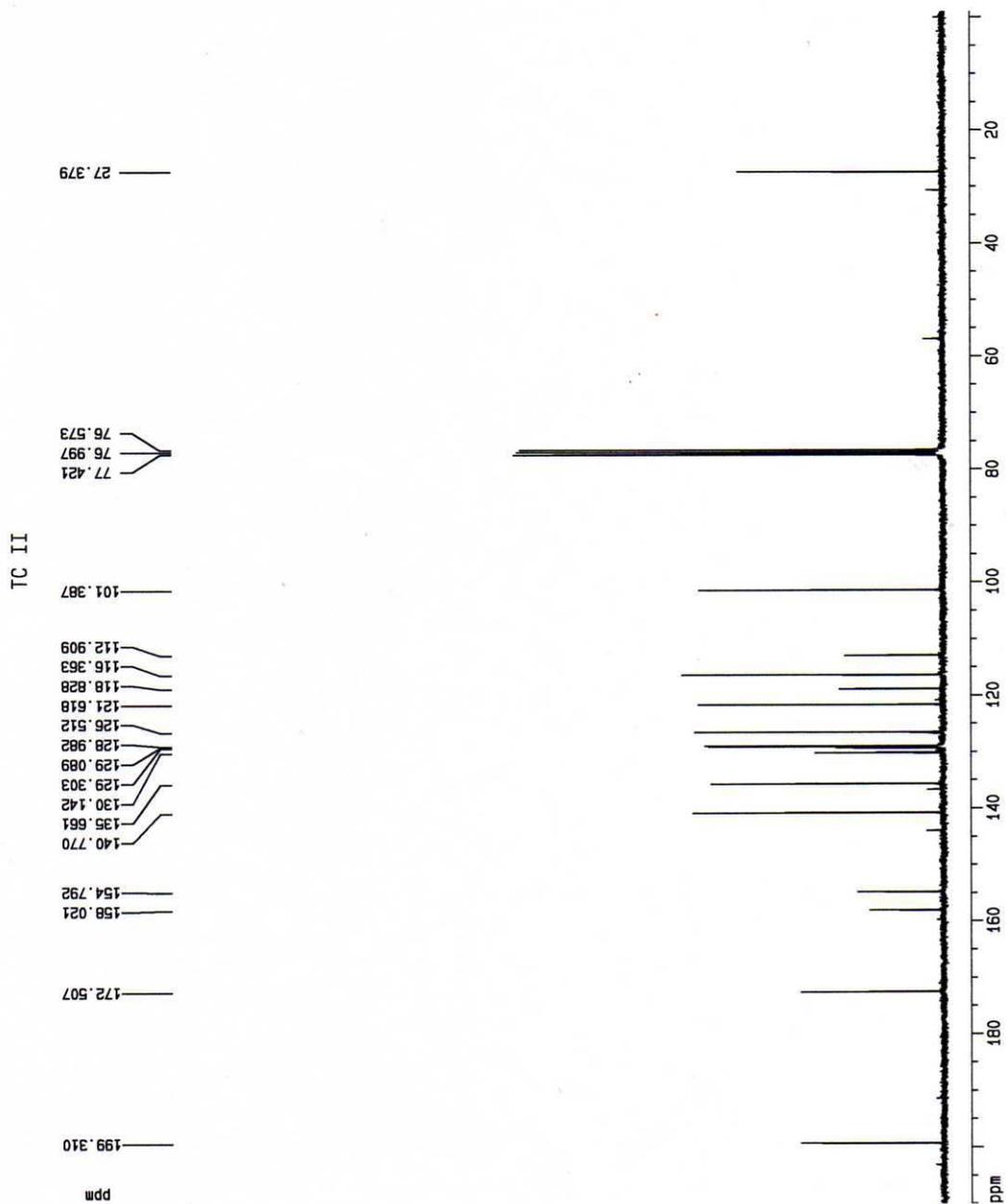
Spectre RMN ¹³C à 75.47 MHz du composé 6



Spectre RMN ^1H à 300.13 MHz du composé 7

Spectre RMN ¹H à 300.13 MHz étalé du composé 7

Current Data Parameters
NAME q2012-28
EXPNO 8
PROCNO 1
Date_ 20120318
RG 16384
NUC1 13C
SF01 75.4747190 MHz



Spectre RMN ^{13}C à 75.47 MHz du composé 7

CONCLUSION GENERALE

Au terme de ce mémoire, le but que nous étions fixés, à savoir la maîtrise des méthodes de synthèse en chimie organique, a été atteint.

L'action du formaldéhyde et du benzaldéhyde sur la 4-hydroxy coumarine **1** a été menée avec application des méthodes d'analyses spectroscopiques complètes.

La synthèse de coumarines par action des aldéhydes aromatiques 2-hydroxylés sur la 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone (TAL) **3a** a été confirmée par les différents points de fusion et différentes techniques d'analyses structurales et qualitatives.

Le nouveau produit **5** a fait l'objet d'une étude particulière. Ainsi pour la détermination de sa structure nous avons fait appel aux différentes techniques d'analyses (RMN ^1H et ^{13}C , UV/visible et IR).

L'activité biologiques des coumarines **4** à **7** n'est pas encore connue, nous aurons donc à rechercher ultérieurement leurs activités biologiques.

BIBLIOGRPHIE

- [1] Schorderet M. Pharmacologie. Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. OPU. Alger, 918p. (1992).
- [2] Repcak M., Imrich J., Fanekova M., Umbelliferone, a stress metabolite of *Chamomilla recutita* (L) Rauschert. *Plant Physiol*, 158; 1085: 1087 (2001).
- [3] Khan I., Kulkari M.V., Gopal M., Shahabuddin., Synthesis and biological evaluation of novel angularly fused polycyclic coumarins. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 15: 3584-3587 (2005).
- [4] Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, 3eme édition, Tec et Doc (ED). Paris, 658p. (1999).
- [5] Fylaktakidou K. C., Hadjipavlou-Litina D. J., Litinas K. E., Nicolaidis D. N. Natural and synthetic coumarin derivatives with antiinflammatory / antioxidant activities. *Curr. Pharm. Design.*; 10; 3813-3833 (2004).
- [6] Kayser O., Kolodziej H. Antibacterial activity of simple coumarins: Structural requirements for biological activity. *Z. Naturforsch.*; 54c: 169-174 (1999).
- [7] Gursoy A., Karali N. Synthesis, characterization and primary antituberculosis activity evaluation of 4-(3-coumarinyl)-3-benzyl-4-thiazolin-2-one benzylidenehydrazones. *Turk. J. Chem.*; 27; 545-551 (2003).
- [8] Bosignore L., Cottiglia F., Elkhaili H., et al. Synthesis and antimicrobial activity of coumarin 7 substituted cephalosporins and sulphones, *Farmaco.*; 30; 425-430 (1998).
- [9] Crowther M.A., Ginsberg J.S., Julian J., et al. Comparison of two intensities of warfarin for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid antibody syndrome. *N. Engl. J. Med.*; 18; 1133-1138 (2003).
- [10] Hahm H.A., Armstrong D. K., Chen T.L., et al. Novobiocin in combination with high-dose chemotherapy for the treatment of advanced breast cancer: A Phase 2 study. *Biol. Blood Marrow Transplant.*; 6; 335-343 (2000).
- [11] Sardari S., Mori Y., Horita K., et al. Synthesis and antifungal activity of coumarins and angular furanocoumarins. *Bioorg. Med. Chem.*; 7 ; 1933-1937 (1999).
- [12] Zhao H., Neamati N., Hong H., et al. Coumarin-based inhibitors of HIV integrase, *J. Med. Chem.*; 40; 243-249 (1997).

- [13]: Mazumder A., Wang S., Neamati N., Nicklaus M., et al. Antiretroviral agents as inhibitors of both human immunodeficiency virus type 1 integrase and protease. *J. Med. Chem.*; 39; 2472-2481 (1996).
- [14]: Aoife L., O’Kenedy R. Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *Curr. Pharm. Design.*; 10 ; 3797-3811 (2004).
- [15]: Davorca Završnik , Samija Muratović , Damjan Makuc, Janez Plavec, Mario Cetina, Ante Nagl, Erik De Clercq, Jan Balzarini and Mladen Mintas. Benzylidene-bis-(4-Hydroxycoumarin) and Benzopyrano-Coumarin Derivatives: Synthesis, ¹H/¹³C-NMR Conformational and X-ray Crystal Structure Studies and In Vitro Antiviral Activity Evaluations. *Molecules*, 16, 6023-6040 (2011).
- [16]: C. Doucet, L. Pochet, N. Thierry, B. Pirotte, J. Delarge, M. Reboud-Rvaux, J. Med. Chem., 42, 4161-4171 (1999).
- [17]: L. Pochet, C. Doucet, M. Schynts, N. Thiery, N. Boggetto, B. Pirotte, K. Y. Jiang, B. Masereel, P. de Tullio, J. Dlarge, M. Reboud-Ravaux, *J. Med. Chem.* , 39, 2579-2585(1996).
- [18]: P. De March, M. Moréno-Manas, R. Pleixats and J. L. Roca, *J. heterocyclic. Chem.*, 21, 1371 (1984).
- [19]: P. De March, M. Moréno-Manas, R. Pi and A. Trius, *J. hétérocyclique. Chem.*, 19, 35 (1982).
- [20]: M. Moréno-Manas, E. Papell, R. Pleixats, J. Ribas, A. Virgili, *J. heterocyclic. Chem*, 23, 413 (1986).
- [21]: P. De March, M. Moréno-Manas, R. Pleixats, J. L. Roca, *J. heterocyclic. Chem.*, 21, 1369 (1984).
- [22]: P. De March, M. Moréno-Manas, J. Cazado, R. Pleixats, J. L. Roca and A. Trius, *J. heterocyclic. Chem.*, 21, 85 (1984).
- [23]: Ossama Saleh Darwish, Kirsten A. Granum, Quang Tan and Richard P. Hsung, *Tetrahedron Letters*, 42, 3283-3286 (2001).

- [24]: M. Makhloufi-Chebli, M. Hamdi, A. M. S. Silva, F. Balegroune, J. Sos. Alger. Chim., 18 (1), 91-101 (2008).
- [25]: M. Makhloufi-Chebli, Thèse de doctorat U.S.T.H.B (2009).
- [26]: A. Bendaas, M. Hamdi, N. Sellier, J. heterocyclic. Chem., 36, 1291-1294 (1999).
- [27]: Y. Rachedi, M. Hamdi, R. Sakellariou, Synth. Commun., 21(10 et 11), 1189-1199 (1991).
- [28]: B. Boutemeur-Kheddis, M. Hamdi, N. Sellier, A. M. S. Silva, J. heterocyclic. Chem., 37, 1 (2000).
- [29]: M. Hamdi, Reine Sakellariou and V. Speziale, J. heterocyclic Chem. 29,1817 (1992).
- [30]: B. Boutemeur-Kheddis, Thèse de doctorat d'état U.S.T.H.B (2001).
- [31]: E. KNOEVENAGEL, Ber., 37, 4461 (1904).