



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de Recherche Scientifique

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA



Faculté des Sciences

Département de Chimie

Mémoire présenté par

ELMEKCHOUCHI NAIMA

**En vue d'obtenir le diplôme de master**

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

**Option : Chimie des substances naturelles**

**Synthèse des pyrimidinetriones et des  
thioxypyrimidine-diones analogues à l'Aplysinopsine**

Soutenue le 10 octobre 2012

Encadré par Mme S.KASMI

« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage ».



## REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience pour mener à bien mon travail de fin d'étude.

J'adresse tout d'abord mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur **M.El-Hattab**

Merci de m'avoir acceptée au sein de votre *master option Chimie des Substances Naturelles*.

Vos conseils, vos encouragements, et votre assistance morale et matérielle pour la réalisation de ce travail m'ont été très bénéfiques.

Toute ma gratitude s'adresse au Docteur S.Kasmi-Mirpour de m'avoir guidée à réaliser ce mémoire de master, pour ses encouragements, sa patience, sa disponibilité, son soutien plus particulièrement pendant la rédaction de ce mémoire. Merci de m'avoir initiée à la paillasse.

Je remercie vivement tous les membres de jury, Pour avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie tout particulièrement ma famille qui m'a toujours soutenue dans mes choix, et qui était présente chaque fois que cela a été nécessaire. Merci Maman, Merci Papa, Merci mes Sœurs, mes Frères. C'est avec vous que j'ai partagé mes joies, mes peines, vous m'avez soutenu grâce à votre présence, à votre sourire, à votre amitié.

## *DEDICACES*

### *Je dédie ce modeste travail*

#### *A mon père*

*J'ai toujours trouvé auprès de toi, compréhension et soutien. Tes prières et tes conseils ne m'ont jamais fait défaut tout au long de mes études. Trouve à travers ce modeste travail, la récompense de ton affection, de tes sacrifices et de ta patience.*

#### *A ma mère*

*Maman, je n'oublierai jamais tes sages conseils prodigués à mon endroit. C'est toi qui disais qu'on ne remercie pas ses parents. Seulement, je ne trouve pas aujourd'hui un moyen d'éviter de te remercier pour tout ce que tu as fait pour nous. Ce travail est également le fruit de ton amour, tes bénédictions et surtout ta bonne éducation. Je voudrais à travers ce modeste travail, te rendre un hommage mérité et te dire combien je suis fier de l'éducation que tu nous as donnée.*

*A mes frères et soeurs : fatiha, sabrina, aïcha, hassiba, wahid, aziz et masbah, Ratiba. Pour vos conseils et vos encouragements. Recevez à travers ce modeste travail l'expression de ma profonde gratitude et de ma sincère reconnaissance.*

*A mes camarades et amis : ma chère Jamila, Salma H, Naïma K, Meriem, Salma B, Hamida, Rachida, Samira, Fadila, Dalila, Khadija, Nor, Soumia, Mohamed, Khaled, Sidehmed, Hanane, Hayat, Khira, Amel.*

*Continuons dans la voie de la consolidation de nos liens d'amitié et de fraternité gardons toujours l'esprit d'équipe. Bonne chance à nous tous.*

*A mes amis d'enfance : Hanane, Hayat, Khira, Amel.*

*J'aimerais tout particulièrement remercier IMEM Pour vos mains qui ont tant travaillé, Pour votre cœur qui m'a tant donné, Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé.*

*A tous ceux qui se rappellent encore de mon nom.*

# SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
CHAPITRE I .....	4
Rappelle bibliographie sur les analogues à l'aplysinosine.....	4
Introduction.....	5
I-1-Historique .....	7
I-2/Activités biologiques .....	9
II/ Méthodes d'obtention de l'Aplysinopsine.....	10
II-1/Par extraction .....	10
II-2/ par voie de synthèse .....	11
II-2-1/ Réaction de condensation de l'indole sur l'hydantoine en présence du DMFDMA.....	11
II-2-2/ Réaction de Knoevenagel.....	11
II-2-3 /Méthode par mode « one pot ».....	12
II-2-4 La condensation de la formylindole avec N-acétylglycine.....	13
III-Les méthodes de caractérisation.....	13
III-1-La CCM.....	13
III-2 / Les Technique spectroscopiques utilisées.....	14
<b>IV-Conclusion</b> .....	16
CHAPITRE II.....	17
Synthèse d'analogues à l'Aplysinopsine : Les pyrimidines triones et les thioxopyrimidinesdiones.....	17

Introduction.....	18
II - Préparation des précurseurs d'analogues à l'Aplysinopsine .....	18
II-1 -Le 2-méthyl indole.....	18
a) Mode opératoire.....	18
b) Mécanisme réactionnelle par synthèse de Fischer.....	19
C) Description du 2-méthylindole.....	20
II-2/ Le 2-méthyl-3-carboxylaldéhyde indole.....	21
a) Réaction de formylation de Vilsmeier-Haack.....	21
b) Obtention d'aldéhyde indolique.....	23
C) Mode opératoire.....	24
d) Description de l'aldéhyde indolique.....	24
II-2-3-Les méthylènes actifs.....	26
Les barbituriques .....	26
a) Propriétés physico- chimiques .....	27
b) Synthèse des barbituriques.....	28
c) Mode opératoire .....	30
d) Description des produits .....	31
III- Synthèse des analogues à l'Aplysinopsine.....	32
III-A -Méthode 1.....	32
A-1-Schéma rétrosynthétique.....	32
A-2- Mode opératoire .....	32

A-3- description des analogues à l'aplysinosine.....	33
III-B-Méthode 2.....	37
B-1-Schéma rétrosynthétique.....	37
B-2 /Mode opératoire .....	37
B-3) description des analogues à l'aplysinosine.....	39
III-C- Méthode 3 .....	43
C-1-Schéma rétrosynthétique.....	43
C-2-) Mode opératoire.....	43
C-3-Description des analogues .....	44
VI-Propriétés pharmacologiques.....	48
VI-1-Characterisation des propriétés antioxydants.....	48
A-L'oxydation en agro-alimentaire.....	48
B- Les antioxydants.....	49
C-Définition d'un antioxydant.....	52
D-Réduction de fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) .....	53
E-Mode opératoire.....	53
F-Interprétation des résultats.....	57
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>58</b>
Les Références bibliographiques .....	59

## Résumé

L'objectif de ce travail repose sur la synthèse des pyrimidine-triones et thioxypyrimidine – diones qui sont des analogues à l'Aplysinopsine. Pour réaliser notre travail de synthèse, nous avons utilisé comme réactifs de départ le 2-méthylindole et les acides barbituriques et thiobarbituriques. Ces analogues présentent un réel potentiel pharmacologique anti-tumoral , anti-spasmodique et anti-microbien et qui se trouve principalement dans les spongiaires.

Nous avons tout d'abord fait un bref rappel sur les précurseurs nécessaires à la synthèse de ces analogues . Il s'agit .le 2-méthyl indole , le 2-méthyl-1H-indole-3-carbaldehyde et les méthylènes actifs comme l'acide 1,3-diméthylbarbiturique et le 1,3-diméthyl-2-thiobarbiturique. La condensation de ces précurseurs a permis d'obtenir des analogues à l'Aplysinopsine selon la réaction de Knoevenagel . Les analogues ont pu être caractérisés par la méthode spectroscopique , l'infrarouge.

Deux de ces analogues ont subi le test antioxydant par la méthode FRAP. Les résultats obtenus ont confirmé la présence d'activité antioxydante de ces molécules..

Mots clés : Indole, aplysinopsine, pyrimidinetriones, thioxypyrimidine-diones, acide barbiturique, acide thiobarbiturique

## Summary

The objective of this work is based on the synthesis of pyrimidine-triones and thioxypyrimidine-diones which are analogues to Aplysinopsine. To achieve our synthetic work, we used as starting reagents 2-methylindole and barbituric acids and thiobarbituric. These analogs have a real potential pharmacological anti-tumor, anti-spasmodic and anti-microbial and is mainly found in sponges.

We first briefly recall the necessary precursors for the synthesis of these analogues. This is. 2-methyl indole, 2-methyl-1H-indole-3-carbaldehyde and active methylene as 1,3-dimethyl and 1,3-dimethyl-2-thiobarbituric. The condensation of these precursors has yielded similar to Aplysinopsine by Knoevenagel reaction. The analogs were characterized by spectroscopic method, the infrared.

Two of these analogues were tested by the method FRAP antioxidant. The results confirmed the presence of antioxidant activity of these molecules .

Keywords: Indole, aplysinopsine, barbituric acid, thiobarbituric acid, pyrimidine-triones, thioxypyrimidine-diones

## Liste des abréviations

ACOH : acide acétique

ACONA: acétate de sodium

AC<sub>2</sub>O: anhydride acétique

AgNO<sub>3</sub> : nitrate d'argent

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : dichlorométhane

cm : centimètre

CCM : chromatographie en couche mince

° C : degré Celsius

DMSO : diméthylsulphoxyde

DMFDMA: Dimethylformamide diméthyleacétal

DMF: N,N-diméthylformamide

Et : éthyle

EtOH : éthanole

ET<sub>3</sub>N : triéthylamine

HCl: acide chloridrique

Fe : Fer

Fe<sup>2+</sup>: Fer ferreux

Fe<sup>3+</sup>: Fer ferrique

FeCl<sub>3</sub>: Chlorure de fer

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

H<sub>2</sub>O: eau

h : heures

IR : spectroscopie infrarouge

KOH: hydroxyde de potassium

KBr : bromure de potassium

K<sub>3</sub>Fe (CN) <sub>6</sub> : Ferricyanure de potassium

l : litre

Me :méthyle

mn : minute

mmol : millimole

ml : millilitre

mg : milligramme

μl : microlitre

MgSO<sub>4</sub>:sulfate de magnésium

nm : nanomètre

NaOH : hydroxyde de sodium

Pf : point de fusion

PH : potentiel d'hydrogène

Ph : phényle

POCl<sub>3</sub> : trichlorure de phosphore

Schéma 22 : Schéma retrosynthétique des analogues 8(a-b)

Schéma 23 : réaction de préparation des analogues 8(a-b)

Schéma 24 : les étapes de réaction d'Oxydation d'un acide gras insaturé

Schéma 25 : Le processus d'oxydation des phénols

## Introduction générale

En raison des avancées des connaissances dans la compréhension des mécanismes cellulaires, l'identification de nouvelles cibles potentielles pour le traitement médical, un besoin pressant en nouvelles structures organiques se fait sentir. La synthèse totale est un art s'inscrivant pleinement dans cette demande, puisqu'elle permet à la fois l'accès à des structures biologiquement actives connues, mais également à de nombreux intermédiaires synthétiques de structure originale [1].

La mer et l'océan sont la source d'un nombre considérable de produits naturels bioactifs à structures hautement élaborées. Si ceci fait d'eux l'une des plus prometteuses sources de médicaments potentiels, la faible quantité isolée limite en général la portée des tests biologiques, contraignant les chimistes organiciens à en développer des synthèses totales. C'est pourquoi la synthèse organique est devenue une science où l'imagination et l'audace sont devenues des qualités indispensables [2].

Ce travail de mémoire s'inscrit dans ce cadre, puisqu'il a consisté à préparer par voie chimique des composés analogues à ceux isolés d'éponges marines aux activités biologiques prometteuses. Ces molécules sont des analogues à l'Aplysinopsine.

Nous entamerons ce manuscrit par la présentation d'une étude bibliographique relative à la synthèse des analogues à l'Aplysinopsine qui sont des composés appartenant à la classe des alcaloïdes indoliques et qui présentent un réel potentiel pharmacologique : anti-spasmodique et anti-microbien [3]. Les analogues à l'Aplysinopsine se trouvent principalement dans les spongiaires, mais aussi dans les coraux. L'aplysinopsine a été isolée pour la première fois par Walls à partir de l'éponge *Thorectasp*, collecté dans la grande barrière australienne [4].

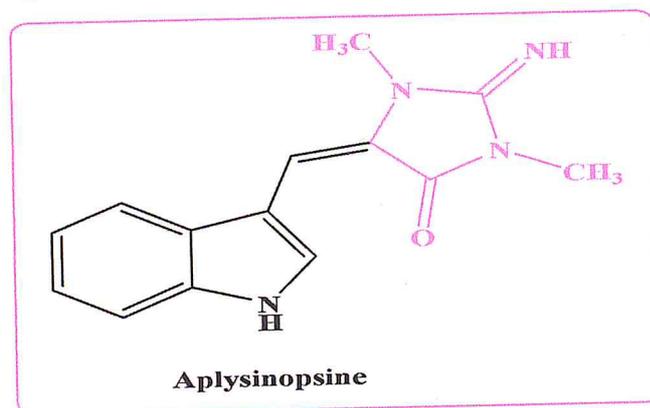


Figure 1

Le nombre des analogues d'Aplysinopsine a augmenté depuis plus d'une décennie et à ce jour trente dérivés ont été signalés dans la nature. La préservation de l'écosystème marin dépend du protocole d'extraction et de la manière raisonnable d'exploiter les ressources marines [5].

La synthèse organique peut être une solution grâce à ses nombreux avantages et qui sont :

- Les produits sont obtenus avec une grande pureté.
- La composition du mélange est connue.
- Elle est économique, car moins coûteuse en comparaison avec les méthodes d'extractions et d'isolement.
- La méthode est rentable (rendements plus élevés) [6].

Compte tenu de l'importance pharmacologique des analogues à l'Aplysinopsine, nous avons utilisé la voie synthétique pour la préparation des pyrimidine-triones et thioxopyrimidine -diones, qui constituent une classe appartenant à la famille de l'Aplysinopsine.

Pour réaliser notre travail, nous avons procédé comme suit :

- Synthèse du 2-méthyle indole et indole selon la réaction de Fischer
- Formylation du 2-méthylindole grâce à la réaction de Fischer.
- Réaction de Knoevenagel pour la réaction de condensation de l'aldéhyde indolique sur des méthylènes actifs en présence d'une base organique.
- Parmi les méthylènes actifs utilisés, notre choix s'est porté sur l'acide barbiturique et l'acide thiobarbiturique, composés connus pour leur caractère pharmacologique importants [7].
- Synthèse de la chalcone obtenue selon la réaction de condensation de l'acétone avec l'aldéhyde indolique. La chalcone réagira à son tour avec les méthylènes actifs, l'acide barbiturique et l'acide thiobarbiturique.
- Et enfin la condensation d'un autre motif, la diphenylpenténone avec les deux méthylènes actifs en présence de pipéridine. La diphenylpenténone est obtenue à partir de l'indole et de la dibenzylidène acétone (DBA) selon la réaction de Michaélis. La DBA est un précurseur que nous avons

préparé en Master I dans le cadre des travaux pratiques de synthèse organique.

Les analogues à l'Aplysinopsine synthétisés ont été caractérisés par les méthodes spectroscopiques telles que l'infrarouge . Des échantillons ont été envoyés en France pour la détermination structurale de ces composés par résonance magnétique nucléaire, RMN<sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C.

Des tests d'antioxydant ont été également réalisés sur ces échantillons.

Notre mémoire comporte deux chapitres :

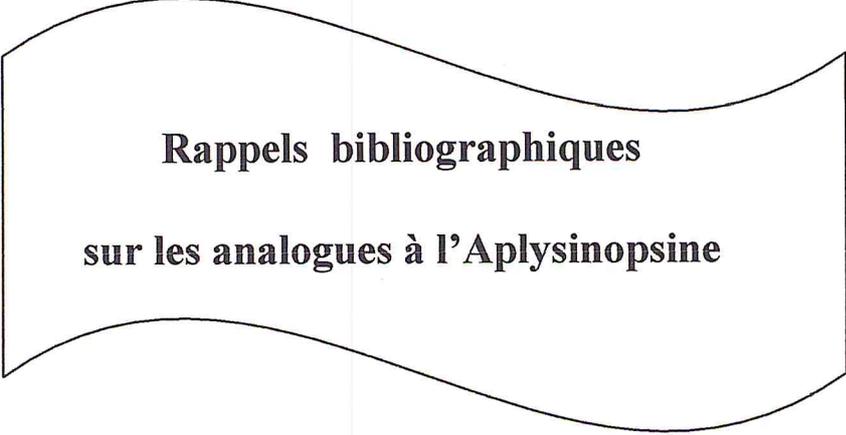
- Le premier est un rappel bibliographique sur les analogues à l'Aplysinopsine naturelles ou synthétiques ainsi que leur domaine d'application.
- Le deuxième chapitre portera sur la synthèse des pyrimidinetriones et des thioxopyrimidinediones qui sont des analogues à l'Aplysinopsine.



Pour les réaliser ,nous nous sommes intéressées aux précurseurs de ces produits ,le 2-méthyle indole a été choisie comme molécule chef de file. Ce composé appartient à la famille des alcaloïdes qui sont les plus bioactifs des métabolites marins [8].

Enfin, nous concluons et présenterons les perspectives de ce travail.

## **CHAPITRE I**



### **Rappels bibliographiques sur les analogues à l'Aplysinopsine**



Figure 2: *Astroides calycularis*

Jusqu'à ce jour, environ 30 analogues se produisant dans la nature ont été signalés. La présence de substances antimicrobiennes dans les organismes marins a été décrite comme un bien commun phénomène. Plusieurs chercheurs ont également évalué les propriétés antimicrobiennes d'Aplysinopsine et également comme un puissant inhibiteur sélectif contre les cellules cancéreuses [13].

Nous nous intéresserons plus particulièrement à la synthèse des pyrimidine-triones et thioxypyrimidine -diones, analogues à l'Aplysinopsine. Les produits finaux synthétisés seront caractérisés par des méthodes Spectroscopiques tels que UV-VIS, l'Infrarouge, la RMN<sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C.

Des tests antioxydants ont été également réalisés.

En 1980, un extrait de l'éponge *Dercitusspde Belize* a montré l'existence d'un analogue d'Aplysinopsine en faible quantité il s'agit de la 2'-de-N-méthylaplysinopsine et 6-bromo-2'-de-N-méthylaplysinopsine [18].

- A la fin de 1980, l'analyse des extraits de l'éponge *Simenospongia aurea* des Caraïbes a révélé la présence d'un nouveau produit dérivé sous le nom de 6-bromo-3'-deimino-2',4'-bis (diméthyl)-3-oxoaplysinopsine et en 1981, le N-méthylaplysinopsine, un autre dérivé de l'aplysinopsine a été isolé de l'algue *aplysinopsinerecticulata* [19].
- Durant l'année 1982, les extraits du *coccineatubastzara* révèlent la présence de deux autres composés, le 2'-de-N-méthylaplysinopsine et le 6-bromo-2'-de-N-méthylaplysinopsine, et ainsi que le nouveau naturel 6-bromoaplysinopsine [17].
- En 1988, deux nouveaux analogues ont été identifiés à partir de deux coraux [18]. Cet extrait de *Tubastraea* contient un nouveau oxoaplysinopsine, extrait de *pruvotileptopsammia* contenant le bis (diméthyl)-3'-oxoaplysinopsine et aussi le bis (diméthyl)-3'-oxoaplysinopsine.
- Une année plus tard, deux autres analogues le 2'-diméthyl-3'-N-méthylaplysinopsine et les dérivés du 6-bromo ont été isolés de *Dendrophyllia* avec 2'-de-N-méthylaplysinopsine et 6-bromo-2'-de-N-méthylaplysinopsine [20].
- Il a été montré par la suite que les diverses aplysinopsines subissent une photoisomérisation [21].

## I-2/Activités biologiques

La mer et l'océan sont la source d'un nombre considérable de produits naturels bio-actifs à structures hautement élaborées. Si ceci fait d'eux l'une des plus prometteuses sources de médicaments potentiels, la faible quantité isolée limite en général la portée des tests biologiques, contraignant les chimistes organiciens à en développer des synthèses totales. C'est pourquoi la synthèse organique est devenue une science où l'imagination et l'audace sont devenues des qualités indispensables [2]. La molécule d'Aplysinopsine et leurs dérivés appartiennent aux alcaloïdes marins qui sont aujourd'hui une source importante de substances actives grâce à la présence de noyaux indoliques [4]. Ces dérivés présentent des activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antitumorales ainsi que certaines activités antimalariales [22]. Ces composés ont intéressé de nombreux groupes de chercheurs pour leur potentiel thérapeutique mais également pour l'étude de leur rôle écologique [23].

**Tableaux 1:** La source et l'activité des aplysinopsines isolées de la nature

Source	Activité biologique	référence
<i>Aplysinasp.</i> éponge au Japon	Anticancéreux	[19]
<i>Smenospongiaaurea</i> éponge au Jamaïque	Antiplasmodiale	[17]
<i>Aplysinopsinereticulata</i> éponge au Australie	Inhibiteur de – antidépresseurs	[18]
<i>Smenospongiaaurea</i> éponge au Jamaïqu	monoamine oxydase	[23]
Aplysinopsine	Antimicrobienne	[22]
	Anticancéreuse	[2]

## II/ Méthodes d'obtention de l'Aplysinopsine

Après avoir isolé l'Aplysinopsine à partir d'une source marine, plusieurs méthodes de synthèse ont été développées et de nombreux nouveaux composés synthétiques ont été obtenus [22].

### II-1/Par extraction

En utilisant une éponge marine fraîche du genre *hyrtioserecta*, son extrait acétonique a été mis dans un mélange d'acétate d'éthyle /eau, afin d'avoir une partie soluble dans l'acétate d'éthyle, qui va être fractionnée et exploitée pour la séparation des composés par HPLC, et afin d'obtenir les produits dérivés d'aplysinopsine suivant [24] :

a- 5, 6-dibromo-2'-dimethylaplysinopsine Z

b- 5, 6-dibromo-2'-dimethylaplysinopsine E

c- 6-bromo-2'-dimethylaplysinopsine Z

d- 5, 6-dibromo-3-(2-methylaminoethyl) indole

e- 5, 6-dibromo-3-(2-aminoethyl) indole

La procédure d'extraction s'est déroulée comme suit:

Un échantillon d'environ 6kg d'éponge marine *hyrtioserecta* a été recueilli de l'île d'Iriomote, et extrait avec 10litres d'acétone à température ambiante en trois fois.

Le résidu obtenu après évaporation du solvant sous pression réduite a été partitionné en un mélange acétate d'éthyle /eau, ensuite la phase de l'acétate a été évaporée pour donner une partie soluble dans l'acétate (m=40g), qui a permis l'obtention de trois fractions :

Fraction A : avec une masse de 0,76g

FractionB : avec une masse de 0,14g

Fraction C : avec une masse de 0,71g

Comme résultat de cette extraction, on obtient :

le 5,6-dibromo-2'-diméthylaplysinopsine Z (12mg, 0,6 % de l'extrait)

le 5,6-dibromo-2'-diméthylaplysinopsine E (1,5mg, 0,07%)

et 6-bromo-2'-diméthylaplysinopsine Z (4,4mg, 0,22%)

## II-2/ par voie de synthèse

Plusieurs méthodes de préparation d'Aplysinopsine et ses analogues à partir de divers précurseurs, sont décrites dans la littérature, nous exposerons dans ce mémoire quelques synthèses pratiques.

### II-2-1/ Réaction de condensation de l'indole sur l'hydantoïne en présence du DMFDMA dans Schéma 2 [25].

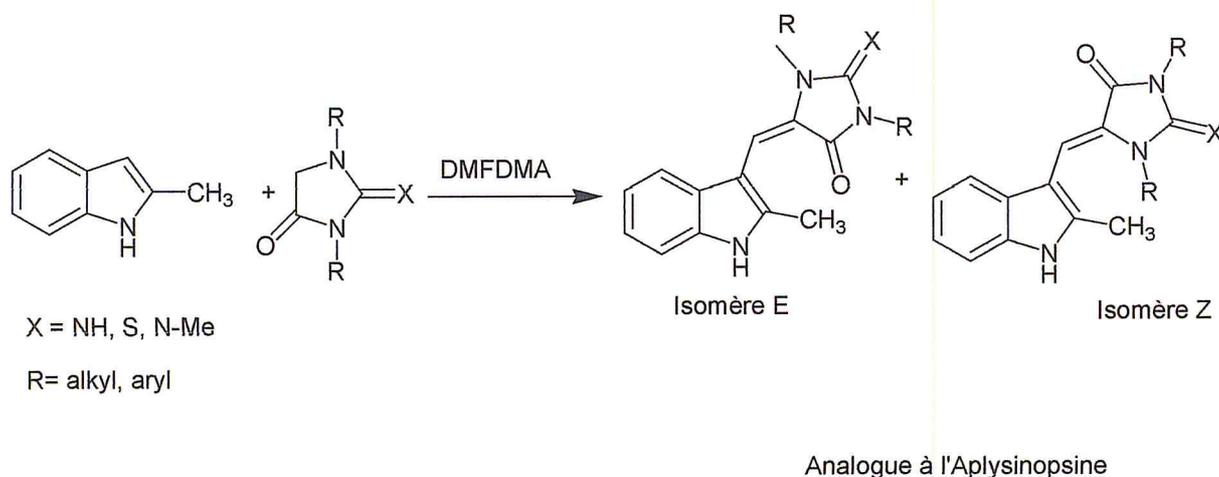


Schéma 1

### II-2-2/ Réaction de Knoevenagel

#### -Principe de la réaction

Un carbanion formé à partir d'une molécule de formule générale X-CH<sub>2</sub>-Y, et parfois X-CH<sub>3</sub>, pour laquelle les groupes X et Y, différents ou identiques, sont électroattracteurs comme COOR, CN, COOH, COR, CHO, NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>R, attaque un aldéhyde ou une cétone dépourvu, le plus souvent, d'hydrogène en α du groupe

carbonyle, comme les aldéhydes aromatiques, conduit à un composé hydroxylé qui, dans la plupart des cas, élimine une molécule d'eau avec formation d'une double liaison. Il s'agit d'une addition - élimination (une condensation) [26].

Parmi ces méthodes, nous pouvons citer les travaux réalisés au sein de notre laboratoire [27]. Il s'agit de la condensation des méthylènes actifs appartenant à la famille de la rhodanine et des iminothiazolines représentée dans Schéma 2 et 3.

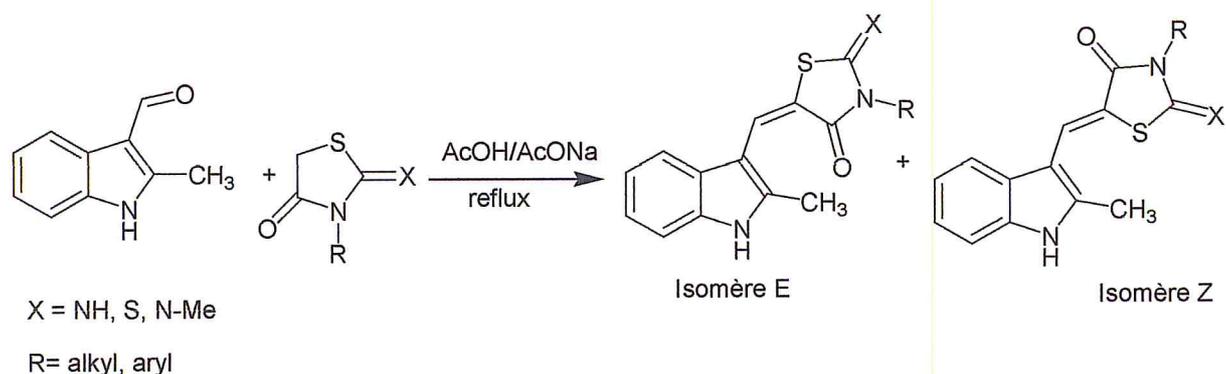


Schéma 2

### II-2-3 /Méthode par mode « one pot » [27]

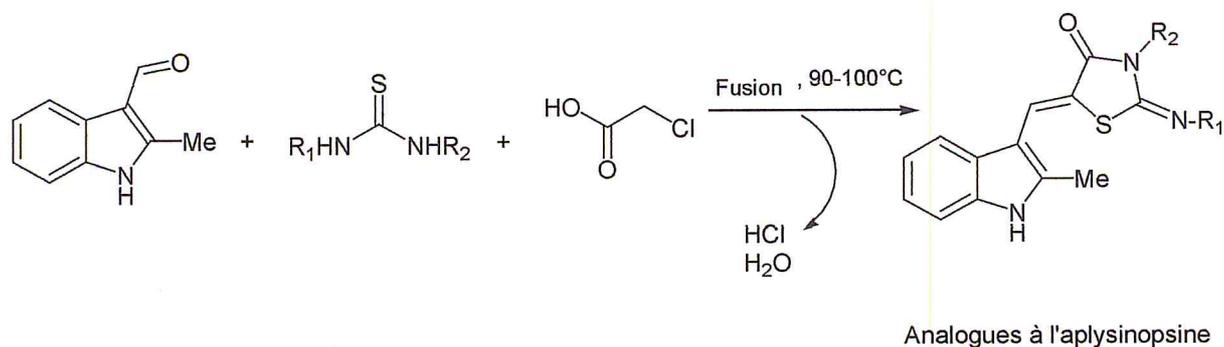


Schéma 3

II-2-4 -La condensation de la formylindole avec N-acétylglycine dans schéma 4 [28,29].

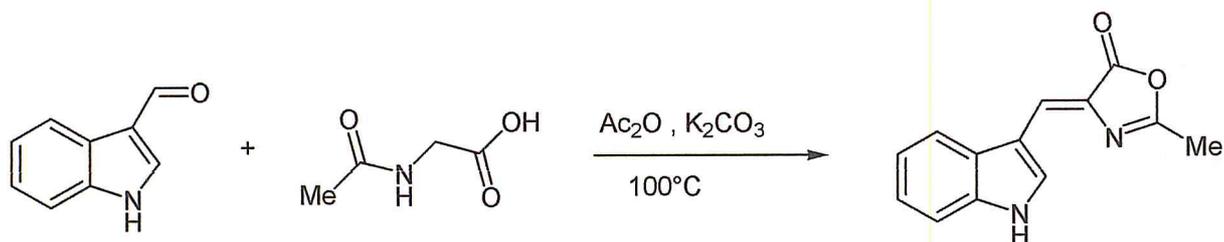


Schéma 4

### III-Les méthodes de caractérisation

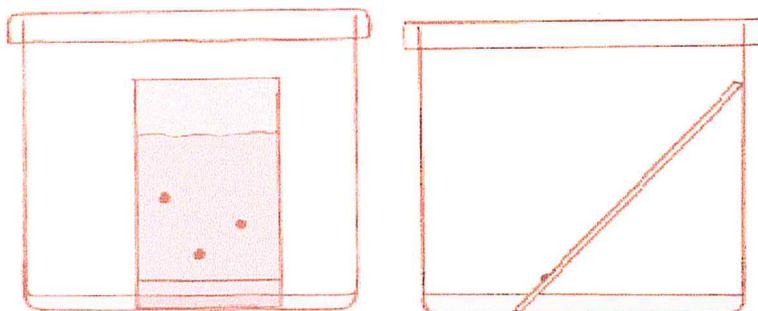
La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM)

#### III-1 -La CCM

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium [30].

##### ➤ Principe de la technique

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires [31].



**Figure 4**

### **III-2 - Les Technique spectroscopiques utilisées**

Les techniques d'analyses sont utilisées pour déterminer la composition chimique et la structure des molécules. Dans notre mémoire on a utilisé les méthodes suivantes :

#### **III-2-1-Spectroscopie Infrarouge a Transformée de Fourier (IRTF)**

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed InfraRed spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans la molécule [32].

Nous allons nous intéresser particulièrement à la présence des fonctions suivantes :

La fonction C=O qui absorbe à  $1690-1830\text{cm}^{-1}$

La fonction N-H qui absorbe à  $3400-3300\text{ cm}^{-1}$

C=C de alcènes  $\sim 1680$  à  $1620\text{ cm}^{-1}$

### III- 2-2-Spectrométrie de l'ultraviolet et du visible

Ce domaine spectral est divisé en trois plages de longueurs d'onde appelées *proche UV* (185-400 nm), *visible* (400-700 nm) et *très proche infrarouge* (700-1 100 nm). La plupart des spectromètres vont de 185 à 900 nm [33]. La limite inférieure des appareils dépend à la fois de la nature des matériaux optiques utilisés et de la présence ou non sur le trajet optique de l'air ambiant, sachant que le dioxygène et la vapeur d'eau absorbent de manière intense en dessous de 190 nm. Quelques instruments, à condition d'opérer sous vide, peuvent atteindre 150 nm avec des échantillons pris à l'état gazeux. C'est le domaine de l'ultraviolet du vide [34].



Figure 5

### Transitions électroniques des composés organiques

Les composés de la chimie organique forment l'essentiel des études faites en UV/visible. Les transitions observées ont pour origine les électrons des liaisons  $\sigma$  ou  $\pi$  et les doublets non-liants  $n$  des atomes tels H, C, N, O. Chaque fois qu'il en est possible, on indique pour toute bande d'absorption sa nature en relation avec les orbitales moléculaires (OM) concernées et le coefficient d'absorption molaire ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ) calculé au maximum de la bande d'absorption [35].

### III-2-3-Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire, plus couramment appelée spectroscopie RMN est le nom donné à la technique qui exploite les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques. Les plus importantes applications pour les chimistes organiques sont la spectroscopie RMN du proton (RMN<sup>1</sup>H) et du carbone 13 (<sup>13</sup>C). On peut obtenir plusieurs types d'informations à partir d'un spectre RMN. plus que l'utilisation de l'IR permet d'identifier des groupements fonctionnels moléculaires, l'analyse d'un spectre RMN permet de déterminer la structure de la molécule [36].

#### **IV /Conclusion**

Dans cette partie nous avons fait un rappel bibliographique sur l'Aplysinopsine et ses dérivés, son isolation et ses activités biologiques ainsi que les différentes méthodes d'obtention les plus utilisées. Un bref rappel sur les méthodes spectroscopiques (UV-VIS, IR, RMN....) indispensables pour l'identification des produits obtenus a été également abordé.

Ces composés comptent plus de trente analogues naturels [37], et ont été isolés de nombreux invertébrés marins (*éponges, coraux, anémones, nudibranches*) de différents biotopes (Méditerranée, océan *Indo-Pacifique, Caraïbes*).

## **CHAPITRE II**

**Synthèse d'analogues à l'Aplysinopsine : Les pyrimidines  
triones et les thioxopyrimidinesdiones.**

## I/Introduction

La plupart des études réalisées sur les analogues à l'aplysinopsine se sont orientées vers la synthèse des analogues à 5 chaînons. En ce qui nous concerne, nous nous sommes intéressées aux motifs à 6 chaînons représentés par l'acide 1,3-diméthyl barbiturique et l'acide 1,3-diéthyl-2-thiobarbiturique) sur l'aldéhyde du 2- méthyle indole. Ce choix a été dicté par le fait que ces composés à 6 chaînons présentent des activités biologiques intéressantes [61].

## II - Préparation des précurseurs d'analogues à l'Aplysinopsine

### II-1 -Le 2-méthyl indole

La synthèse de Fischer de l'indole est une réaction découverte en 1883 par Hermann Emil Fischer (prix Nobel en 1902). C'est l'une des plus anciennes techniques de synthèse substituée d'indole qui consiste à une addition de la phénylhydrazine sur une cétone ou un aldéhyde en milieu acide [38]. elle est très utilisée dans la fabrication des dérivés d'indoles substitués en positions 2 et 3, notamment pour les médicaments antimigraineux de type triptan.

#### a) Mode opératoire

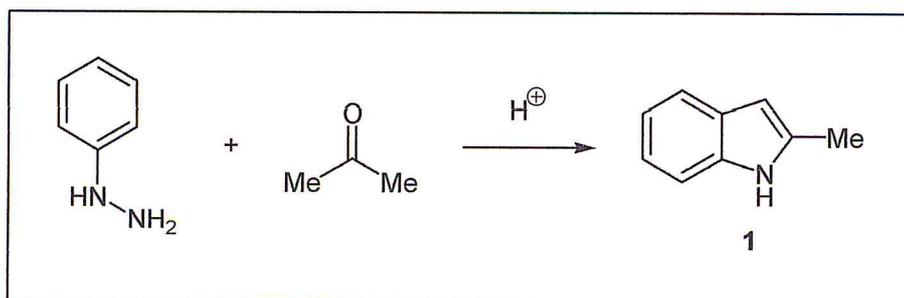


Schéma 5

Dans un ballon de 100ml, on place 20mmoles de phénylhydrazine (v=2ml), 20ml d'éthanol et 10ml de HCl concentré. Le mélange est agité à température ambiante, il se forme alors un sel d'hydrazone. A ce mélange, on ajoute un excès d'acétone (40mmoles). On laisse agiter pendant 2h à température ambiante et au reflux pendant 7h. On ajoute de la glace puis on neutralise par une solution de KOH 4M. La phase

aqueuse est extraite 3 fois par du dichlorométhane.les phases organiques sont réunies, lavées 3fois avec une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium puis deux fois à l'eau, séchées sur MgSO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant :dichlorométhane ) pour donner le 2-méthylindole

### b) Mécanisme réactionnelle par synthèse de Fischer

La réaction se présente par un mécanisme d'addition de la phénylhydrazine sur l'aldéhyde ou l'acétone pour formé une phénylhydrazone qui s'isomérie à son tour et conduit à l'énamine ,un intermédiaire qui subira après protonation un réarrangement mettant en jeu une attaque nucléophile.l'amine résultant de cet arrangement conduit à l'indole par catalyse acide suivi d'une élimination de NH<sub>3</sub> [39].

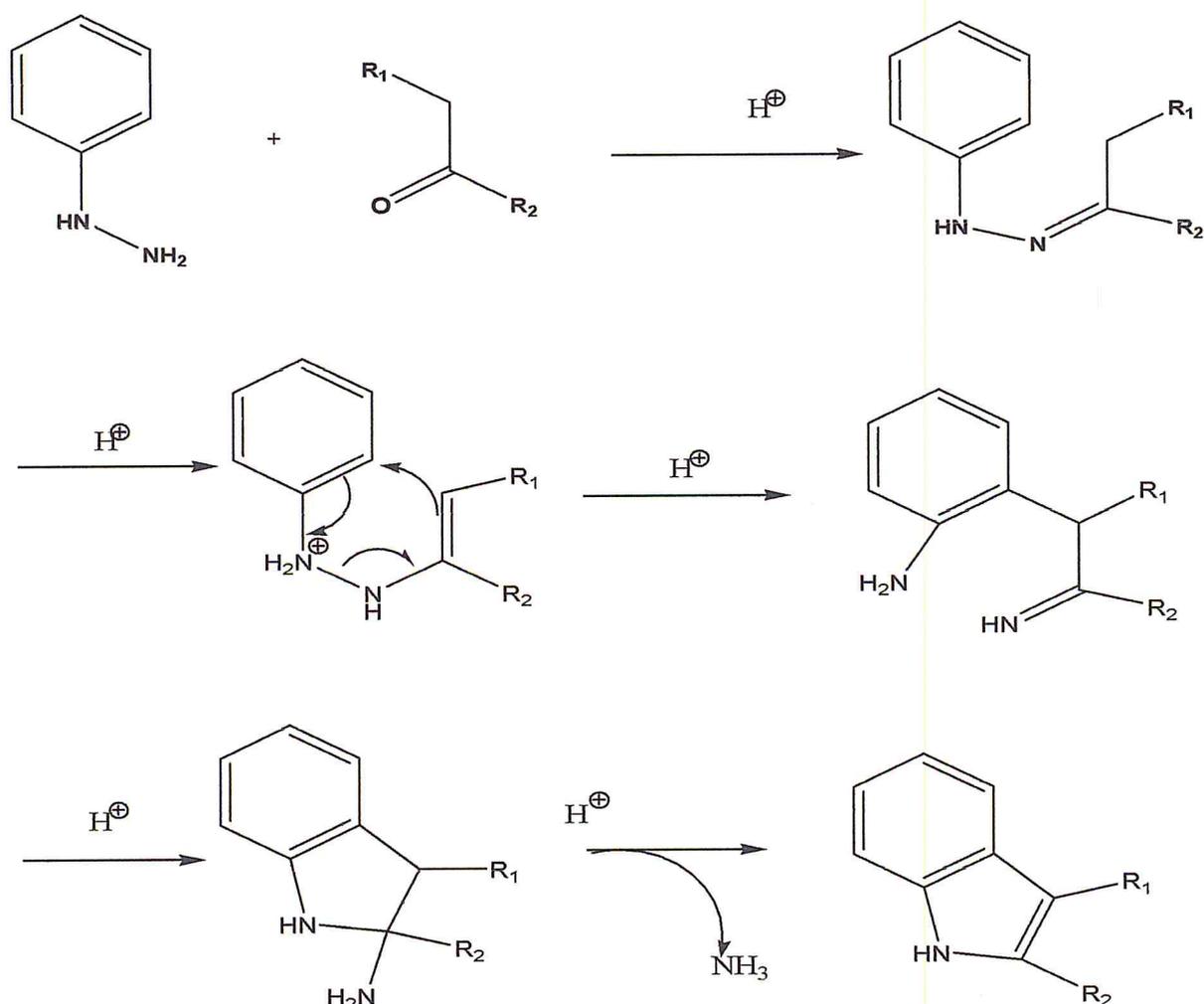
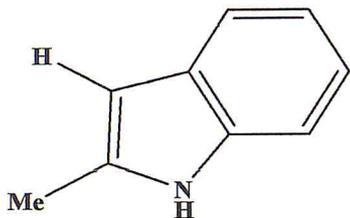


Schéma 6

### C) Description du 2-méthylindole (1)



$C_9H_9N$

Masse exacte ( $g \cdot mol^{-1} \cdot l^{-1}$ ) = 131,07

Aspect = cristaux marron foncés

Pf ( $^{\circ}C$ ) = 67

Rf = 0,78 ( $CH_2Cl_2$ )

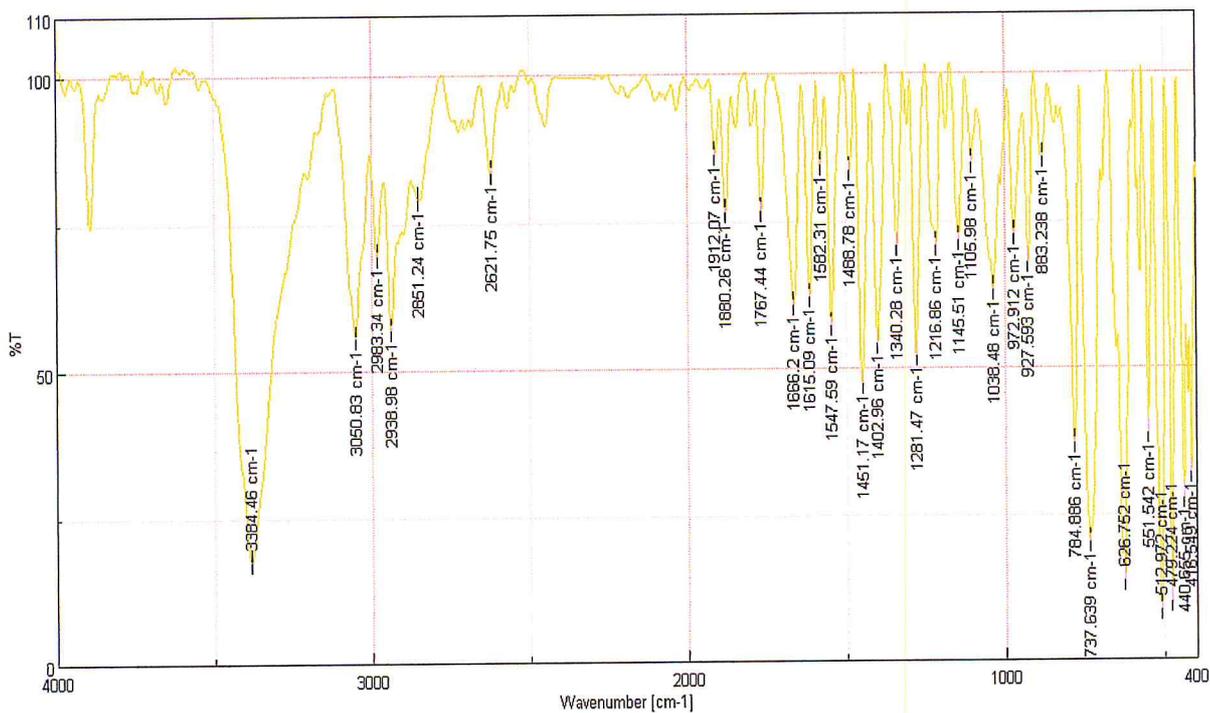


Figure 6 : spectre IR du 2-méthylindole

$\bar{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : (N-H) = 3384 et (C=C-H) = 9836 (C=C-H) et à 1457 et 784 (C=C) des aromatiques .

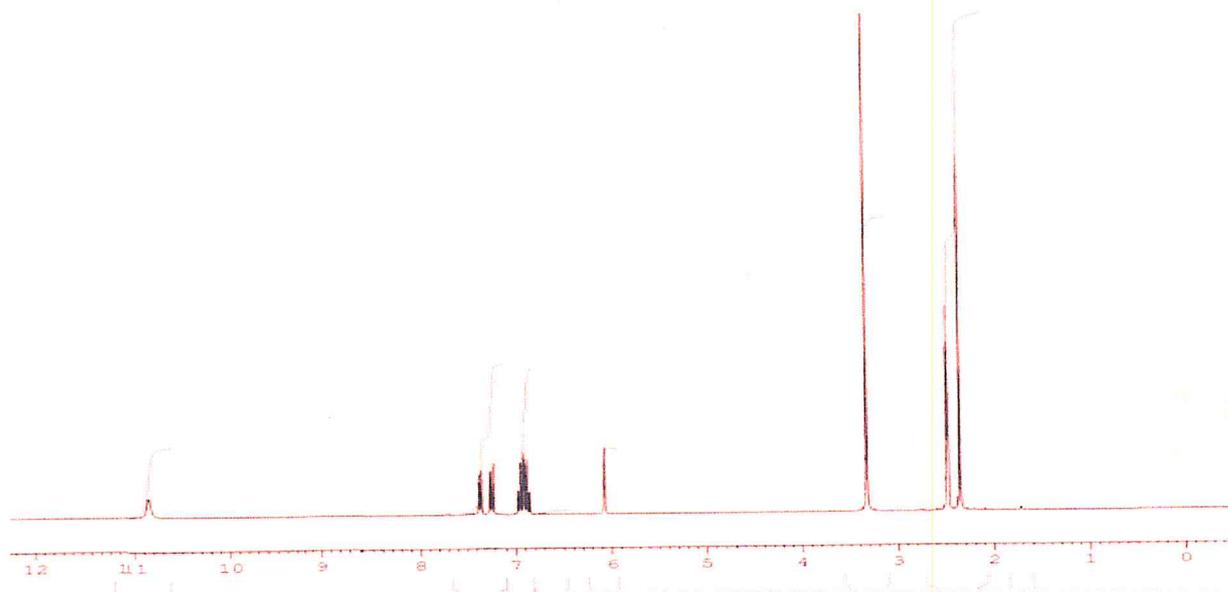


Figure 7

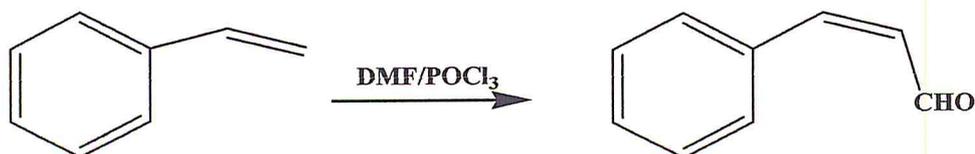
RMN  $^1\text{H}$  (250 MHz, DMSO)  $\delta_{\text{ppm}}$  = 10,85 (s, 1H, NH); 7,37-6,85 (m, 4H); 6,07 (d, 1H, J=1 Hz, H<sub>3</sub>); 2,49 (s, 3H, Me-indole)

## II-2/ Le 2-méthyl-3-carboxylaldéhyde indole

### a) Réaction de formylation de Vilsmeier-Haack

La réaction classique de Vilsmeier-Haack est sans doute la réaction la plus utilisée pour préparer des aldéhydes, dérivés de composés aromatiques activés comme les éthers de phénols, amines aromatiques *N,N*disubstituées, ou hétérocycles [40].

Exemple des réactions de Vilsmeier-Haack donnant accès à des aldéhydes et à des hétérocycles (schéma 9).



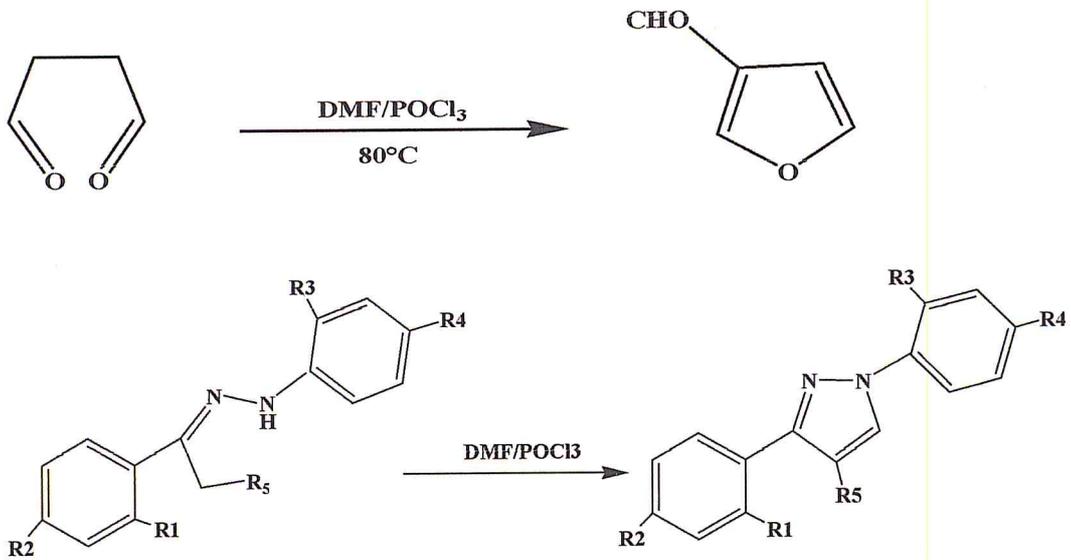


Schéma 7

La réaction de Vilsmeier n'est qu'un type de réaction de Friedel-Craft, impliquant la substitution électrophile sur un noyau aromatique activé au moyen d'un sel chlorométhyliminium généré par la combinaison des réactifs usuels, l'oxychlorure de phosphore ( $\text{POCl}_3$ ) et le diméthylformamide (DMF) [4].

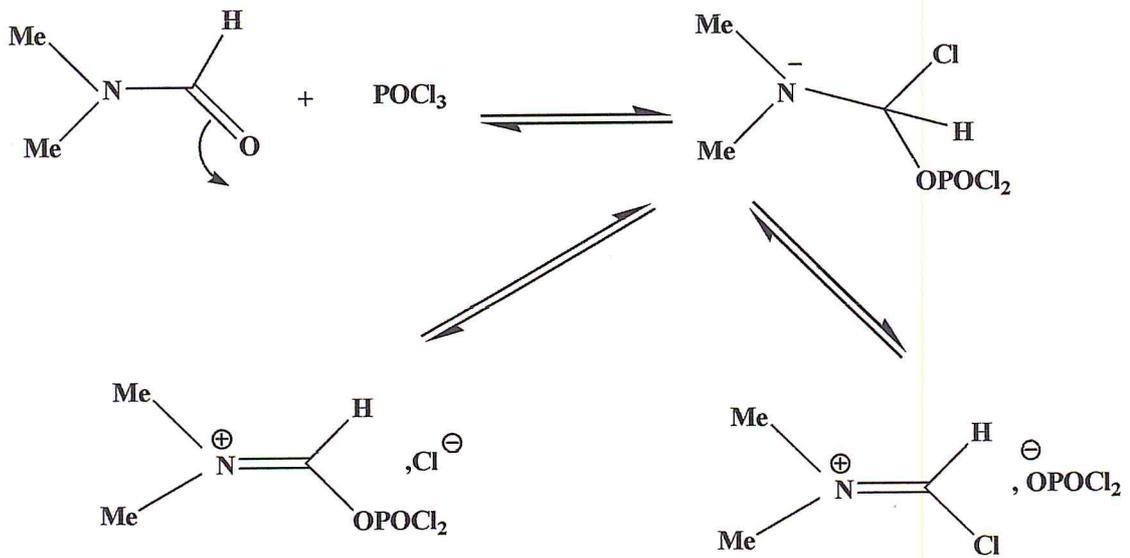


Schéma 8

## b) Obtention d'aldéhyde indolique :

Grâce à leur caractère aromatique, les cycles peuvent être le siège de divers type de réactions et en particuliers les substitutions électrophiles. L'hydrogène en position H<sub>3</sub> du cycle indolique deviendra le siège d'une attaque électrophile du cation chlorométhylèneiminium.

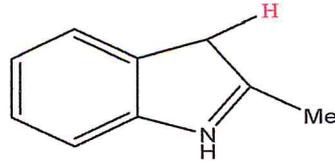


Figure 8

Le mécanisme pour l'obtention d'aldéhyde indolique est suggéré dans le schéma suivant :

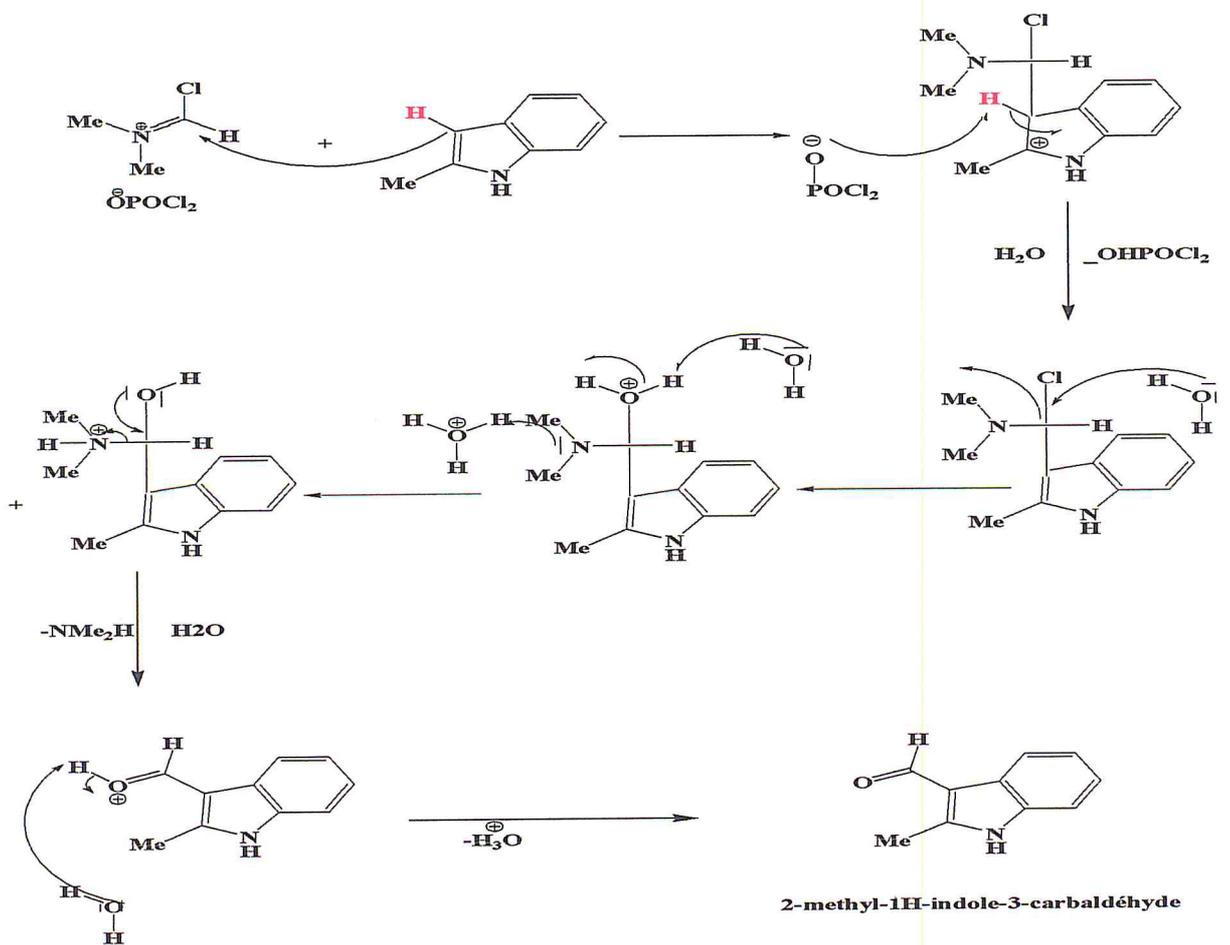
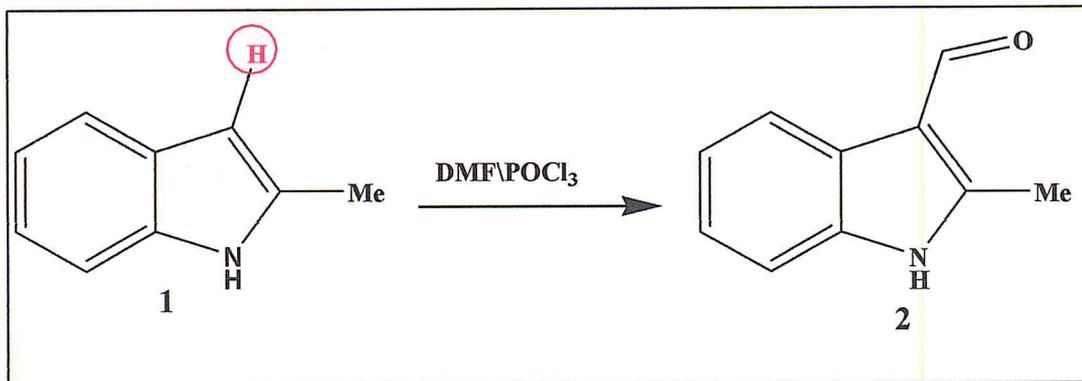


Schéma 9

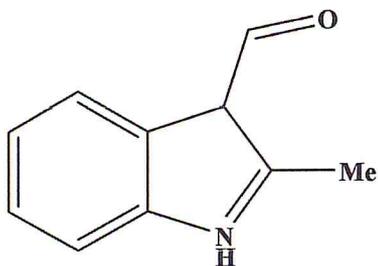
### C) Mode opératoire



Dans un dicole de 100ml ,on place successivement à 0°C et sous une vive agitation magnétique 5ml de DMF (64,35mmoles) ,1ml de POCl<sub>3</sub> (10,8 mmoles) agouté par petites fraction à l'aide d'une ampoule à brome.Le mélange est maitenu pendant 15mn à 0°C.A ce mélange ,On ajoute 10ml de DMF.On laisse sous agitation à 0°C pendant 30mn.Le mélange réactionnel est ramené à la température ambiante durant 2h .On neutralise avec de la glace , puis avec une solution de NaOH à 4M et on laisse agiter à température ambiante pendant 10h.Un solide marron se forme ,il est filtré puis lavé plusieurs fois à l'eau et recristallisé dans un mélange EtOH /H<sub>2</sub>O

#### d)Description de l'aldéhyde indolique

##### 2-methyl-1H-indole-3-carbaldehyde (2)



C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NO

Masse exacte (g .mol<sup>-1</sup>.l<sup>-1</sup>) =159,06

Aspect : cristaux marron

Pf (°C) = 203

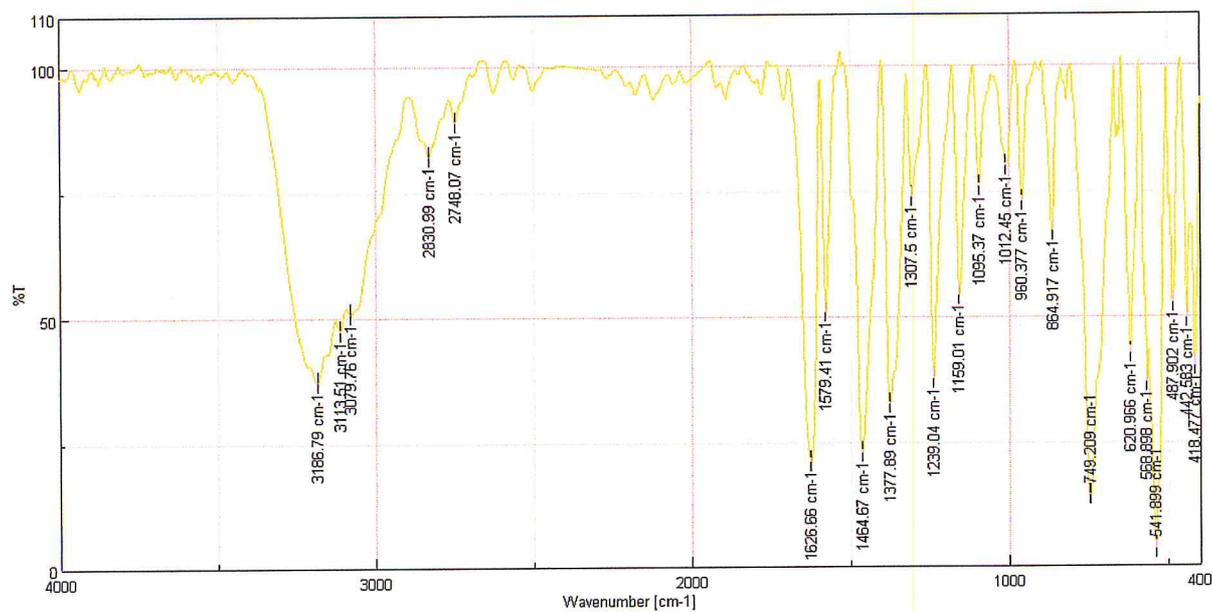


Figure 9 : spectre IR de 2-methyl-1H-indole-3-carbaldehyde

$\bar{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) (N-H) = 3186 et (H-C=C) = 3079,  $\bar{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) de la fonction (C=O) = 1626 et à 1579 et 1464 et 749 sont les  $\bar{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) de (C=C) des aromatique.

RMN <sup>1</sup>H (250 MHz ,DMSO)  $\delta$ ppm

### II-2-3-Les méthylènes actifs

**Les barbituriques :** Les barbituriques forment une classe historiquement très importante Découverts en 1864 par Fischer et Von Mehring. Ils furent parmi les premiers médicaments utilisés pour traiter les troubles du sommeil mais ils ont aussi d'autres indications telles que anti-convulsivant, classifiés comme sédatifs hypnotiques. Somnifères d'élection dans les années cinquante [5].

Les barbituriques sont des dépresseurs du système nerveux central. Les produits à action prolongée seront plutôt utilisés pour traiter l'épilepsie tandis que les produits à action très brève sont parfaits pour un usage en anesthésie générale [41].

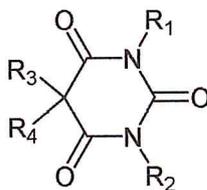
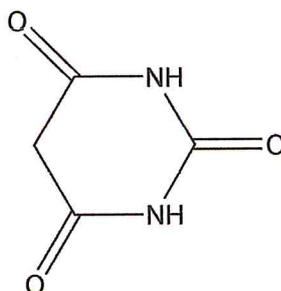


Figure 11

L'acide barbiturique est un composé organique stable, possédant des propriétés hypnotiques.. Il a été synthétisé pour la première fois en 1864 par Adolf Von Baeyer . Ce produit est incompatible avec les agents oxydants forts, telles que les bases fortes. A partir de 248 °C il commence à se décomposer [5].

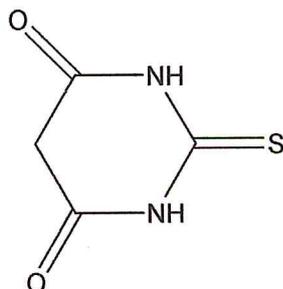


pyrimidine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione (acide barbiturique)

Figure 12

Les thiobarbituriques à action courte comme le thiopental, disponible sous forme de poudre soluble à usage humain, sont utilisés pour l'induction et éventuellement le maintien de l'anesthésie. Le contrôle de la prolongation de l'anesthésie obtenue par

des administrations répétées et le réveil qui s'ensuit est parfois difficile vu la cinétique variable d'un individu à l'autre, en particulier liée à la redistribution dans les graisses corporelles [42].



dihydro-2-thioxopyrimidine-4,6(1H,5H)-dione (Acide thiobarbiturique)

Figure 13

a) Propriétés physico- chimiques :

Acidité de proton en 5

-Les barbituriques se caractérisent par l'existence d'un équilibre lactame-lactime [43]

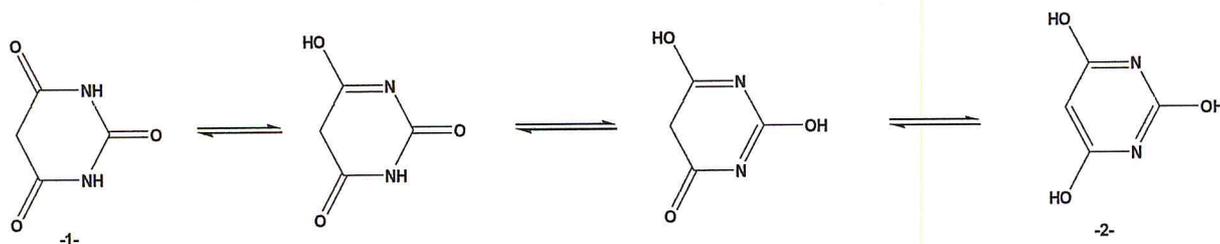
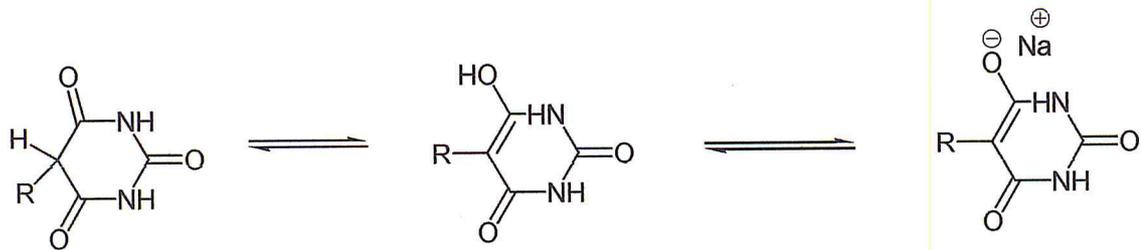


Schéma 11

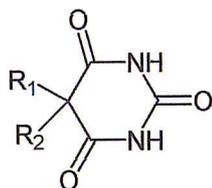
- Lorsque les barbituriques sont non substitués ou mono substitués la forme 1 est présentée à l'état cristallin, la forme 2 en solution.
- La liaison C<sub>5</sub>-H des composés non substitués est facilement élevée pour donner un sel [54].



**Schéma 12**

Le PKa de ces produits est de l'ordre de 4

Lorsque le produit est disubstitué en 5, l'absence de proton dans cette position explique la faible acidité du phénobarbital (PKa=7). Ces composés sont donc des acides très faible [45] .



$R_1=R_2=C_2H_5$  ,barbital

$R_1=C_2H_5, R_2=C_4H_{10}$  ,butobarbital

$R_1=C_6H_5, R_2=C_2H_5$  , Phénobarbital

**Figure 14**

**La réaction d'identification :**

Réaction de coloration par formation de complexe coloré. Cette réaction est due à l'acidité d'un proton porté par un de atomes d'azote, Il ya formation de complexe coloré avec le cobalt par exemple, En présence d'un excès d'ammine une formation amide est déprotonée et forme un sel avec le cobalt [46].

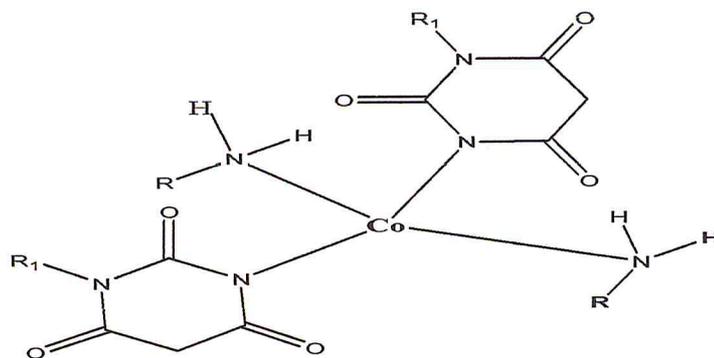


Figure 15

### Réaction de dosage

La complexation est la aussi mise à profit la formation d'un complexe monodenté avec un sel d'argent libéré un proton, l'acidité libérée est dosée par la soude [47].

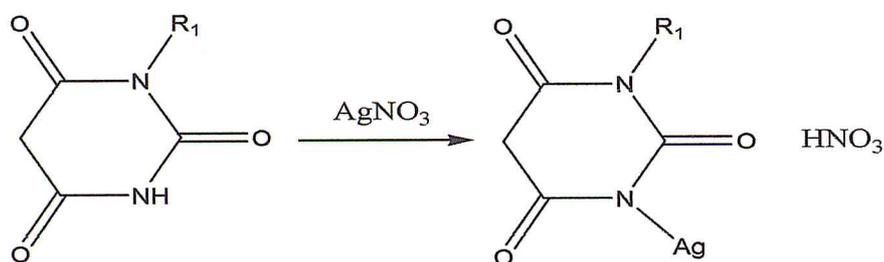


Schéma 13

### a) Synthèse des barbituriques

Ce sont des malonylurées obtenus à partir de l'urée qui réagit avec l'acide malonique pour former deux liaisons amides [48].

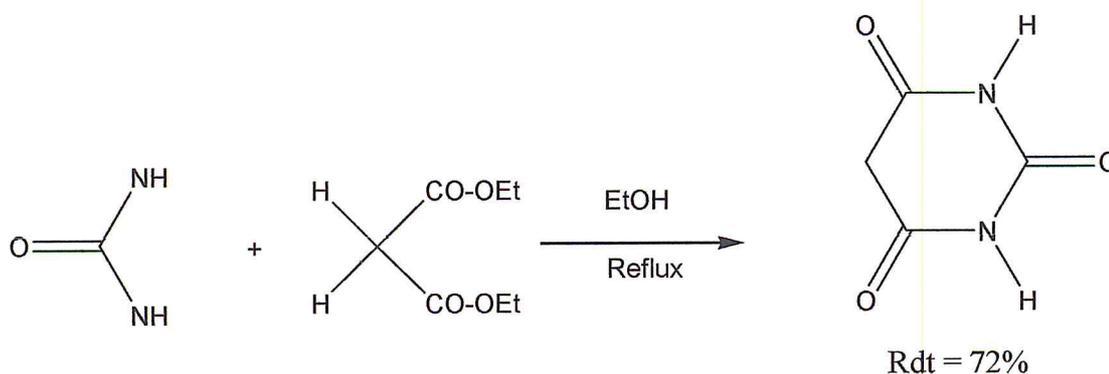


Schéma 14

### Mécanisme réactionnel [49]

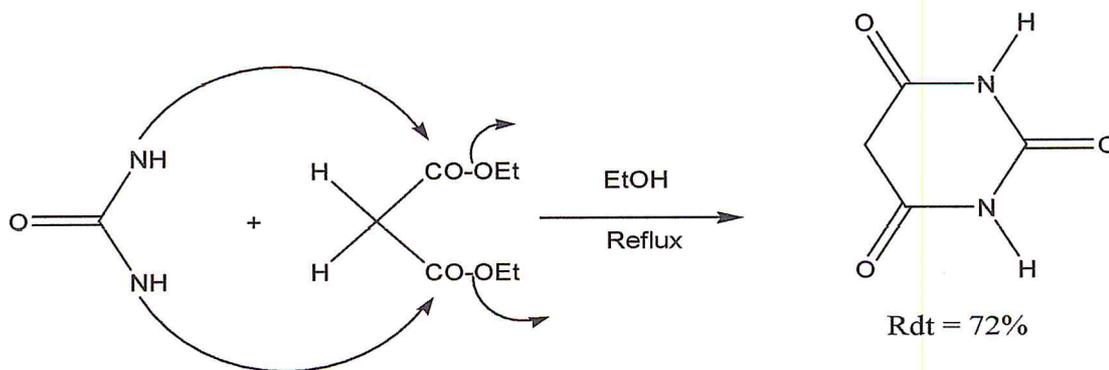


Schéma 15

### c) Mode opératoire :

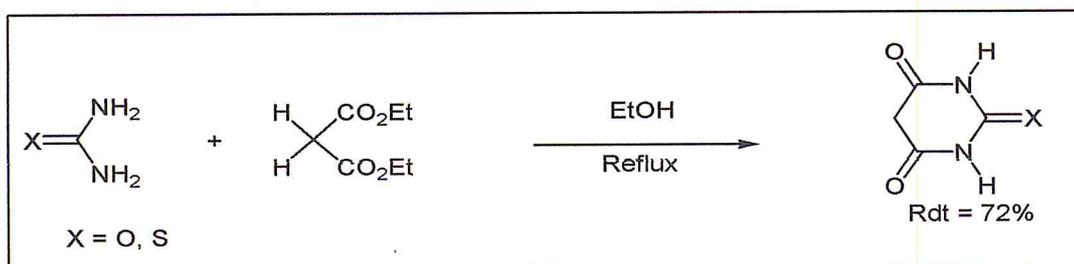


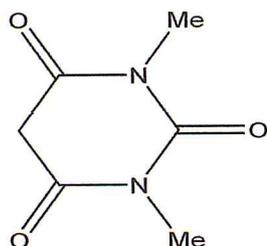
Schéma 16

Dans un ballon très sec introduire 10 ml d'éthanol absolu et 0.46g de métal sodium ajouté 3.20g de malonate de diéthyle  $\text{CH}_2(\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5)_2$  et 1.20 g d'urée  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$  ou thiourée  $(\text{NH})_2\text{CS}$  dissout à chaud dans 6ml d'éthanol absolue, et chauffer à reflux pendant deux heures. En fin de chauffage, ajouter 12mL d'acide chlorhydrique et chauffer jusqu'à dissolution complète, laisser refroidir des cristaux d'acide barbiturique apparaissent lentement. Filtrer sur filtre Büchner, rincer le solide avec trois fois 5mL d'eau glacée. Récupérer les cristaux dans un erlenmeyer, les dissoudre dans un minimum d'eau bouillante et laisser refroidir lentement d'abord à l'air puis dans un bain eau-glace. Filtrer sur filtre Büchner, rincer à l'eau glacée, essorer les cristaux et les mettre à l'étuve sur un verre de montre taré. Peser les cristaux secs [50].

En ce qui nous concerne, nous avons utilisé des acides barbiturique et thiobarbiturique commerciaux.

#### d)Description des produits

##### Acide 1,3-diméthyl barbiturique



Masse exacte ( $g \cdot mol^{-1} \cdot l^{-1}$ ) = 156,05

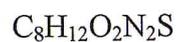
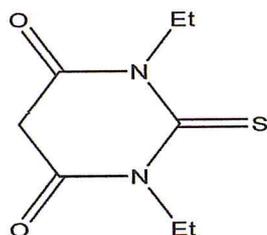
Aspect = cristaux blanc

Rd (%) = 72

Pf (°C) = 121-122

Rf = 0,36 ( $CH_2Cl_2$ )

##### Acide 1,3-diéthyl-2-thiobarbiturique



Masse exacte ( $g \cdot mol^{-1} \cdot l^{-1}$ ) = 200,26 mol / l

Aspect = cristaux blanc

Rdt (%) = 72

Pf (°C) = 109-112

Rf = 0,18 ( $CH_2Cl_2$ )

### III) Synthèse des analogues à l'Aplysinopsine

#### III-A-Méthode 1

##### A-1-Schéma rétrosynthétique

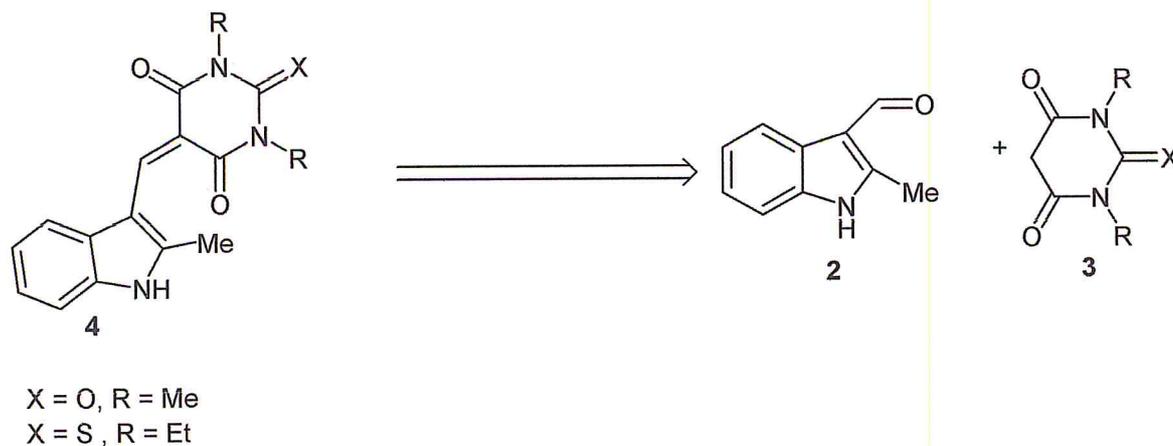


Schéma 17

Nous avons préparé les analogues à l'Aplysinopsine en condensant selon la réaction de Knoevenagel, l'aldéhyde indolique sur les deux méthylènes actifs (acide 1,3-diméthyl barbiturique et 1,3-diéthyl-2-thiobarbiturique) au reflux dans l'éthanol et en présence d'une base, la pipéridine selon un temps de réaction variable 4-5h

##### A-2- Mode opératoire

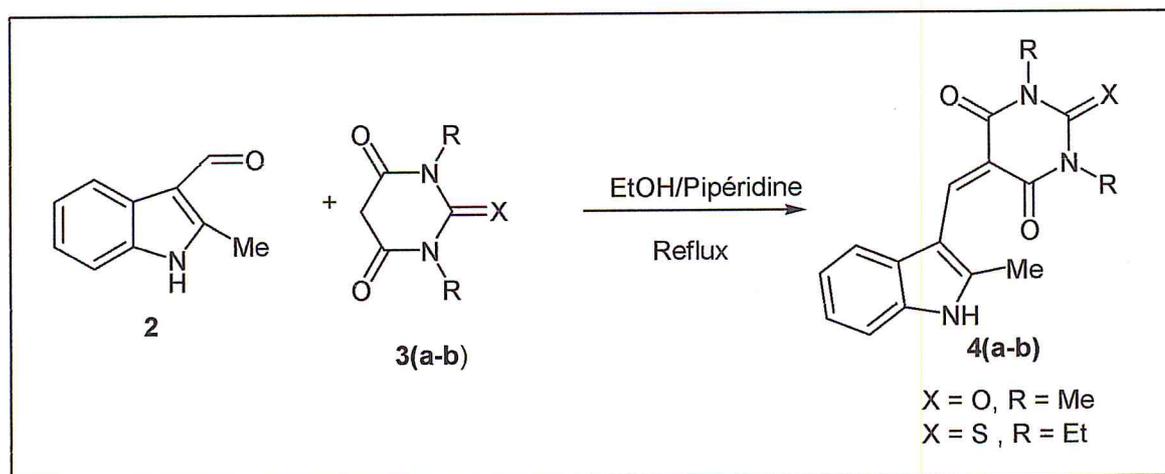


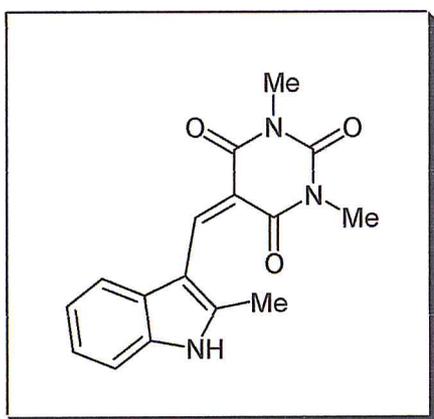
Schéma 18

On mélange dans un ballon une quantité équimolaire 1mmole de méthylène actif avec 1mmole (0,156g) aldéhyde indolique, puis on ajoute à ce mélange 10ml

d'éthanol et 3 gouttes de pipéridine. Le mélange est laissé 10 mn sous agitation à température ambiante puis porté au reflux pendant 4-5 h. La réaction est suivie par CCM avec comme éluant  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . L'excès d'éthanol est distillé dans un rotavapeur, le mélange est recristallisé dans l'eau froide et le précipité obtenu est filtré puis séché à l'air libre.

### A-3- description des analogues à l'aplysinopsine

1,3-diméthyl-5-((2-méthyl-1H-indol-3-yl)méthylène)pyrimidine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione (4a)



$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}_2$

Masse exacte ( $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{l}^{-1}$ ) = 281,154

Aspect = cristaux orange

Rdt (%) = 65

t (h) = 10

Pf(°C) = 220 – 221

Rf = 0,37 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )

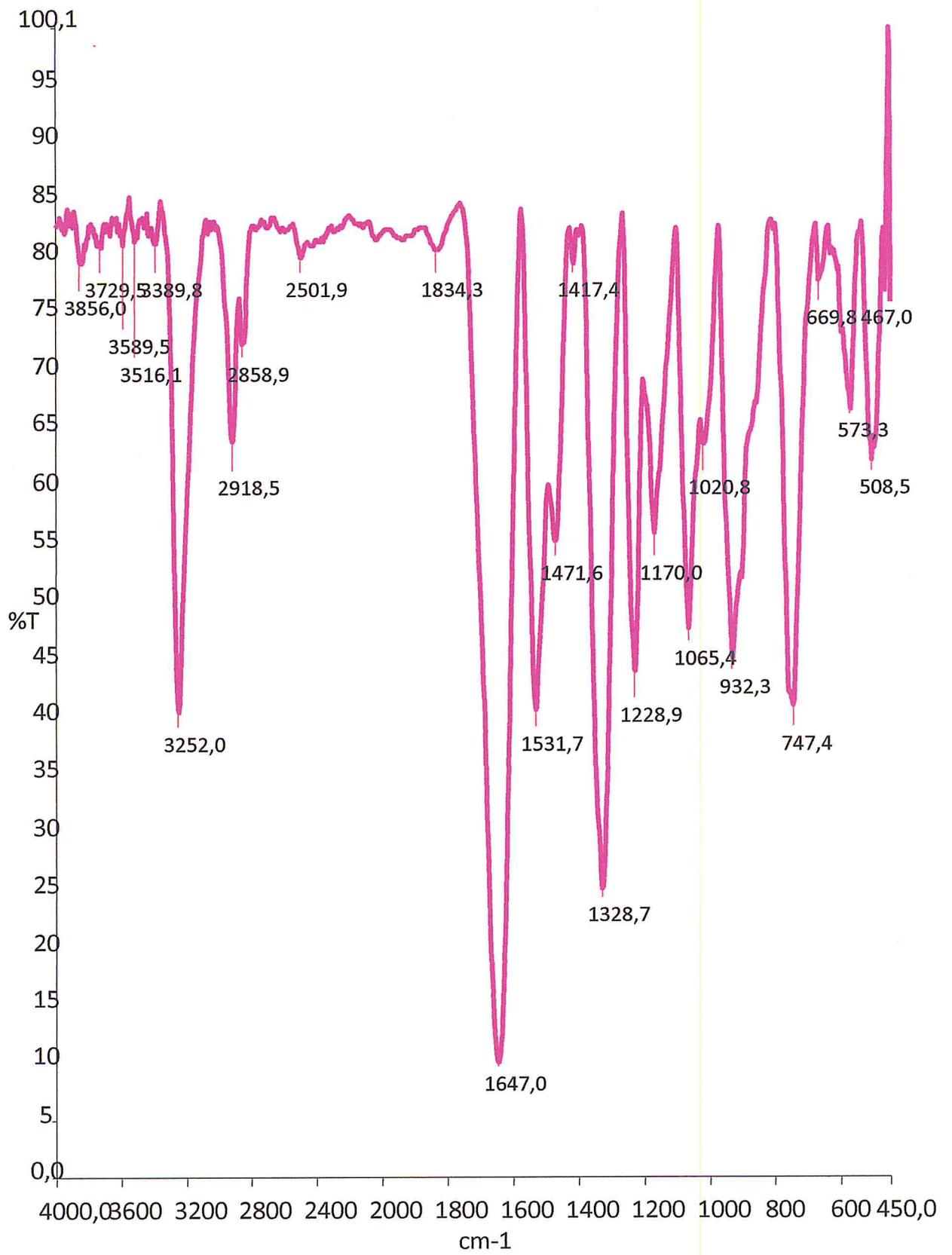
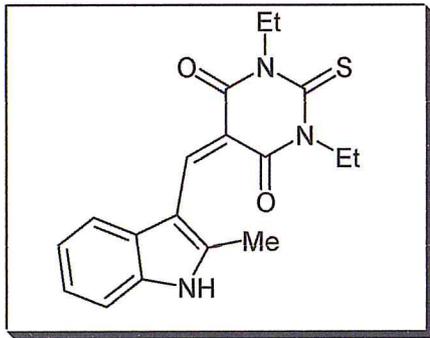


Figure 16 : spectre IR de produit 4a

$\bar{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) de la fonction (N-H) =  $3252 \text{ cm}^{-1}$  et vers  $2823 \text{ cm}^{-1}$  (H-C=O) et (C=O) vers  $1647 \text{ cm}^{-1}$  et les bandes 932 et 747 correspondent à des (C=C) aromatiques.

1,3-diéthyl-dihydro-5-((2-méthyl-1H-indol-3-yl)méthylène)-2-thioxopyrimidine-4,6(1H,5H)-dione (4b)



$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{N}_2\text{S}$

Masse exacte ( $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{l}^{-1}$ ) = 325,224

Aspect = cristaux marrons

Rdt (%) = 62

Pf ( $^{\circ}\text{C}$ ) = 202

t(h) = 4

Rf = 0,56 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )

$\bar{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) de la fonction (N-H) =  $3393 \text{ cm}^{-1}$  et de (H-C=C) =  $3051 \text{ cm}^{-1}$  et de fonction (H-C=O) =  $2823$  et la fonction (C=O) =  $1620 \text{ cm}^{-1}$  et les bandes 1460 et 804 et 748 (C=C) des aromatiques.

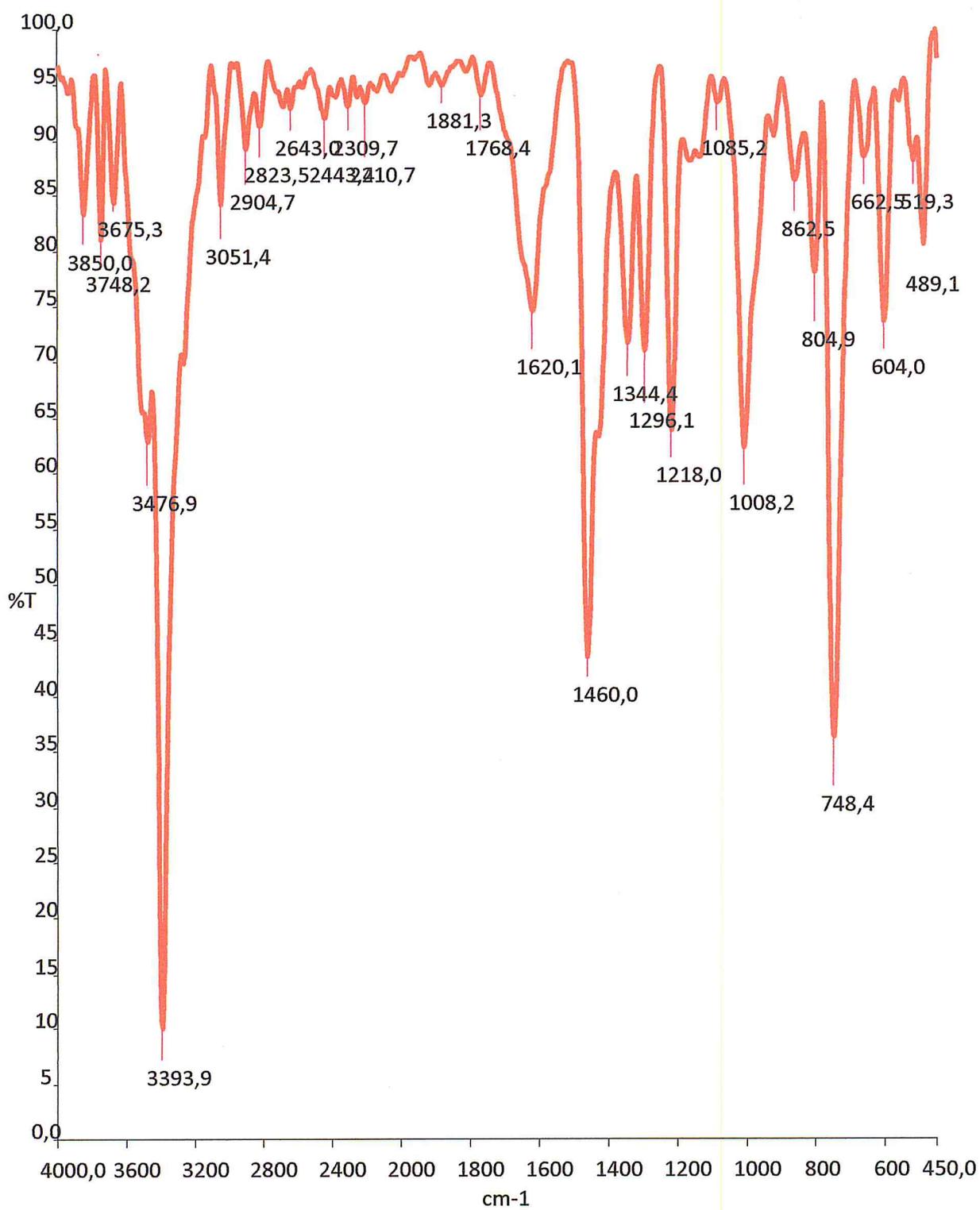


Figure 17 : spectre IR de produit 4b

### III-B-Méthode 2

#### B-1-Schéma rétrosynthétique :

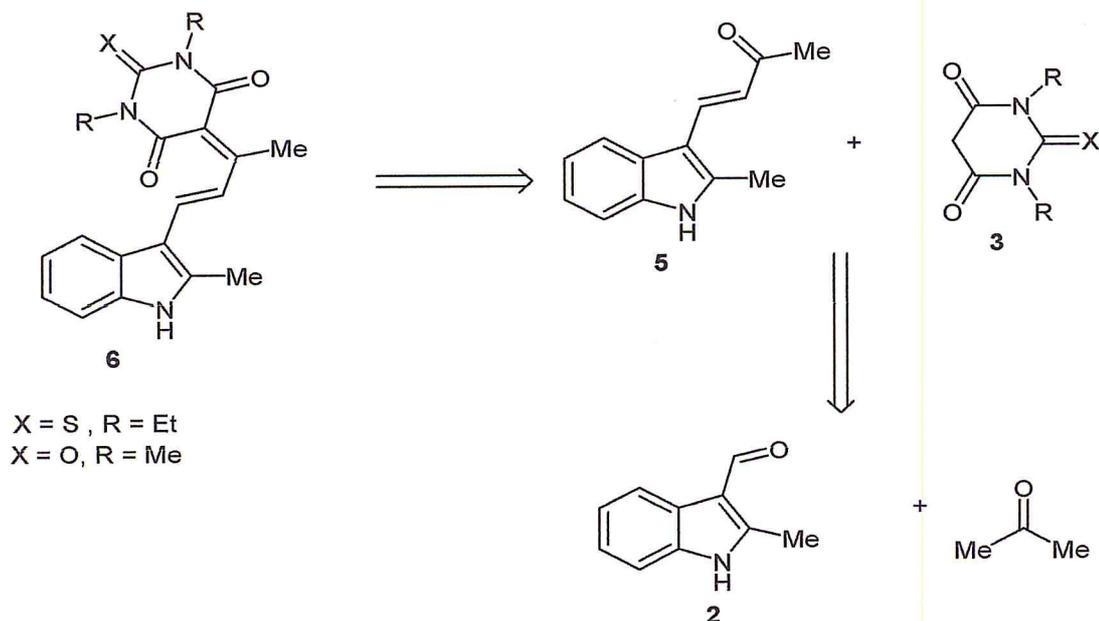


Schéma 19

Les analogues à l'Aplysinopsine sont aussi obtenus à partir de la condensation de la chalcone sur les méthylènes actifs

#### B-2 /Mode opératoire

##### a)Préparation de la chalcone

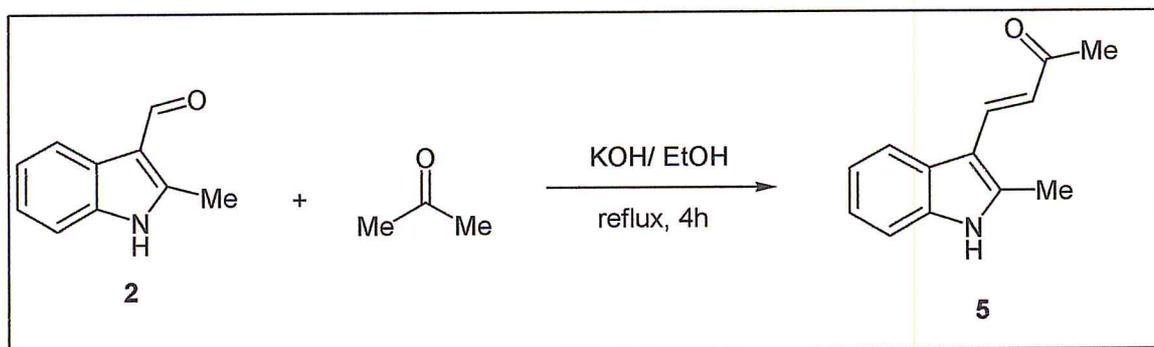


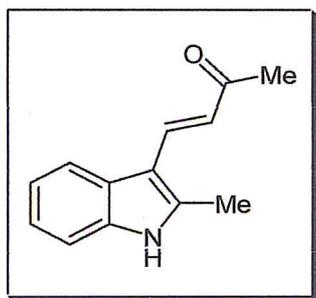
Schéma 20

On dissout 1,83 g KOH dans 15 ml d'éthanol, puis on ajoute 5mmoles (0,80 g) d'aldéhyde indolique. Le mélange est agité vigoureusement à température ambiante pendant 1h. A ce mélange on ajoute un excès d'acétone (v= 5ml). Le mélange est

porté au reflux pendant 4h. La réaction est suivie par CCM toutes les chaque 30 min. Le solvant est évaporé au rotavapeur sous pression réduite. On obtient une huile verte qui se forme au fond du ballon.

### b) Description de produit

(E)-4-(2-méthyl-1H-indol-3-yl)but-3-en-2-one (5)



$C_{13}H_{13}ON$

Masse exacte ( $g \cdot mol^{-1} \cdot l^{-1}$ ) = 199,22

Aspect = huile vert

Rdt (%) = 72

Rf = 0,5 ( $CH_2Cl_2$ )

### c) Préparation des analogues à l'Aplysinopsine

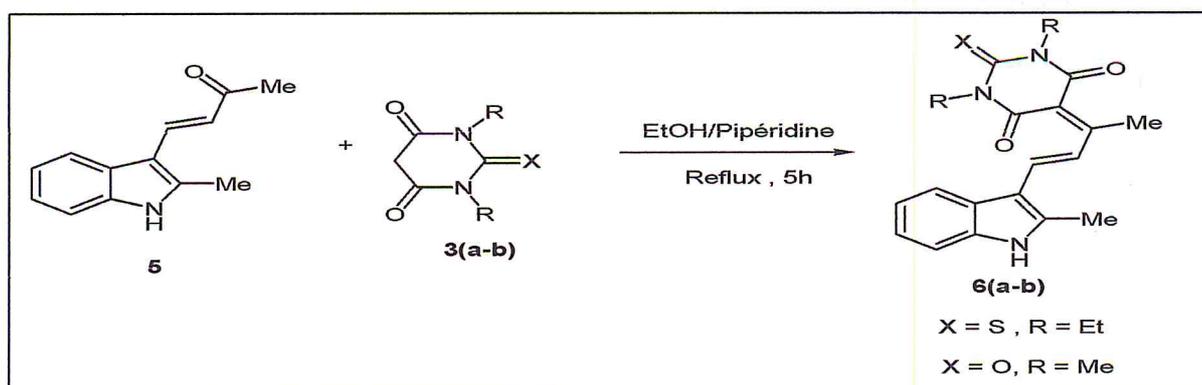


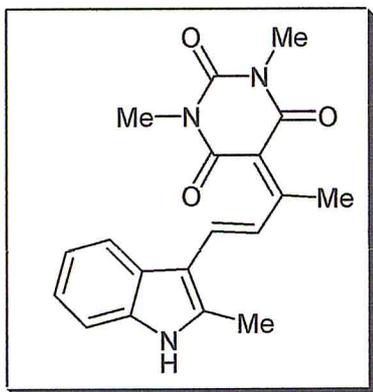
Schéma 21

### a) Mode opératoire

Dans un ballon, on mélange 2mmoles (0,398 g) de produit **5** et 1mmole de méthylène actif **3**. A ce mélange on ajoute 10ml EtOH un liquide vert soluble dans l'éthanol se forme, 3gouttes de pipéridine sont ajoutés après 10mn d'agitation à température ambiante. Le mélange est ensuite porté au reflux à 100°C sous une vive agitation magnétique pendant 5h. La réaction est suivie par CCM jusqu'à la formation d'une seule tache différente de celle des produits de départ. Le produit formé est recristallisé dans l'éthanol.

### B-3) description des analogues à l'aplysinsine

1,3-diméthyl-5-((E)-4-(2-méthyl-1H-indol-3-yl)but-3-en-2-ylidène)pyrimidine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione (6a).



$C_{19}H_{19}O_3N_3$

Masse exacte ( $g \cdot mol^{-1} \cdot l^{-1}$ ) = 337,32

Aspect = poudre mauve

Rdt (%) = 56

Pf (°C) = 234

Rf = 0,13 ( $CH_2Cl_2$ )

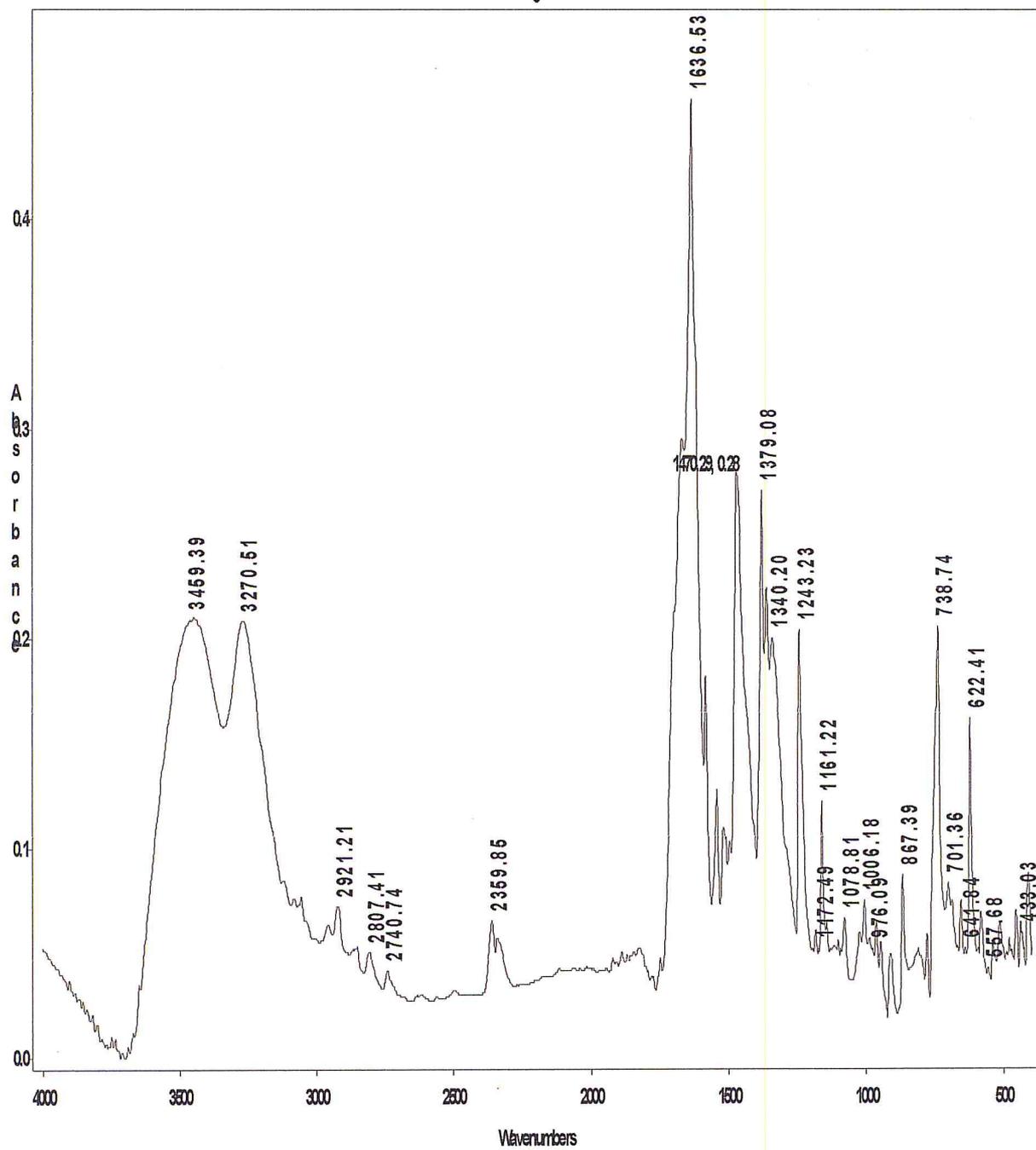


Figure 18 : 6a

$\bar{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) de la fonction (N-H)= 3270 et (H-C) = 2921 et (C=O) = 1636  $\text{cm}^{-1}$  et des bandes 1078 et 738 de (C=C) des aromatiques.

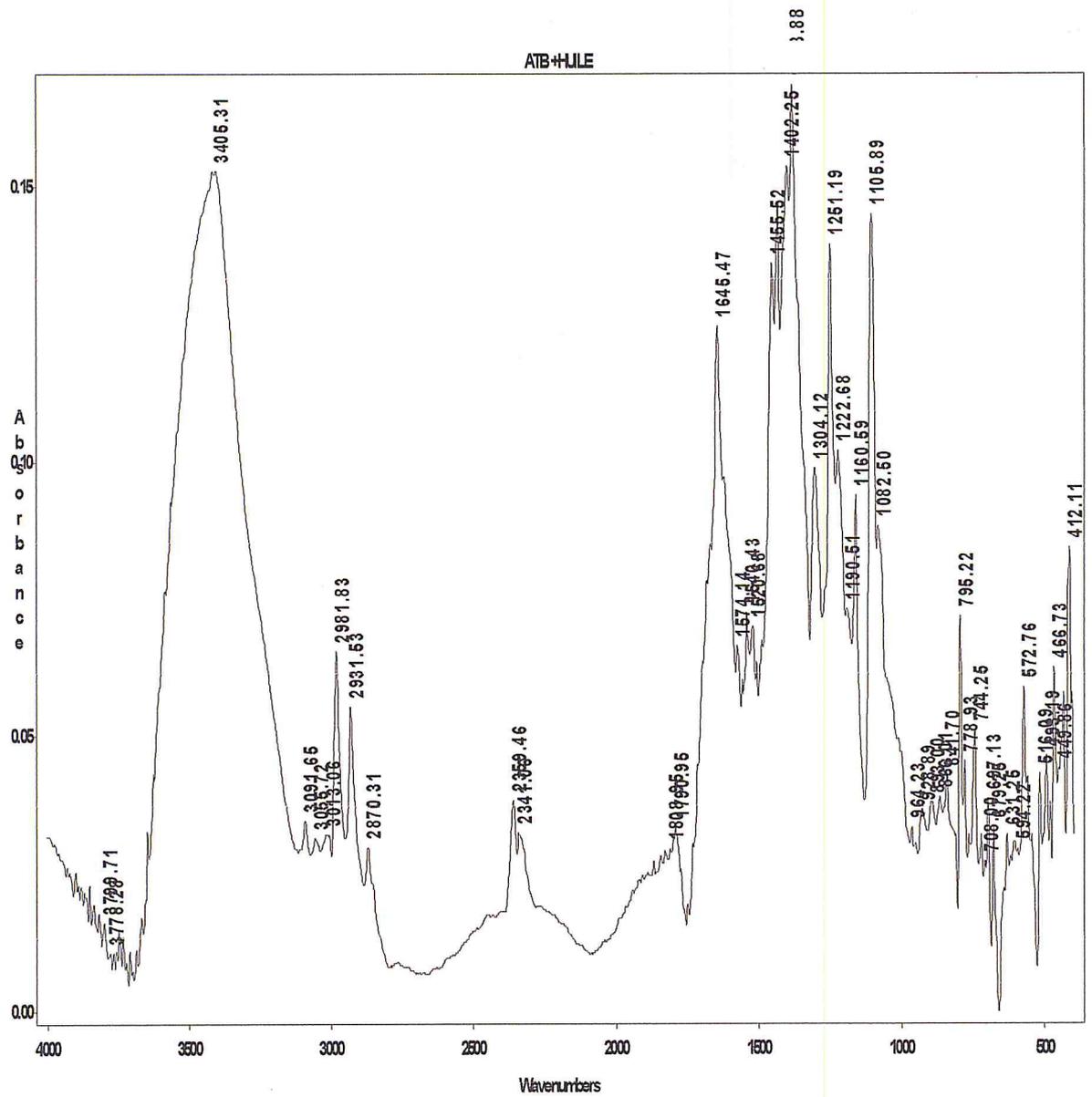


Figure 19 : 6b

IR(KBr,cm-1) :La présence d'une bande de fonction (N-H) vers 3405 de (H-C=C) et 1941(C-H) vers 3091Cm<sup>-1</sup> et (C=O) vers 1645 Cm<sup>-1</sup> et de (C=C) des aromatiques vers 1082 et 795 Cm<sup>-1</sup>.

### III-C- Méthode 3

#### C-1-Schéma rétrosynthétique

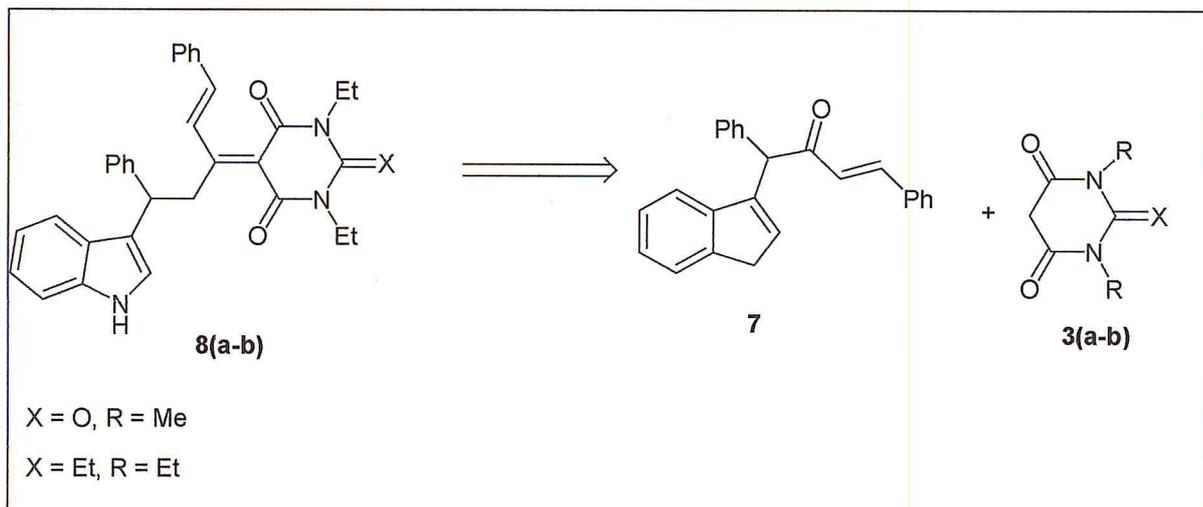


Schéma 22

Le produit de départ 7 a été déjà synthétisé au laboratoire par Melle Dahdah pour les besoins de son travail .

#### C-2-) Mode opératoire

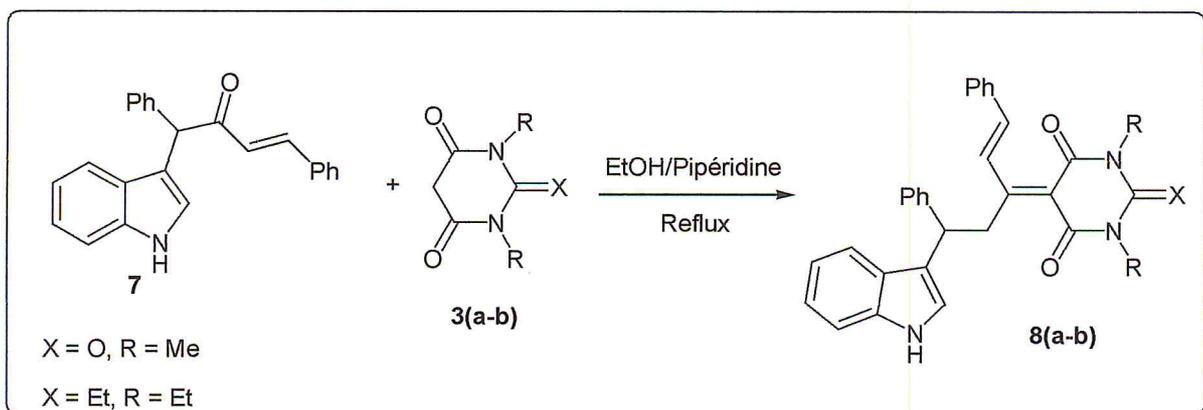


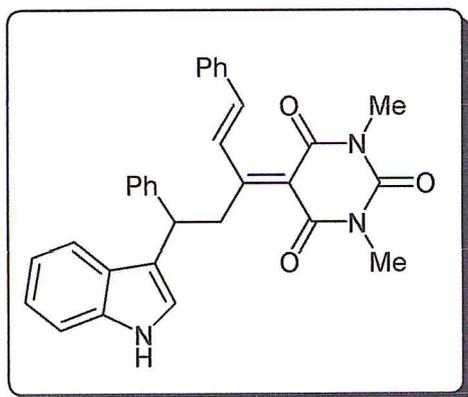
Schéma 23

Dans un ballon on mélange 0,40g (1mmol) produit 7 et (1mmol) de méthylènes actifs 3. On ajoute 10ml EtOH ;le mélange est soluble dans l'éthanol. On laisse agiter pendant 10mn à température ambiante puis on ajoute 3 gouttes de pipéridine. Le mélange est porté au reflux pendant 5h . La réaction est suivie par CCM chaque

30mn jusqu'à disparition des produits de départ. On arrête la réaction et on traite le produit avec l'hexane .

### C-3-Description des analogues

5-((Z)-5-(1H-indol-3-yl)-1,5-diphénylpent-1-en-3-ylidene)-1,3-diméthylpyrimidine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione (8a)



$C_{31}H_{27}O_3N_3$

Masse exacte ( $g \cdot mol^{-1} \cdot l^{-1}$ ) = 489,514

Aspect = cristaux marron

Rdt (%) = 75

Pf (°C) = 120

Rf = 0,37( $CH_2Cl_2$ )

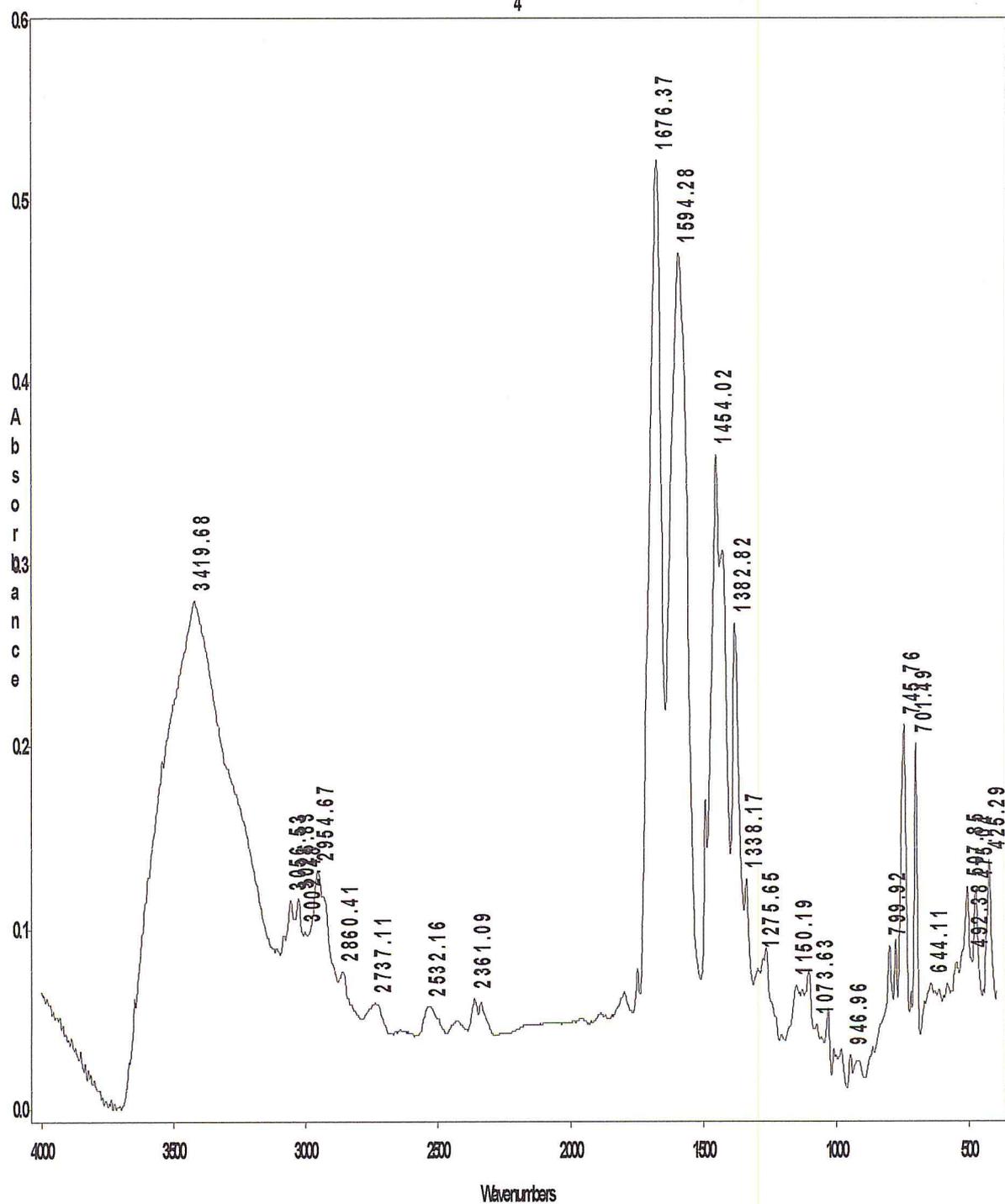
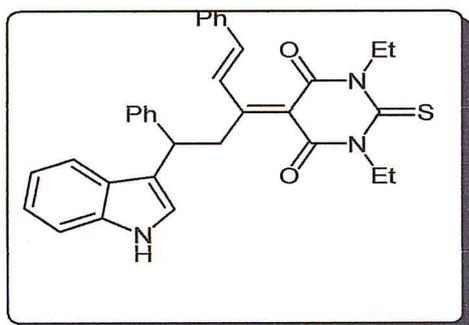


Figure 20 : spectre IR de produit 8a

IR(KBr,cm-1) : La présence d'une bande intense caractéristique de (N-H) vers 3419  $\text{Cm}^{-1}$  de (H-C=C) vers 3056 et 2954 $\text{Cm}^{-1}$  (C-H) et (C=O) vers 1676  $\text{Cm}^{-1}$  et de (C=C) des aromatiques vers 1454 et 745 $\text{Cm}^{-1}$ .

5-((E)-5-(1H-indol-3-yl)-1,5-diphenylpent-1-en-3-ylidene)-1,3-diethyl-dihydro-2-thioxopyrimidine-4,6(1H,5H)-dione (8b)



$C_{33}H_{31}O_2N_3S$

Masse exacte ( $g \cdot mol^{-1} \cdot l^{-1}$ ) = 533,577

Aspect = cristaux marron

Rdt (%) = 70

Pf ( $^{\circ}C$ ) = 122

Rf = 0,58( $CH_2Cl_2$ )

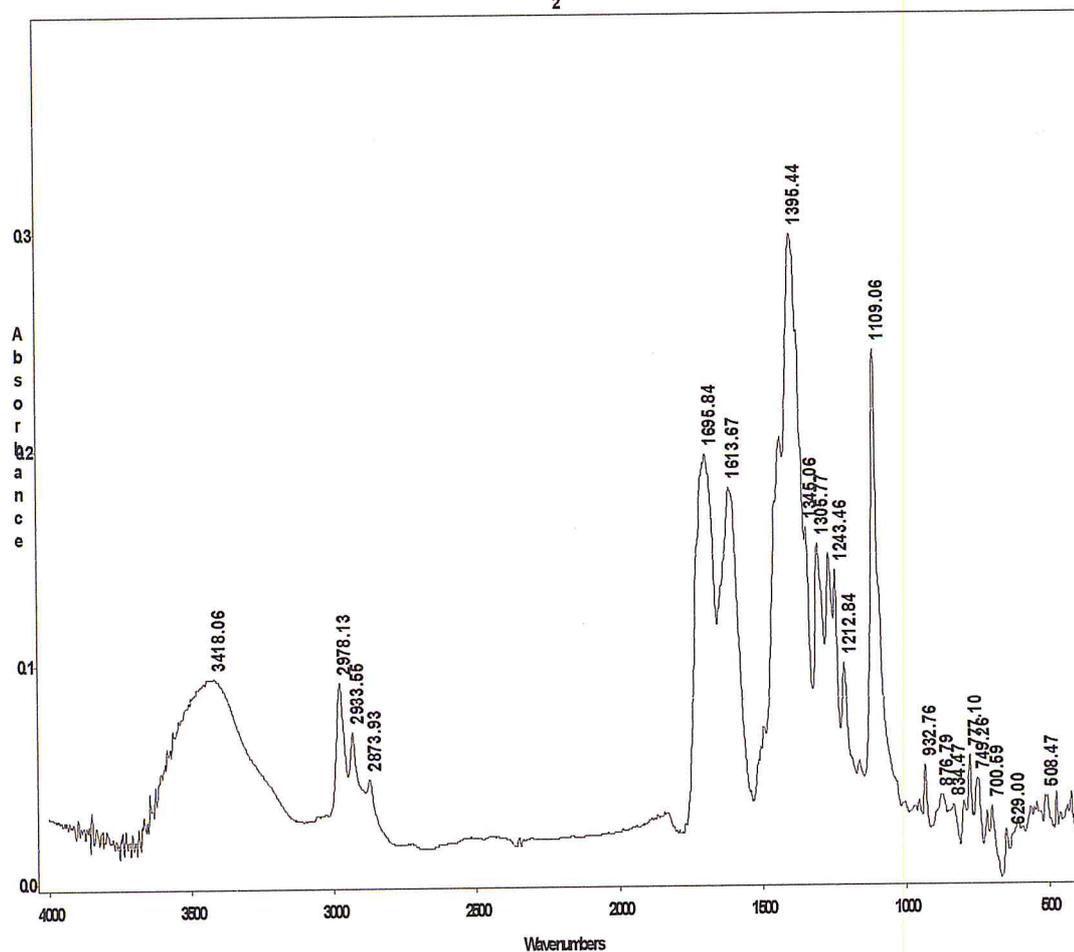


Figure 20 :8b

IR(KBr,cm-1) :La présence d'une bande intense caractéristique de (N-H) vers 3418  $\text{Cm}^{-1}$  de (H-C) vers 2978 $\text{Cm}^{-1}$  et 2 bandes (C=O) vers 1613  $\text{Cm}^{-1}$  et de (C=C) des aromatiques vers 932  $\text{Cm}^{-1}$ .

Tableau 2 : les caractéristiques physiques des analogues à l'aplysinopsine

composés	R	X	t(h)	Rd%	Pf (°C)	Rf
4a	Me	O	10	70	220-221	0,37
4b	Et	S	4	60	202	0,56
6a	Me	O	5	56	234	0,13
6b	Et	S	5	58	242	0,17
8a	Me	O	4	75	120	0,37
8b	Et	S	6	70	122	0,58

## VI-Propriétés pharmacologiques

### VI-1-Characterisation des propriétés antioxydants

#### A-L'oxydation en agro-alimentaire

L'un des principaux problèmes de l'industrie agro-alimentaire est d'assurer la conservation des aliments. En effet, au niveau des lipides, les dégradations oxydantes conduisent à une perte en vitamines, une diminution de la valeur nutritionnelle (acides gras essentiels), une détérioration du goût (composés volatils à flaveur caractéristique, rancissement) et même parfois à l'apparition de substances toxiques [51].

La dégradation des composés organiques sous l'action de l'oxygène de l'air est un processus d'oxydation important. Dans le cas des huiles et graisses, l'oxydation se déclenche au niveau des doubles liaisons des composés lipidiques [52].

La première étude sur l'oxydation des oléfines a été abordée vers 1949 par Bolland, puis Bateman (1954). Deux mécanismes sont possibles pour définir les réactions non enzymatiques entre l'oxygène et les acides gras insaturés [53]. Il s'agit de l'auto-oxydation et de l'oxydation photosensibilisée qui nécessite l'intervention d'un photo-initiateur qui est souvent une molécule biologique [54]

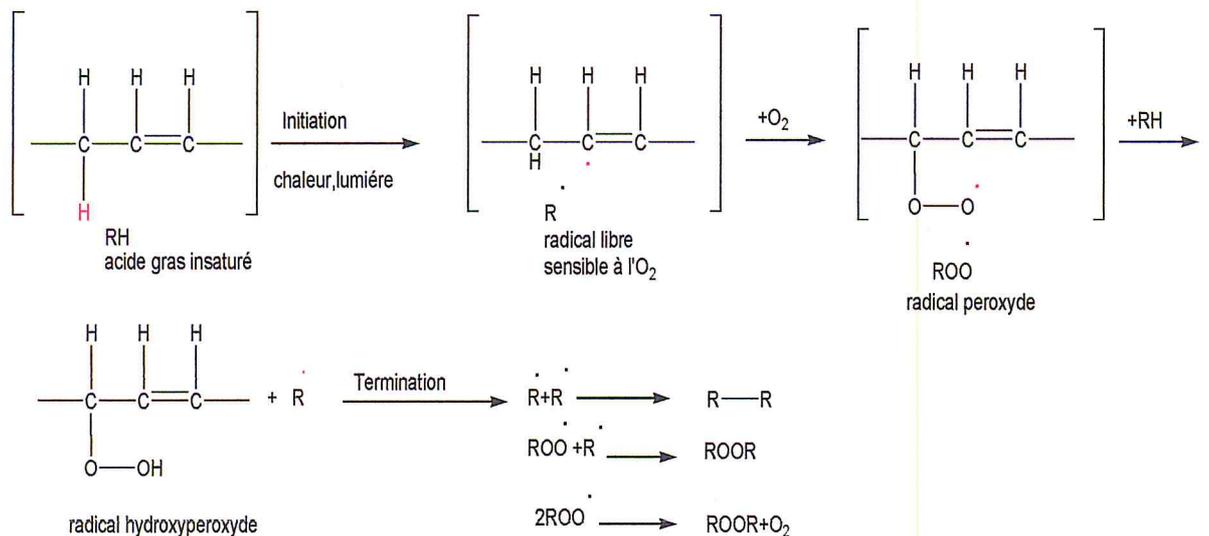


Schéma 24: Oxydation d'un acide gras insaturé

Le mécanisme de la réaction d'autoxydation comporte deux phases essentielles :

- La phase d'initiation, qui s'effectue sous l'effet d'énergie (UV ou chaleur), par l'arrachement d'un proton allylique avec formation d'un radical libre.
- La phase de propagation, où le radical peroxy ( $\text{ROO}^\circ$ ) va capter un proton sur une seconde molécule d'acide gras pour conduire d'une part à un hydroperoxyde et d'autre part à un radical libre qui va à son tour s'oxyder [55].

La phase de propagation est une étape de réaction en chaîne entre radicaux libres et molécules d'acides gras insaturés. Les peroxydes sont des composés peu stables qui vont donner naissance, par coupure, à des molécules plus petites (hydrocarbures, aldéhydes, cétones, acides) responsables de la dégradation organoleptique. Ce processus d'oxydation prend fin lors de l'étape de terminaison, qui est une étape de couplage entre deux radicaux libres instables pour aboutir à des produits stables [56].

- **Antioxydant préventif** : l'antioxydant piège l'initiateur de la réaction d'oxydation, un radical libre ou l'oxygène singulet .
- **Antioxydants synergistes** : ces substances peuvent agir en synergie avec les antioxydants précédemment cités [57].

## **B-Les antioxydants**

### **B-1-Antioxydants d'origine naturelle**

#### **B-1-1-L'acide ascorbique et ses dérivés : (E300)**

Il peut être d'origine naturelle (fruits et légumes) ou synthétisé. La vitamine C fut découverte en 1924 par Szent-Györgyi et sa synthèse fut réalisée en 1934, à partir du glucose. Il possède un caractère acide et intervient dans les échanges d'oxydo-réduction grâce à sa fonction énediol, comme le montre la figure 22. L'acide L-ascorbique s'oxyde en acide déshydroascorbique, prévenant ainsi l'oxydation d'autres substances moins réactives [58].

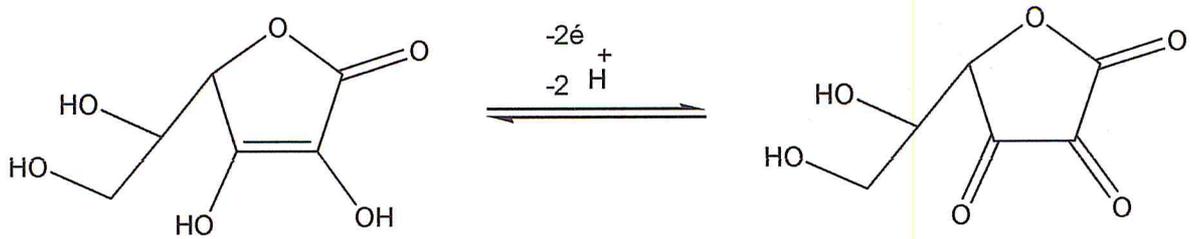
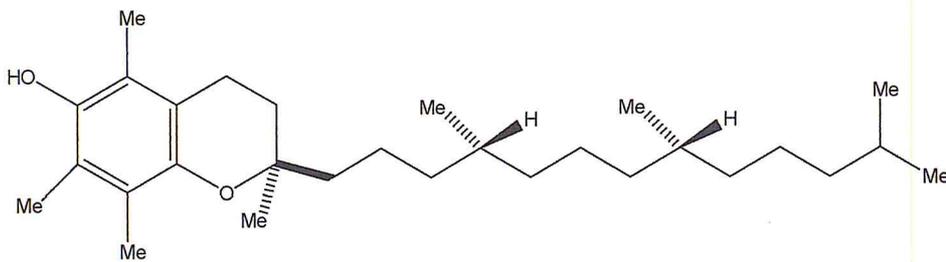


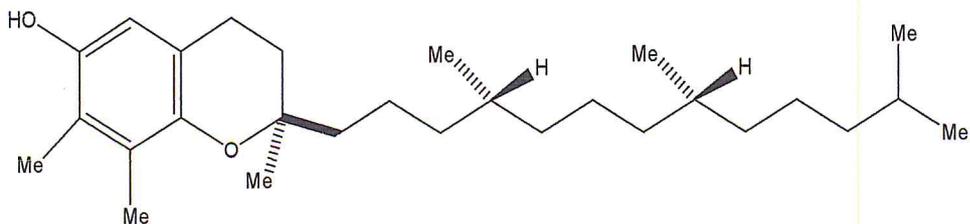
Figure 22

### B-1-2- Tocophérols :

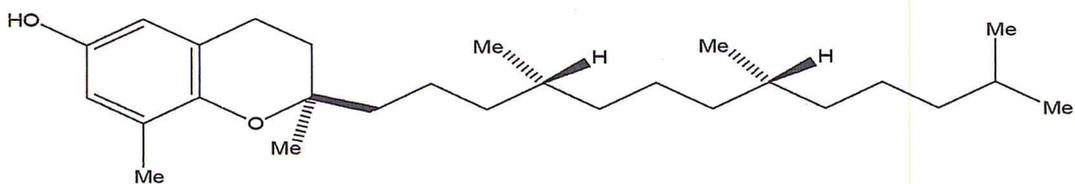
Ces additifs sont apparentés à la vitamine E et sont contenus dans les lipides végétaux. En 1936, en étudiant le rancissement des huiles stockées, Olcott et Mattil s'aperçurent que celles-ci étaient protégées contre l'autoxydation, par ce qu'ils nomment des "inhibitors" et qui sont des tocophérols. Les tocophérols sont des composés phénoliques de structure apparentée à celle de l' $\alpha$ -tocophérol. On distingue l' $\alpha$ -tocophérol (E307), le  $\gamma$ -tocophérol (E308) et le  $\delta$ -tocophérol (E309) [59].



$\alpha$ -tocophérol



$\gamma$ -tocophérol



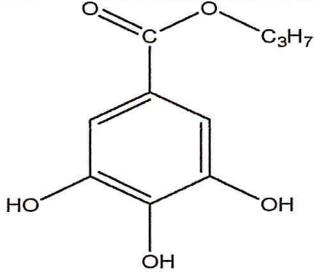
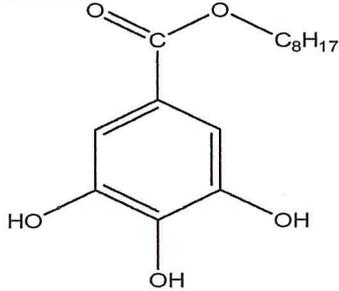
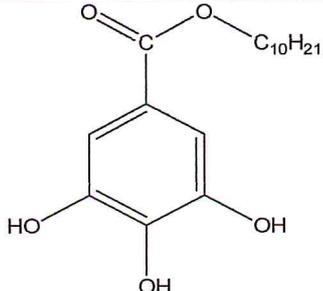
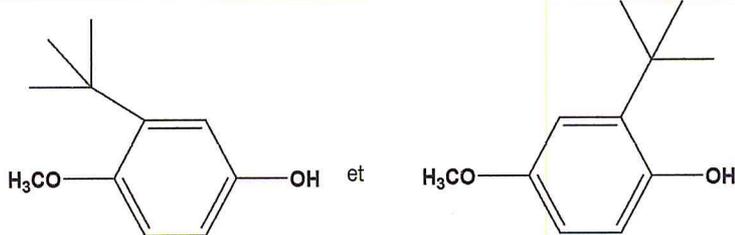
$\delta$ -tocophérols

Figure : 23

Ils existent dans différentes huiles végétales issues de l'olive, l'arachide, du maïs, du Tournesol, du soja ou encore de la sauge et du romarin [60].

**B-2- Antioxydants synthétiques [61].**

**Tableau 3 :** Structures de quelques antioxydants synthétiques :

Noms	Structures
Le gallate de propyle (E310)	
Le gallate d'octyle (E311)	
Le gallate de dodécyle (E312)	
Le butylhydroxyanisole ou BHA (320) 2isomère	

### B-2-1- Mécanisme d'action

Le processus d'oxydation est de type radicalaire : les antioxydants vont intervenir comme "capteurs" de radicaux libres. Les antioxydants de type phénolique réagissent selon un mécanisme proposé dès 1976 par Sherwin : l'antioxydant cède formellement un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus ou moins rapidement, par un transfert de proton, pour donner un intermédiaire radical stabilisé de par ses structures mésomères conjuguées (figure ) [62].

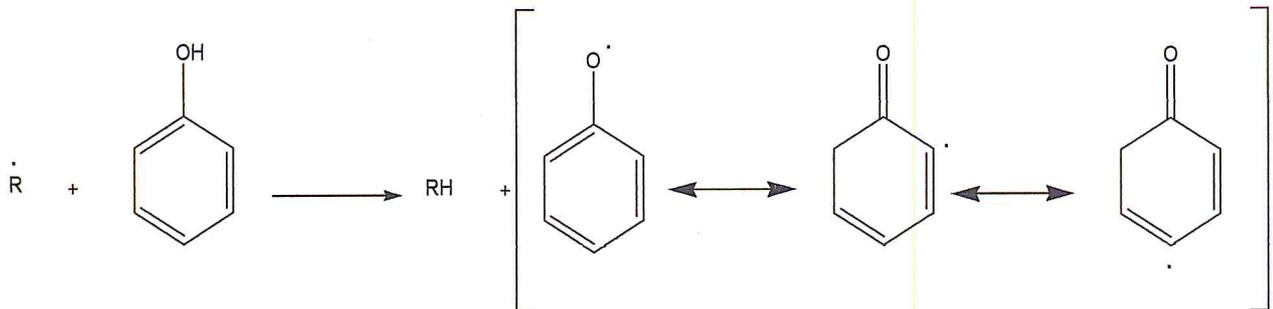


Schéma 25

### C-Définition d'un antioxydant

Toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat est appelée antioxydant. Le terme de substrat oxydable inclut toutes sortes de molécules *in vivo* [63].

Actuellement, plusieurs thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéiniques, les antihypertenseurs, ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes [64].

**L'acide ascorbique** : Vitamine C : est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. On retrouve la vitamine C principalement dans les aliments suivants : les légumes, le poivron, le persil, les agrumes et la kiwi (Bossokpi, 2002) [65].

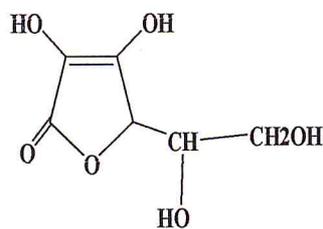


Figure 24

### D-Réduction de fer : *FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)*

La méthode est basée sur la réduction du  $\text{Fe}^{+3}$  présente dans le complexe ferrocyanure de potassium en  $\text{Fe}^{+2}$ , la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique ( $\text{Fe}^{+3}$ ) en couleur bleu vert du fer ferreuse ( $\text{Fe}^{+2}$ ), l'intensité de cette coloration est mesuré par spectrophotométrie à 700 nm [66].

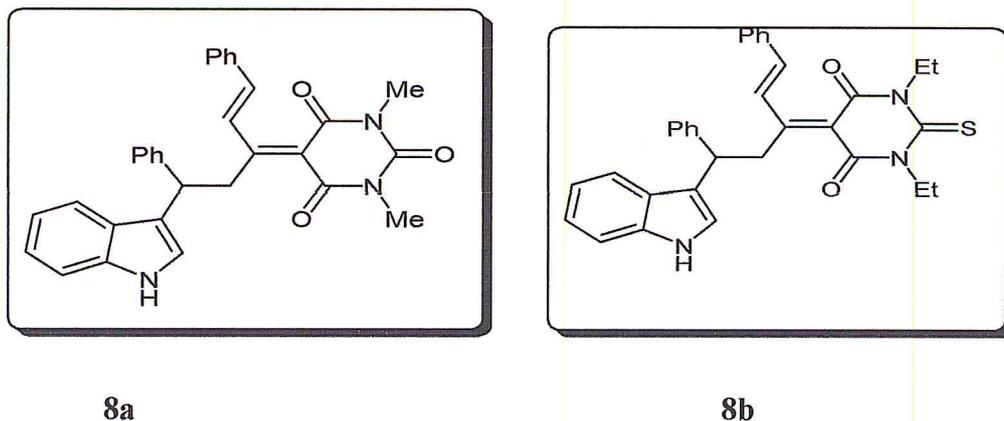


Figure 25

### E-Mode opératoire

Dans 6 tubes à essais on prépare 3 dilutions de chaque produits, 12,5mg de (8a - 8b), sont solubilisé dans 5ml d'éthanol. et 1g de témoin l'acide ascorbique dans 100 ml d'éthanol, On passe chaque dilution par le protocole de YILDIRIM, MAVI et KARA (2001) :

0,5ml de l'échantillon + 1,25ml d'une solution tampon phosphate à 0,2 M (PH=6,6) et 1,25 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}_2(\text{CN})_6$  à 1% le tout est incubé à 50 °C pendant 20mn puis refroidir à température ambiante, 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajouté pour stopper la réaction et 250ML d'une solution de chlorure de Fer ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) à 1%. La lecture des absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

**Tableau 4:** Les résultats d'oxydation des produits 8(a-b).

Les produits	dilution	Concentration (mg /ml)	absorbance	$\lambda$ (nm)
Acide ascorbique	1	10	1,2775	718
	2	5	1,1797	
	3	2,5	1,0536	
5 <sup>e</sup>	1	2,5	0,276	718
	2	1,25	0,165	
	3	0,625	0,094	
5f	1	2,5	0,236	718
	2	1,25	0,156	
	3	0,625	0,138	

On trace les graphes d'absorbance en fonction de la concentration des deux produits et on compare avec le graphe de l'acide ascorbique

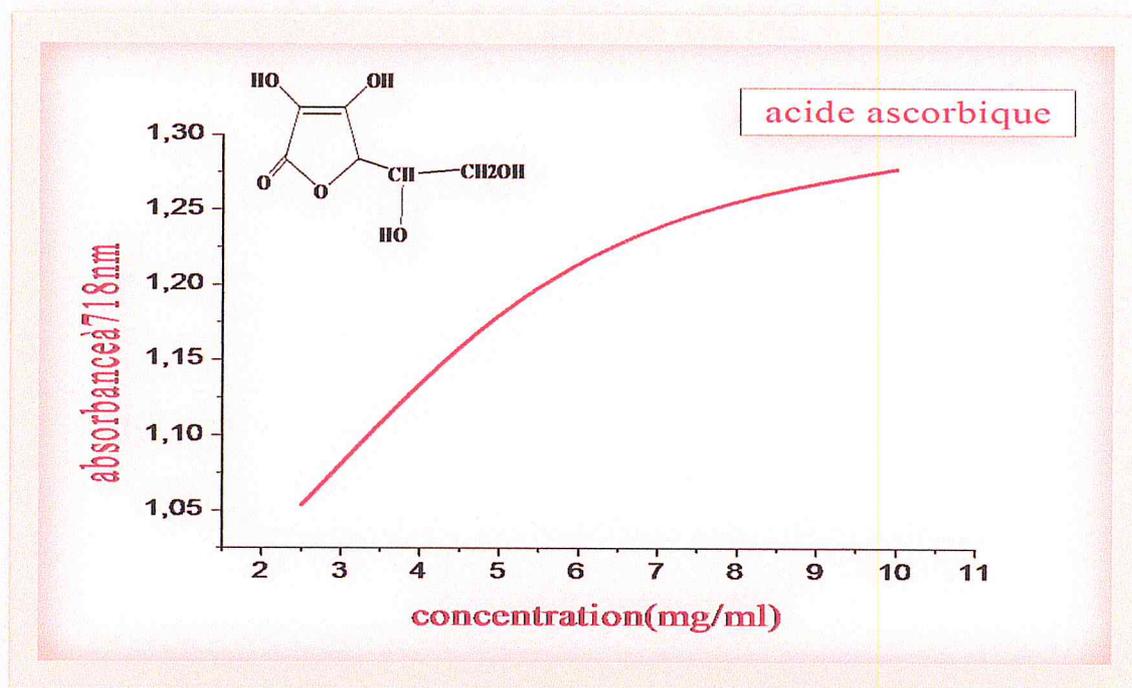


Figure 26

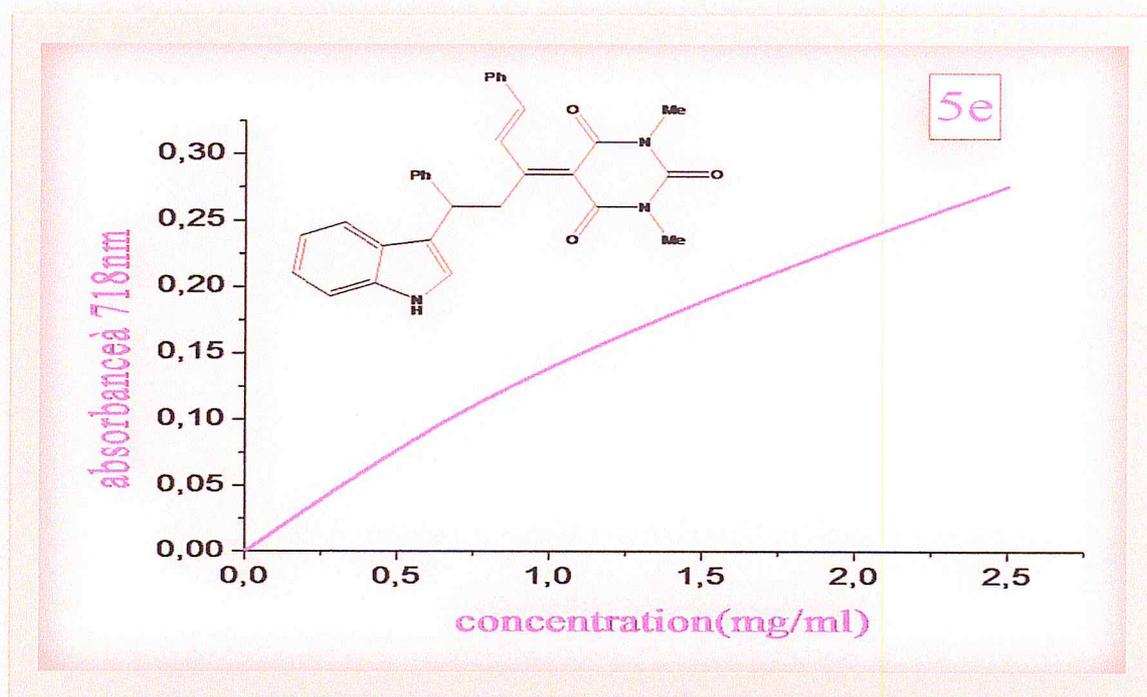


Figure 27

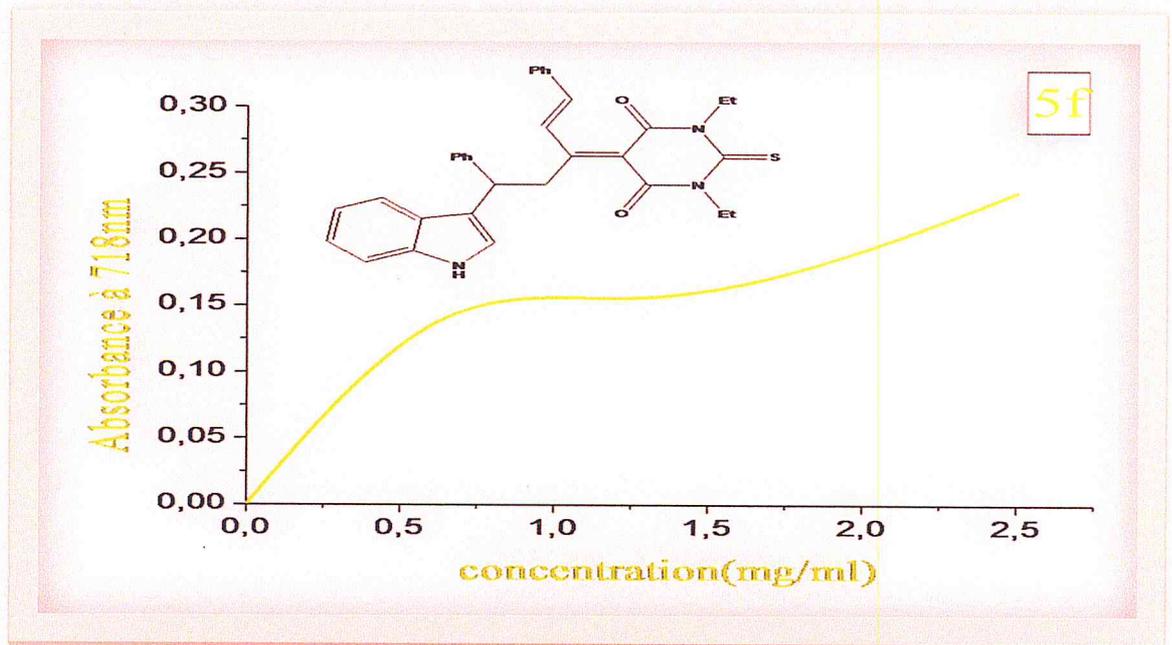


Figure 28

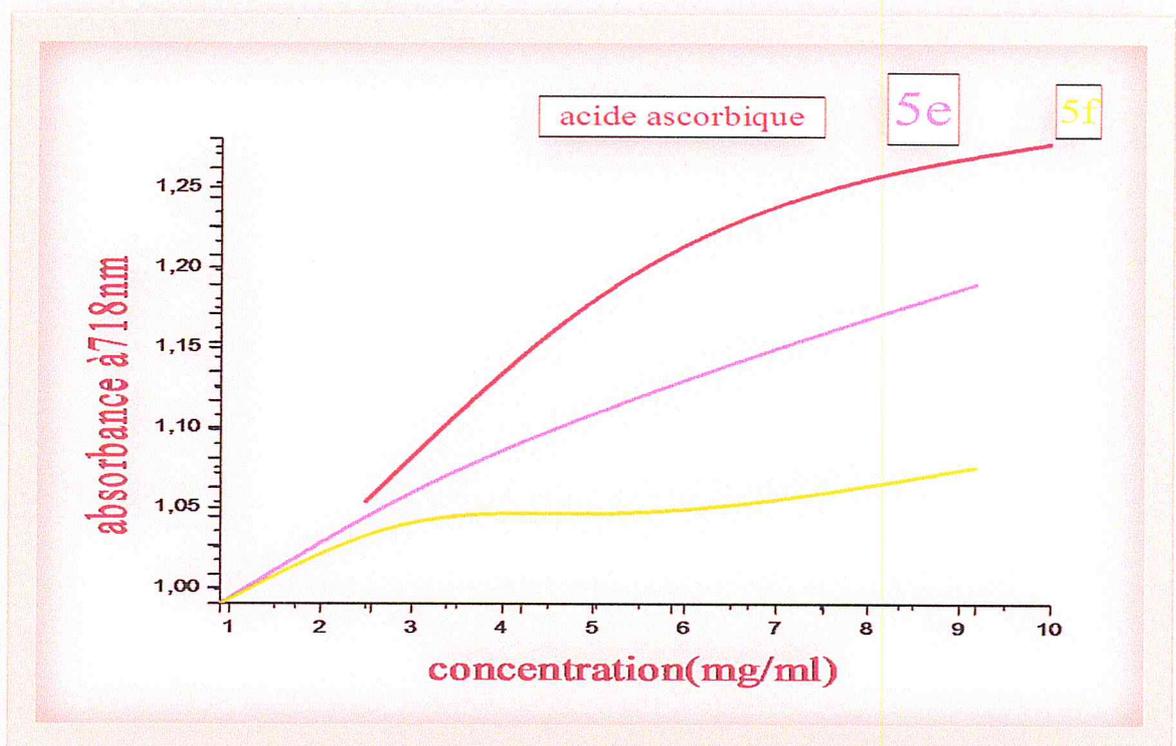


Figure 29

## F-Interprétation des résultats

La capacité antioxydante des produits sont largement dépendant de la composition de ces structures ainsi que des conditions de manipulation des tests in vitro . L'évaluation de l'activité anti oxydante est donc nécessairement réalisée par au moins deux méthodes différentes, mais comme on à des petites quantités des produits qui ont limité notre test par une seule méthode qui est la méthode de réduction de  $Fe^{+3}$  (de couleur jaune)vers la couleur (bleu- vert )de  $Fe^{+2}$ . La réduction du  $Fe^{+3}$  s'accompagne de changement de couleur du jaune vers le blu-vert.

- La présence des acides 1,2-diméthylbarbiturique et 1,2-diméthyle-2-thiobarbiturique qui possèdent des activités biologiques intéressantes [42] dans les deux produits testés explique la présence d'activité anti oxydante des molécules **8a** et **8b**.
- L'oxydation se fait au niveau de la double liaison de chaine latérale des composés **8a**et **8b**.
- Dans les deux composés le potentiel d'oxydation est nettement inférieur à celui de la vitamine C (acide ascorbique), prise comme référence.
- La présence du soufre non libre dans la structure de **8b** a empêché la facilité de la réduction ce qui explique le meilleur pouvoir antioxydant de **8a** par rapport à **8b**.
- La réduction du fer augmente quand la concentration de l'échantillon augmente donc elle est proportionnelle à la concentration.

## Conclusion générale

Les fonds marins, représentent un réservoir important en composés naturels bioactifs et cela grâce à la diversité structurale des métabolites marins secondaires qui permettent la découverte de nouvelles molécules à caractère thérapeutique. La famille des alcaloïdes indoliques appartient à la classe la plus bioactive du métabolite marin grâce à son noyau indolique qui présente un large spectre d'activité biologique.

Les objectifs de la synthèse sont en général la confirmation structurale des substances ainsi que la mise au point de méthodologies permettant l'accès à ces composés par voies chimiques.

Dans la première partie de ce mémoire, nous avons présenté une étude bibliographique concernant la molécule d'Aplysinopsine et ses différentes voies de synthèse connues, leur extraction, ainsi que les propriétés biologiques de quelques dérivés.

Le deuxième chapitre, Il présente la description des synthèses des différents composés. Nous avons synthétisé 6 analogues à l'Aplysinopsine selon la réaction de condensation de Knoevenagel sur des méthylènes actifs.

D'après les résultats de test antioxydant par la méthode FRAP, deux de ces analogues présentent des activités antioxydantes. Les produits obtenus sont caractérisés par les méthodes spectroscopiques telles que IR.

## Les Références bibliographiques

- [1] Kornprobst, J.M. Substances naturelle d'origine marine ,chimiodiversité-pharmacodiversité-Biotechnologies, Lavoisier, 2005.
- [2] Mancini, I.; Guella, G.; Zibrowius, H.; Pietra, F. *Tetrahedron* .2003, 59, 8757-8762.
- [3] Aoki, S.; Ye, Y.; Higuchi, K.; Takashima, A.; Tanaka, Y.; Kitagawa, I.; Kobayashi, M. *Chem. Pharm. Bull.* 2001, 49, 1372-1374.
- [4] Stanovnik, B.; Svete, J. *Mini Rev. Med. Chem.* 2005, 2, 211-224.
- [5] Zjawiony, K. Dobrosława Bialonska, Jordan, Review Aplysinopsins-Marine Indole Alkaloids: Chemistry, Bioactivity and Ecological Significance. 2009, 7, 166-183;
- [6] Osinga, R.; Tramper, J.; Wijffels, R.H. Cultivation of Marine Sponges. *Mar. Biotechnol.* 1999, 1, 509-532.
- [7] Koh, E.G.L.; Sweatman, H.J. *Exp. Mar. Bio. Ecol.* 2000, 251, 141-160.
- [8] Kazlauskas, R.; Murphy, P.T.; Quinn, R.J.; Wells, R.J. Aplysinopsin, un nouveau dérivé du tryptophane partir d'une éponge. *Tetrahedron Lett.* 1977, 1, 61-64.
- [9] Grassle, J. F.; Maciolek, N. J. *Amer. Nat.* 1992, 139-313.
- [10] Kazlauskas, R.; Murphy, P.T.; Quinn, R.J.; Wells, R. Aplysinopsin, un nouveau dérivé du tryptophane partir d'une éponge. *Tetrahedron Lett.* 1977, 1, 61-64.
- [11] Blicke, F.F.; Zienty, M.F. *J. Am. Chem. Soc.* 1941, 63(11), 2991-2993.
- [12] Iwagawa, T.; Miyazaki, M.; Okamura, H.; Nakatani, M. et al. *tetrahedron lett.* 2003, 44, 2533-2535.
- [13] Hollenbeak, K.H.; Schmitz, F.J. Aplysinopsin: dérivé du tryptophane antinéoplasiques d'origine marine éponge *Verongia spengelii*. *Lloydia* .1977, 40, 479-481.
- [14] Djura, P.; Faulkner, D.J. Les métabolites de l'éponge marine *Derictus* sp. *J. Org. Chem.* 1980, 45, 737-738.

- [15] Djura, P. ; Stierle, D.B.; Sullivan, B.; Faulkner, J. *Org. Chem.* 1980, 45, 1435-1441.
- [16] Tymiak, A.A.; Rinehart, K.L. Constituants JR d'éponges morphologiquement semblables. *Tétraèdre* .1985, 41, 1039-1047.
- [17] Hu, J.F.; Schetz, J.A.; Kelly, M.; Peng, J.N.; Ang, K.H.; Flotow, H.; Yan Leong, S.B.; Buss, p.; Wilkins, S.P.; Hamann, M.T. *J. Nat. Prod.* 2002, 65, 476-480.
- [18] Baker, J.T.; Wells, R.J., Beal, J.L.; Reinhard, E .Eds; Hipocrates Verlag : Stuttgart.1981, 281.
- [19] Kondo, K.; Nishi, J.; Ishibashi, M.; Kobayashi, J. *J. Nat. Prod.* 1994, 57, 1008-1011.
- [20] Selic, L.; Jakše, R.; Lapmič, K. ; Golic, L. ; Golic-Grdadolnik , S .; Stanovnik, B. *Helv. Chim. Acta* .2000, 83, 2802-2811.
- [21] Selic, L.; Rečnik, S.; Stanovnik, B. *Hétérocycles* (2002), 58, 577-585.
- [22] Wells, K.M. ; Murphy, P.T. *Brevet américain.Drogues mars* .2009, 4, 7183.
- [23] Baird-Lambert, J; Davis, p.a; Taylor, K.M.. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol* .1982, 9, 203-212.
- [24] Roth, B.L. *Les récepteurs de la sérotonine: De Pharmacologie Moléculaire à Therapeutics de l'homme*; Humana Press: Totowa, New Jersey, (2006), p. 618.
- [25] Fahy, E; Potts, B. C. M .; Faulkner, D. J. *J. Nat. Prod.* (1991), 54, 564.
- [26] Mclafferty ,F .W. *Interpretation of CCM third Edn,University Science BOOK:Mill valley,(1980).*
- [27] Faghoul,A.M.mémoire synthèse des analogues à l'aplysinosine,2011,33.
- [28] .Iwagawa,T.;Miyazaki,M.;Okamura,H .;Nakatani,M.al.tetrahedron lett.2003,44,2533-2535.

- [29] Solberg,C.; Saugen,E.; Swenson, L.P.; Bruun ,L.; Isaksson,T. ; Determination of fat in live farmed Atlantic salmon using non-invasive NIR techniques ; *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2003,83, 692-696.
- [30] Bounias ,M.;Levine, S.G. Identification of Unknowns by Melting Point and Thin-Layer Chromatography in Combination , *J. Chem. Ed.*1990, 67, 972 .
- [31] Kirby,G.W; and Varley,M.J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1974).833–834.
- [32] Skrabal,P.; Rizzo,V.; Baici,A.; Bangerter,F.; and Luigiluisi,P.; *Biopolymers*. 1979, 18, 995–1008.
- [33] Macgraw,H; Galen Wood Ewing Instrumental methods of chemical analysis Publisher. (1986).
- [34] Braun, R; Introduction to chemical Analysis Publisher: McGrawHill 1st Edition (1982).
- [35] Rouessac, F ; Rouessac,A ; Méthodes et techniques instrumentales modernes ; 1ère édition ( 23 avril 1992) .
- [36] Heslop,R.B.; WildGillian, M.S.I.Units in chemistry Applied Science Publishers, (1971).
- [37] Manuila ,A.; Manuila, L.; Nicole, M.; Lambert ,H. *J. médecine et de biologie* 381 , 1981.
- [38] Guella, G.; Mancini, I.; Zibrowius, H.; Pietra, F. *Helv.Chim. Acta.*1988. 71, 773-782.
- [39] Fischer, E.,O.Hess,H.Kuzelchem.BER. 1883,16, 2239-2241.
- [40] Koh, E.G.L.; Sweatman, H.J.*Exp.Mar.Bio.Ecol.*2000, 251,141-160.
- [41] Wu, Z. ; Minhas, G.S. ; Wen, D. ; Jiang, H. ; Chen, K. ; Zimniak, P. ; Zheng, J. *J. Med. Chem.* 2004, 47, 3282-3294.

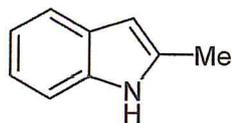
- [42] Breyholz, H.J. ; Schäfers, M. ; Wagner, S. ; Höltke, C. ; Faust, A. ; Rabeneck, H. ; Levkau, B. ; Schober, O. ; Kopka, K. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 3400-3409.
- [43] Meusel, M. ; Ambrozak, A. ; Hecker, T.K. ; Gütschow, M. *J. Org. Chem.* 2003, 68, 4684-4692.
- [44] Kopka, K. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 3400-3409.
- [45] Pearson, A.J. ; Mesaros, E.F. *Org. Lett.* 2002, 4, 2001-2004.
- [46] Goldenthal, E.I. *Toxicology and applied pharmacology.* 1971, 18, 185-207.
- [47] Hiroi, K. ; Suzuki, Y. ; Abe, I. ; Hasegawa, Y. ; Suzuki, K. *Tetrahedron Assymetry.* 1998, 9, 3797-3817.
- [48] Weast, R.C.; Astle, M. J. ; Beyer, W.H.; *CRC handbook of chemistry and physics.* 69, 1988-1989.
- [49] Anastas ,P.T. ;Kirchhoff,M .M.;Origins,current status and future challen ges of green chemistry,*ACC.chem.Res.*2002,35,686-694.
- [50] Pascal, G. Les antioxygènes alimentaires. *Cahier de Nutrition et de Diététique.*1979, 14, 271-290.
- [51] Fiess, M. Lipides, comment prévenir l'oxydation, *Revue de l'Industrie Agroalimentaire.*1996, 556, 48-50.
- [52] Bolland, J. L. Kinetics of olefin oxidation, *Quarterly Reviews.* 1949, 3, 1-21.
- [53] Bateman, L., Olefin oxidation, *Quarterly Reviews.*1954, 8, 147-167.
- [54] Namiki, M. Antioxidants,Mutagenes in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*1990, 29, 273-300.
- [55] Chazan, J. B. et Szulc, M. Radicaux libres et vitamine E. *Cahier de Nutrition et de Diététique.* 1987, 22, 66-76.

- [56] Clough, R. L., Yee, B. G.; Foote, C. S. Chemistry of singlet oxygen. 30. The unstable primary product of tocopherol photooxidation. *Journal of the American Chemical Society*. 1979, 101, 683-686
- [57] Szengyörgyi, A. The identification of vitamin C. *Science*. 1938, 87, 214-215.
- [58] Olcott, H. S. et Mathill, H. A. Antioxidants and autoxidation of fats. VII. Preliminary classification of inhibitors. *Journal of American Chemical Society*. 1936, 58, 2204-2208.
- [59] Chipault, J. R., Mizuno, C. L., Hawkins, M. et Lundberg, W. O. Antioxidant properties of spices in oil-in-water emulsions. *Food Research*. 1955, 20, 443
- [60] Just, N., Nyunga, M.; Lelong, J.; et Wallaert, B. Allergie immédiate aux glucocorticoïdes de synthèse oraux. *La Revue de Médecine Interne*. 2005, 26, 331-334.
- [61] Sherwin, E. R. Antioxidants for vegetable oils. *Journal of American Oil Chemical Society*. 1976, 53, 430-436
- [62] Anastas, P. T.; Kirchoff, M. M.; Origins, current status and future challenges of green chemistry, *chem. Res.* 2002, 35, 686-694.
- [63] Breyholz, H. J.; Schäfers, M.; Wagner, S.; Hölte, C.; Faust, A.; Rabeneck, H.; Levkau, B.; Schober, O.; Kopka, K. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 3400-3409.
- [64] Wu, Z.; Minhas, G. S.; Wen, D.; Jiang, H.; Chen, K.; Zimniak, P.; Zheng, J. *J. Med. Chem.* 2004, 47, 3282-3294.
- [65] Kopka, K. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 3400-3409.

# ANNEXES

## Formulaire des produits

2-méthylindole 1



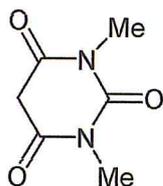
1

2-méthyl-1H-indole-3-carbaldéhyde 2

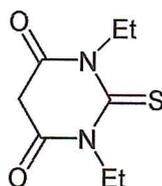


2

## Les méthylènes actifs

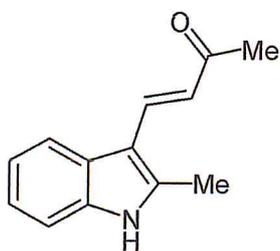


3a



3b

## Les produits

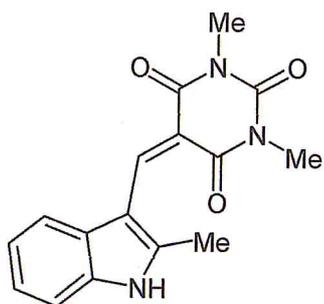


5

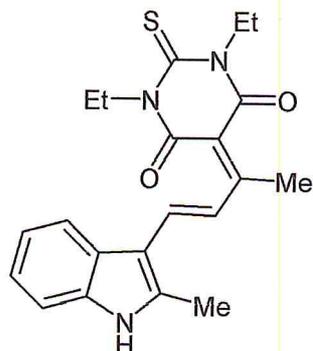


7

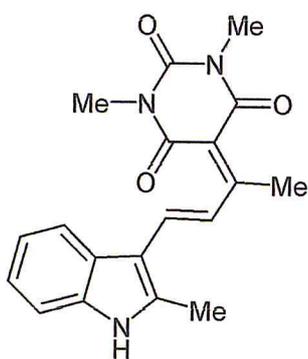
## Les analogues à l'aplysinochrome 5



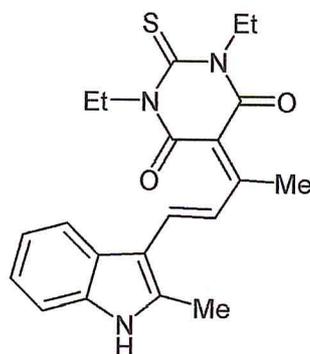
4a



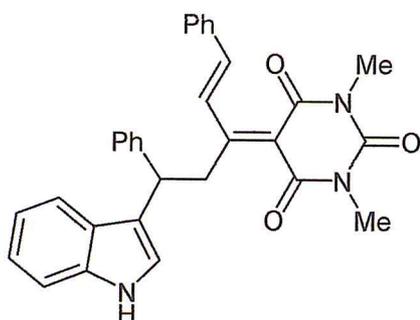
4b



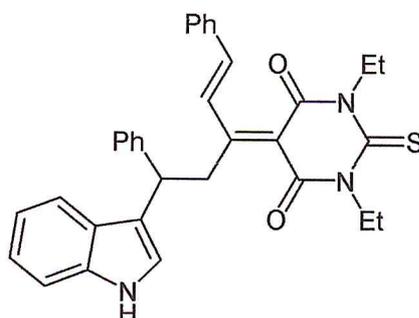
6a



6b



8a



8b