

N° d'ordre.....FSI/UMBB/2014

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ M'HAMED BOUGARA DE BOUMERDÈS



Faculté des Sciences de l'Ingénieur

Thèse de Doctorat

Présentée par :

Mlle Feryel DRIDI

En vue de l'obtention du diplôme de **DOCTORAT** en :

Filière : Sciences et génie des matériaux - Option : Chimie de la matière et environnement

05 Mars 2015

Synthèse et caractérisation des dérivés quinoniques.

Application du tannage et test biologiques.

Devant le jury composé de :

Mr	DJELALI	Nacer-Eddine	Pr	UMBB	Président
Mr	HACHEMI	Messaoud	Pr	UMBB	Rapporteur
Mr	MOSTEFA-KARA	Bachir	Pr	UABBT	Examineur
Mr	BENSAID	Okkacha	Pr	UABBT	Examineur
Mr	ELIAS	Abdelhamid	Pr	UMMTO	Examineur

Année Universitaire 2014/2015

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué au Laboratoire de Chimie Moléculaire et Thio-organique (LCMT) à l'Ecole Nationale Supérieure des Ingénieurs de Caen (France) sous la direction du Professeur Didier Villemin et à l'Unité de Recherche Matériaux, Procédés et Environnements (UR-MPE) de Boumerdès sous la direction du Professeur HACHEMI Messaoud.

Je voudrais tout d'abord remercier mon directeur de thèse qui est également le chef de l'équipe des travaux portés sur la chimie verte et est actuellement le Doyen de la Faculté des Sciences de l'Ingénieur, le Professeur HACHEMI Messaoud pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et encadrée au cours de ces années. Je lui suis très reconnaissante pour la liberté qu'il m'a laissée dans mon travail ainsi que pour les conseils précieux qu'il a pu me donner.

Je voudrais remercier le professeur Didier VILLEMIN, mon co-directeur de thèse, en lui témoignant toute ma reconnaissance pour m'avoir ouvert les portes de son laboratoire et mis à ma disposition les moyens matériels nécessaires pour accomplir ce travail. Je voudrais également le remercier pour ses précieux conseils scientifiques qui m'ont servi dans l'orientation de mes travaux et ont permis à ce travail de voir le jour.

Je remercie l'ensemble des membres de jury de cette thèse : le professeur Djelali Nacer-Eddine, le professeur Mostefa-Kara Bachir, le

professeur Bensaid Okkacha, le professeur Villemin Didier, le maître de conférence Bar Nathalie pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail.

Mais ce travail ne serait pas ce qu'il est sans l'aide du maître de conférence, madame Nathalie Bar, qui a toujours su se montrer disponible pour me donner des explications scientifiques, j'ai énormément appris à ses côtés et ce fut pour moi un honneur et un grand plaisir de travailler avec elle.

Je remercie également les ingénieurs du laboratoire Rémi LEGAY et Baptiste RIGAUD ingénieurs responsables de la RMN et Fabien LECAVELIER responsable de la spectrométrie de masse pour leur aide, leurs explications précieuses qui ont contribué considérablement à l'aboutissement de ce travail.

Je remercie le professeur Marc Lecouvey et madame Odile Sainte-Catherine de l'Université de **Paris XIII** pour les analyses biologiques qui ont été effectuées au sein de leur laboratoire de Chimie, Structure, Propriétés de Biomatériaux et d'Agents Thérapeutiques (CSPBAT).

Un très grand merci pour Guillaume MORCEL qui a su se montrer « très » disponible pour toutes les commandes faites à son niveau à n'importe quel moment.

Je remercie madame BADAoui Ratiba directrice technique à la tannerie et mégisserie de Rouiba (TAMEG) pour son accueil et pour m'avoir

donné le libre accès au laboratoire et aux ateliers de productions de la TAMEG.

Je remercie également Madame LEKKAM Abida ingénieur au sein du laboratoire de la tannerie de Rouiba pour toutes ses orientations et ses conseils précieux durant mon passage au laboratoire de la TAMEG.

Je remercie tous les membres de mon équipe du LCMT : Fatiha, Haddad, Amel, Mabrouka ainsi que Jérôme et Yutta pour leurs encouragements et leur soutien, et plus particulièrement mon collègue thésard et ami Clément MONTEIL pour son aide, sa gentillesse et sa disponibilité durant toute la durée de ma formation.

Je remercie également tous mes amies et collègues de l'Université de Boumerdès : Leila, ma Grande dame Samya, Sihem, Widad et mon cousin Mehdi pour leur soutien tout au long de mes travaux.

Je tiens à remercier spécialement mes parents ainsi que ma sœur et mon frère qui m'ont toujours soutenu tout au long de mes études. Je leur dois beaucoup et je ne serais sans doute pas arrivée là où j'en suis sans leur aide.

RÉSUMÉ

Le tannage est une opération qui a pour but de transformer une peau animale en cuir. Les matières tannantes les plus utilisées sont les sels de chrome, connus pour leurs effets polluants sur l'environnement.

Au départ, notre travail était orienté vers la synthèse de molécules tannantes par l'utilisation de méthodes respectueuses de l'environnement. Nous nous sommes intéressés à la synthèse de furocoumarines linéaires appelés « psoralènes », qui activés par les rayons ultra violet (UV) peuvent être utilisés dans le processus de tannage. En raison des difficultés rencontrées et de la complexité de ces réactions, nous n'avons pu aboutir aux résultats escomptés, nous avons dû réorienter l'axe de notre recherche ce qui nous a permis d'aboutir à de nouvelles molécules cycliques aromatiques contenant « une quinone » comme structure de base avec pour finalité des applications dans le domaine médical et dans le tannage industriel .

Dans un premier temps, nous avons synthétisé une première famille de composés appelée les « **dioxines** » en présence de 2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone (DCNQ). Par la suite, d'autres produits ont été élaborés à partir de réactions entre des dérivés d'indoles et différents naphto et benzoquinones, appelés « **indolylquinones** ». Tous les composés obtenus ont été caractérisés par RMN (^1H , ^{13}C , cosy '2D', HMBC, HSQC), spectrométrie de masse et par analyse infrarouge.

Les résultats obtenus lors de l'étude sur l'activité biologique des différents composés synthétisés sur les quatre lignées cellulaires cancéreuses (MDA-MB-231, A431, B16F10, U87-MG) semblent très prometteurs.

Les essais de tannage effectués sur les produits obtenus ont montré la présence d'un faible pouvoir de fixation sur le collagène.

Mots clés : tannage, quinone, dioxine, indolylquinone, cancer.

ABSTRACT

Tanning is the process of treating skins of animal to produce leather. Chromium salts have been known as the most used and effective tanning agents. Therefore their pollution impacts on the environment are disclosed as a major problem.

Our objective is to use the tanning agent more eco-friendly compared to Chromium salts. We are interested firstly to synthesize linear furocoumarins (also called psoralens) which could be activated by ultraviolet light (UV) before being used in tanning process. But the synthetic pathway of this compound is problematic. We decided to focus on new compound with the "quinone" structure for the applications in the medical field and in the tanning industry.

Firstly, we synthesized the **dioxins** from 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone (DCNQ). Secondly the reaction between indole and various naphtho/benzoquinone produces the **indolyquinones**. The compounds obtained were characterized by NMR (^1H , ^{13}C , cosy '2D', HMBC, HSQC), mass spectrometry and infrared analysis.

Biological activity studies of these different compounds on 4 cancer cell lines (MDA-MB-231, A431, B16F10, U87-MG) shows promising results. Therefore, the test performed on tanning process gave a low binding with collagen.

Keywords: tanning, quinone, dioxin, indolyquinone, cancer.

المخلص

الدباغة هي عملية تهدف الى تحويل جلد الحيوان الحي إلى جلد جاهز للاستعمال. الدباغة بأملح الكروم هي الطريقة الأكثر استعمالا وعلى الرغم من جودتها الى أنها تعد ملوثة جدا للبيئة. الجزيئات المسماة بالبسورالين . من خلال تفاعلها مع الأشعة فوق البنفسجية، يمكن أن تستخدم في عملية الدباغة عوضا عن الكروم الملوث. أبحاثنا سمحت لنا بالوصول إلى صنع جزيئات حلقيه تحتوي على "الكينون"، التي تعتبر البنية الأساسية في التطبيقات بالمجال الطبي ومجال الدباغة الصناعي.

لقد توصلنا في هذا العمل إلى توليف مركبات تدعى بالديوكسين بإستعمال 3,2 ثنائي 4,1 نفتوكينون، وطورنا بعد ذلك منتجات أخرى من ردود الفعل بين مشتقات الأندول ومختلف جزيئات البنزو و النفثوكينون، وذلك للتحصل على. الأندوليل كينون.

دراسة النشاط البيولوجي لمختلف المركبات اعطت نتائج جيدة على عدة خلايا سرطانية. أظهرت تجارب الدباغة التي أجريت على المنتجات المحصل عليها، انخفاض قدرة التثبيت على الكولاجين.

كلمات البحث : الدباغة، الكينون، الديوكسين، الأندوليل كينون، السرطان.

ABRÉVIATIONS

APTS	Acide paratoluène sulfonique
CCM	Chromatographie sur couche mince
COSY	Spectrométrie de corrélation proton-proton (Correlated Spectroscopy)
CDCl₃	Chloroforme deutéré
CH₂Cl₂	dichlorométhane
DCNQ	2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone
DMAP	N,N-diméthyl-4-aminopyridine
DMEM	Milieu de culture cellulaire
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EtONa	Éthanolate de sodium
EtOH	Éthanol
Et	Éthyle
EtN₃	Triéthylamine
HMBP	2-hydroxy-4-méthoxybenzophénone
HMBC	Spectrométrie hétéronucléaire de corrélation de liaisons multiples (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)
HSQC	Spectrométrie hétéronucléaire de cohérence quantique unique (Heteronuclear Single Quantum Coherence)
KSF	Montmorillonite
Me	Méthyle
MNBA	2-méthyl-6-anhydride nitrobenzoïque

MTT	Bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium)
RMN	Résonance magnétique nucléaire
T.A	Température ambiante
TEBA	Chlorure de triéthylbenzylammonium
TMS	Tétraméthylsilane

LISTE DES TABLEAUX

Tableau II-1 : Synthèse des indolylquinones à partir du 1,4-naphtoquinone.	56
Tableau II-2 : Rendements des produits obtenus des réactions entre le 2-méthylnaphtoquinone et les dérivés d'indoles.	57
Tableau II-3 : Taux de conversion obtenus en fonction du changement du rapport molaire des réactifs de départ.	64
Tableau II-4 : Rendements des produits obtenus des réactions entre le méthyl- <i>p</i> -benzoquinone et les d'indoles.	67
Tableau III-1 : Valeurs de CE_{50} pour les différents composés testés.	95
Tableau VI-1 : Masses des échantillons P_1 et P_2 .	103
Tableau VI-2 : Masses des échantillons P_1' et P_2' .	104

LISTE DES FIGURES

Figure I-1 : Structure chimique d'une coumarine.	6
Figure I-2 : Structures de coumarines ayant une activité anti-inflammatoire, anticoagulante et antibactérienne.	8
Figure I-3 : Les différentes réactions permettant l'obtention de coumarines.	9
Figure I-4 : (a) Structure chimique d'une furocoumarine linéaire ; (b) Structure chimique d'une furocoumarine angulaire.	10
Figure I-5 : Photoaddition du psoralène sur la thymine.	13
Figure I-6 : Sel de pyridinium.	18
Figure I-7 : Isomères obtenus dans le mélange.	25
Figure I-8 : Produits obtenus dans la partie A.	27
Figure I-9 : Produits obtenus dans la partie B.	28
Figure I-10 : Produits obtenus dans la partie C.	29
Figure I-11 : Produits obtenus dans la partie D.	30
Figure II-1 : Structure générale de l'indolylquinone.	49
Figure II-2 : Structure de quinones et d'hydroquinones de base.	50
Figure II-3 : La position la plus réactive de l'indole.	51
Figure II-4 : L'astérriquinone.	51
Figure II-5 : 2, 5-bis (2-méthylindol-3-yl)-p-benzoquinone.	54
Figure II-6 : Produits obtenus de la réaction entre le 2-méthylnaphtoquinone et le 2-méthylindole.	58
Figure II-7 : Corrélations HMBC type 2D.	59
Figure II-8 : Produit obtenu de la réaction entre le 2-méthylnaphtoquinone et le 2-phénylindole.	61
Figure II-9 : Colonne chromatographique portant plusieurs fractions rapprochées.	62
Figure II-10 : Produits obtenus de la réaction entre le benzoquinone et le 2-méthylindole.	63
Figure II-11 : Produits obtenus de la réaction entre le benzoquinone et le 2-phénylindole.	65
Figure II-12 : Produits obtenus de la réaction entre le benzoquinone et le 3-méthylindole.	65
Figure II-13 : Produits obtenus de la réaction entre le benzoquinone et l'indole.	66

Figure II-14 : Produits obtenus de la réaction entre le méthyl- <i>p</i> -benzoquinone et le 2-méthylindole.	67
Figure II-15 : Produit obtenu de la réaction entre le méthyl- <i>p</i> -benzoquinone et le 2-phénylindole.	68
Figure II-16 : Produit obtenu de la réaction entre le méthyl- <i>p</i> -benzoquinone et le 3-méthylindole.	68
Figure II-17 : Molécule instable supposée être un produit de la réaction entre le <i>p</i> -méthylbenzoquinone et le 3-méthylindole.	69
Figure III-1 : Structure de la doxorubicine.	87
Figure III-2 : Agents anticancéreux ayant la structure du 2-phénylnaphtalène.	88
Figure III-3 : Synthèses des molécules mono et bis-indolyloquinones ; conditions opératoires : (A) K ₂ CO ₃ , TEBA, CH ₃ CN, T.A, 1 : 2,1, 24h ; (B) K ₂ CO ₃ , TEBA, CH ₃ CN, T.A, 1 : 2,1, 6h.	90
Figure III-4 : Synthèse de la 5- <i>O</i> -Acyle juglone.	91
Figure III-5 : Molécules naturelles contenant la structure de l'isoquinolinequinone.	92
Figure III-6 : La phénanthridine-7,10-quinone.	93
Figure III-7 : Oxydation du sel MTT par la succinate déshydrogénase.	94
Figure III-8 : Étude comparative des benzodioxines naphthoquinones sur la prolifération des cellules B16F10 (A), A431 (B), U87-MG (C) et MDA-MD-231 (D).	97
Figure VI-1 : Étape de traitement de la peau avant tannage.	101
Figure VI-2 : (a) Foulon de tannage à l'échelle industrielle ; (b) Foulon de tannage à l'échelle de laboratoire.	102
Figure VI-3 : Test de rétraction sur la peau P ₁ .	104
Figure VI-4 : Test de rétraction sur la peau P ₂ .	104
Figure VI-5 : (C) Peau P ₁ ' picklée ; (D) Peau après le mélange avec le produit ; (E) Peau P ₁ ' après le test de rétraction.	105
Figure VI-6 : (F) Peau P ₂ ' picklée ; (G) Peau après le mélange de notre produit avec le chrome ; (H) Peau P ₂ ' après le test de rétraction.	106

LISTE DES SCHÉMAS REACTIONNELS

Schéma 1 : Synthèse de Liebermann.	15
Schéma 2 : Synthèse de Singh.	16
Schéma 3 : Synthèse de Sugino.	16
Schéma 4 : Synthèse de Li.	17
Schéma 5 : Synthèse du produit 3 selon les travaux de Lieberman.	17
Schéma 6 : Synthèse du produit 3 selon les travaux de Cheng.	19
Schéma 7 : Synthèse du produit 5 selon les travaux de Tandon.	19
Schéma 8 : Synthèse du produit 5.	20
Schéma 9 : Mécanisme de formation du produit 5.	20
Schéma 10 : Synthèse du produit 6.	21
Schéma 11 : Mécanisme de formation du produit 6.	21
Schéma 12 : Synthèse du produit 8 selon les travaux de Singh.	22
Schéma 13 : Synthèse du produit 8 selon les travaux de Sugino.	23
Schéma 14 : Synthèse du produit 8 selon les travaux de Li.	24
Schéma 15 : Synthèse selon les travaux de Pechmann.	24
Schéma 16 : Proposition de mécanisme selon J. Daru.	25
Schéma 17 : Synthèse du produit 14 selon les travaux de Liebermann.	26
Schéma 18 : Synthèse du produit 14 en présence de BiCl_3 et de Nitrobenzène.	27
Schéma 19 : Synthèse du produit 14 selon les travaux de Cheng.	28
Schéma 20 : Synthèse du produit 14 selon les travaux de Tandon.	29
Schéma 21 : Réaction de cyclisation du produit 15 en présence de AlCl_3 .	30
Schéma 22 : Réaction de cyclisation du produit 15 en présence de BiCl_3 .	30
Schéma 23 : Synthèse du produit 14 selon les travaux de Chang.	31
Schéma 24 : Synthèse du produit 19 selon les travaux de Tandon.	32
Schéma 25 : Mécanisme de formation du produit 19.	32
Schéma 26 : Synthèse du produit 20.	33
Schéma 27 : Mécanisme de formation du produit 20.	33
Schéma 28 : Synthèse du produit 21.	34
Schéma 29 : Synthèse de Möhlau et Redlich.	52
Schéma 30 : Synthèse de Bu'lock et Harley-Mason.	53
Schéma 31 : Synthèse de Bruce.	54
Schéma 32 : Mécanisme général de l'addition de Mickael de l'indole sur la p-quinone.	55

Schéma 33 : Synthèse des indol-3-ylquinones (22-25) à partir du 1,4-naphthoquinone.	56
Schéma 34 : Synthèse des indolylquinones (26-28) à partir du 2-méthyl-naphthoquinone.	57
Schéma 35 : Mécanisme de formation du produit 27.	60
Schéma 36 : Réaction du 2-méthyl-naphthoquinone avec le 3-méthylindole.	61
Schéma 37 : Synthèse des indol-3-ylquinones à partir du benzoquinone.	62
Schéma 38 : Synthèse des indol-3-ylquinones (29-33) à partir du méthyl- <i>p</i> -benzoquinone.	67

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE 1 : Psoralènes et coumarines	5
1 INTRODUCTION	6
1.1 LES COUMARINES	6
1.1.1 Structure générale	6
1.1.2 Propriétés physico-chimiques	7
1.1.3 Propriétés biologiques	7
1.1.4 Synthèses des coumarines	8
1.2 LES FUROCOUMARINES	10
1.2.1 Structures générales et propriétés physico-chimiques	10
1.2.2 Propriétés biologiques	11
1.2.3 La puvathérapie	12
1.2.4 Processus photochimique	14
1.3 EXEMPLES DE SYNTHÈSES DES COUMARINES DÉCRITES EN LITTÉRATURE	15
1.3.1 Les travaux de Lieberman	15
1.3.2 Les travaux de V. Singh <i>et al</i>	15
1.3.3 Les travaux de T. Sugino <i>et al</i>	16
1.3.4 Les travaux de T. Li <i>et al</i>	16
1.4 TRAVAUX PERSONNELS	17
1.4.1 Synthèses des benzofurano-naphtoquinones en présence de résorcinol	17
1.4.2 Synthèses des benzofurano-naphtoquinones en présence de phloroglucinol	19
1.4.3 Synthèses des benzofurano-naphtoquinones en présence de sésamol	21
1.5 SYNTHÈSES DE PSORALÈNES	22
1.5.1 Synthèses selon Singh <i>et al</i>	22

1.5.2 Synthèses selon Sugino <i>et al</i>	23
1.5.3 Synthèses selon Li <i>et al</i>	24
1.5.4 Synthèses selon Pechmann	24
1.6 SYNTHÈSES DE PSORALÈNES EN PARTANT DE DCNQ ET D'UMBELLIFÉRONE	26
1.6.1 Partie A	26
1.6.2 Partie B	27
1.6.3 Partie C	28
1.6.4 Partie D	29
1.6.5 Partie E	30
1.7 SYNTHÈSES DES BENZODIOXINES NAPHTOQUINONES	31
1.7.1 Synthèses en présence du 4,5-dihydroxy coumarine	31
1.7.2 Synthèses en présence d'acide gallique	33
1.7.3 Synthèses en présence de l'ester d'acide gallique (méthyle gallate)	34
1.8 CONCLUSION	34
1.9 MATÉRIEL ET MÉTHODES	34
PARTIE EXPÉRIMENTALE	36
CHAPITRE 2 : Synthèses des indolylquinones	48
2 INTRODUCTION	49
2.1 Structure et propriétés des quinones	50
2.2 Structure et propriétés des indoles	50
2.3 Propriétés biologiques des indolylquinones	51
2.4 Exemples de synthèses d'indolylquinones décrites dans la littérature	52
2.4.1 Les travaux de Möhlau et Redlich	52
2.4.2 Les travaux de Bu'lock et Harley-Mason	53
2.4.3 Les travaux de Bruce	54
2.5 Mécanisme proposé	55

2.6 Résultats et discussion	55
2.6.1 RÉACTIONS EN PRÉSENCE DU 1,4-NAPHTOQUINONE	56
2.6.2 RÉACTIONS EN PRÉSENCE DU 2-MÉTHYLNAPHTOQUINONE	57
A/ Réaction du 2-méthylnaphtoquinone avec le 2-méthylindole	58
B/ Réaction du 2-méthylnaphtoquinone avec le 3-méthylindole	60
C/ Réaction du 2-méthylnaphtoquinone avec le 2-phénylindole	61
D/ Réaction du 2-méthylnaphtoquinone avec l'indole	61
2.6.3 RÉACTIONS EN PRÉSENCE DU BENZOQUINONE	62
A/ Réaction du benzoquinone avec le 2-méthylindole	63
B/ Réaction du benzoquinone avec le 2-phénylindole	64
C/ Réaction du benzoquinone avec le 3-méthylindole	65
D/ Réaction du benzoquinone avec l'indole	66
2.6.4 RÉACTIONS EN PRÉSENCE DU MÉTHYL- <i>p</i> -BENZOQUINONE	66
A/ Réaction du méthyl- <i>p</i> -benzoquinone avec le 2-méthylindole	67
B/ Réaction du méthyl- <i>p</i> -benzoquinone avec le 2-phénylindole	68
C/ Réaction du méthyl- <i>p</i> -benzoquinone avec le 3-méthylindole	68
D/ Réaction du méthyl- <i>p</i> -benzoquinone avec l'indole	69

2.7 Conclusion	69
2.8 Matériel et méthodes	70
PARTIE EXPÉRIMENTALE	72
CHAPITRE 3 : Essais biologiques	85
3 INTRODUCTION	86
3.1 Définition et propriétés des antineoplastiques (ou anticancéreux)	86
3.2 Mode d'action et propriétés pharmacologiques des agents anticancéreux cytotoxiques	87
3.3 Agents alkylants	88
3.4 Agents intercalants	89
3.5 Inhibiteurs des topoisomérases	89
3.6 Antimétabolites	89
3.7 Activités anticancéreuses de molécules connues en littérature	90
3.7.1 Les travaux de X. Li <i>et al</i>	90
3.7.2 Les travaux de S. Maruo <i>et al</i>	91
3.7.3 Les travaux de J.A. Valderrama <i>et al</i>	92
3.7.4 Les travaux de C.C Cheng <i>et al</i>	93
3.8 Résultats et discussion	93
3.8.1 Tests de prolifération cellulaires	94
3.8.2 Étude comparative de l'effet des benzodioxines naphthoquinones sur la prolifération des différentes cellules cancéreuses utilisées	96
3.9 Conclusion	97
PARTIE EXPÉRIMENTALE	98
CHAPITRE 4 : Tests de tannage	99
4 INTRODUCTION	100
4.1 Tannage	100

4.2 Les différentes étapes de traitement de la peau avant le tannage (atelier de rivière)	101
4.3 PARTIE PRATIQUE	102
4.4 PROTOCOLE OPÉRATOIRE	102
4.4.1 Tannage basique	102
4.4.2 Tannage acide	104
4.5 CONCLUSION	106
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	107
ANNEXE	110

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Problématique :

Les processus de tannage des peaux à base de chrome ont été longtemps préoccupants en termes d'impact potentiel sur l'environnement. Le chrome est utilisé dans plus de 90 pour cent des opérations de tannage du cuir à travers le monde, dans la production d'un cuir extensible excellent pour les sacs à main et les vêtements. Cependant, dans certaines conditions, le chrome trivalent, la forme la plus courante en tannage, peut s'oxyder en chrome hexavalent, cancérigène et nuisible pour les humains et les animaux lorsqu'il s'infiltré dans l'eau d'alimentation.

Compte tenu du caractère polluant des déchets de tannage, notre stratégie est de trouver des solutions plus efficaces qui consistent à substituer le chrome par des molécules organiques synthétiques produites dans des conditions opératoires douces, peu toxiques et plus respectueuses de l'environnement.

Dans le cadre d'un programme bilatéral boursier algéro-français (PROFAS) d'une durée de 18 mois, nous avons pu mener conjointement nos travaux de l'Unité de Recherche Matériaux, Procédés et Environnement de l'Université de Boumerdès avec le Laboratoire de Chimie Moléculaire et Thio-organique de l'Université de Caen Basse-Normandie (France).

Les objectifs des travaux présentés dans cette thèse sont la recherche, l'isolement et l'identification de molécules cycliques et aromatiques contenant une quinone comme structure de base ; l'étude de

leur pouvoir de fixation sur le collagène (le tannage), ainsi que leurs applications « possibles » dans le domaine médical.

L'étude s'est articulée sur quatre parties. Le premier chapitre portera sur les différentes voies de synthèse de furocoumarines linéaires appelées « psoralènes »; parmi elles, celle qui est réalisée à partir d'un composé appelé le 2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone associé à l'umbelliférone en milieu basique (schéma 1).

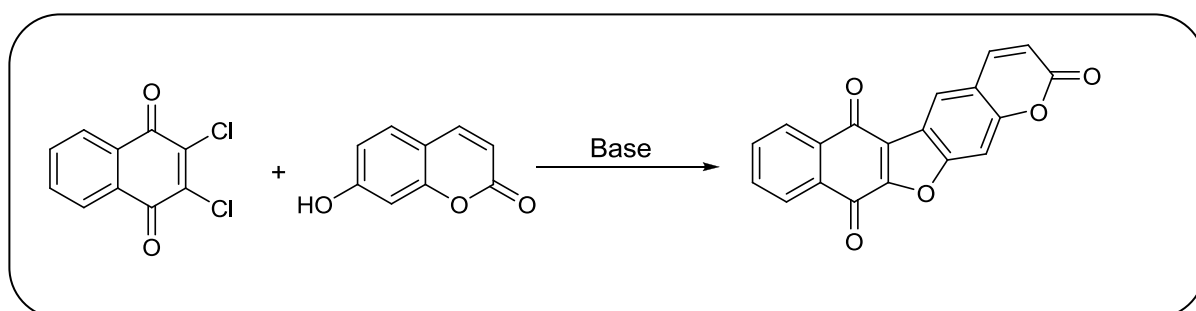


Schéma 1 : Synthèse des psoralènes

Le choix des psoralènes a été guidé d'une part par le peu de travaux qui leur ont été consacrés et d'autre part par le fait que ces molécules existent dans de nombreux composés naturels. Ils possèdent aussi des propriétés biologiques très intéressantes. Nous présentons en détails dans ce chapitre les différentes expériences réalisées qui nous ont menés finalement à la synthèse d'un autre type de molécules appelés « dioxines » connues aussi en littérature pour leurs propriétés biologiques.

Dans le deuxième chapitre, nous nous sommes intéressés aux synthèses faciles et simples faisant réagir différentes quinones avec des dérivés de phénols sous des conditions opératoires très douces et respectueuses de l'environnement (schéma 2). Celles-ci nous ont permis

d'obtenir la formation de molécules appelées « indolyquinones » présentes dans différents produits naturels et connues pour leurs propriétés biologiques très importantes.

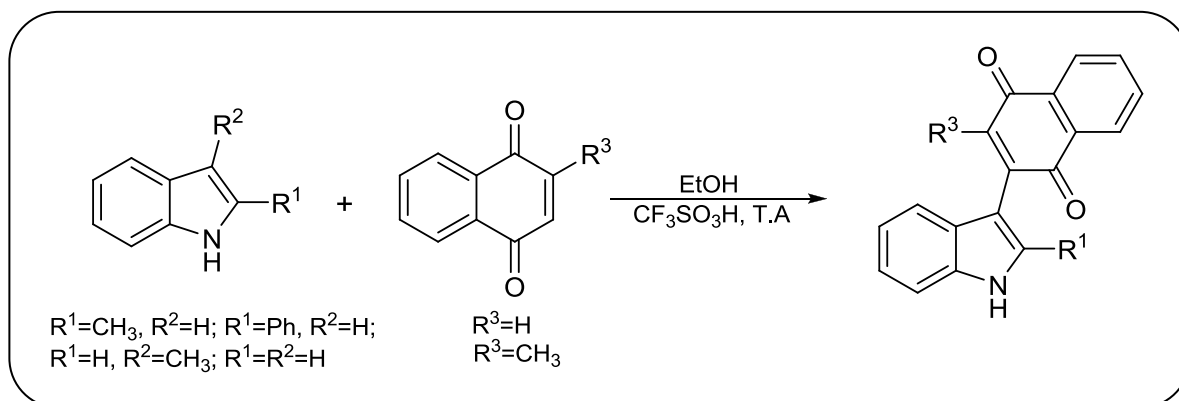


Schéma 2 : synthèse des indolyquinones

Dans le troisième chapitre, nous avons étudié les propriétés biologiques anti-tumorales et inhibitrices du VIH des différentes molécules synthétisées. En raison de leur intercalation avec l'ADN, ces dernières peuvent présenter une activité anticancéreuse. Nous précisons que cette partie a été réalisée en partenariat avec l'équipe des chercheurs du laboratoire de Chimie, Structure, Propriétés de Biomatériaux et d'Agents Thérapeutiques (CSPBAT) de l'Université de Paris XIII.

Enfin, le dernier chapitre, a été consacré aux essais de tannage réalisés sur quelques échantillons dont les molécules « indolyquinone ».

En conclusion, nous terminons sur la diversité des structures obtenues par des méthodes plus ou moins respectueuses de l'environnement en proposant quelques perspectives en relation avec notre travail.

Chapitre 1

Coumarines et psoralènes

1 INTRODUCTION

Au cours de ce chapitre, nous verrons tout d'abord la structure des psoralènes et des coumarines suivie des travaux bibliographiques qui ont été effectués sur ces molécules. Ensuite, nous nous pencherons sur le premier volet de notre travail qui consiste en la synthèse des psoralènes par la condensation de Pechmann suivie de l'application de ces molécules dans le domaine médical.

1.1 LES COUMARINES

1.1.1 Structure générale

Historiquement, la coumarine tire son nom de « kumaru » d'une langue amérindienne, qui représente le nom d'un arbre poussant en Amérique du sud donnant la fève tonka. Cette molécule fut isolée pour la première fois en 1820 par Vogel ^[1].

Les coumarines sont des composés aromatiques naturels, portant un groupement benzo-pyrone dans leur structure (figure I-1). La nomenclature internationale est le 2H-benzopyran-2-one, qui peut être considérée en première approximation comme une lactone de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique ^[2, 3].

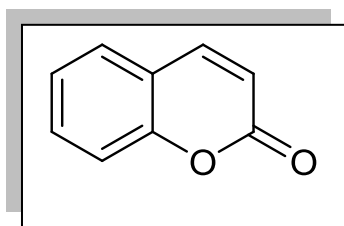


Figure I-1 : Structure chimique d'une coumarine

¹ George S. Clark, Coumarin , *Perfumer & Flavorist*, 1995, 20, 23-34

² J. Bruneton, Pharmacognosie, Phytochimie et Plantes médicinales, 3^{ème} Edition, Tec et Doc, Paris, 1999.

³ http://fr.wikipedia.org/wiki/Coumarine#cite_note-Clark-5

1.1.2 Propriétés physico-chimiques

Les coumarines sont sous forme de cristaux orthorhombiques de couleur blanche ou jaunâtre. Elles sont assez solubles dans les alcools et les solvants organiques (dioxyde d'éthyle ou les solvants chlorés). Les coumarines hydroxylées (umbelliférones) possèdent une intense fluorescence bleue en lumière UV. Leur spectre UV est également caractéristique et sert à leur identification.

1.1.3 Propriétés biologiques

Les coumarines et leurs dérivées sont connues pour leurs nombreuses utilisations dans l'industrie des cosmétiques (comme additifs), l'industrie pharmaceutique et agro-chimique ^[4]. Elles possèdent diverses propriétés biologiques, elles sont utilisées comme agents anti coagulants et sont très fluorescentes, elles sont employées aussi dans la préparation des insecticides ^[5,6].

La majorité des coumarines et leurs dérivées ont été soumises à de profondes investigations dans le but d'évaluer leurs effets sur la santé humaine, les recherches ont montré qu'elles peuvent être des agents anti HIV, anti tumoraux ^[7], anticancéreux, antimicrobiens ^[8,9], anti-inflammatoires ^[10,11],

⁴ S. Sudha, K. Venkatachalam, S. V. Priya, J.H. Mabel, M. Palanichamy, V. Murugesan. *J. Mol. Catal. A : chem* **2008**, 291, 22-29.

⁵ T. S. Li, Z. Zhang, F. Yang, C. Fu. *J. Chem. Research (s)*, **1998**, 38-39.

⁶ S. S. Bahekar, D. B. Shinde. *Tetrahedron. Lett*, **2004**, 45, 7999-8001.

⁷ Y. Miyake, A. Murakami, Y. Sugiyama, M. Isobe, K. Koshimizu, H. Ohigashi. *J. Agric. Food Chem.*; **1999**, 47, 3151-3157.

⁸ K. V. Sashidhara, A. Kumar, M. Kumar, A. Srivastava, A. Puri. *Bioorg. Med. Chem. Lett*, **2010**, 20, 6504-6507.

⁹ K. V. Sashidhara, A. Kumar, M. Kumar, J. Sarkar, S. Sinha. *Bioorg. Med. Chem. Lett*, **2010**, 20, 7205-7211.

¹⁰ M. Curini, F. Epifano, F. Maltese, M. C. Marcotullio, S. Prieto-González, J. C. Rodríguez. *Aust. J. Chem*, **2003**, 56, 59-60.

¹¹ M. Curini, F. Epifano, F. Maltese, M. C. Marcotullio, A. Tubaro, G. Altinier, S. Prieto-González, J. C. Rodríguez. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*; **2004**, 14, 2241-2243.

antifongiques ^[12], anti oxydants ^[13] et même vasodilatateurs ^[14] (figure I-2).

Ces composés peuvent être utilisés dans la synthèse de produits tels que les furo-coumarines (les psoralènes), les chromènes, les coumarones et les 2-acyl-resorcinols ^[15].

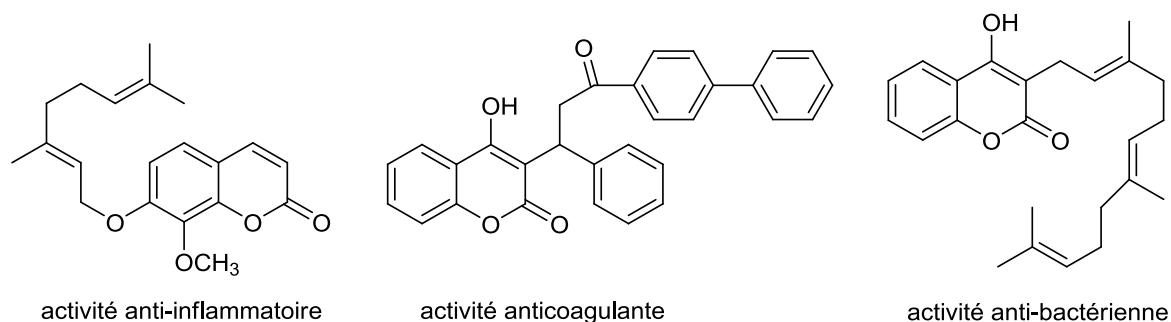


Figure I-2 : Structures de coumarines ayant une activité anti-inflammatoire ^[10], anticoagulante ^[16] et antibactérienne ^[17].

1.1.4 Synthèses des coumarines

Il existe plusieurs réactions qui permettent d'accéder à de nombreux composés possédant la structure des coumarines, nous pouvons citer la réaction de Pechmann, de Perkin, de Knoevenagel, de Reformatsky et enfin de Wittig ^[18, 19].

Cependant, la réaction de **Pechmann** est la méthode la plus utilisée dans la préparation des coumarines en raison de son importance dans l'obtention

¹² A. M. El-Agrody, M. S. Abd El-Latif, N. A. El-Hady, A. H. Fakery, A. H. Bedair, *Molecules*, **2001**, 6, 519-527.

¹³ J. Yu, L. Wang, R. L. Walzem, E. G. Miller, L. M. Pike, B. Patil. *J. Agric. Food Chem.*; **2005**, 53, 2009-2014.

¹⁴ M. Campos- Toimil, F. Orallo, L. Santana, E. Uriarte. *Bioorg. Med. Chem. Lett*, **2002**, 12, 783-786.

¹⁵ V. Singh, J. Singh, K. P. Kaur, G.L. Kad. *J. Chem. Research*, **1997**, 58-59.

¹⁶ I. Manolov, N. D Danchev, *Arch. Pharm. Med. Chem.*, **2003**, 2, 83-94.

¹⁷ G. Appendino, E. Mercalli, N. Fuzzati, L. Arnoldi, M. Stavri, S. Gibbons, M. Ballero, A. Maxia. *J. Nat. Prod.*; **2004**, 67, 2108-2110.

¹⁸ T. S. Li, Z. Zhang, F. Yang, C. Fu. *J. Chem. Research (s)*, **1998**, 38-39.

¹⁹ S. S. Bahekar, D. B. Shinde. *Tetrahedron. Lett*, **2004**, 45, 7999-8001.

soit du tri ou du tétrahydrocoumarine (benzopyran-(2 ou 3)-ones) (figure I-3), ceci implique la condensation des substituants de phénols avec les β -cétoesters en présence de catalyseurs acides tels que l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique, l'acide phosphorique et l'acide fluoroacétique sans oublier les acides de Lewis tels que : $ZnCl_2$, $FeCl_3$, $SnCl_4$, $TiCl_4$, et $AlCl_3$. Cette méthode nécessite des équipements très simples et offre d'excellents rendements [18, 19, 20]. Les recherches récentes ont montré que la synthèse des coumarines peut s'effectuer efficacement sous irradiations micro-onde en présence de catalyseurs acides [21] et de liquides ioniques aussi [22].

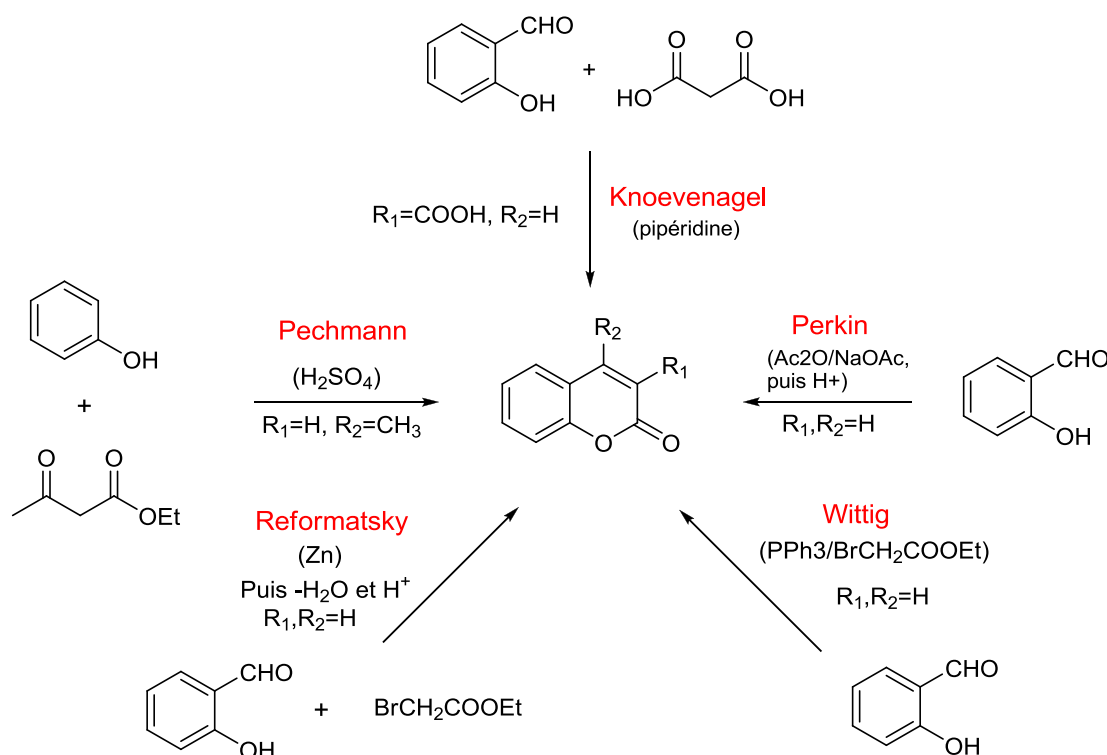


Figure I-3 : Les différentes réactions permettant l'obtention de coumarines.

¹⁸ T. S. Li, Z. Zhang, F. Yang, C. Fu. *J. Chem. Research (s)*, **1998**, 38-39.

¹⁹ S. S. Bahekar, D. B. Shinde. *Tetrahedron. Lett*, **2004**, 45, 7999-8001.

²⁰ S. Sudha, K. Venkatachalam, S. V. Priya, J.H. Mabel, M. Palanichamy, V. Murugesan. *J. Mol. Catal. A : chem* **2008**, 291, 22-29.

²¹ V. Singh, J. Singh, K. P. Kaur, G.L. Kad. *J. Chem. Research*, **1997**, 58-59.

²² V. Singh, S. Kaur, V. Sapehiya, J. Singh, G. L. Kad. *Catalys. Commun*, **2005**, 6, 57-60.

1.2 LES FUROCOUMARINES

1.2.1 Structures générales et propriétés physico-chimiques

Les furocoumarines sont des molécules tricycliques, produites par la combinaison de deux hétérocycles (coumarine et furane). On distingue deux types de furocoumarines en fonction de la position du noyau furane sur l'hétérocycle coumarine : les linéaires dont la forme de base est le psoralène (figure I-4 (a)) et les angulaires représentées par l'angélicine (figure I-4 (b)). Les furocoumarines constituent une classe de molécules abondante ou chaque membre se distingue par la présence de divers groupements (hydroxy, alkoxy, géranyloxy...) sur les carbones 2, 5 et 8 ^[23]. Les furocoumarines les plus connues sont des dérivées méthoxylées du psoralène tels que : le 5-méthoxypsoralène (ou bergaptène), le 8-méthoxypsoralène (ou xanthotoxine), etc. La présence des cycles aromatiques confère à ces molécules une forte absorbance pour des longueurs d'ondes comprise entre 270 et 300 nm.

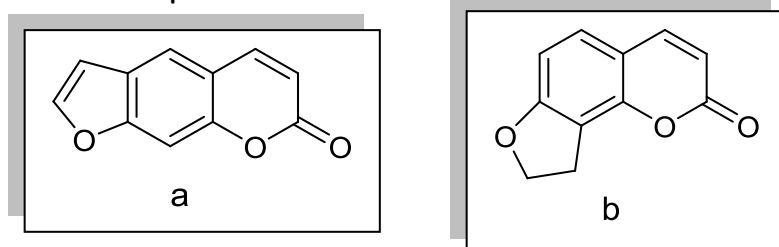


Figure I-4 : (a) Structure chimique d'une furocoumarine linéaire ; (b) Structure chimique d'une furocoumarine angulaire

Les furocoumarines sont des molécules relativement stables à très haute température, toutefois cette stabilité diminue lorsqu'elles sont exposées à un rayonnement UV. Les différents substituants portés par le noyau coumarine des furocoumarines leur confèrent différentes propriétés physico-chimiques qui donnent la possibilité de les séparer et de les caractériser par différentes techniques d'analyses (CCM, CG, CLHP).

²³ D. Hamerski et U. Matern. *European Journal of Biochemistry*, 1988, 171, 369-375.

Les furocoumarines, de par leur structure chimique, présentent une bonne solubilité dans des solvants aprotiques polaires (acétonitrile, chloroforme, etc), mais également dans certains solvants protiques (éthanol, méthanol, etc), mais sont peu solubles dans l'eau.

1.2.2 Propriétés biologiques

Les psoralènes sont d'importants furocoumarines très abondantes et naturellement présentes dans les graines de *Psoralea corylifolia* et d'*Ammi majus* ^[24,25]. En effet ces plantes productrices de furocoumarines ont été utilisées dans la pharmacopée traditionnelle indienne et égyptienne ^[26], elles possèdent d'importantes applications biomédicales dans le cas du traitement des maladies de la peau telles que : psoriasis et le vitiligo (maladie caractérisée par une dépigmentation de la peau), etc ^[24,27]. Ces vertus médicinales sont dues principalement à la présence de plusieurs flavonoïdes et de furocoumarines. En 1947, Fahmy et Abu-Shady ^[28] démontrèrent que la xanthotoxine, première furocoumarine isolée à partir de fruits d'*Ammi majus*, est responsable de la re-pigmentation de la peau observée dans le traitement du vitiligo.

Les propriétés biologiques de ces molécules s'avèrent très nombreuses et nécessitent dans la plupart des cas une exposition aux UV. Depuis 1974, le psoralène est utilisé en association avec une exposition aux UVA sous la dénomination P-UVA thérapie pour traiter certaines maladies de la peau dont le vitiligo et le psoriasis ^[29].

²⁴ B. M. Parast, S. K. Chetri, K. Sharma, V. Agrawal. *Plant physiology and biochemistry*, **2011**, 1-9, doi: 10.1016/j.plaphy.2011.03.017.

²⁵ B. R. Scott, M. A. Pathak, G. R. Mohn. *Mutation Research*, **1976**, 39, 29-74.

²⁶ M. A Pathak, T. B. Fitzpatrick. *photodermatology, photoimmunology and photomedecine*, **1992**, 9 (1): 33-35.

²⁷ Y. R. Lee. *Tetrahedron. lett*, **1995**, 51, 3087-3094.

²⁸ I.R. Fahmy et H. Abu-Shady. *Q. J. Pharm. Pharmacol*, **1947**, 20, 281-291.

²⁹ T. Henseler, K. Wolff, H. Honigsmann, E. Christophers. *Lancet*, **1981**, 1, 853-857.

1.2.3 La puvathérapie

La puvathérapie (psoralènes + UVA) appelée aussi la photo chimio thérapie aux psoralènes relie l'action médicamenteuse des psoralènes aux radiations sensibles ultra-violettes ^[30].

La puvathérapie est appliquée du fait que les psoralènes sont connus pour leurs importantes photosensibilités ^[31,32]. Il faut savoir aussi que les furocoumarines linéaires (psoralènes) et angulaires (angélicine, figure I-4(b)) possèdent une activité photo biologique très puissante ^[33].

Les psoralènes et leurs dérivés ont été utilisés durant plusieurs années dans le traitement des maladies de peau. La puvathérapie est récemment devenue un traitement efficace contre le lymphome cutané des cellules T, le syndrome de Sézary, de multiples scléroses ainsi que d'autres maladies ^[34,35, 36].

Les effets thérapeutiques photochimiques des furocoumarines sont basés sur l'intercalation de ces molécules entre les bases 'thymines' de l'ADN ^[37]. En 1965, Musajo^[38] est le premier à décrire une telle interaction avec l'ADN. En effet, Le mécanisme étudié sur cette interaction comprend deux étapes : dans un premier temps la furocoumarine s'intercale entre les deux brins d'ADN, l'ensemble formant un complexe à faible énergie ; dans un

³⁰ Z. Zarebska, E. Waszkowska, S. Caffieri, F. Dall'Acqua. *Il Farmaco*, **2000**, 55, 515-520.

³¹ A.M.A.G. Oliveira, M.M.M. Raposa, A.M.F. Oliveira-campos, A.E.H. Machado, *Eur. J. Med. Chem*, **2006**, 41, 367-372.

³² C. Marzano, A. Chilin, F. Baccichetti, F. Bettio, A. Guiotto, G. Miolo, F. Bordin. *Eur. J. Med. Chem*, **2004**, 39, 411-419.

³³ a) V.F. Traven. *Molecules*, **2004**, 9, 50-66; b) R.D.H Murray, wiley interscience : New York, **1982**.

³⁴ a) V.F. Traven. *Molecules*, **2004**, 9, 50-66; b) R.L. Edelson. *J. Photochem. Photobiol*, **1991**, 10, 165; c) A. Guiotto, A. Chilin, P. Manzini, Dall'Acqua et coll, *Il Farmaco*, **1995**, 50, 479.

³⁵ L. D. Via, O. Gia, G. Viola, G. Bertoloni, L. Santana, E. Uriarte. *Il Farmaco*, **1998**, 53, 638-644.

³⁶ Z. Zarebska, E. Waszkowska, S. Caffieri, F. Dall'Acqua. *Il Farmaco*, **2000**, 55, 515-520.

³⁷ D. Bethea, B. Fullmer, S. Syed, G. Zeltzer, J. Tiano, C. Rischko, L. Gillespie. *J. Dermatological. Sc*, **1999**, 19, 78-88.

³⁸ L. Musajo, G. Rodighiero, G. Colombo, V. Torlone et F. Dall'Acqua. *Experientia*, **1965**, 21, 22-24.

second temps, la furocoumarine est activée par l'énergie lumineuse, ce qui aboutit à l'établissement de liaisons covalentes où cette dernière va s'intercaler entre deux brins d'ADN ou d'ARN, et réaliser un pontage entre deux bases azotées d'où la cycloaddition (figure I-5).

Ces réactions de photocycloaddition donnent lieu à cette insertion qui va bloquer la réplication de l'ADN et donc stopper le développement de la maladie.

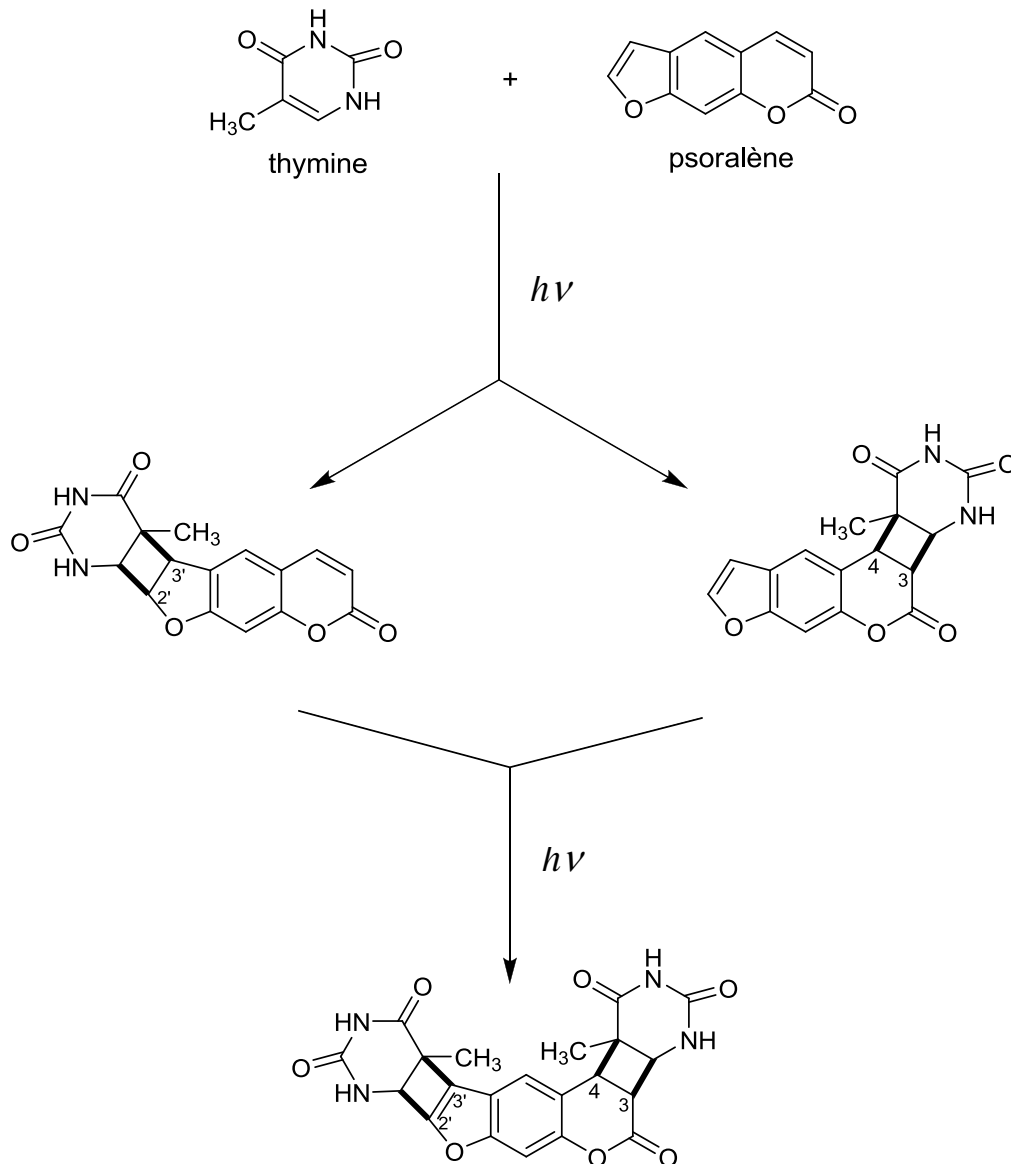


Figure I-5 : Photoaddition du psoralène sur la thymine

La photoaddition forme soit des liaisons monovalentes sur les carbones 4'-5' ou 3-4 de la furocoumarine, soit des liaisons bivalentes ^[39].

³⁹ P. S. Song et K. J. Tapley. *Photochemistry and Photobiology*, **1979**, 29, 1177-1197.

1.2.4 Processus photochimique

Pour comprendre le processus photochimique qui se produit lors de la puvathérapie, il faut d'abord définir ce qu'est un photo sensibilisateur. Ce dernier est une molécule capable d'être excitée par capture d'un photon et de transférer son énergie à un composé accepteur. Que se passe-t-il alors ? Après absorption du photon par la molécule, l'électron passe d'un état initial vers un état excité appelé l'état excité '*singulet*'. Dans cet état instable (d'une durée de vie très courte), l'électron retournera à l'état de plus basse énergie en relarguant de l'énergie selon différents processus :

- ✓ Emission d'un photon lumineux (fluorescence).
- ✓ Conversion de l'énergie excédentaire en énergie thermique.

Lors de l'absorption de la lumière, la molécule passe de son état singulet fondamental à différents états singulets. Il y a ensuite retour à l'état singulet le plus stable de plus basse énergie. La molécule peut retourner à l'état initial de deux manières :

- ✓ Soit par émission d'un photon par fluorescence.
- ✓ Soit par transfert d'énergie à un état triplet T_1 .

Quel est le rôle de l'état triplet ? Du fait que la durée de vie de l'état triplet est relativement longue, la molécule peut interagir avec les substrats les plus proches tels que l'oxygène.

Les états excités de la molécule peuvent subir différentes photo-réactions telles que : la photo addition, la photo oxydation et/ou la **photo dimérisation**.

Lorsque l'état triplet réagit directement avec l'oxygène, cette réaction produit un oxygène singulet d'une forte réactivité. Il s'agit donc de la photo-réaction type II appelée « la réaction photo dynamique ».

Lorsque l'état triplet réagit directement avec des substrats biologiques par transfert d'électrons, cela conduit à la formation d'espèces radicalaires d'où la photo-réaction type I ^[39,40].

1.3 EXEMPLES DE SYNTHÈSES DES COUMARINES DÉCRITES EN LITTÉRATURE

Dans la littérature plusieurs méthodes de synthèse permettant l'obtention de coumarines avec différents substituants ont été décrites. Nous avons limité notre choix à quelques travaux qui ont un lien direct avec notre recherche. Nous pouvons citer :

1.3.1 Les travaux de C. Lieberman

La synthèse de Liebermann est la réaction qui se fait entre une quinone et un dérivé du phénol en présence de pyridine afin de former un hétérocycle (schéma 1) ^[41].

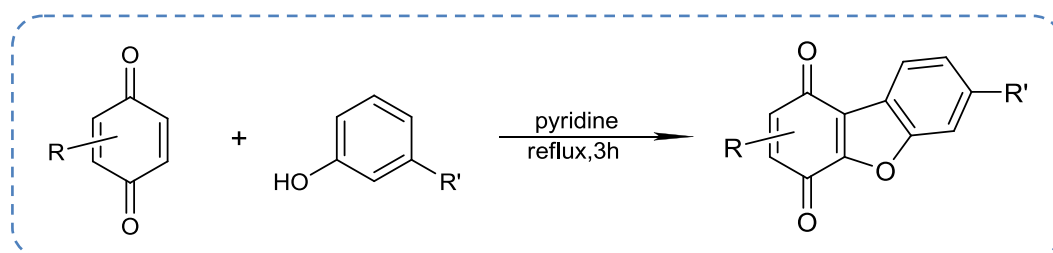


Schéma 1 : Synthèse de Liebermann.

1.3.2 Les travaux de V. Singh *et al*

Ces travaux portent sur la synthèse de coumarines par la réaction de Pechmann, cela par la condensation de poly-phénols avec des esters (type β -cétoester) dans un milieu acide soit par chauffage thermique ou à l'aide de micro-onde ^[42] (schéma 2).

³⁹ P. S. Song et K. J. Tapley. *Photochemistry and Photobiology*, **1979**, 29, 1177-1197.

⁴⁰ V. Besse, PORPHYRINES ET DIMERISATION PAR METATHESE, Université de Limoges, **2008**.

⁴¹ C. Lieberman, *Ber*, **1899**, 32, 916.

⁴² V. Singh, J. Singh, K. P. Kaur, G. L. Kad. *J.Chem.Research (S)*, **1997**, 58-59.

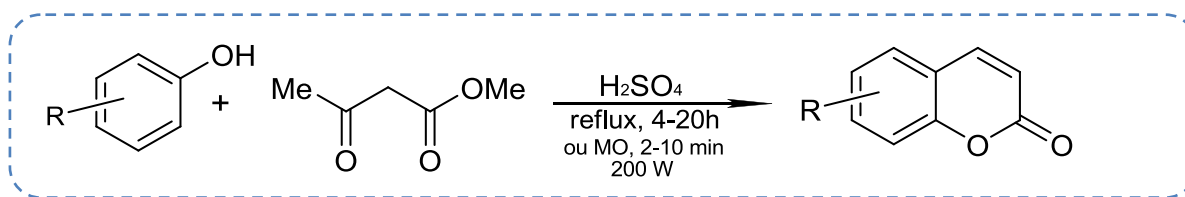


Schéma 2 : Synthèse de Singh

Les coumarines sont obtenues avec des rendements compris entre 45-75% (reflux) et des rendements compris entre 68-82% (micro-onde).

1.3.3 Les travaux de T. Sugino *et al*

Ils sont basés sur la synthèse de coumarines par traitement de polyphénols par l'acétoacétate d'éthyle en présence d'acide paratoluènesulfonique^[43] (APTS) (schéma 3).

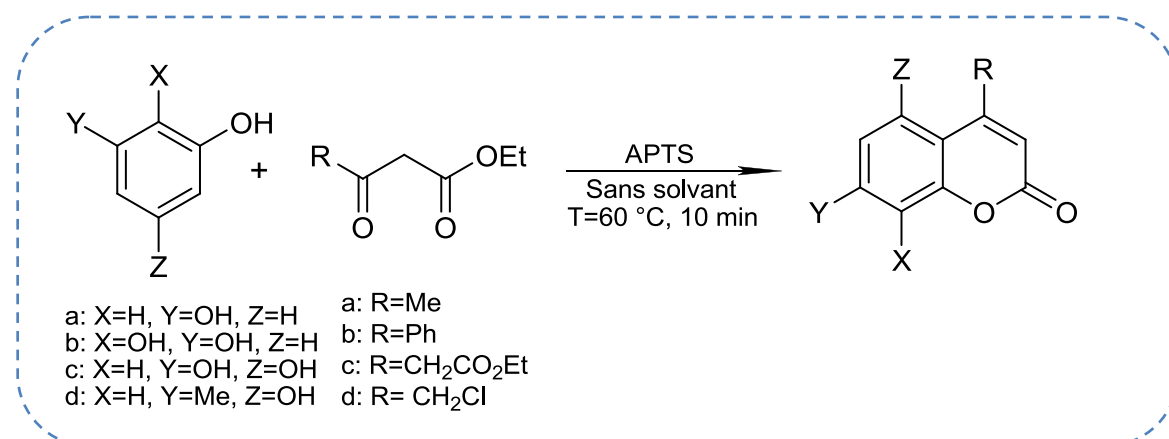


Schéma 3 : Synthèse de Sugino

Cette méthode qui n'utilise pas de solvant permet d'obtenir des coumarines avec d'excellents rendements compris entre 66 et 98%.

1.3.4 Les travaux de T. Li *et al*

Ils sont basés essentiellement sur la synthèse des coumarines par la condensation de Pechmann^[44].

⁴³ T. Sugino, K. Tanaka, *chem. Lett*, 2001, 30, 110-111.

⁴⁴ T. Li, Z. Zhang, F. Yang, C. Fu, *J. Chem. Research (S)*, 1998, 38-39.

Le mélange de composés phénoliques avec l'acétoacétate d'éthyle en présence d'un catalyseur tel que la montmorillonite (KSF ou K10) est réalisé avec ou sans solvant (schéma 4).

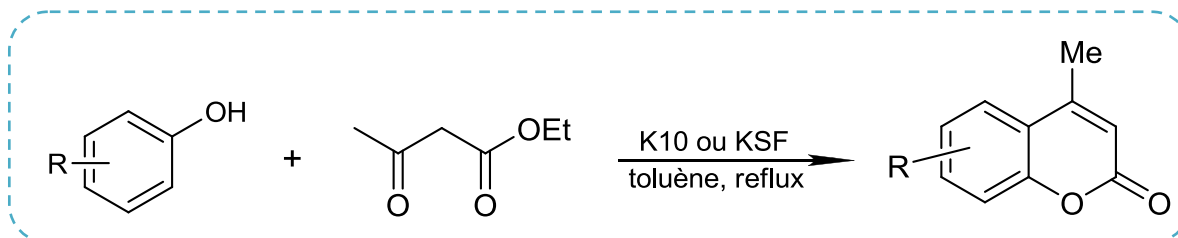


Schéma 4 : Synthèse de Li

Les rendements obtenus sont compris entre 61 et 96%.

1.4 RESULTATS ET DISCUSSION

Dans cette partie, le but de notre travail consiste à synthétiser en premier lieu des molécules du type 'benzofurano-naphtoquinones' afin d'accéder à une structure psoralène en passant par une réaction de cycloaddition.

1.4.1 Synthèses des benzofurano-naphtoquinones en présence de résorcinol

La première étape consiste à obtenir le [2,3]furan-4,9-dione par addition de deux composés commerciaux qui sont le 2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone (DCNQ) et le résorcinol en s'inspirant des travaux de Lieberman (schéma 5).

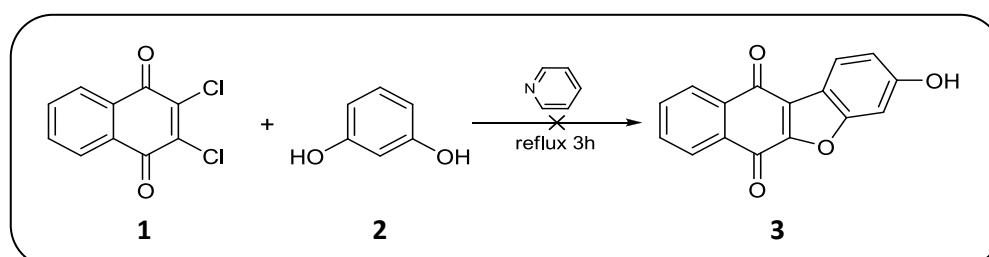


Schéma 5 : Synthèse du produit 3 selon les travaux de Lieberman

Dans cette réaction, le mélange de réactifs de départ ne nous permet pas d'obtenir la molécule **3** (3-hydroxybenzo[d]naphto[2,3-b]furan-6,11-dione), la spectrométrie de masse nous montre la formation d'un produit secondaire qui est le sel pyridinium (figure I-6) en présence de résorcinol. L'analyse RMN confirme la présence du sel pyridinium à 75% et du résorcinol à 25%. Grâce aux méthodes d'analyses récentes, ce produit a pu être analysé et identifié, chose qui n'a pas été citée dans les travaux de Lieberman ^[41].

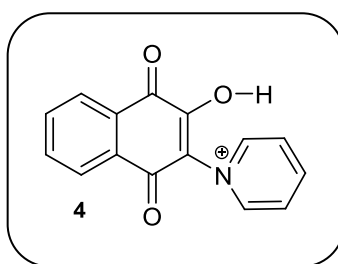


Figure I-6 : Sel de pyridinium

Cela peut être expliqué par les propriétés basiques de la pyridine qui donneront lieu à la formation d'ion phénolate issu de la résorcine suivi de la récupération du proton H^+ par la pyridine et la formation de l'ion pyridinium. Cet ion est connu en littérature pour sa facilité à réagir avec les nucléophiles d'où l'obtention du sel pyridinium.

Pour éviter la formation de ce dernier, la manipulation a été refaite en mélangeant au départ le résorcinol et la pyridine durant une heure puis en introduisant par la suite le DCNQ par quantité de 0,5g chaque 15 minutes. Nous avons opté pour ce mode opératoire afin de favoriser la formation du produit attendu. Le résultat obtenu est le même, le sel pyridinium est toujours présent en majorité dans le mélange.

En gardant le même objectif et afin d'éviter la formation du sel pyridinium, la pyridine est remplacée par l'éthanolate de sodium (dissolution de sodium dans l'éthanol absolu).

⁴¹ C. Lieberman, *Ber*, **1899**, 32, 916.

Nous avons choisi d'effectuer cette réaction selon la méthode mise au point par Cheng *et al* ^[45] (schéma 6). Cette réaction de condensation a permis l'obtention du produit 3 avec un rendement de 65%.

Concernant cette molécule déjà existante en littérature, notre recherche a permis de compléter toutes les analyses chimiques à l'aide d'équipements sophistiqués permettant d'identifier le produit attendu (RMN : proton, carbone, cosy H-H, cosy C-H, IR, spectre de masse).

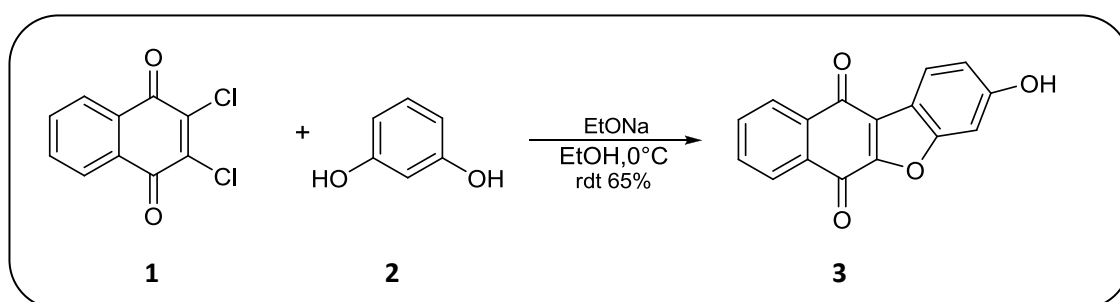


Schéma 6 : Synthèse du produit 3 selon les travaux de Cheng

1.4.2 Synthèses des benzofurano-naphtoquinones en présence de phloroglucinol

Dans cette partie, nous avons testé le DCNQ avec un autre réactif (le phloroglucinol) afin de synthétiser le produit 5 (1,3-dihydroxybenzo[d]naphtho[2,3-b]furan-6,11-dione) (schéma 7). Le suivi CCM et l'analyse RMN a montré l'absence du produit attendu.

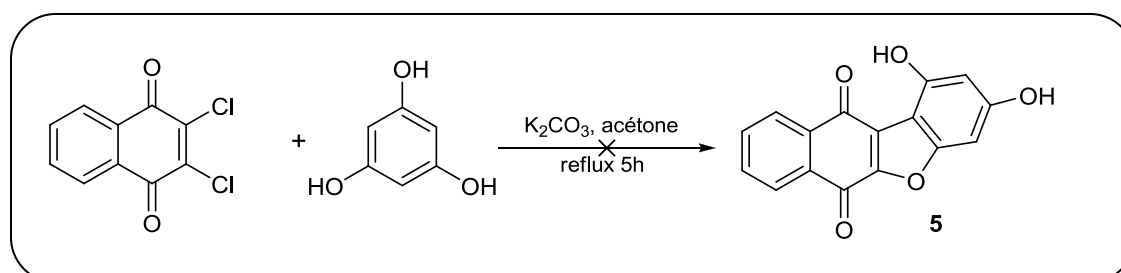


Schéma 7 : Synthèse du produit 5 selon les travaux de Tandon.

⁴⁵ C. C. Cheng, Q. Dong, D. Liu, Y. Luo, L. F. Liu, A. Y. Chen, C. Yu, N. Savaraj, T. Chou. *J. Med. Chem*, **1993**, 36, 4108-4112.

Nous avons alors jugé bon de modifier les conditions opératoires, pour cela, nous avons utilisé un mélange de méthanol et d'hydroxyde de potassium afin d'augmenter la basicité du milieu (schéma 8).

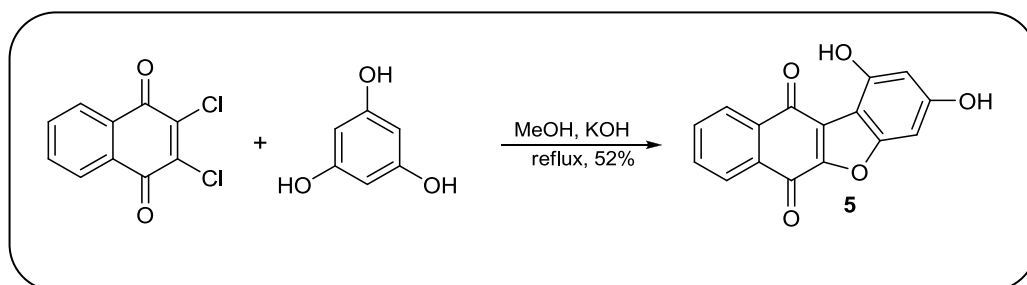


Schéma 8 : Synthèse du produit 5.

L'analyse RMN permet de confirmer la synthèse du produit **5** avec un rendement de 52%.

Nous proposons le mécanisme ci-dessous qui est formé essentiellement des étapes suivantes : la déprotonation du phloroglucinol, l'addition de Michael suivie d'une élimination de HCl (schéma 9).

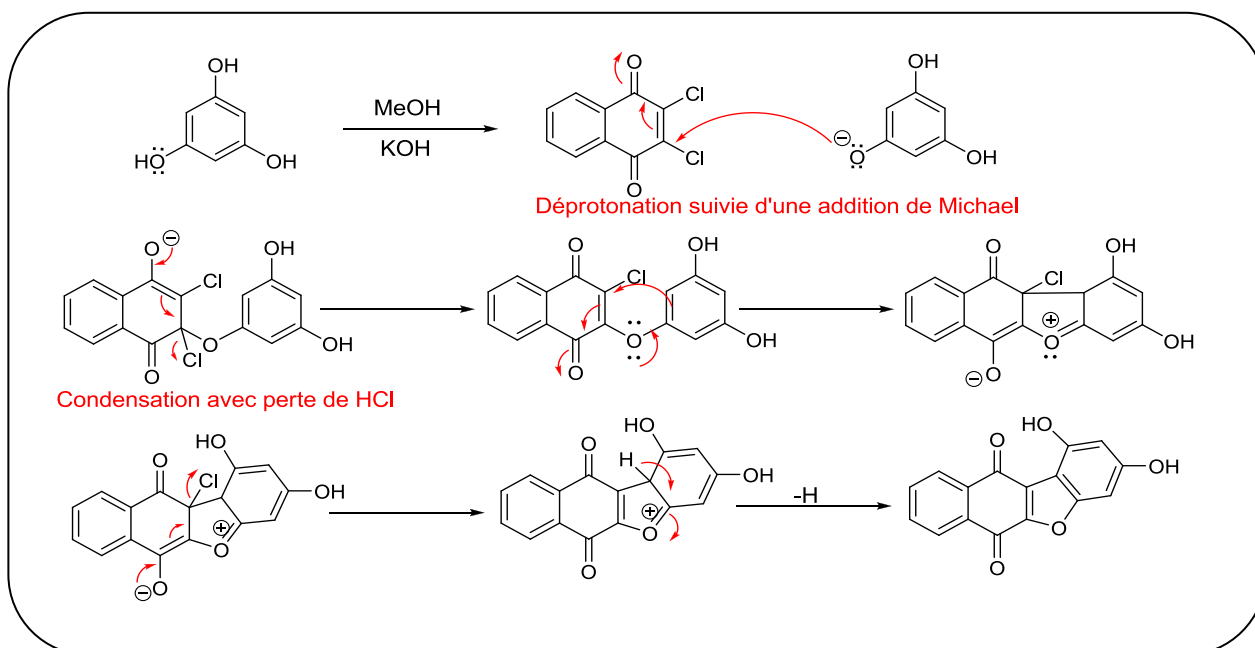


Schéma 9 : Mécanisme de formation du produit 5.

1.4.3 Synthèses des benzofurano-naphtoquinones en présence de sésamol

Pour cette réaction, un mélange de DCNQ, de sésamol et de pyridine est chauffé à reflux durant 3 heures (schéma 10). Après traitement du mélange, le produit attendu est récupéré (méthylènedioxybenzo[d]naphto[2,3-b]furan-6,11-dione).

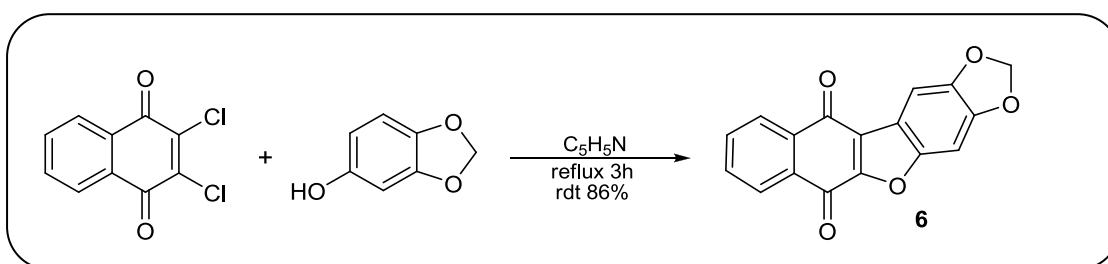


Schéma 10 : Synthèse du produit 6.

On propose le mécanisme suivant pour cette réaction (schéma 11) :

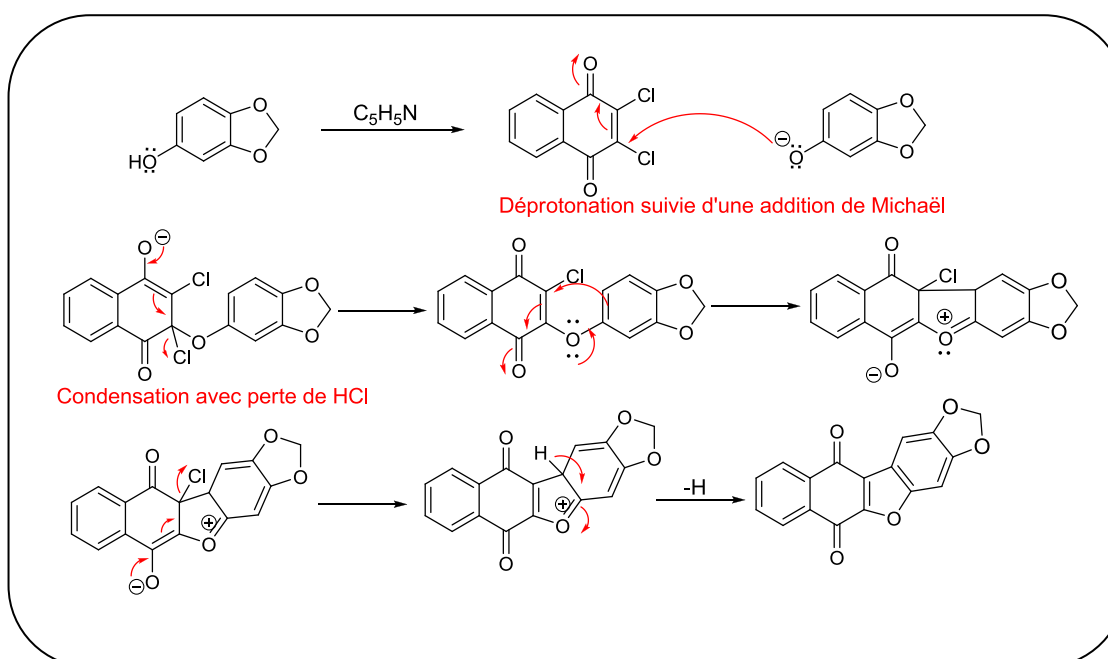


Schéma 11 : Mécanisme de formation du produit 6

Il s'agit du même schéma réactionnel que la réaction effectuée en présence de phloroglucinol.

1.5 SYNTHÈSES DE PSORALÈNES

Dans cette deuxième étape de notre travail, nous avons utilisé nos produits synthétisés précédemment (molécule **3** et **5**) afin de produire des psoralènes en se basant sur les différentes méthodes de synthèses de coumarines citées dans la partie bibliographique de ce chapitre. L'intérêt de ces méthodes est de produire des molécules ayant en partie une structure coumarine, sachant qu'à la base la molécule psoralène est formée par la combinaison de deux hétérocycles : coumarine et furane.

1.5.1 Synthèses selon Singh *et al*

Dans cette partie, nous nous sommes inspirés des travaux de Singh. Plusieurs essais ont été effectués à partir du mélange de départ formé de la molécule **3**, d'acétoacétate de méthyle et d'acide sulfurique concentré (schéma 12).

L'analyse RMN a montré la présence de traces de réactifs de départ et l'absence du produit attendu (**8**).

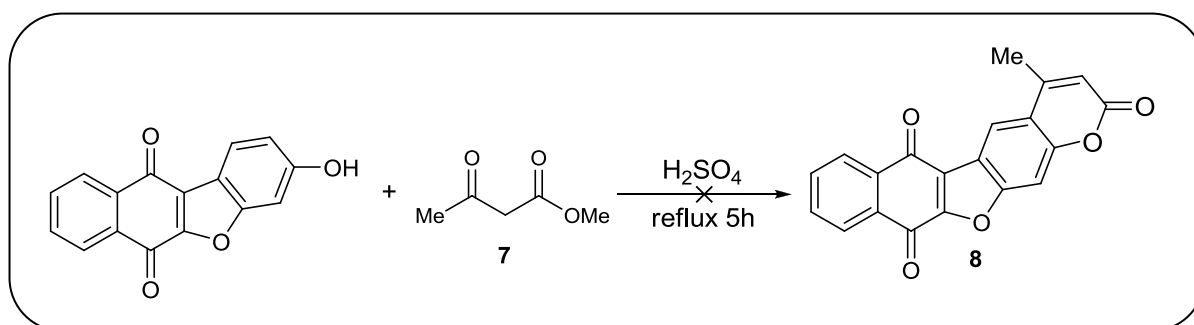


Schéma 12 : Synthèse du produit **8** selon les travaux de Singh

Par la présence de l'acide sulfurique, la réaction est supposée être catalysée par le proton qui activera le groupement carbonyle en lui donnant un pouvoir électrophile puissant. Ce pouvoir, lui permettra par une réaction d'addition sur le phénol suivie d'une transestérification, de former le produit attendu. Pour expliquer l'échec de cette réaction, nous supposons que l'effet nucléophile de la molécule **3** n'est pas assez puissant pour

permettre la faisabilité de la réaction à cause de la présence de l'oxygène porté par le noyau furane qui est connu en littérature par son effet inductif attracteur. Ce dernier ira appauvrir l'oxygène de la fonction OH ce qui abaissera le pouvoir nucléophile de la molécule **3**.

Etant donné que le chauffage à reflux n'a pas permis la formation du produit, nous avons opté pour un chauffage par irradiation micro onde (micro onde domestique) (200W) en respectant les mêmes quantités et étapes de départ, en faisant varier les temps de réactions (2, 3, 5 minutes). Le solide obtenu est noir, l'analyse RMN montre la présence de traces de réactifs de départ.

1.5.2 Synthèses selon Sugino *et al*

En se basant sur les travaux de Sugino *et al*, le mélange de départ est formé du composé **3**, d'acide paratoluène sulfonique (APTS) et d'acétoacétate d'éthyle (composé **9**) (schéma 13). L'analyse RMN a montré la présence de réactifs de départ ainsi qu'un nouveau produit non identifié ayant pour masse 391.

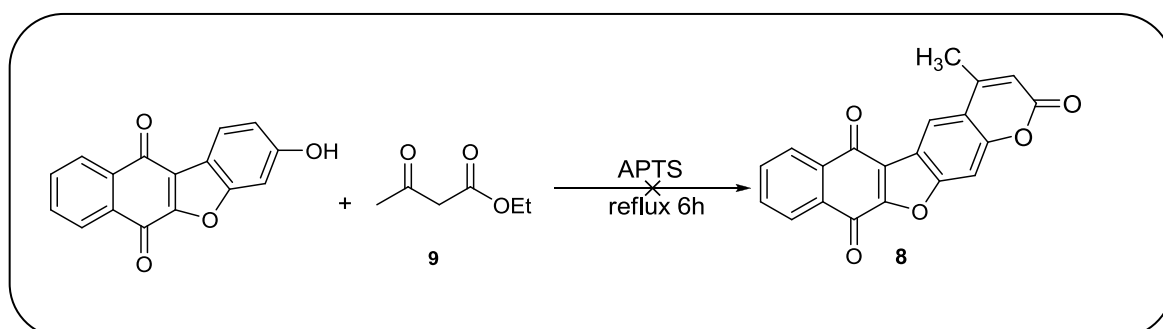


Schéma 13 : Synthèse du produit 8 selon les travaux de Sugino

Dans ce cas, on supposera la même explication donnée dans le paragraphe précédant, à savoir le faible pouvoir nucléophile de la molécule **3** ne permettant pas le déroulement de cette réaction, cela malgré l'utilisation de l'acide (APTS) qui est relativement fort par rapport à H_2SO_4 .

1.5.3 Synthèses selon Li *et al*

Le mélange de départ est formé du composé **3**, d'acétoacétate d'éthyle, de Montmorillonite et de toluène. Le suivi de la réaction par CCM montre la présence de réactifs de départ uniquement.

Cette manipulation a été effectuée aussi en l'absence de solvant, avec les mêmes quantités de réactifs de départ. La CCM n'a montré aucun changement.

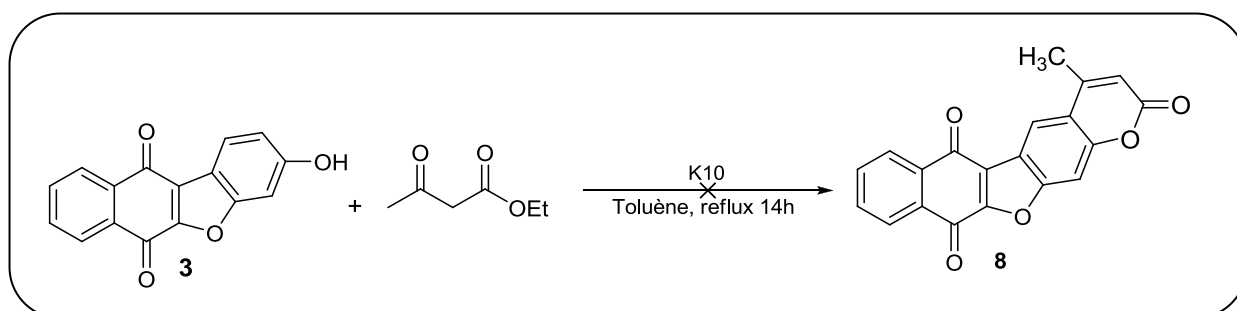


Schéma 14 : Synthèse du produit 8 selon les travaux de Li

Dans cette réaction, la condensation de Pechmann entre la molécule **3** et l'acétoacétate d'éthyle n'a pas eu lieu malgré la présence d'un catalyseur dans le mélange.

1.5.4 Synthèses selon Pechmann

Le composé **5** Synthétisé précédemment est utilisé comme réactif de départ dans la synthèse d'un composé psoralène présenté comme suit :

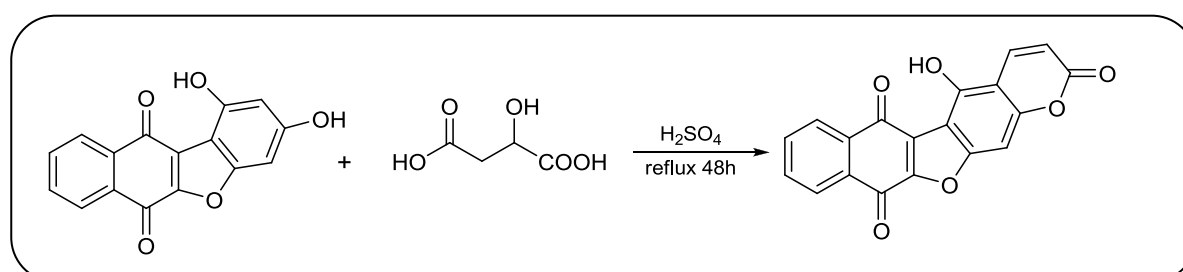


Schéma 15 : Synthèse selon les travaux de Pechmann ^[46].

⁴⁶ H. v. Pechmann. *Chem. Ber.*, **1884**, 17, 1, 929.

Le produit final obtenu est un mélange de plusieurs isomères représentés ci-dessous (Figure I-7). La spectroscopie de masse a montré la présence du produit attendu. L'analyse HPLC couplée à la spectrométrie de masse a été effectuée sur l'échantillon afin de quantifier et identifier les différents isomères. Nous n'avons pas pu séparer les isomères à l'aide d'une colonne préparative, du fait de la similitude des structures des produits dans le mélange.

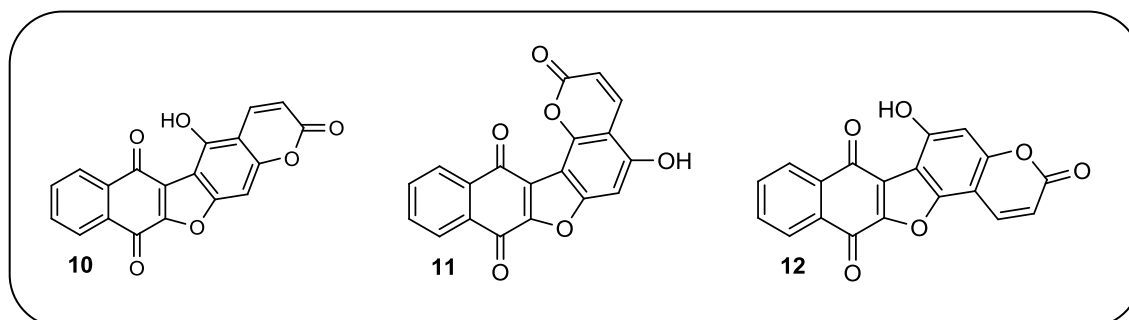


Figure I-7 : Isomères obtenus dans le mélange.

L'acide malique en présence d'acide sulfurique à 120°C donnera in situ de l'acide formylacétique, ce dernier réagira sur la molécule 3 afin de former le produit attendu selon le mécanisme suivant :

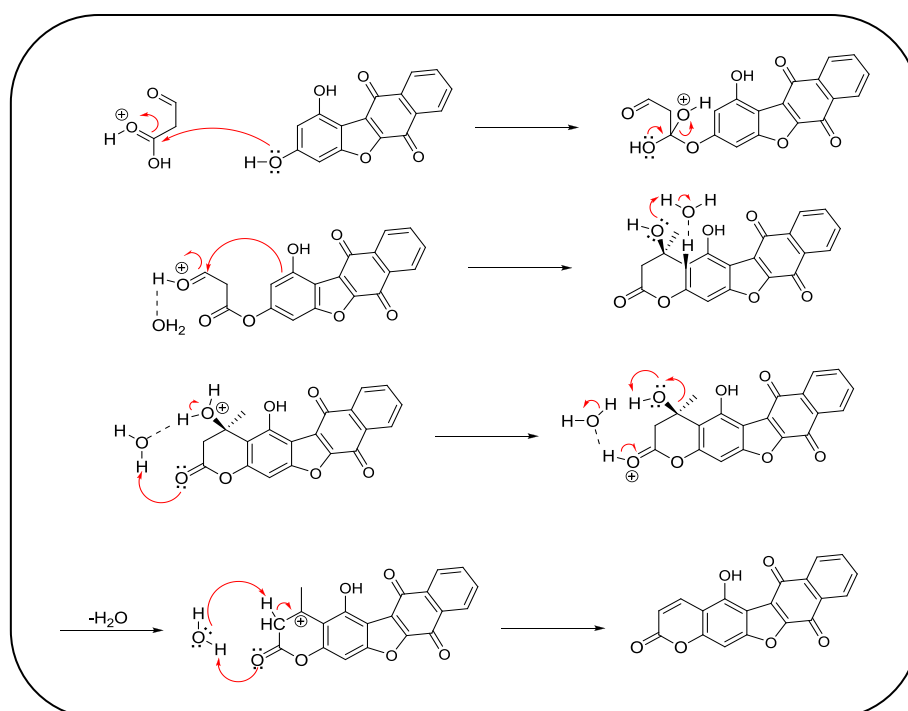


Schéma 16 : Proposition de mécanisme selon J. Daru ^[47].

⁴⁷ J. Daru, A. Stirling. *J. Org. Chem.*, 2011, 76, 8749-8755.

Concernant ce mécanisme, nous nous sommes inspirés essentiellement des travaux récents de J. Daru et A. Stirling ^[47] qui se basent sur la synthèse des coumarines par la réaction de Pechmann. Ils présentent plusieurs voies de synthèses possibles en partant d'acétoacétate d'éthyle et de phénol en milieu acide. Ce mécanisme est composé de trois étapes : une transestérification, une attaque électrophile et enfin une élimination d'eau. L'ordre dans lequel se déroulent ces étapes reste à vérifier. Vu la complexité du produit obtenu, on ne peut déterminer l'exactitude de ce mécanisme, ce dernier n'est qu'une supposition qui pourra justifier la formation de notre molécule « psoralène ».

1.6 SYNTHÈSES DE PSORALÈNES EN PARTANT DE DCNQ ET D'UMBELLIFÉRONE

Compte tenu de la difficulté rencontrée avec la synthèse des psoralènes, nous avons opté pour la réalisation de plusieurs essais à partir d'un mélange de départ formé de DCNQ et d'umbelliférone avec différents modes opératoires.

1.6.1 Partie A

Dans cette partie, notre but est d'aboutir à la synthèse du composé **14** en partant d'un mélange de **DCNQ**, de 7-hydroxycoumarine (l'umbelliférone) (**13**) et de la pyridine en s'inspirant des travaux de C. Liebermann (schéma 17).

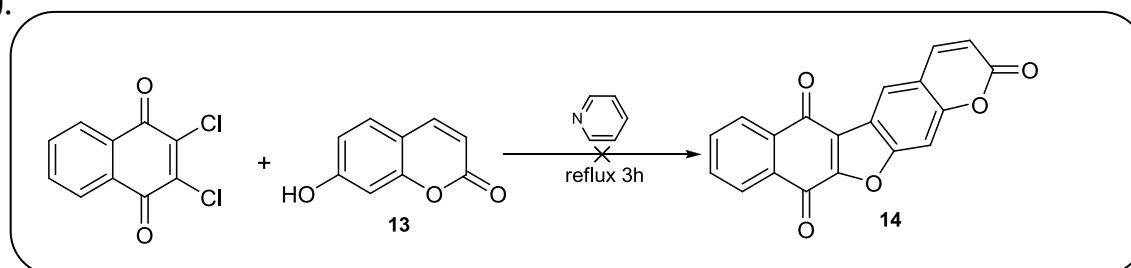


Schéma 17 : Synthèse du produit 14 selon les travaux de Liebermann

⁴⁷ J. Daru, A. Stirling. *J. Org. Chem.*, 2011, 76, 8749-8755.

L'analyse par spectrométrie de masse a montré la présence de deux pics intenses ($M+H=353$ et 355) correspondant à la molécule **15** et un pic minoritaire ($M+H= 478$) correspondant à la molécule **16** (figure I-8).

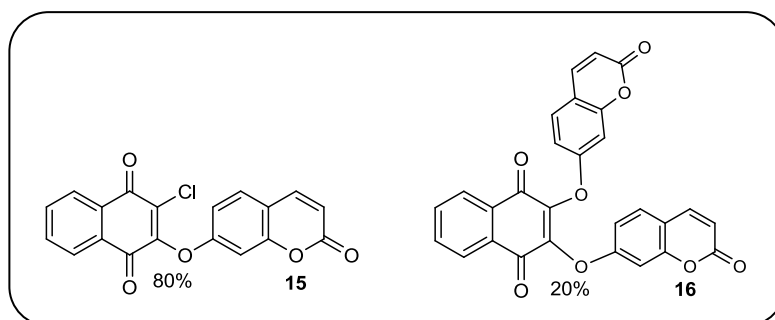


Figure I-8 : Produits obtenus dans la partie A

Ce résultat peut être expliqué par la basicité de la pyridine qui a permis la formation de l'ion phénolate suivie d'une élimination de HCl et la condensation par la suite d'une à deux molécules d'umbelliférone donnant lieu à la molécule « mono-substituée » majoritaire par rapport à la molécule di-substituée qui reste plus difficile à former. Etant donné que l'étape de cyclisation n'a pas eu lieu, nous exploiterons cette molécule (**15**) dans des essais ultérieurs afin d'aboutir à une structure psoralène.

1.6.2 Partie B

La manipulation effectuée précédemment a été refaite dans cette partie, avec des conditions opératoires différentes, en utilisant les mêmes quantités de réactifs, en présence cette fois-ci d'un acide de Lewis, le trichlorure de bismuth (BiCl_3) en quantité stœchiométrique et de nitrobenzène comme solvant (schéma 18).

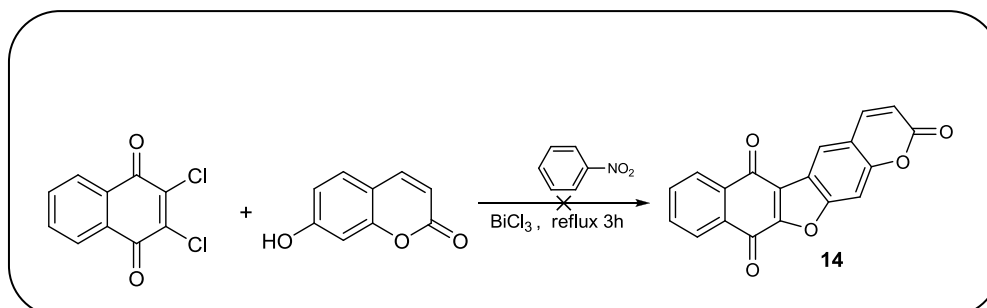


Schéma 18 : Synthèse du produit 14 en présence de BiCl_3 et de nitrobenzène.

En se basant sur le spectre RMN, on remarque la formation de deux produits dont la molécule **14** qui est très minoritaire (5%) par rapport à la molécule **16** (95%) (Figure I-9). La séparation des produits par chromatographie sur colonne n'a cependant pas permis l'obtention du produit attendu (**14**) à cause de sa faible proportion. Cependant, il y a lieu de préciser que nous n'avons pas pu obtenir la reproductibilité du test.

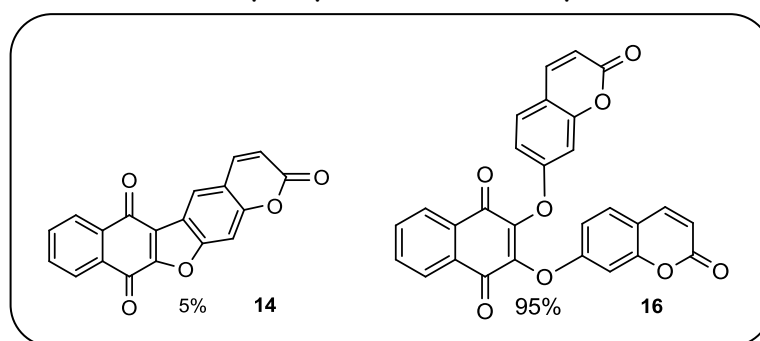


Figure I-9 : Produits obtenus dans la partie B

1.6.3 Partie C

Dans cette partie, le mode opératoire est le même qui a été utilisé dans la synthèse de Cheng, en substituant le résorcinol par l'umbelliférone et en mélangeant au départ l'éthanolate de sodium avec le DCNQ (schéma 19).

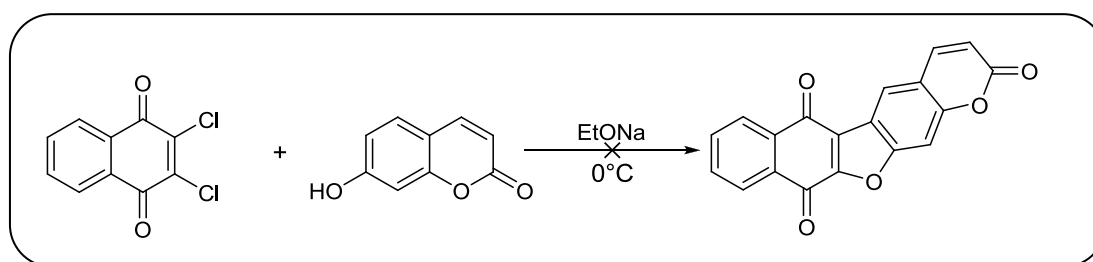


Schéma 19 : Synthèse du produit 14 selon les travaux de Cheng.

Le spectre RMN a révélé la présence de plusieurs produits ainsi que des traces d'umbelliférone. L'analyse par spectrométrie de masse nous a permis d'identifier deux produits ($M_{17}=246$, $M_{18}=362$) qui sont présentés ci-dessous (figure I-10) en plus d'un troisième produit majoritaire non identifié ayant une masse de 331.

Le produit **17** est nettement majoritaire par rapport au produit **18** (80/20).

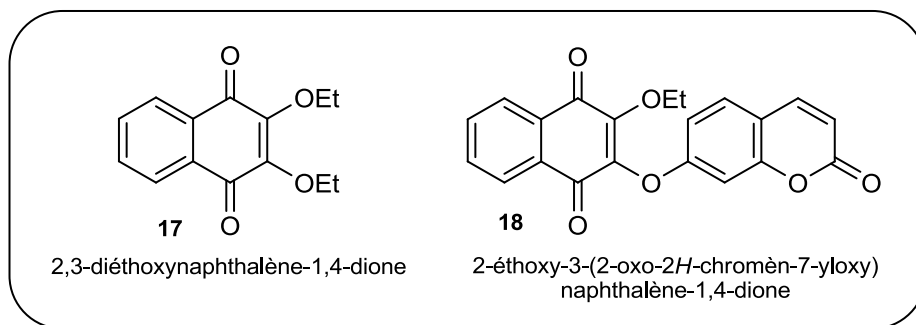


Figure I-10 : Produits obtenus dans la partie C

Afin d'éviter que le solvant ne réagisse directement avec le DCNQ, nous avons introduit en premier dans le ballon l'éthanolate de sodium et l'umbelliférone en suivant le même procédé opératoire cité précédemment. Le suivi CCM n'a montré la présence d'aucun nouveau produit.

1.6.4 Partie D

Dans cette synthèse, nous nous sommes basés sur les travaux de V. K. Tandon et de ses collaborateurs ^[48] qui portent sur la réactivité du DCNQ en présence de différents réactifs.

Les différentes méthodes d'analyses effectuées sur le produit récupéré montrent l'absence du produit attendu (schéma 20).

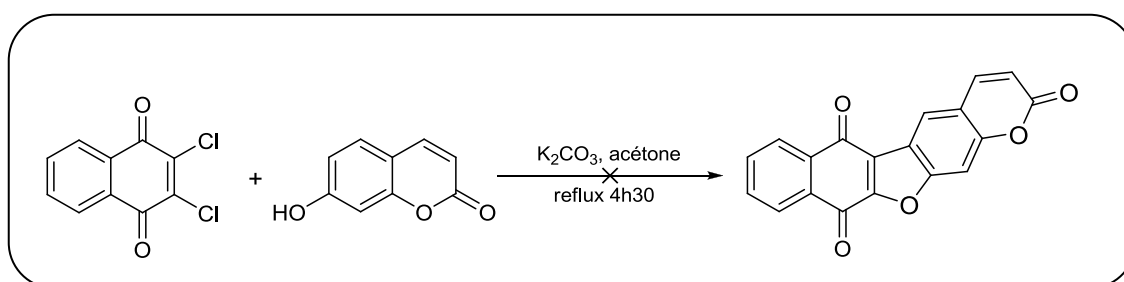


Schéma 20 : Synthèse du produit 14 selon les travaux de Tandon.

Par contre, nous avons pu identifier et séparé deux nouveaux produits qui se sont formés dans le mélange et qui sont présentés ci-dessous (figure I-11) :

⁴⁸ V.K. Tandon, H.K. Maurya, *Heterocycles*, 2009, 77, 611-615.

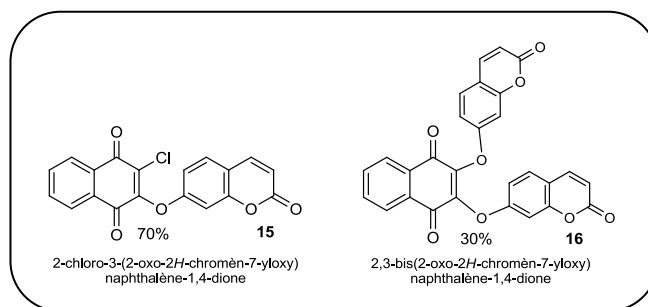


Figure I-11 : Produits obtenus dans la partie D

1.6.5 Partie E

Afin d'obtenir le composé **14**, nous avons effectué une manipulation pour permettre la cyclisation du composé **15** en utilisant un acide de Lewis. La CCM et l'analyse RMN montre uniquement la présence de réactifs de départ (schéma 21).

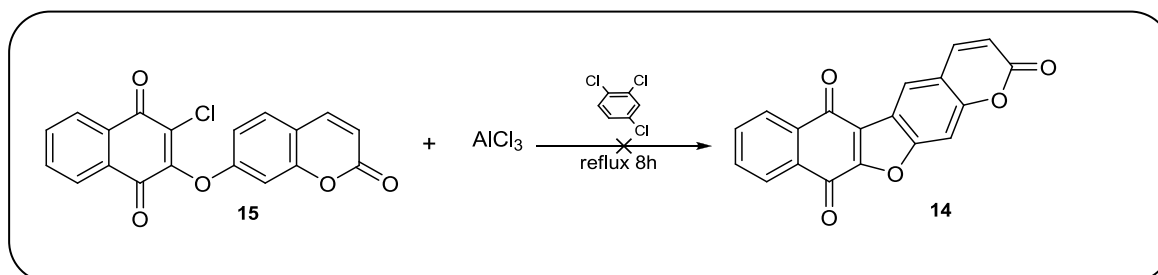


Schéma 21 : Réaction de cyclisation du réactif **15** en présence de AlCl_3

L'objectif n'étant pas atteint, nous avons en conséquence modifié le mode opératoire. Nous avons substitué le trichlorure d'aluminium par le trichlorure de bismuth (schéma 22). Aucun nouveau produit n'a pu être formé !

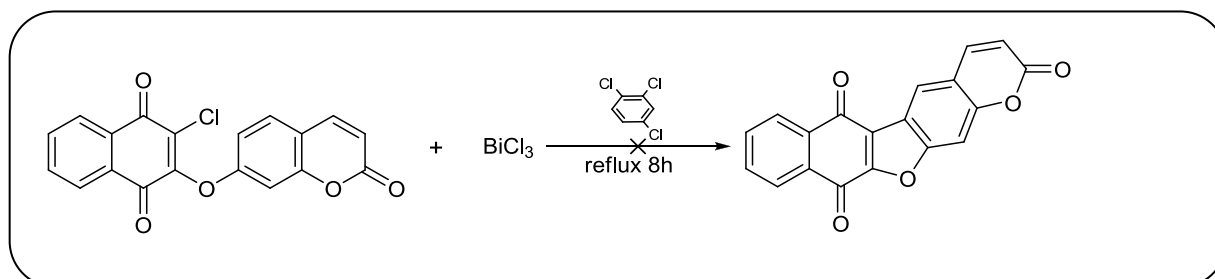


Schéma 22 : Réaction de cyclisation du réactif **15** en présence de BiCl_3

Poursuivant nos investigations, nous avons effectué une dernière tentative sur le produit **15**. Pour cela, nous nous sommes inspirés des travaux de H. Chang *et al* ^[49], ou nous avons utilisé un mélange formé de la même molécule de départ, l'acétate de sodium en excès, l'acétate de palladium et le diméthylacétamide.

Le spectre de masse du solide obtenu a montré la présence d'un nouveau produit ayant comme masse 483 et qui n'a pas pu être identifié.

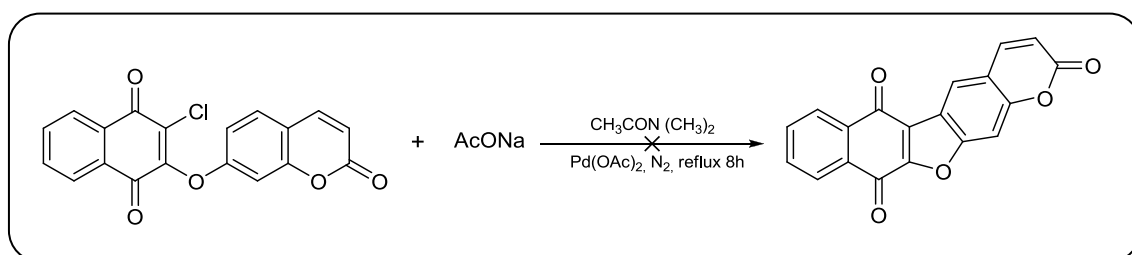


Schéma 23 : Synthèse du produit 14 selon les travaux de Chang.

1.7 SYNTHÈSES DES BENZODIOXINES NAPHTOQUINONES

La réaction du DCNQ avec différents réactifs nous a permis d'aboutir à la synthèse de produits très intéressants appelés « benzodioxines ».

1.7.1 Synthèses en présence du 4,5-dihydroxy coumarine

Pour cette réaction, le mélange de départ formé de 4,5-dihydroxy coumarine, de carbonate de potassium et d'acétone est chauffé sous atmosphère inerte durant 14 heures (schéma 24). Le produit attendu (1H-benzo[b]pyrano[3,2-i]dibenzo[b,e][1,4]dioxine-2,7,12-trione) a été identifié avec un rendement de 56%.

⁴⁹ H. Chang, T. Chou, N. Savaraj, L. Liu, C. Yu, C. C. Cheng, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 405-408.

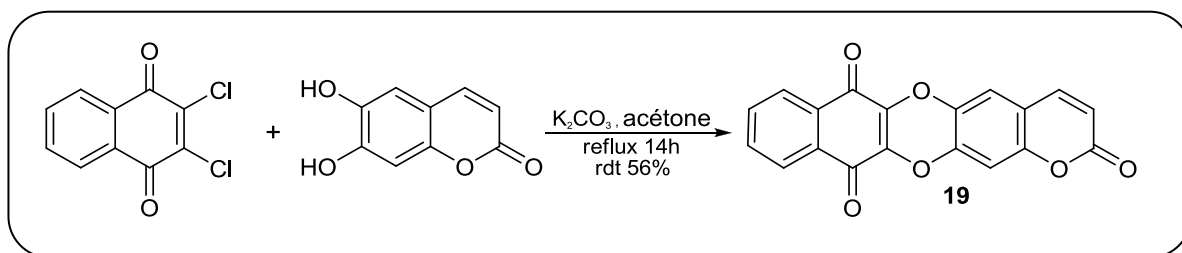


Schéma 24 : Synthèse du produit 19 selon les travaux de Tandon.

Pour cette réaction, nous pouvons envisager le mécanisme suivant : tout d'abord la formation de l'ion alcoolate puis première addition de Michael, suivie d'une condensation et départ d'une molécule HCl, ensuite deuxième addition de Michael suivie par une élimination de la 2^{ème} molécule de HCl (schéma 25).

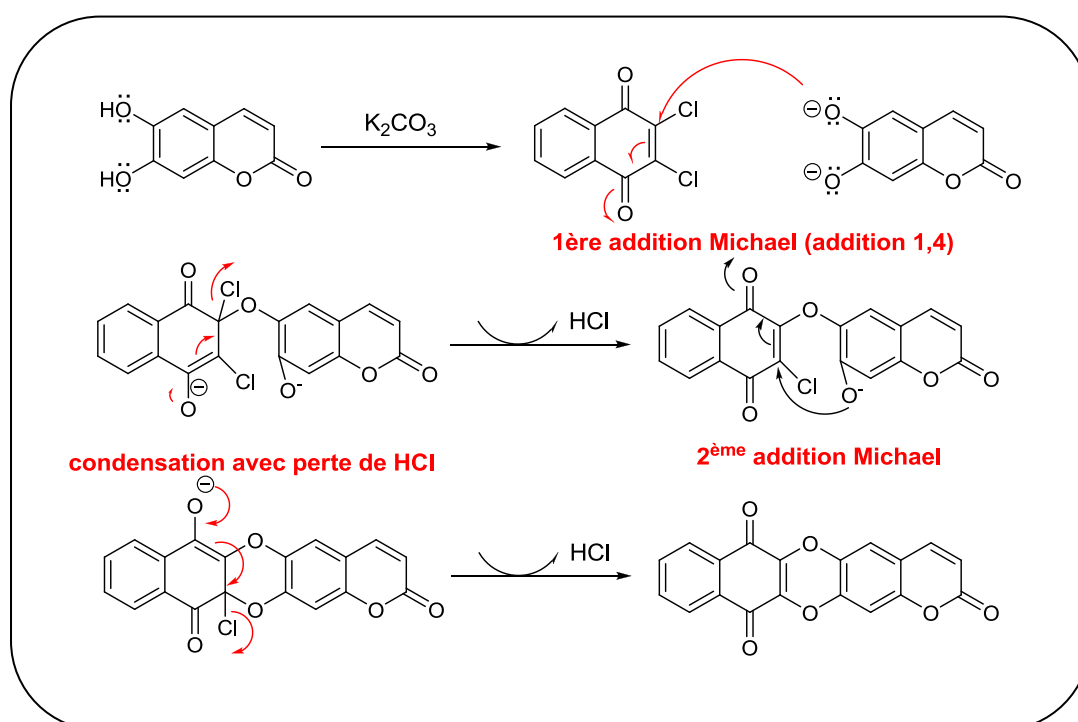


Schéma 25 : Mécanisme de formation du produit 19

Le produit formé appartient à une famille de produits appelés « **benzodioxines naphthoquinones** ». Sachant que ces molécules sont connues en littérature pour leurs propriétés biologiques très importantes, nous avons donc opté pour des essais sur d'autres phénols portant sur

différentes fonctions organiques afin de synthétiser d'autres dérivés dioxines.

1.7.2 Synthèses en présence d'acide gallique

Le mode opératoire appliqué pour cette synthèse est le même que celui décrit précédemment. Le 4,5-dihydroxy coumarine est remplacé par l'acide gallique. Le produit analysé au final est le produit attendu (l'acide-4-hydroxy-6,11-dioxo-6,11-dihydrobenzo[b]dibenzo[b,e][1,4]dioxine-2-carboxylique).

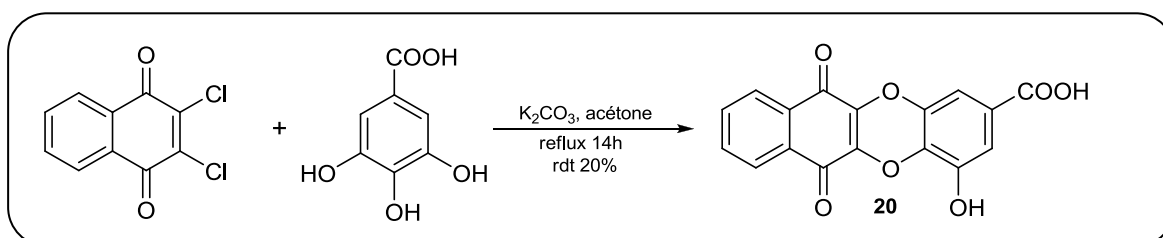


Schéma 26 : Synthèse du produit 20.

Nous obtenons un rendement de 20%, faible comparé à la réaction précédente. Pour le mécanisme, on suit pratiquement les mêmes étapes que le mécanisme précédent.

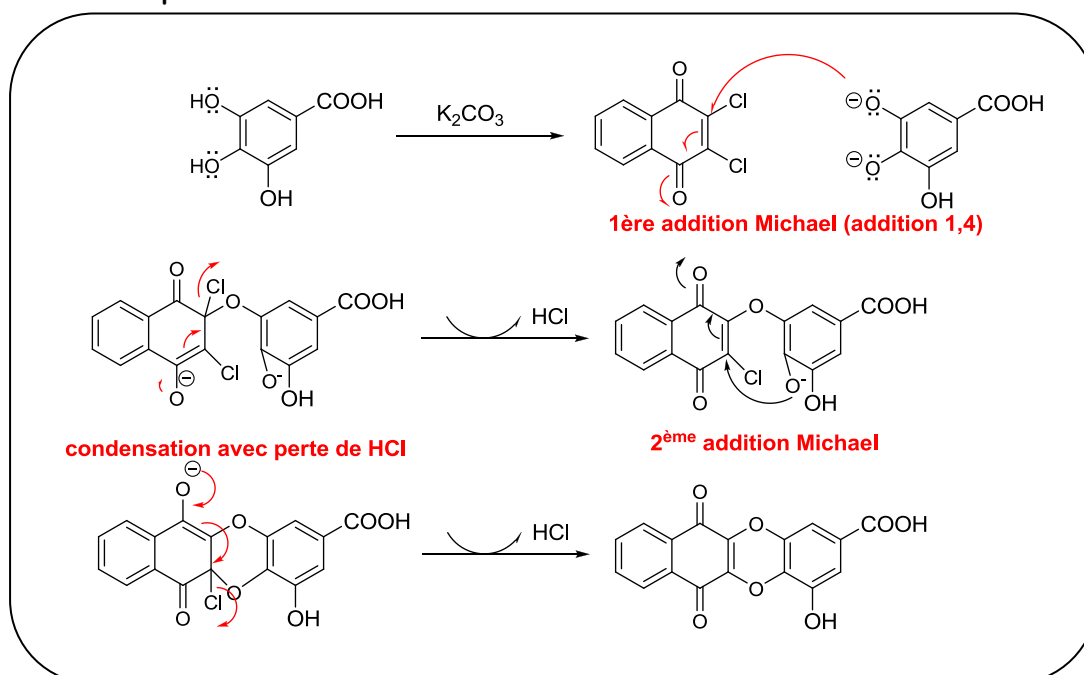


Schéma 27 : Mécanisme de formation du produit 20

1.7.3 Synthèses en présence de l'ester d'acide gallique (méthyle gallate)

Même mode opératoire que précédemment, le mélange de DCNQ, de méthyle gallate nous permet d'obtenir le produit **21** (méthyl-4-hydroxy-6,11-dioxo-6,11-dihydrobenzo[b]dibenzo[b,e][1,4]dioxine-2-carboxylate) appartenant aussi à la famille des « dioxines » avec un rendement très élevé de 90%.

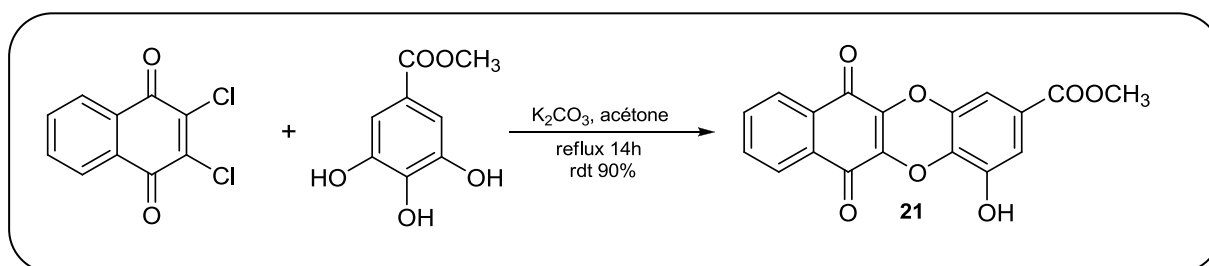


Schéma 28 : Synthèse du produit 21.

Pour ce qui est du mécanisme il est similaire à celui du schéma 27.

1.8 CONCLUSION

Dans cette première partie du travail, notre but était de synthétiser des molécules de type 'psoralènes'. En effet, plusieurs réactions ont été testées afin d'obtenir ces molécules, mais malheureusement, ce type de réactions s'est avéré très complexe, c'est la raison pour laquelle nous avons dû utiliser d'autres réactifs de départ en présence du DCNQ. Par conséquent, nous avons obtenu des molécules de type « **benzodioxines naphthoquinones** » très connues en littérature pour leurs propriétés biologiques importantes. Par la suite, ces molécules synthétisées ont été testées sur plusieurs cellules cancéreuses afin de connaître leurs effets anti-tumoraux (chapitre 3).

1.9 MATÉRIEL ET MÉTHODES

Spectres RMN ¹H ont été enregistrés à 400 MHz, à l'aide d'un appareil

Bruker Avance III 400. Les produits ont été analysés dans le chloroforme deutéré (CDCl_3), le diméthylsulfoxyde (DMSO) avec comme référence interne le tétraméthylsilane (TMS). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm et les constantes de couplage J en Hz. Les signaux sont désignés par les abréviations suivantes : s, singulet ; d, doublet ; t, triplet ; q, quadruplet ; m, massif ; m, multiplet.

Spectres RMN ^{13}C ont été enregistrés à 125 MHz avec découplage ^1H en large bande à l'aide d'un appareil Bruker Avance III 500. Les produits ont été analysés dans le chloroforme deutéré (CDCl_3), le diméthylsulfoxyde (DMSO) avec comme référence interne le tétraméthylsilane (TMS). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm.

Spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés sur un spectrophotomètre 'spectrum one' Perkin Elmer équipé d'un accessoire ATR. Les bandes d'absorption sont enregistrées en cm^{-1} . Seuls les pics caractéristiques sont listés.

Analyses GC/MS ont été effectuées sur un appareil QTOF micro (waters) avec une ionisation par électrospray positif (ESI) et sur un appareil GC/MS/MS saturn 2000 VARIAN. Les principaux pics (m/z) obtenus en impact à 70 eV sont exprimés en pourcentage.

Chromatographies flash sur colonne ont été effectuées en préparant la colonne par tassement d'une suspension de gel de silice Merck 60 (40-63 μm) sous pression modérée.

Chromatographies sur couche mince ont été effectuées sur des plaques de silice Merck 60 F₂₅₄.

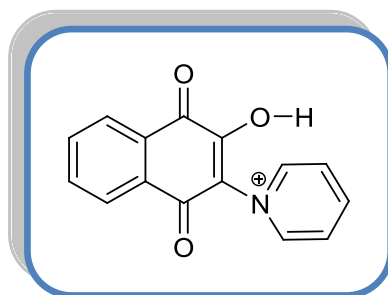
Irradiations micro-ondes ont été effectuées dans un micro-onde domestique d'une puissance maximale de 400 W.

Distillations ont été effectuées au moyen d'un four de distillation « boule à boule » Kugelrohr Buchi Oven B 580.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

▪ Synthèse du sel pyridinium

Dans un ballon de 100 mL adapté d'un réfrigérant, sont introduits le 2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone (4,5 g ; 19,8 mmol), le résorcinol (3 g ; 27,2 mmol) et 40 mL de pyridine. Le mélange est chauffé à reflux durant 3 heures. Après refroidissement, un volume d'eau et d'acide acétique (5/5) est ajouté au mélange, ce dernier est laissé sous agitation durant 12 heures. Le précipité est récupéré après filtration.



Formule chimique : $C_{15}H_{10}NO_3^+$

Masse molaire : 252,24

Rdt : 60%

RMN 1H (DMSO, δ ppm) : $\delta = 12$ (s, 1H, OH), $\delta = 8,89$ (d, $J = 5,3$ Hz, 2H), $\delta = 8,58$ (t, $J_1 = 6,5$ Hz, 1H), $\delta = 8,16$ (t, $J_1 = 6,8$ Hz, 2H), $\delta = 8,65$ (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), $\delta = 7,83$ (t, $J_1 = 7,5$ Hz, 1H), $\delta = 7,72$ (t, $J_1 = 7,5$ Hz, 1H).

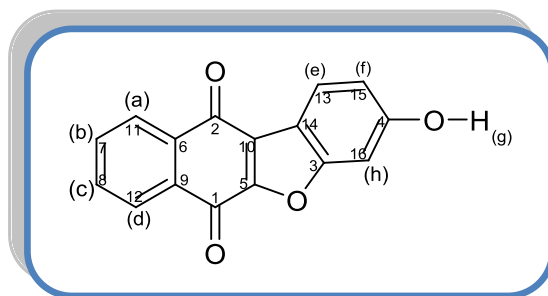
▪ Synthèse du 3-hydroxybenzo[d]naphto[2,3-b]furan-6,11-dione

Dans un ballon de 250 mL adapté d'un réfrigérant, sont introduits le sodium (3,8 g ; 0,2 mol) et l'éthanol (120 mL). Le mélange (éthanolate de sodium) est mis sous vive agitation jusqu'à dissolution totale du sodium.

Dans un ballon contenant 50 mL d'éthanolate de sodium, sont introduits le 2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone (2,27 g ; 10 mmol) par petite quantité à 0°C. Ensuite, le résorcinol (2,2 g ; 20 mmol) est dissouts dans l'éthanol (25

mL) puis introduit goutte à goutte dans le mélange précédent à 0°C. Ce dernier est laissé sous agitation durant une nuit.

Le mélange est acidifié à l'aide d'une solution de HCl (6N). Le solide récupéré par filtration est lavé successivement à l'eau, au méthanol et à l'éther diéthylique. Le solide obtenu est de couleur orange.



Formule chimique : $C_{16}H_8O_4$

Masse molaire : 264,23

Rdt : 65%

P.F : 337°C

IR ν : 1658, 1578, 1247, 993, 713 cm^{-1} .

RMN 1H ($CDCl_3$, δ ppm): $\delta = 10,5$ (s, 1H, H_g), $\delta = 8,09-8,13$ (m, 2H, $H_{a,d}$), $\delta = 7,99$ (d, $J=8,5Hz$, 1H, H_e), $\delta = 7,87-7,91$ (m, 2H, $H_{b,c}$), $\delta = 7,19$ (d, $J=2,0 Hz$, 1H, H_h), $\delta = 7,07$ (dd, $J_1=2,0 Hz$, $J_2=8,5 Hz$, 1H, H_f).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, δ ppm) : $\delta = 181,4$ (C1), 174,0 (C2), 160,1 (C3), 157,6 (C4), 152,3 (C5), 134,2 (C6), 134,1 (C7), 132,7 (C8), 132,2 (C9), 126,2 (C10), 126,1 (C11), 123,1 (C12), 123,7 (C13), 116,5 (C14), 114,1 (C15), 98,4 (C16).

SM m/z (abondance relative%) : 263 (M-H, 100), 235 (10), 219 (20), 191 (18).

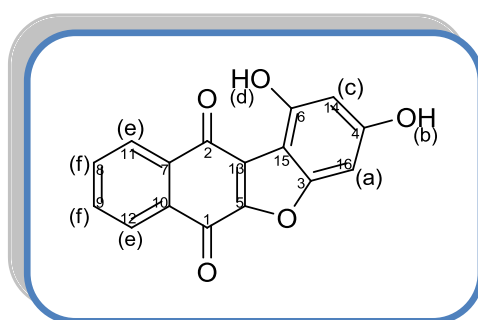
Masse exacte (ESI-TOF) : calculée pour $C_{16}H_7O_4$ [M-H] = 263,0344, trouvée 263,0344.

▪ **Synthèse du 1,3-dihydroxybenzo [d]naphto[2,3-b]furan-6,11-dione**

Dans un ballon de 100 mL muni d'un réfrigérant et d'un barreau aimanté, l'hydroxyde de potassium (2 g ; 50 mmol) est dissous dans le méthanol (50 mL) à température ambiante et sous vive agitation. Ensuite, le 2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone (1,7 g ; 4 mmol) est ajouté et le mélange est porté à reflux à température 30°C durant 15 à 20 minutes jusqu'à formation d'une suspension cristalline.

Dans un bécher de 50 mL, sont introduits le phloroglucinol (1,4 g ; 10 mmol) et le méthanol (20 mL) sous agitation et à température ambiante. Le mélange est ensuite introduit goutte à goutte dans la solution de départ (méthanolique) à température ambiante et est laissé sous agitation durant 3 heures. Après filtration, le solide obtenu (mélange de sel et du produit) est lavé avec du méthanol.

Le filtrat est traité avec une solution acidifiée de HCl (0,2N) (pH \leq 3) à 0°C. Le solide obtenu après filtration est lavé à l'éthanol puis séché à l'étuve à 60°C. Le solide est de couleur brune.



Formule chimique : $C_{16}H_8O_5$

Masse molaire : 280,23

Rdt : 52%

P.F : 340-341°C

IR ν : 3391, 1622, 1576, 1562, 1269, 1187, 1003, 708 cm^{-1} .

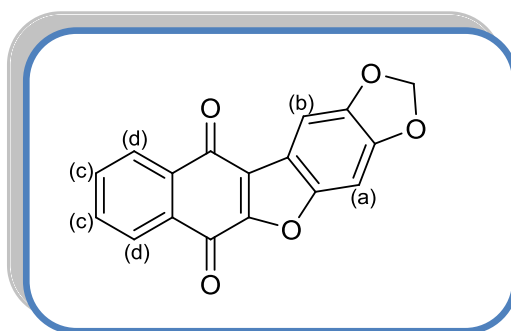
RMN ¹H (DMSO-d₆, δ ppm) : δ = 8,11-8,17 (m, 2H_f), δ = 7,88- 7,97 (m, 2H_e), δ = 6,69 (d, *J*=1,8 Hz, 1H_a), δ = 6,40 (d, *J*=1,8Hz, 1H_c), δ = 3,32 (s, 2H_{b,d}).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ ppm) : δ = 183,3 (C1), 173,1 (C2), 162,4 (C3), 158,2 (C4), 152,6 (C5), 150,9 (C6), 135,1 (C7), 134,0 (C8), 132,3 (C9), 131,7 (C10), 126,7 (C11), 126,5 (C12), 125,7 (C13), 104,5 (C14), 99,9 (C15), 90,5 (C16).

Masse exacte (ESI-TOF) : calculée pour C₁₆H₈O₅ [M]⁺ =280,0134, trouvée 280,0144.

▪ **Synthèse du (méthylènedioxy)benzo[b]naphto[2,3-d]furan-7,11-dione**

Dans un ballon de 100 mL muni d'un réfrigérant et d'un barreau aimanté, sont introduits le sésamol (0,73 g ; 5,28 mmol), le 2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone (1 g ; 4,4 mmol) et la pyridine (15 mL). La température est maintenue à 200°C à l'aide d'un bain d'huile. Le mélange est chauffé à reflux durant 3h. Après refroidissement, un mélange d'eau et d'acide acétique (50/50) est ajouté afin de neutraliser la pyridine. Le mélange est laissé sous agitation durant 12h à température ambiante. Le solide récupéré après la filtration est de couleur rouge orangé.



Formule chimique : C₁₇H₈O₅

Masse molaire : 292,04

Rdt : 86%

P.F : 309-310°C.

IR ν : 3085, 3056 (ν C_{arom}-H), 2897 (ν C-H), 1659 (ν C=O) cm⁻¹.

RMN ^1H (DMSO, δ ppm) : $\delta = 5,95$ (s, 2H, OCH_2O), $\delta = 6,72$ (m, 1H, H_a), $\delta = 6,85$ (m, 1H, H_b), $\delta = 7,88$ (m, 2H, H_c), $\delta = 8,10$ (m, 2H, H_d).

RMN ^{13}C (DMSO, δ ppm) : $\delta = 180,8$ (C1), 174,0 (C2), 161,2 (C3), 153,0 (C4), 152,3 (C5), 144,0 (C6), 143,3 (C7), 134,3 (C8, C9), 126,2 (C10), 118,6 (C11), 117,4 (C12, C13), 106,6 (C14, C15), 101,3 (C16), 97,8 (C17).

Masse exacte (ESI-TOF) : calculée pour $\text{C}_{17}\text{H}_8\text{O}_5$ [M] = 292,0346, trouvée 292,0350.

▪ Synthèse selon Singh *et al*

Dans un ballon de 100 mL adapté d'un réfrigérant, sont introduits le 3-hydroxybenzo [d] naphtho [2,3-b] furan-6,11-dione (50 mg ; 10^{-4} mol), l'acétoacétate de méthyle (10 mg ; 10^{-4} mol) et d'acide sulfurique concentré (95%). Le mélange est chauffé à reflux durant 5h. Après refroidissement, une extraction au diéthyléther est effectuée ($3 \times 15\text{mL}$), les phases organiques obtenues sont ensuite lavées avec une solution de carbonate de sodium, séchées sur du sulfate de magnésium, filtrées puis évaporées sous pression réduite. Au final, un solide jaune est récupéré.

▪ Synthèse selon Sugino *et al*

Dans un ballon de 100 mL adapté d'un réfrigérant, sont introduits le 3-hydroxybenzo[d]naphtho[2,3-b]furan-6,11-dione (0,52 g ; $2 \cdot 10^{-3}$ mol), l'acide para toluène sulfonique (APTS) (0,34 g ; $2 \cdot 10^{-3}$ mol) et l'acétoacétate d'éthyle (0,26 g ; $2 \cdot 10^{-3}$ mol). Le mélange est chauffé à reflux durant 6h. Après avoir refroidi le mélange, 15 mL d'eau distillée sont progressivement ajoutés. Un solide vert est obtenu après filtration.

▪ Synthèse selon Li *et al*

Le mélange de départ formé du composé **3** (50 mg, 10^{-4} mol), d'acétoacétate d'éthyle (13 mg, 10^{-4} mol), de montmorillonite (30% de la masse totale des réactifs de départ) et de toluène est chauffé à reflux durant 14h en utilisant le Dean-Stark. Le catalyseur est récupéré par

filtration sous vide et lavé à l'éthanol chaud. Ensuite le filtrat est évaporé sous pression réduite.

- **Synthèse selon Pechmann**

Dans un ballon de 100 mL adapté d'un réfrigérant, sont introduits le 3-hydroxybenzo[d]naphto[2,3-b]furan-6,11-dione (1,8 g ; 6,8 mmol), l'acide malique (0,9 g ; 6,8 mmol) et 4 mL d'acide sulfurique concentré (96%). Le mélange est chauffé à reflux à l'aide d'un bain d'huile à une température de 100 °C durant 40 minutes. Après refroidissement dans de la glace, la filtration du mélange permet l'obtention d'un solide de couleur verte.

- **Synthèse selon Lieberman**

Le mélange de départ formé du composé de DCNQ (0,9 g ; 3,9 mmol), de 7-hydroxycoumarine (umbelliférone) (0,63 g ; 3,9 mmol) et 20 mL de pyridine sont introduits dans un ballon adapté d'un réfrigérant. Le mélange est chauffé à reflux durant 3 heures.

Cette manipulation a été refaite en utilisant les mêmes quantités de réactifs de départ en présence d'un acide de Lewis, BiCl_3 en quantité stœchiométrique (1,22 g ; 3,9 mmol) et de 20 mL de nitrobenzène, le chauffage à reflux à était maintenu à une température entre 150 et 180°C (à l'aide d'un bain d'huile).

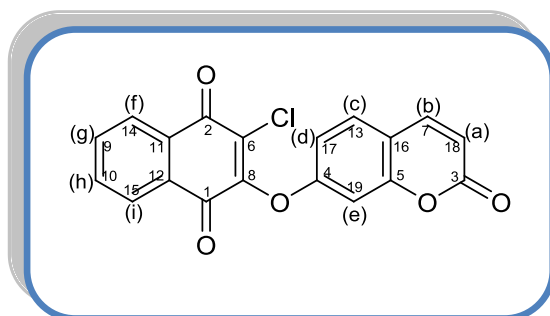
- **Synthèse selon Cheng *et al***

Le mélange de départ formé d'éthanolate de sodium (0,68 g ; 0,01 mol), de DCNQ (2,27 g ; 0,01 mol) se fait à la température 0°C dans un ballon de 100 mL. Sous agitation, l'umbelliférone (1,62 g ; 0,01 mol) dissout dans 50 mL de méthanol est introduit goutte à goutte dans le mélange initial à 0°C. Après filtration, un solide vert est obtenu.

- **Synthèse du 2-chloro-3-(2-oxo-2H-chromèn-7-yloxy) naphthalène-1,4-dione et de 2,3-bis (2-oxo-2H-chromèn-7-yloxy) naphthalène-1,4-dione**

Dans un ballon de 100 mL adapté d'un réfrigérant et d'un desséchant (CaCl_2), sont introduits le 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone (0,5 g ; 2 mmol), la 7-hydroxycoumarine (0,39 g ; 2,4 mmol), le carbonate de potassium (0,48 g ; 3,5 mmol) et l'acétone anhydre (15 mL). Le mélange est chauffé à reflux durant 3h à l'aide d'un bain d'huile (60-70°C) sous faible agitation et sous azote. Après filtration, le solide obtenu est de couleur jaune. Une séparation sur colonne est effectuée (7/3) (cyclohexane/acétate d'éthyle) permet l'obtention des deux produits présentés ci-dessous :

- **Synthèse du 2-chloro-3-(2-oxo-2H-chromèn-7-yloxy) naphthalène-1,4-dione**



Formule chimique : $\text{C}_{19}\text{H}_9\text{ClO}_5$

Masse molaire : 352,72

Rdt : 53%

P.F : 291°C

IR ν : 1724, 1668, 1575, 1251, 834, 710 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3 , δ ppm) : $\delta = 8,23-8,27$ (m, 1H, H_f), $\delta = 8,06-8,09$ (m, 1H, H_i), $\delta = 7,78-7,87$ (m, 2H, $\text{H}_{g,h}$), $\delta = 7,67$ (d, $J=9,5$ Hz, 1H, H_b), $\delta = 7,47$ (d, $J=8,6$ Hz, 1H, H_c), $\delta = 6,98$ (dd, $J_1=2,5$ Hz, $J_2=8,6$ Hz, 1H, H_d), $\delta = 6,92$ (d, $J=2,5$ Hz, 1H, H_e), $\delta = 6,35$ (d, $J=9,5$ Hz, 1H, H_a).

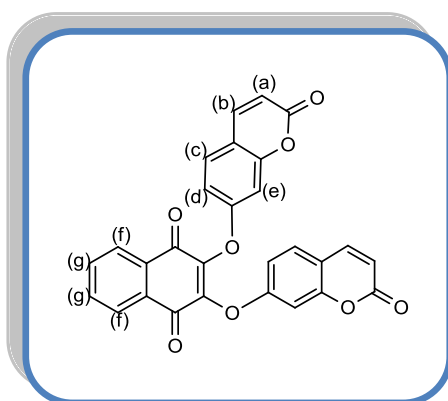
RMN ^{13}C (CDCl_3 , δ ppm) : $\delta = 178,1$ (C1), 177,6 (C2), 160,4 (C3), 158,9 (C4), 155,5 (C5), 152,8 (C6), 142,9 (C7), 135,0 (C8), 134,9 (C9), 134,9

(C10), 131,3 (C11), 130,5 (C12), 129,4 (C13), 127,8 (C14), 127,5 (C15), 115,4 (C16), 115,3 (C17), 113,6 (C18), 104,9 (C19).

SM m/z (abondance relative %) : 375 (M+Na, 14), 355 (35), 353 (M+1, 100), 325 (39), 309 (12).

Masse exacte (ESI-TOF): calculée pour $C_{19}H_{10}O_5Cl$ $[M+H]^+ = 353,0217$, trouvée 353,0232.

➤ **Synthèse du 2,3-bis (2-oxo-2H-chromèn-7-yloxy) naphthalène-1,4-dione**



Formule chimique : $C_{28}H_{14}O_8$

Masse molaire : 478,41

Rdt : 15%

RMN 1H ($CDCl_3$, δ ppm) : $\delta = 8,12-8,16$ (m, 2H), $\delta = 7,82-7,87$ (m, 2H), $\delta = 7,63$ (d, $J = 9,6$ Hz, 2H, H_b), $\delta = 7,41$ (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, H_c), $\delta = 6,91$ (dd, $J_1 = 2,4$ Hz, $J_2 = 8,5$ Hz, 2H, H_d), $\delta = 6,87$ (d, $J = 2,5$ Hz, H_e), $\delta = 6,32$ (d, $J = 9,6$ Hz, H_a).

Masse exacte (ESI-TOF) : calculée pour $C_{28}H_{14}O_8Na$ $[M+Na]^+ = 501,0586$, trouvée 501,0582.

▪ **Synthèse pour la cyclisation de la 2-chloro-3-(2-oxo-2H-chromèn-7-yloxy) naphthalène-1,4-dione**

Le mélange de départ formé de la 2-chloro-3-(2-oxo-2H-chromen-7-yloxy)naphthalene-1,4-dione (0,035 g ; 10^{-4} mol), de chlorure d'aluminium $AlCl_3$ (0,053 g, $4 \cdot 10^{-3}$ mol) et de 4 mL de 1,2,4-trichlorobenzène est

chauffé à reflux durant 8 heures à 150°C. Une distillation sous vide est effectuée par la suite.

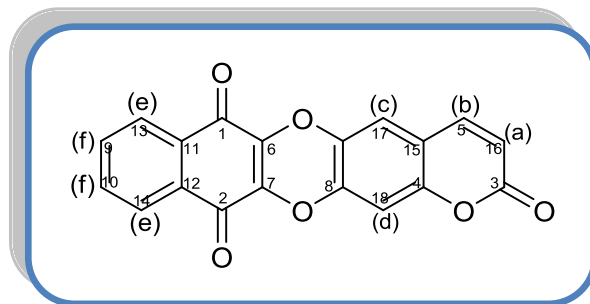
Nous avons substitué le trichlorure d'aluminium par le trichlorure de bismuth BiCl₃ en utilisant le même protocole opératoire. Le mélange est chauffé à reflux durant 8h à 150°C.

- **Synthèse pour la cyclisation de la 2-chloro-3-(2-oxo-2H-chromèn-7-yloxy)naphtalène-1,4-dione selon Chang *et al***

Le mélange de départ formé de la 2-chloro-3-(2-oxo-2H-chromen-7-yloxy)naphtalene-1,4-dione (160 mg ; $4,5 \cdot 10^{-3}$ mol), l'acétate de sodium en excès, l'acétate de palladium (102 mg ; $4,5 \cdot 10^{-3}$ mol) et 8 mL de diméthylacétamide, est mis sous atmosphère inerte et chauffé à reflux durant 8 heures. Après refroidissement, le pH du mélange est ajusté à 3 à l'aide d'une solution HCl (2N). De l'eau est ajoutée à la fin jusqu'à apparition d'un précipité. Un solide jaune a été récupéré après filtration sous vide.

- **Synthèse du 1H-benzo[b]pyrano[3,2-i]dibenzo[b,e][1,4]dioxine-2,7,12-trione**

Dans un ballon de 100 mL muni d'un réfrigérant équipé d'une garde de CaCl₂ et d'un barreau aimanté, sont introduits le 2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone (0,5 g ; 2 mmol), le 4,5-dihydroxycoumarine (0,35 g ; 2 mmol), le carbonate de potassium (0,61 g ; 4,4 mmol) et l'acétone (10 mL). La température est maintenue à 60°C à l'aide d'un bain d'huile. Le mélange est chauffé à reflux durant 14 heures. La formation d'un précipité rouge est observée. Le solide est filtré puis lavé à l'aide d'une solution de carbonate de potassium et de l'eau. Le solide obtenu est de couleur rouge.



Formule chimique : $C_{19}H_8O_6$

Masse molaire : 332,26

Rdt : 90%

P.F : 398-399°C

IR v : 1668, 1656, 1567, 1284, 1265, 979, 710 cm^{-1} .

RMN 1H (DMSO- d_6 , 40°C, δ ppm) : $\delta = 8,04-8,03$ (m, 2H, H_e), $\delta = 7,93$ (d, $J=9,5$ Hz, 1H, H_b), $\delta = 7,90-7,88$ (m, 2H, H_f), $\delta = 7,53$ (s, 1H, H_c), $\delta = 7,30$ (s, 1H, H_d), $\delta = 6,46$ (d, $J=9,5$ Hz, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 40°C, δ ppm): $\delta = 177,0$ (1), 176,4 (2), 159,4 (3), 151,5 (4), 143,1 (5), 139,0 (6), 138,0 (7), 136,9 (8), 134,5 (9), 134,4(10), 129,7 (11-12), 125,8 (13-14), 115,9 (15), 115,6 (16), 115,2 (17), 105,6 (18).

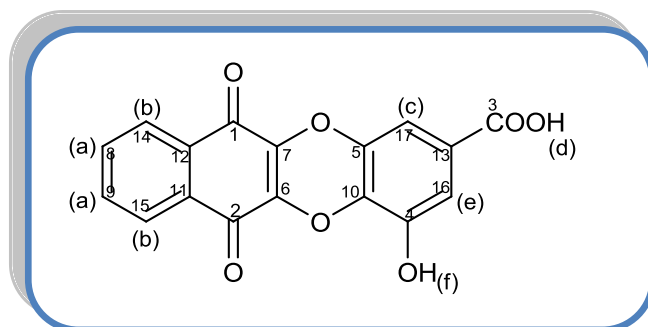
SM m/z (abondance relative %) : 333 ($M+H$, 100), 305 (8), 277 (28), 249 (20), 221 (10).

Masse exacte (ESI-TOF) : calculée pour $C_{19}H_9O_6$ [$M+H$] : 333,0399, trouvée : 333,0414

Fragments MS/MS : 305, 16, 277, 16, 249, 15, 221, 16.

- **Synthèse de l'acide-4-hydroxy-6,11-dioxo-6,11-dihydrobenzo [b]dibenzo[b,e][1,4]dioxine-2-carboxylique**

Dans un ballon de 100 mL muni d'un réfrigérant et d'un barreau aimanté, sont introduits le 2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone (0,5 g ; 2 mmol), l'acide gallique (0,37 g ; 2 mmol), le carbonate de potassium (0,61 g ; 4,4 mmol) et l'acétone (10 mL). La température est maintenue à 60°C à l'aide d'un bain d'huile et le mélange est chauffé à reflux durant 14 heures sous azote. Le précipité est récupéré par évaporation sous vide, lavé avec une solution de carbonate et acidifié jusqu'à pH=3. Le solide obtenu est de couleur orange.



Formule chimique : $C_{17}H_8O_7$

Masse molaire : 324,24

Rdt : 65%

P.F > 400°C

IR ν : 3394, 1654, 1601, 1440, 1339, 1223, 1196, 1105, 971, 949 cm^{-1} .

RMN 1H (DMSO- d_6 , 40°C, δ ppm): $\delta = 10,38$ (s, 1H, H_d), $\delta = 8,05-8,01$ (m, 2H, H_b), $\delta = 7,89-7,85$ (m, 2H, H_a), $\delta = 7,28$ (d, $J= 2,0$ Hz, 1H, H_e), $\delta = 6,96$ (d, $J= 2,0$ Hz, 1H, H_e).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 40°C, δ ppm): $\delta = 176,8$ (C1), 176,73 (C2), 165,7 (COOH), 146,1 (C4), 141,1 (C5), 138,9 (C6), 138,8 (C7), 134,3 (C8), 134,3 (C9), 132,5 (C10), 129,7 (C11-12), 127,4 (C13), 125,7 (C14-15), 115,4 (C16), 107,8 (C17).

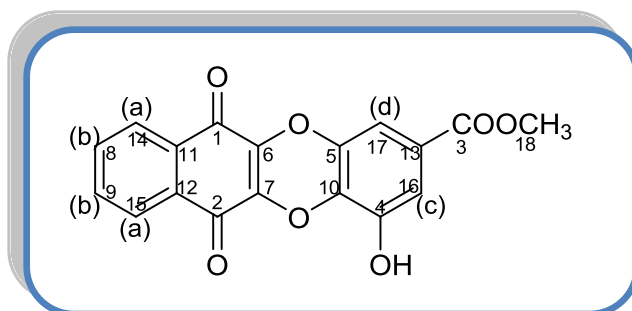
SM m/z (abondance relative%) : 323 (M-H, 100), 279 (74), 251 (62), 235 (12).

Masse exacte (ESI-TOF) : calculée pour $C_{17}H_7O_7$ [M-H]: 323,0192, trouvée : 323,0204.

- **Synthèse du méthyl-4-hydroxy-6,11-dioxo-6,11-dihydrobenzo[b]dibenzo[b,e][1,4]dioxine-2-carboxylate**

Dans un ballon de 100 mL muni d'un réfrigérant et d'un barreau aimanté, sont introduits le 2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone (0,5 g ; 2 mmol), le méthyle gallate (0,37 g ; 2 mmol), le carbonate de potassium (0,61 g ; 4,4 mmol) et l'acétone (10 mL). La température est maintenue à 60°C à l'aide d'un bain d'huile et le mélange est mis sous azote. Le mélange est chauffé à reflux durant 14 heures. Le précipité est récupéré par évaporation sous

vide, la recristallisation est faite dans l'acide acétique glacial. Le solide obtenu est de couleur rouge.



Formule chimique : $C_{18}H_{10}O_7$

Masse molaire : 338,27

Rdt : 90%

P.F > 400°C

IR ν : 3312, 1717, 1676, 1665, 1649, 1595, 1507, 1449, 1370, 1351, 1184, 1004, 961 cm^{-1} .

RMN 1H (DMSO, 60°C, δ ppm) : $\delta = 8,03-8,00$ (m, 2H, H_a), $\delta = 7,87-7,85$ (m, 2H, H_b), $\delta = 7,31$ (d, $J= 2,0$ Hz, 1H, H_c), $\delta = 6,97$ (d, $J= 2,0$ Hz, 1H, H_d), $\delta = 3,83$ (s, 3H, Me), $\delta = 3,10$ (s, 1H, OH).

RMN ^{13}C (DMSO, 60°C, δ ppm) : $\delta = 176,7$ (C1), 176,6 (C2), 164,7 (C3), 146,3 (C4), 141,3(C5), 138,9 (C6), 138,8 (C7), 134,3(C8), 134,2 (C9), 133,0 (C10), 129,8 (C11-12), 126,3 (C13), 125,7 (C14-15), 115,5 (C16), 107,7 (C17), 52,2 (C18).

SM m/z (abondance relative%) : 339 (M+H, 100), 243 (8), 214 (15).

Masse exacte (ESI-TOF) : calculée pour $C_{18}H_{11}O_7$ [M+H]: 339,0505, trouvée : 339,0515.

Chapitre 2

Synthèse des Indolylquinones

2 INTRODUCTION

En raison des difficultés rencontrées lors des réactions mettant en jeu la molécule **2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone**, nous avons réorienté nos travaux en utilisant cette fois-ci d'autres quinones avec différentes molécules aromatiques.

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés aux réactions de cycloaddition entre les molécules du type naphto et benzoquinone substitués et des dérivés d'indoles pour l'obtention de molécules appelées « **indolylquinones** » (figure II-1).

Les indolylquinones représentent des composés très intéressants en raison de leur importante activité biologique et pour leur présence dans plusieurs substances d'origine naturelle ^[1].

Dans ce chapitre, nous allons répertorier les méthodes de synthèses des indolylquinones en mettant en relief leurs différentes propriétés biologiques et nous présenterons en détail les résultats obtenus dans le cas de la préparation de ce type de molécules.

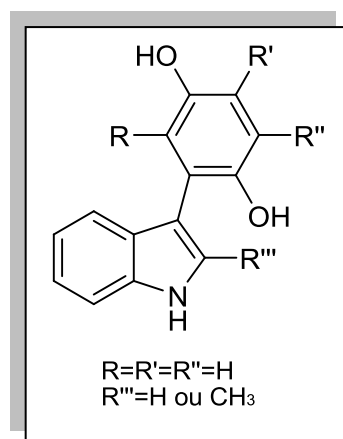


Figure II-1 : Structure générale de l'indolylquinone

Avant de procéder à la description des indolylquinones, nous devons d'abord décrire les propriétés des quinones et celles des indoles.

¹ J. S. Yadav, B. V. S. Reddy, T. Swamy, *Tetrahedron Lett*, 2003, 44, 9121-9124.

2.1 Structure et propriétés des quinones

Les quinones se caractérisent structuralement par la présence de deux groupements carbonyles faisant partie d'un système conjugué cyclique. On peut distinguer deux structures de base : les *para*-benzoquinones et les *ortho*-benzoquinones (figure II-2) qui peuvent également se trouver au sein de systèmes polycycliques (naphtoquinones, anthraquinones, phénanthrènequinones, etc...).

La réactivité des quinones conduit à deux modes d'action distincts qui peuvent être liés soit à des réactions rédox, soit à des réactions d'addition-élimination de type Michael, processus qui sont souvent à l'origine des mécanismes d'action intervenant dans l'activité biologique de ces composés, elles peuvent agir en tant qu'agents intercalants de l'ADN [2], comme elles peuvent aussi se comporter comme inhibiteurs des topoisomérases [3].

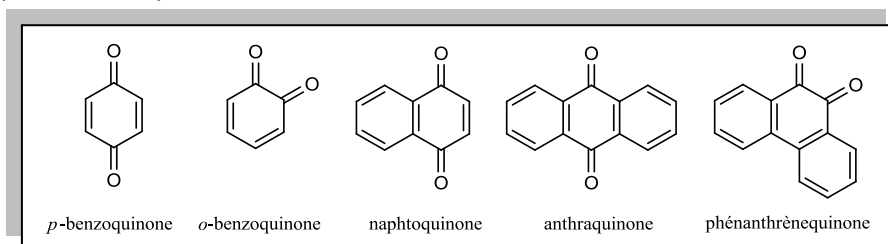


Figure II-2 : Structure de quinones et d'hydroquinones de base.

2.2 Structure et propriétés des indoles

L'indole est un composé aromatique hétérocyclique formé d'un benzène fusionné avec un cycle pyrrole. L'indole est connu pour être l'un des précurseurs utilisé dans de nombreux produits pharmaceutiques.

Lors d'une substitution électrophile aromatique, la position la plus réactive dans cette molécule est celle du carbone 3 [4] (figure II-3).

² C. Asche, *Mini-Rev. Med. Chem*, 2005, 5, 449.

³ L. Garuti, M. Roberti, D. Pizzirani, *Mini-Rev. Med. Chem*. 2007, 7, 481-489.

⁴ <http://en.wikipedia.org/wiki/indole>.

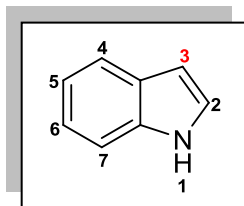


Figure II-3 : La position la plus réactive de l'indole

2.3 Propriétés biologiques des indolyquinones

L'exemple le plus courant en littérature est celui du 3-indolylbenzoquinone obtenu par condensation de l'indole avec la p-benzoquinone ^[5]. La 3-indolylbenzoquinone est la structure de base dans différents produits naturels tels que les astérriquinones (figure II-4) ^[6,7].

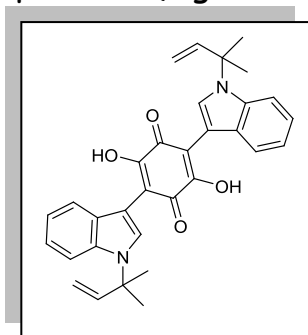


Figure II-4 : L'astérriquinone

Les astérriquinones (appelés aussi les **bis (indolyl) quinones**) représentent une large variété de champignons tels que *l'aspergillus terreus*, le *chaetomium sp* et le *pseudomassaria sp* ^[8,9,10].

⁵ J. S. Yadav, B. V. S. Reddy, T. Swamy, *Synthesis*, **2004**, 1, 106-110.

⁶ K. Arai, Y. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull*, **1990**, 38, 2929-2932.

⁷ A. Kaji, R. Saito, M. Namura, K. Miyamoto, N. Kiriyaama, *Biol. Pharm. Bull*, **1998**, 21, 945-949.

⁸ D. Brewer, W. Jerram, A. Taylor, *A. Can. J. Microbiol*, **1968**, 14, 861.

⁹ S. Sekita, *Chem. Pharm. Bull*, **1983**, 31, 2998.

¹⁰ A. Kaji, T. Iwata, N. Kiriyaama, S. Wakusawa, K. Miyamoto, *Chem. Pharm. Bull*, **1999**, 47, 77.

Les bis (indolyl) quinones possèdent des propriétés biologiques très importantes dont les propriétés anti-tumorales et inhibitrices du VIH ^[11, 12,13].

Récemment, les recherches avancées sur les astérriquinones ont permis la découverte aussi de leur propriété anti-diabétique ^[14].

2.4 Exemples de synthèses d'indolylquinones décrites dans la littérature

Dans cette partie, nous citerons quelques méthodes de synthèses des indolylquinones décrites en littérature et qui sont en relation directe avec notre travail de synthèse.

2.4.1 Les travaux de Möhlau et Redlich

En 1911, Möhlau et Redlich ^[15] rapportent que la 2-méthylindole et ces dérivés réagissent facilement avec la p-benzoquinone (rapport molaire 1 :2) dans du méthanol chaud pour donner des produits colorés ayant des rendements compris entre 90 et 100% (schéma 29).

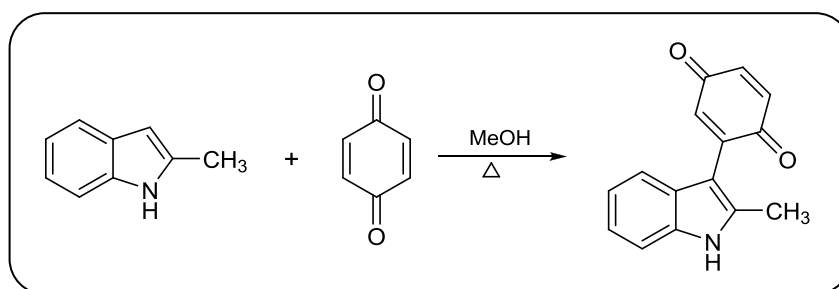


Schéma 29 : Synthèse de Möhlau et Redlich

Les chercheurs n'ont pas pu à cette époque isoler le produit rouge obtenu.

¹¹ K. A. Alvi, H. Pu, M. Luche, A. Rice et ces collaborateurs, *J. Antibiot*, **1999**, 52, 215-223.

¹² K. Arai, S. Shimizu, Y. Taguchi, Y. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull*, **1982**, 30, 1896.

¹³ A. Kaji, R. Saito, M. Nomura, K. I. Miyamoto, N. Kiriya. *Anticancer Res*, **1997**, 17, 3675-3679.

¹⁴ C. M. Pirrung, K. Park, Z. Li, *Organic Lett*, **2001**, 3, 365-367.

¹⁵ R. Möhlau, A. Redlich, *Chem. Ber*, **1911**, 44, 3605.

2.4.2 Les travaux de Bu'lock et Harley-Mason

En 1951, les investigations sur les réactions de cycloaddition entre l'indole et la quinone sont reprises par les chercheurs Bu'lock et Harley-Mason. Leurs recherches sont en accord avec les travaux antérieurs de Möhlau et Redlich. Cela dit, Bu'lock et Harley-Mason ^[16] trouvent que la réaction entre la 2-méthylindole et la p-benzoquinone dans l'éthanol chaud est **fortement catalysée** par la présence d'une faible quantité d'acide acétique (schéma 30).

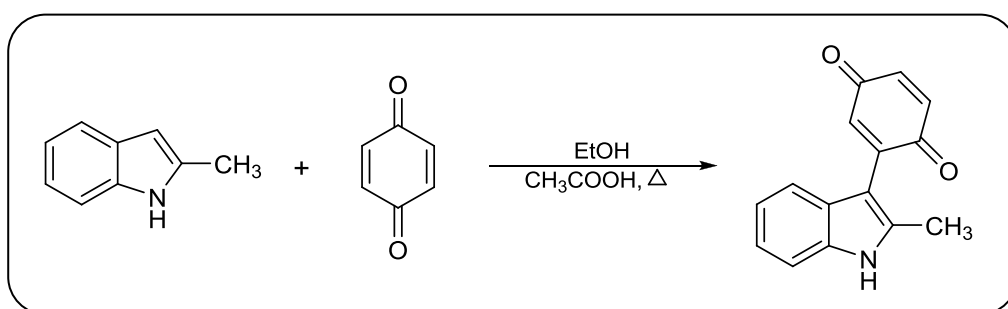


Schéma 30 : Synthèse de Bu'lock et Harley-Mason

Ces chercheurs ont montré que l'indole non substituée en position 3 était très réactive en présence du para ou de l'ortho-benzoquinone permettant l'obtention de produits fortement colorés qui sont les indol-3-ylquinones. Ces produits ont pu être isolés mais avec de très faibles rendements.

Ils ont découvert aussi que l'efficacité de cette réaction de condensation résidait dans les conditions opératoires, ils ont fait réagir deux équivalents de benzoquinone avec un équivalent de 2-méthylindole dans de l'acide acétique chaud ; ils ont obtenu un produit de couleur hétérogène (brun-violet) supposé être symétrique et di-substitué (figure II-5) qui est le 2, 5-bis (2-méthylindol-3-yl)-p-benzoquinone en plus du produit violet déjà cité précédemment où le rapport molaire de réactifs de départ est de 1 : 1 (Schéma 30).

¹⁶ J. D. Bu'Lock, J. Harley-Mason, *J. Chem. Soc.*, **1951**, 703.

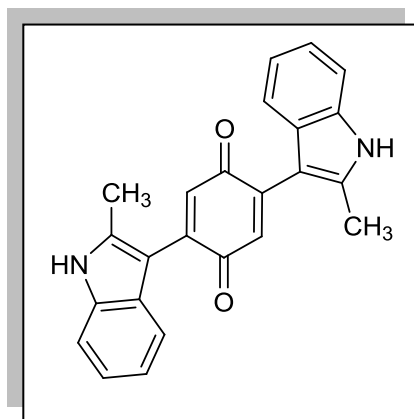


Figure II-5: 2, 5-bis (2-méthylindol-3-yl)-*p*-benzoquinone.

2.4.3 Les travaux de Bruce

En 1959, Le chercheur Bruce ^[17] montre que la réaction de l'indole avec le para et l'orthobenzoquinone (rapport molaire 1:1) permet d'obtenir respectivement les molécules (indol-3-yl)-*p*-benzoquinone et la 4-(indol-3-yl)-*o*-benzoquinone en accord avec les travaux de Bu'lock et Harley-Mason (schéma 31).

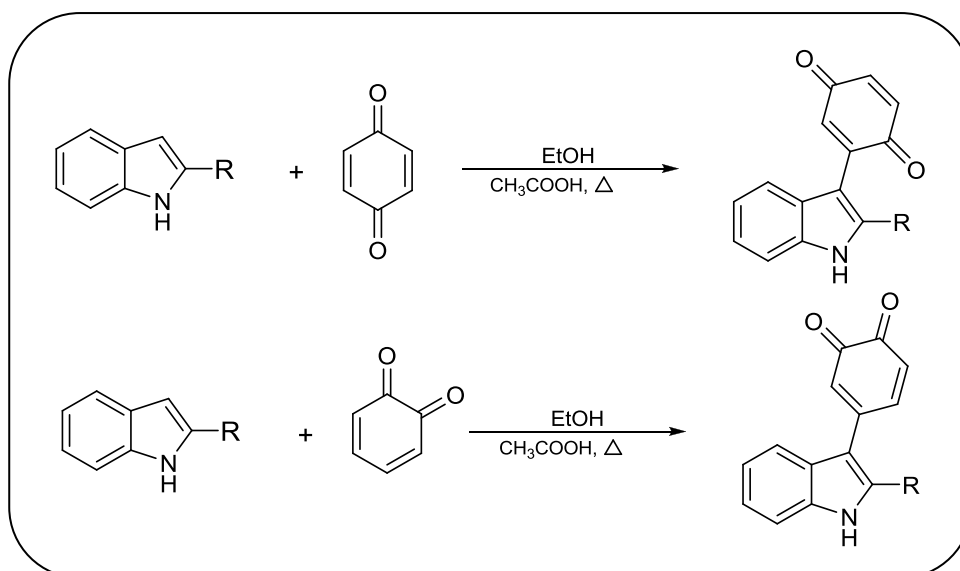


Schéma 31 : Synthèse de Bruce.

¹⁷ J. M. Bruce, *J. Chem. Soc.*, 1959, 2366.

De la même façon, la réaction de l'indole non substituée en position 3 est possible avec le réactif 1,4 et 1,2-naphtoquinone, donnant des produits très colorés du type « indol-3-ylnaphtoquinone » ce qui a été démontré par Bu'lock et Harley-Mason.

2.5 Mécanisme proposé

Dans le cas de la réaction entre l'indole et le *p*-benzoquinone, le mécanisme proposé est celui de l'addition de l'indole sur la position insaturée de la quinone, le tout activé par l'acide. Le produit initial d'addition est tautomérisé d'où la formation d'une molécule type hydroquinone (indol-3-ylhydroquinone) qui par conséquent est soumise à une oxydation rapide par un autre équivalent de *p*-quinone formant ainsi l'indol-3-ylquinone.

Le mécanisme est représenté ci-dessous [1,5, 18] :

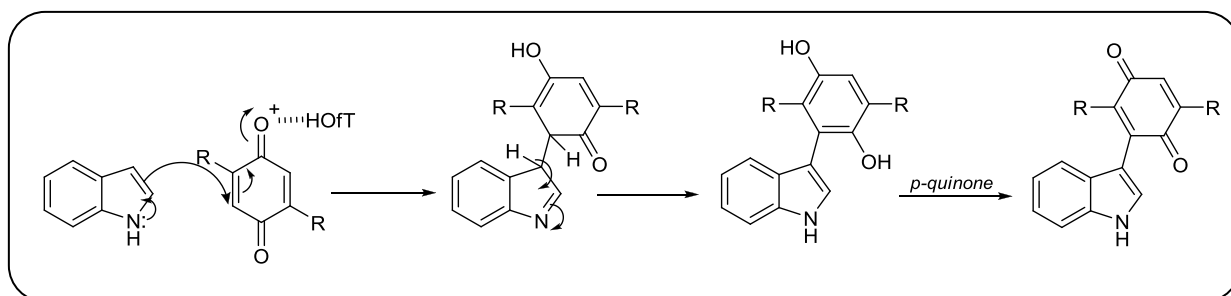


Schéma 32 : Mécanisme général de l'addition de Michael de l'indole sur la *p*-quinone.

2.6 Résultats et discussion

Comme nous l'avons cité au début de ce chapitre, les indol-3-ylquinones présentent des activités biologiques très intéressantes d'où notre intérêt à les synthétiser.

¹ J. S. Yadav, B. V. S. Reddy, T. Swamy, *Tetrahedron Lett*, **2003**, 44, 9121-9124.

⁵ J. S. Yadav, B. V. S. Reddy, T. Swamy, *Synthesis*, **2004**, 1, 106-110.

¹⁸ W. E. Noland, F. J. Baude, *Cycloaddition Reaction Of 3-Alkylindoles*, **1966**, 31, 3361-3337.

Nous proposons dans cette partie la synthèse des indol-3-ylquinones et leurs dérivés en une seule étape, avec de nouvelles conditions opératoires différentes de celles décrites par Möhlau et Redlich, Bu'lock et Harley-Mason et Bruce.

Dans notre travail, les molécules d'indol-3-ylquinone sont préparées par addition de la *p*-quinone et de ses dérivés sur différentes molécules d'indoles en présence d'un acide fort qui est l'acide triflique ($\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$) et de l'éthanol comme solvant, le tout mélangé à température ambiante (T.A) (schéma 33).

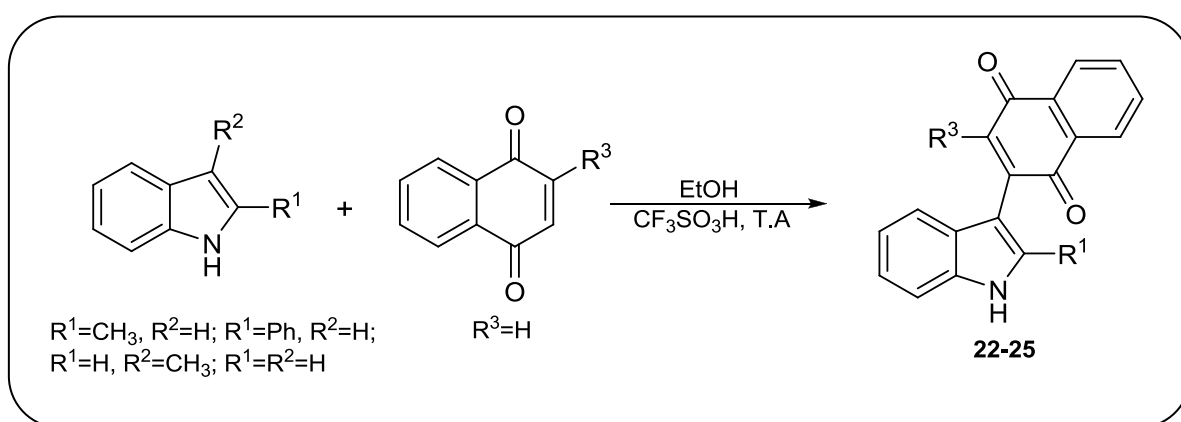


Schéma 33 : Synthèse des indol-3-ylquinones (22-25) à partir du 1,4-naphtoquinone.

2.6.1 RÉACTIONS EN PRÉSENCE DU 1,4-NAPHTOQUINONE

Dans cette première partie, le réactif du 1,4-naphtoquinone est utilisé en présence de différents dérivés d'indoles. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Produit	R^1	R^2	R^3	Rdt(%)
22	CH_3	/	H	51
23	Ph	/	H	48
24	/	CH_3	H	47
25	H	/	H	47

Tableau II-1 : Synthèse des indolylquinones à partir du 1,4-naphtoquinone.

Pour ces réactions, nous avons remarqué la formation presque instantanée d'un solide fortement coloré (violet), une filtration toute simple a permis la récupération de ces produits (voir l'annexe). Ces réactions n'ont pas nécessité de chauffage, leurs suivis CCM nous a permis de déterminer la durée de la réaction. Les rendements obtenus sont aux alentours de 50%, ce qui est dû probablement aux pertes engendrées lors des recristallisations.

2.6.2 RÉACTIONS EN PRÉSENCE DU 2-MÉTHYLNAPHTOQUINONE

Le composé 2-méthylnaphtoquinone (appelé aussi ménadione ou vitamine K₃) est mis en présence de différents dérivés d'indoles selon la réaction suivante (schéma 34) :

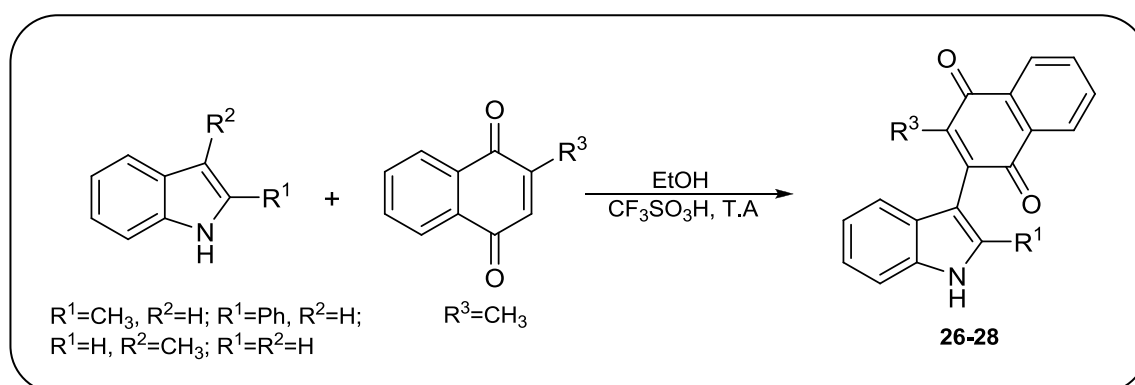


Schéma 34 : Synthèse des indolyloquinones (26-28) à partir du 2-méthylnaphtoquinone

Les résultats présentés dans le tableau II-2 sont commentés dans le paragraphe ci-dessous.

Produit	R ¹	R ²	R ³	Rdt (%)
26-27	CH ₃	/	CH ₃	45-10
28	Ph	/	CH ₃	50

Tableau II-2 : Rendements des produits obtenus des réactions entre le 2-méthylnaphtoquinone et les dérivés d'indoles.

A/ Réaction du 2-méthylnaphtoquinone avec le 2-méthylindole

La séparation sur colonne de silice, nous a permis l'obtention du produit attendu (26) celui de l'addition du 2-méthylindole sur le 2-méthylnaphtoquinone avec un autre produit « non synthétisé jusque là » (27) (figure II-6).

Le produit énolique (27) a pu être identifié par différentes méthodes d'analyses RMN dont la technique de la RMN 2D (RMN ^1H , RMN ^{13}C , HMBC, HSQC, COSY). C'est surtout la technique **HMBC** qui nous a permis de confirmer la structure de la molécule 27.

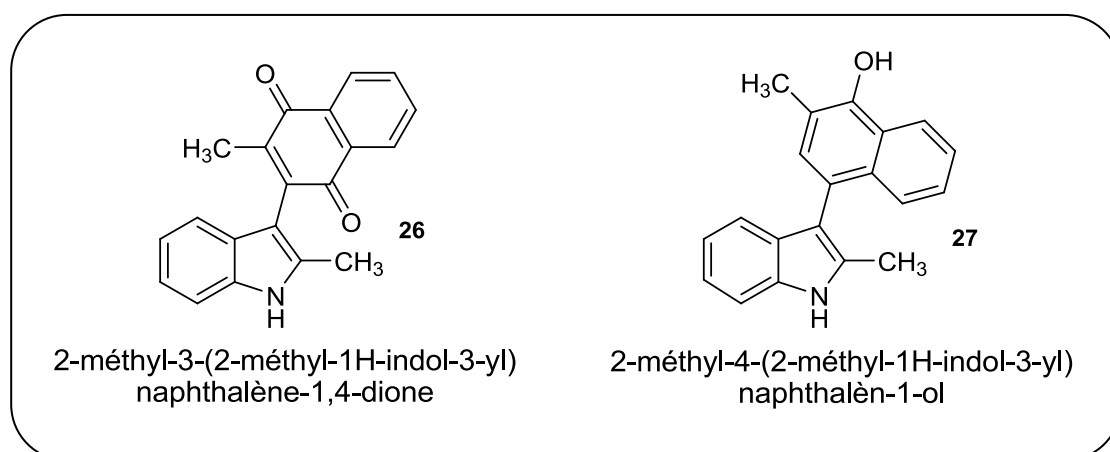


Figure II-6: Produits obtenus de la réaction entre le 2-méthylnaphtoquinone et le 2-méthylindole.

Par définition, la HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation) est une méthode qui permet d'obtenir les corrélations et les couplages (^2J , ^3J) entre un proton et l'hétéroatome voisin. En effet, les couplages ^3J permettent de corréler les noyaux distants de 3 liaisons covalentes. Dans le cas des aromatiques, on observe les couplages du type ^3J et faiblement ceux du type ^2J ^[19].

¹⁹ Identification spectrométrique de composés organique ; R. M. Silverstein, F. X Webster et D.J. Kiemle. Éditions De Boeck Université, 2007.

Par HMBC nous avons pu faire les constatations suivantes en numérotant la molécule comme suit :

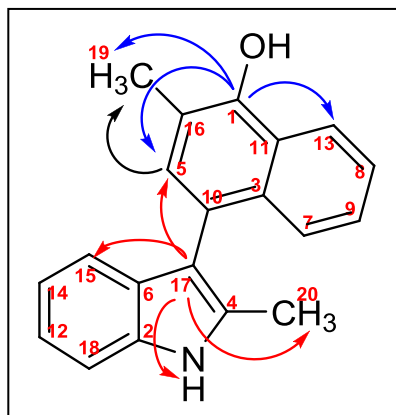


Figure II-7 : Corrélations HMBC type 2D

1/ Le carbone C_1 est très déblindé du fait de sa proximité du OH ;

2/ Une tache de corrélation est observée entre :

- le C_1 et le proton H_{19}
- le C_1 et le H_{13}
- le C_1 et le H_5

Ces trois corrélations représentent un couplage du type 3J .

3/ Sachant que les protons du méthyle peuvent corrélérer avec les trois carbones les plus proches, on remarque une tache de corrélation entre C_5 et le H_{19} et entre le C_1 et le H_{19} (ce qui a été déjà cité précédemment), quant au C_{10} il ne porte pas de proton.

4/ Le C_{17} est en corrélation avec le : H_5 , H_{15} , H_{20} et le NH (couplage 3J).

5/ Le C_{19} est en corrélation avec le H_5 mais ne corrèle pas avec le proton du OH car il est trop loin (4J) !

Les taches de corrélations sont visibles sur le spectre RMN (HMBC) qui est présenté en annexe.

Pour le mécanisme de formation de ce produit, nous nous sommes inspirés des travaux de S. Koulouri ^[20] et de ses collaborateurs qui ont proposé des mécanismes pour la formation de dérivés d'indolylrésorcinol à partir de molécules type « hydroxyquinones » telle que la Lawsone (schéma 35).

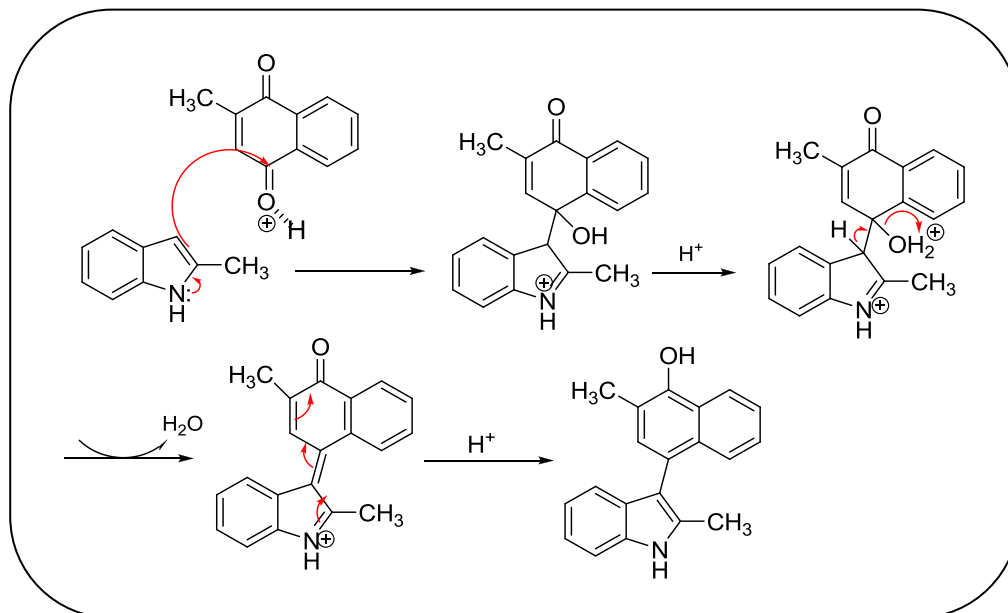


Schéma 35 : Mécanisme de formation du produit 27.

B/ Réaction du 2-méthylnaphtoquinone avec le 3-méthylindole

En utilisant cette fois-ci le 3-méthylindole, la réaction s'est avérée très lente ; après 72h d'agitation à température ambiante et en présence d'acide triflique, le suivi CCM a montré la présence de réactifs de départ avec un nouveau produit sous forme de traces, ceci a été confirmé par la spectrométrie de masse, ou l'on a pu observé la masse du produit attendu ($M+H=302$) et celles des réactifs de départ. La quantité du produit formé était très faible d'où l'impossibilité d'effectuer une purification. Cela peut être interprété par l'encombrement stérique qui peut ralentir la réaction. Afin de prouver que cette réaction est catalytique, cette dernière a été refaite en augmentant la quantité d'acide triflique dans le mélange ; aucun changement n'a été observé (schéma 36)

²⁰ S. Koulouri, E. Malamidou-Xenikaki, S. Spyroudis, *Tetrahedron. Lett*, 2005, 10894-10902.

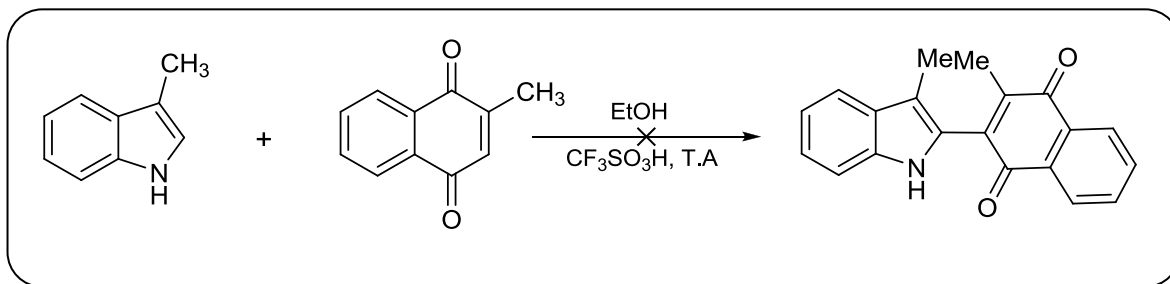


Schéma 36 : Réaction du 2-méthylnaphtoquinone avec le 3-méthylindole.

C/ Réaction du 2-méthylnaphtoquinone avec le 2-phénylindole

Pour cette réaction, nous avons pu obtenir le produit attendu par addition du 2-méthylnaphtoquinone sur le 2-phénylindole (figure II-8).

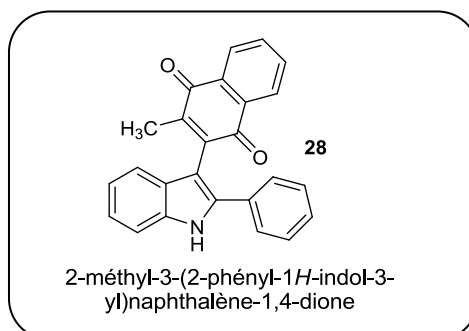


Figure II-8 : Produit obtenu de la réaction entre le 2-méthylnaphtoquinone et le 2-phénylindole.

D/ Réaction du 2-méthylnaphtoquinone avec l'indole

Pour cette dernière réaction avec le 2-méthylnaphtoquinone, nous avons rencontré quelques difficultés sur le plan expérimental, notamment la séparation sur colonne, où plusieurs fractions colorées très rapprochées ont été observées. Toutes les fractions contenaient de la quinone, ce qui est dû à sa mauvaise solubilité dans la silice ; ces résultats ont été confirmés par analyse de spectrométrie de masse. Ce n'est qu'au bout de la dernière fraction que l'on a pu identifier le produit attendu toujours en présence de la quinone et cela malgré l'utilisation d'éluant faiblement polaire ainsi que l'augmentation de la quantité de silice dans la colonne

(figure II-9), la séparation des produits n'était pas évidente ce qui ne nous a pas permis d'obtenir les résultats escomptés.

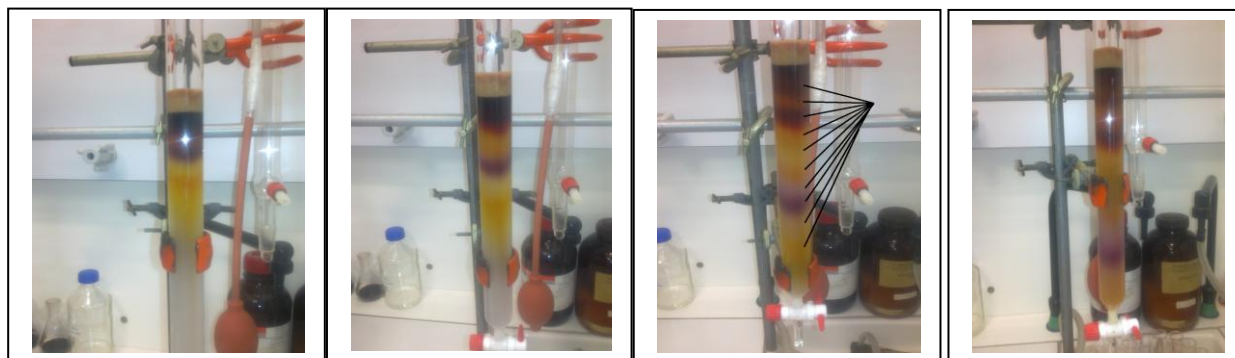


Figure II-9 : Colonne chromatographique portant plusieurs fractions rapprochées.

2.6.3 RÉACTIONS EN PRÉSENCE DU BENZOQUINONE

Dans cette troisième partie de nos travaux, nous avons effectué plusieurs manipulations en utilisant la benzoquinone avec les dérivés d'indole déjà cités précédemment. Ces réactions sont présentées par le schéma 37 ci-dessous :

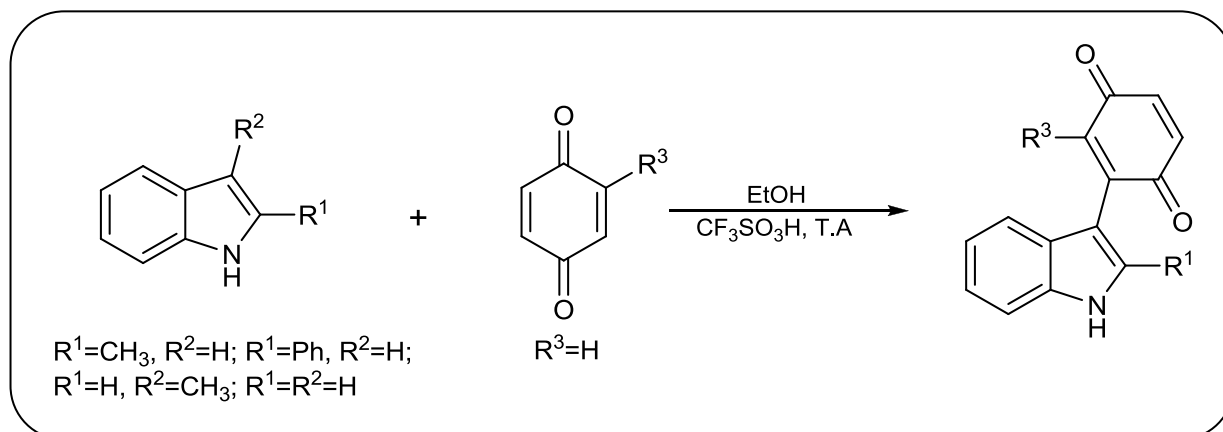


Schéma 37 : Synthèse des indol-3-ylquinones à partir du benzoquinone.

Les résultats obtenus sont interprétés dans le paragraphe qui suit.

A/ Réaction du benzoquinone avec le 2-méthylindole

Cette réaction a été effectuée avec un rapport molaire 1 : 1 (benzoquinone/indole). Nous avons obtenu un mélange de deux produits en présence du 2-méthylindole. Le spectre de masse nous a permis d'identifier ces produits mono et di substitués de type **hydroquinone** ($M+H=240$, $M+H=369$) qui sont présentés dans la figure ci-dessous :

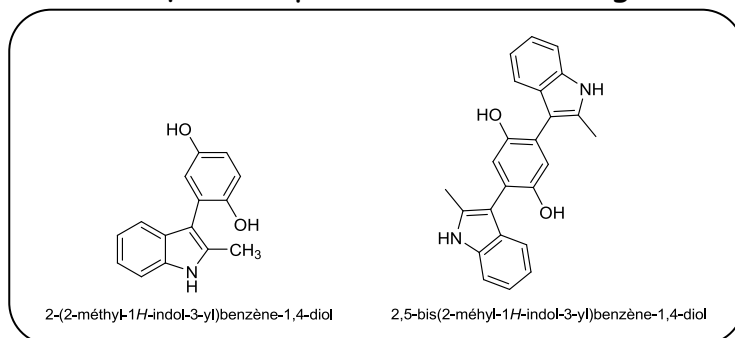


Figure II-10 : Produits obtenus de la réaction entre le benzoquinone et le 2-méthylindole.

Les quinones sont caractérisées par un potentiel rédox qui traduit leur aptitude à être réduites en hydroquinones correspondantes d'où les résultats obtenus. Il est important de remarquer que la stoechiométrie de la quinone de départ et de l'agent nucléophile peut orienter la réaction vers l'obtention de la quinone ou de l'hydroquinone intermédiaire. Par exemple, lorsque la réaction a lieu dans un rapport molaire 1:1 (quinone/nucléophile), seule l'hydroquinone mono-alkylée est obtenue. Par contre, lorsque deux équivalents de quinone sont engagés, le produit obtenu est la quinone monoalkylée, le second équivalent ayant agi comme oxydant.

À partir du spectre RMN ^1H , nous avons constaté que le taux de conversion de cette réaction est faible. Pour un rapport molaire 1 :1 nous avons obtenu 48% de produit mono-substitué, 6% de produit di-substitué et 46% de 2-méthylindole. Sachant que la molécule monosubstituée est déjà connue en littérature, nous avons voulu augmenter le taux de conversion de cette réaction de telle façon à obtenir la molécule di-

substituée en grande quantité. Pour cela, nous sommes passés d'un rapport molaire 1 : 1 jusqu'à 1 :3.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Rapport molaire Benzoquinone/indole	Indole (%)	Molécule monosubstituée (%)	Molécule di substituée (%)
1 : 1	46	48	6
1 : 2	63	35	2
1 : 3	64	34	2

Tableau II-3 : Taux de conversion obtenus en fonction du changement du rapport molaire des réactifs de départ.

On n'observe pas d'augmentation significative du pourcentage en molécule di-substituée comparativement à celui obtenu lors de la réaction prise dans un rapport équimolaire en réactifs de départ. Il est plus facile de synthétiser une molécule monosubstituée qu'une molécule di-substituée, de plus, le pourcentage de transformation de l'indole reste faible d'où l'impossibilité d'obtenir le produit voulu. Nous n'avons pas pu récupérer le produit di-substituée à cause de sa faible concentration dans le mélange.

B/ Réaction du benzoquinone avec le 2-phénylindole

Pour cette deuxième réaction, le spectre RMN ^1H obtenu était très complexe. Nous nous sommes orienté vers les résultats du spectre de masse, de la même façon, nous avons obtenu deux produits, l'un monosubstitué et l'autre di-substitué ($M+H= 302$, $M'+H= 493$) en présence de l'indole de départ ($M+H= 194$) (figure II-11).

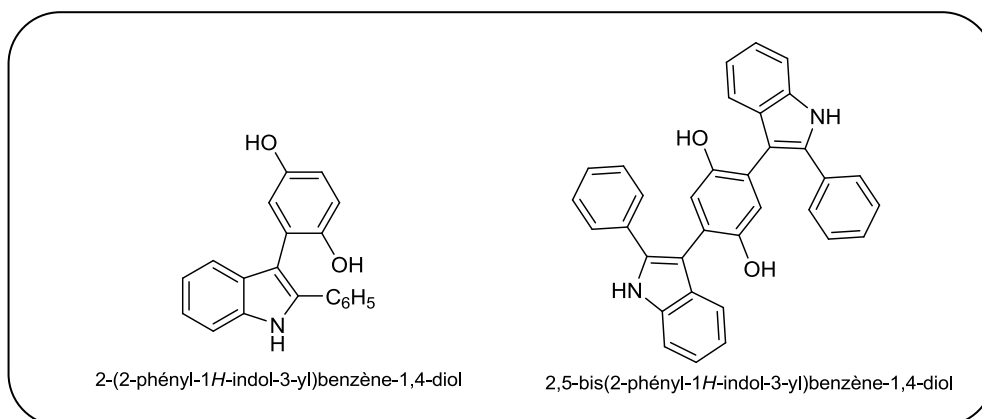


Figure II-11 : Produits obtenus de la réaction entre le benzoquinone et le 2-phénylindole.

En se basant sur le spectre RMN ^1H du mélange, par calcul, nous obtenons 42% du produit monosubstitué, 3% du produit di-substitué et 55% de phénylindole. Nous n'avons pas pu améliorer le taux de conversion de cette réaction aussi !

C/ Réaction du benzoquinone avec le 3-méthylindole

Toujours dans cette même partie, une 3^{ème} réaction a été réalisée en mélangeant la quinone avec du 3-méthylindole en présence d'éthanol et d'acide triflique. À partir du spectre de masse, nous avons constaté la présence de deux produits mono et di-substitué ($M+H=240$, $M'+H=369$) schématisés ci-dessous ainsi que celle de l'indole ($M+H=132$).

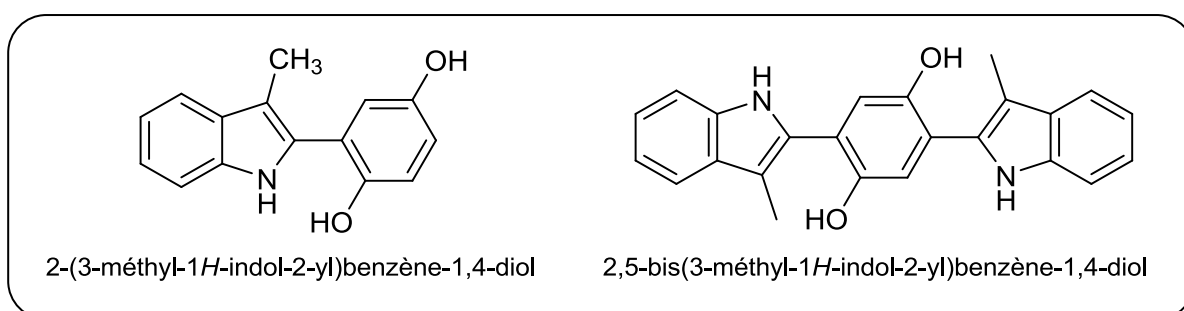


Figure II-12 : Produits obtenus de la réaction entre le benzoquinone et le 3-méthylindole.

Il nous a été difficile de procéder à la séparation de ces produits sachant que le taux de conversion de cette réaction était faible aussi.

D/ Réaction du benzoquinone avec l'indole

Pour cette réaction, nous observons sur le spectre RMN ^1H la présence d'un produit sous forme de traces en plus de l'indole présente en très forte concentration. En effet, le spectre de masse confirme ce résultat puisqu'on remarque la présence de la molécule monosubstituée ($M+\text{Na} = 248$) di-substituée ($M+\text{Na} = 363$) et d'autres molécules dont les masses n'ont pu être identifiées (figure II-13).

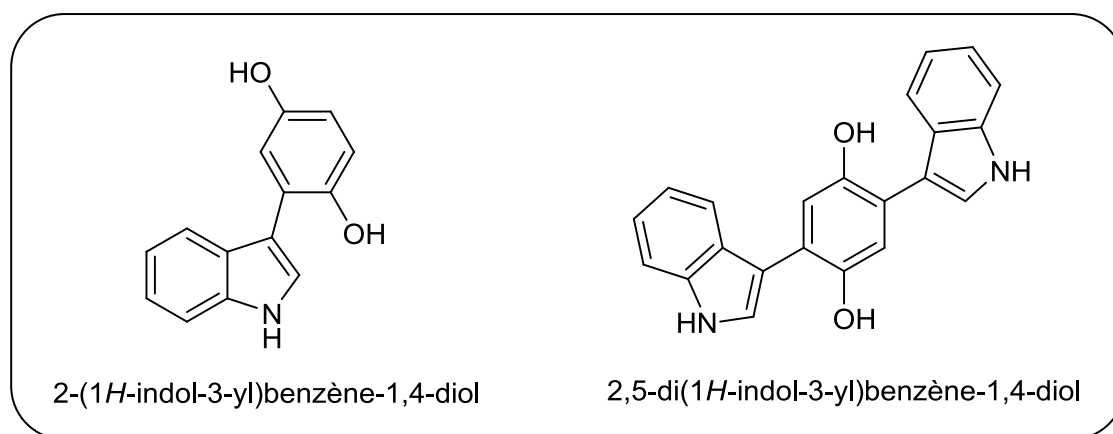


Figure II-13 : Produits obtenus de la réaction entre le benzoquinone et l'indole.

Notre but dans cette partie était d'améliorer le taux de conversion de ces réactions avant de procéder à la séparation des produits sur colonne chromatographique. Le changement du rapport molaire des réactifs de départ n'a pas permis l'obtention de produits en très grande concentration. Le changement des conditions opératoires est souhaitable dans ce cas afin d'obtenir des produits qui peuvent être isolés.

2.6.4 RÉACTIONS EN PRÉSENCE DU MÉTHYL-*p*-BENZOQUINONE

Dans cette dernière partie, nous avons procédé à des réactions en présence du méthyl-*p*-benzoquinone avec les dérivés d'indoles. Ces réactions sont présentées comme suit :

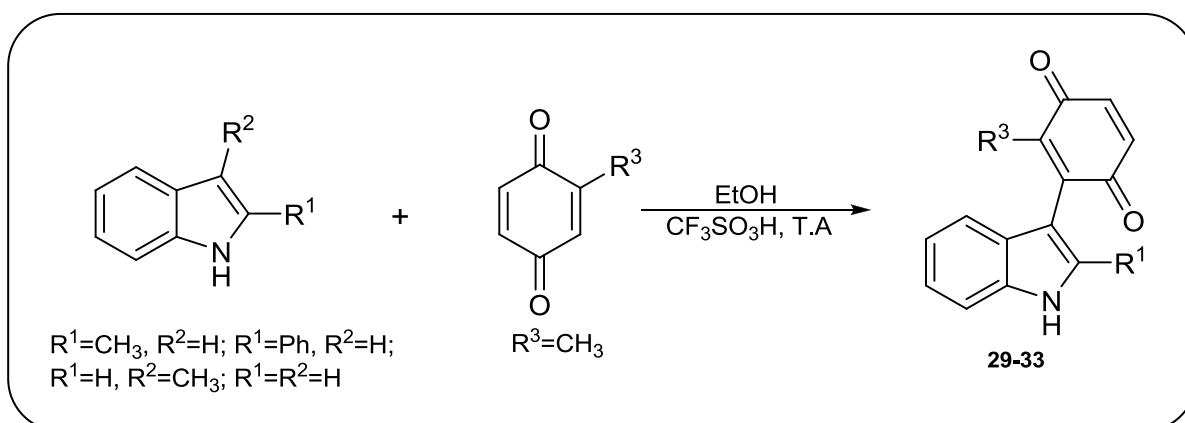


Schéma 38 : Synthèse des indol-3-ylquinones (29-33) à partir du méthyl-*p*-benzoquinone.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau II-4 et sont commentés ci-dessous.

Produit	R ¹	R ²	R ³	Rdt(%)
29-30	CH ₃	/	H	50-50
31-32	Ph	/	H	71-29
33	/	CH ₃	H	79

Tableau II-4 : Rendements des produits obtenus des réactions entre le méthyl-*p*-benzoquinone et les indoles.

A/ Réaction du méthyl-*p*-benzoquinone avec le 2-méthylindole

Pour cette première réaction, nous avons obtenu un mélange de deux produits en quantité équimolaires (50/50) résultant d'une attaque en position méta et para présentés ci-dessous :

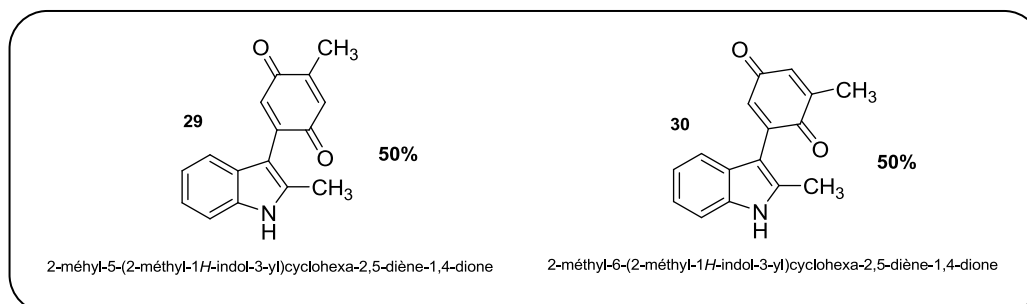


Figure II-14 : Produits obtenus de la réaction entre le méthyl-*p*-benzoquinone et le 2-méthylindole.

La séparation sur colonne chromatographique a permis d'obtenir une fraction contenant le mélange des deux produits. Par analyse RMN (RMN¹H, RMN¹³C, COSY 2D, HMBC, HSQC) nous avons pu identifier les deux produits sans procéder à leur séparation.

B/ Réaction du méthyl-*p*-benzoquinone avec le 2-phénylindole

Pour cette deuxième réaction, la quinone est mélangée avec le 2-phénylindole. De la même façon, nous obtenons deux produits, l'un est majoritaire par rapport à l'autre. Les produits sont représentés sur la figure II-15, suivante :

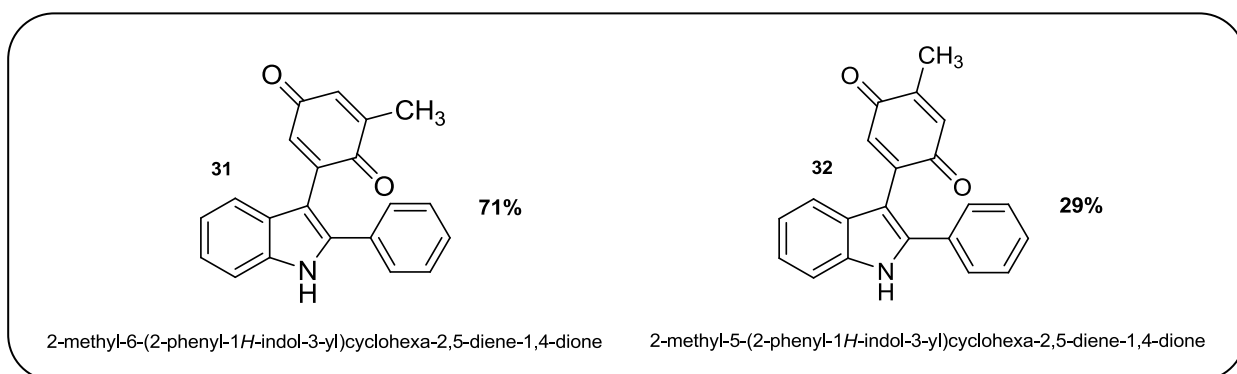


Figure II-15 : Produits de la réaction entre le méthyl-*p*-benzoquinone et le 2-phénylindole.

C/ Réaction du méthyl-*p*-benzoquinone avec le 3-méthylindole

Concernant cette troisième réaction, nous avons utilisé la méthyl-*p*-benzoquinone avec la 3-méthylindole. Après une séparation sur colonne, nous avons pu identifier un produit majoritaire présenté dans la figure ci-dessous (figure II-16) :

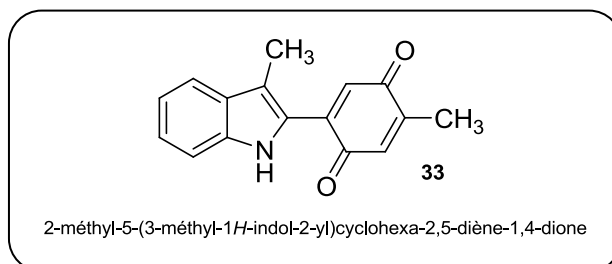


Figure II-16 : Produit obtenu de la réaction entre le méthyl-*p*-benzoquinone et le 3-méthylindole.

Nous avons remarqué sur le spectre RMN ^{13}C , que tous les pics étaient dédoublés et que la présence d'un deuxième produit très minoritaire était visible. Nous avons supposé que cette deuxième molécule avait probablement une forme instable due à l'encombrement stérique généré par les deux méthyles (figure II-17), nous n'avons pas pu le prouver à cause de la faible concentration de cette dernière.

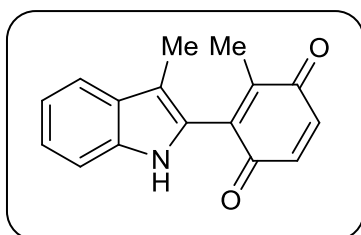


Figure II-17 : Molécule instable supposée être un produit de la réaction entre le *p*-méthylbenzoquinone et le 3-méthylindole.

D/ Réaction du méthyl-*p*-benzoquinone avec l'indole

Pour cette dernière réaction, la CCM nous a montré la présence de plusieurs nouvelles taches, la séparation sur colonne n'était pas possible à cause de la présence de plusieurs fractions colorées. Le spectre de masse a montré la présence de plusieurs produits que nous n'avons pas pu identifier !

2.7 CONCLUSION

Dans cette partie du travail, nous avons eu accès à des produits de type « indolylquinone » en une seule étape, avec de bons rendements et en utilisant une méthode simple économique et surtout peu polluante pour l'environnement.

2.8 Matériel et méthodes

Spectres RMN ^1H ont été enregistrés à 400 MHz, à l'aide d'un appareil Bruker Avance III 400. Les produits ont été analysés dans le chloroforme deutéré (CDCl_3), le diméthylsulfoxyde (DMSO) avec comme référence interne le tétraméthylsilane (TMS). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm et les constantes de couplage J en Hz. Les signaux sont désignés par les abréviations suivantes : s, singulet ; d, doublet ; t, triplet ; q, quadruplet ; m, massif ; m, multiplet.

Spectres RMN ^{13}C ont été enregistrés à 125 MHz avec découplage 1H en large bande à l'aide d'un appareil Bruker Avance III 500. Les produits ont été analysés dans le chloroforme deutéré (CDCl_3), le diméthylsulfoxyde (DMSO) avec comme référence interne le tétraméthylsilane (TMS). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm.

Spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés sur un spectrophotomètre spectrum one Perkin Elmer équipé d'un accessoire ATR. Les bandes d'absorption sont enregistrées en cm^{-1} . Seuls les pics caractéristiques sont listés.

Analyses GC/MS ont été effectuées sur un appareil QTOF micro (waters) avec une ionisation par electrospray positif (ESI) et sur un appareil GC/MS/MS saturn 2000 VARIAN. Les principaux pics (m/z) obtenus en impact à 70 eV sont exprimés en pourcentage.

Chromatographies flash sur colonne ont été effectuées en préparant la colonne par tassement d'une suspension de gel de silice Merck 60 (40-63 μm) sous pression modérée.

Chromatographies sur couche mince ont été effectuées sur des plaques de silice Merck 60 F₂₅₄.

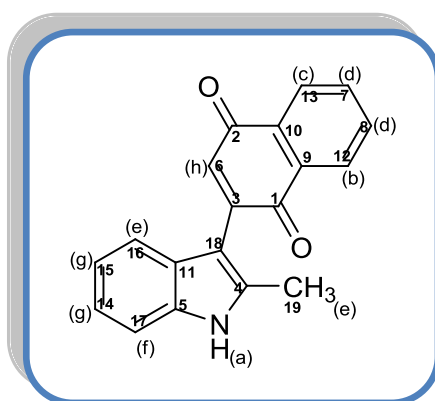
Irradiations micro-ondes ont été effectuées dans un micro-onde domestique d'une puissance maximale de 400 W.

Distillations ont été effectuées au moyen d'un four de distillation « boule à boule » Kugelrohr Buchi Oven B 580.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

▪ Synthèse du 2-(2-méthyl-3-indolyl)-1,4-naphtoquinone

Dans un erlenmeyer de 100 mL sont introduits le 1,4-naphtoquinone (632 mg ; 4 mmol), le 2-méthylindole (525 mg, 4 mmol), 15 mL d'éthanol (96%) et 2 gouttes d'acide triflique ($\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$). Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante durant 15 minutes. Un solide violet est récupéré après filtration. La recristallisation est faite dans l'éthanol (96%).



Formule chimique : $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{NO}_2$

Masse molaire : 287,31

Rdt : 51%

P.F : 183-184°C

IR ν : 3354, 1617, 1667, 1634, 1565, 1296, 1253, 713 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3 , δ ppm) : $\delta = 8,36$ (s, 1H, NH), $\delta = 8,22-8,17$ (m, 1H, H_b), $\delta = 8,18-8,13$ (m, 1H, H_c), $\delta = 7,81-7,74$ (m, 2H, H_d), $\delta = 7,54$ (d, $J=7,6$ Hz, 1H, H_e), $\delta = 7,34$ (d, $J=6,8$ Hz, 1H, H_f), $\delta = 7,22-7,12$ (m, 2H, H_g), $\delta = 7,10$ (s, 1H, H_h), $\delta = 2,48$ (s, 3H, Me).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , δ ppm) : $\delta = 185,3$ (C1), 184,6 (C2), 144,4 (C3), 136,9 (C4), 135,5 (C5), 134,8 (C6), 133,7 (C7), 133,5 (C8), 132,8 (C9), 132,3 (C10), 127,7 (C11), 127,0 (C12), 125,9 (C13), 122,3 (C14), 120,9 (C15), 119,3 (C16), 110,6 (C17), 107,4 (C18), 14,0 (C19).

Masse exacte (ESI-TOF) : calculée pour $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{NO}_2$ [M+1] : 288,1025, trouvée: 288,1018.

Fragments MS/MS : 270,04, 242,05.

Chapitre 3

Essais biologiques

3 INTRODUCTION

Dans ce chapitre, nous procéderons à des essais biologiques sur nos produits synthétisés résultant de la première et de la deuxième partie de notre travail.

Deux types de molécules seront testés dans cette partie, il s'agit de molécules de type « dioxines » et « indolylquinones ».

En effet, ces molécules sont connues en littérature pour leurs propriétés biologiques anti-tumorale et inhibitrice du VIH d'où l'intérêt d'étudier leurs effets et les tester sur différentes cellules cancéreuses.

3.1 Définition et propriétés des antineoplastiques (ou anticancéreux)

Les agents antinéoplasiques représentent des médicaments utilisés en chimiothérapie cytotoxique permettant d'inhiber la prolifération des cellules tumorales.

La structure de base de ces antinéoplasiques est la « 2-phénylnaphtalène ». Une hypothèse faite sur une étude effectuée sur ces composés naturels et synthétiques, a montré la présence d'une activité antiproliférative due probablement à la présence d'une structure chimique tricyclique dans ces composés. Cette structure est constituée d'un phényle attaché en position 2 à un noyau naphtalène ou à une série de noyaux hétérocycliques ^[1,2]. Cependant, cette structure n'était pas assez adéquate pour atteindre l'activité anticancéreuse souhaitée.

Par ailleurs, la structure « **quinone** » pourrait également être à l'origine de cette activité anticancéreuse ; par conséquent, la fonction quinone est apparue dans de nombreux médicaments utilisés en chimiothérapie ciblant l'ADN.

¹ L. He, H. Chang, T. Chou, N. Savaraj, C. C. Cheng, *Eur. J. Med. Chem*, **2003**, 38, 101-107.

² E. Martinez, L. Martinez, J. C. Estévez, R. J. Estévez, L. Castedo. *Tetrahedron Lett*, **1998**, 39, 2175-2176.

Comme exemple, la Doxorubicine (figure III-1), la Mitoxantrone et la Mitomycine C, représentent une classe de médicaments utilisés dans le traitement de plusieurs formes de leucémie et de lymphomes [3,4].

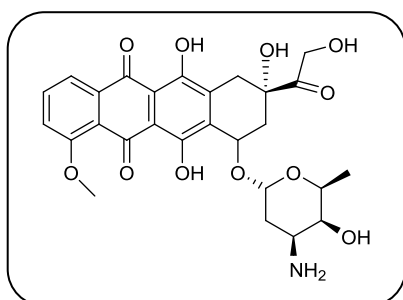


Figure III-1 : Structure de la doxorubicine.

L'importance de cette classe d'agents anti-tumoraux a suscité de nombreuses études visant au développement de nouveaux agents ayant une structure quinonique et un potentiel pouvant réduire la toxicité.

3.2 Mode d'action et propriétés pharmacologiques des agents anticancéreux cytotoxiques

La chimiothérapie anticancéreuse est née dans les années 1940 aux États-Unis. La classification des agents anticancéreux est basée sur leur mécanisme d'action sur le cycle cellulaire et leur appartenance à des familles chimiques.

Les agents anticancéreux actuellement utilisés sont reconnus pour leurs effets interférant avec l'ADN. Ils peuvent être des agents : alkylants, intercalants, inhibiteurs des topoisomérases, ou des antimétabolites [5,6,7].

³ I. Gomez-Monterrey, P. Campiglia, T. Lama, P. La Colla, M.V. Diurno, P. Grieco, E. Novellino, *ARKIVOC*, **2004**, 5, 85-96.

⁴ H.C.M. Yau, H.L.Chan, M. Yang, *Biosensors and Bioelectronics*, **2003**, 18, 873-879.

⁵ S. Faure, *actualités pharmaceutiques*, n° 497, 2010, 51-54.

⁶ K. Alarcon, M. Demeunynck, J. Lhomme, D. Carrez, A. Croisy, *Bioorg. Med.Chem*, **2001**, 9, 1901-1910.

⁷ M. Andaloussi, E. Moreau, N. Masurier, J. Lacroix, R. C. Gaudreault, J. Chezal, A. El Laghdach, D. Canitrot, E. Debiton, J. Teulade, O. Chavignon. *Europ. J. Med. Chem*, **2008**, 43, 2505-2517.

Les composés constitués d'un chromophore ayant une structure plane formé de deux à quatre cycles aromatiques agissent comme agents intercalants ce qui provoque un blocage de l'enzyme durant le processus de réplication.

La structure tétra-cyclique constituée d'un noyau benzène attaché en position 2 à un naphthalène a été observée dans ce genre de composés, en effet, le composé le plus connu est la 2-phénylnaphtalène.

Par exemple, l'alcaloïde penta-cyclique appelé 'la camptothécine' est un puissant anti-tumoral utilisé contre de nombreux types de cancers. L'éllipticine est un alcaloïde végétal utilisé dans les médicaments anticancéreux, le dernier composé est très actif contre les cellules leucémiques humaines (HL-60) et le cancer du poumon ^[13]. (Figure III-2).

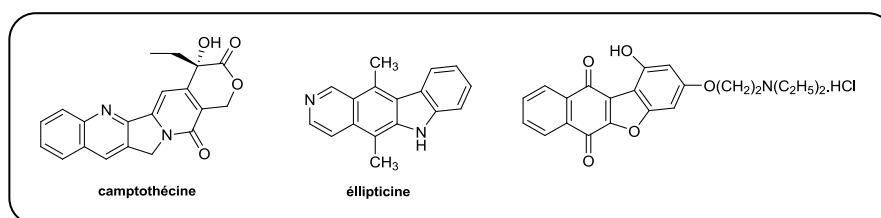


Figure III-2 : Agents anticancéreux ayant la structure du 2-phénylnaphtalène.

3.3 Agents alkylants

Les alkylants possèdent un ou plusieurs groupements alkyles ou alcoyles très nucléophiles pouvant réagir avec les bases azotées de l'ADN. En établissant des liaisons covalentes avec certaines bases de l'ADN, ils créent des ponts intra- ou inter-caténares, ce qui inhibe sa transcription et sa réplication, entraînant des lésions cellulaires létales. Par ailleurs, ils sont responsables de la libération de radicaux libres entraînant des cassures de la chaîne d'ADN.

En effet, ils peuvent se lier à l'ADN, à l'acide ribonucléique (ARN) ou aux protéines. Les sels de platine (cisplatine, carboplatine, oxaliplatine) sont des intermédiaires électrophiles fonctionnant comme des alkylants.

¹³ H. Rhee, H. J. Park, S. K. Lee, C. Leeb, H. P. Choo, *Bioorg. Med. Chem.* 2007, 15, 1651-1658.

3.4 Agents intercalants

Les agents intercalants (anthracyclines comme l'idarubicine), dont la plupart sont des antibiotiques, sont des molécules caractérisées par plusieurs noyaux aromatiques condensés, de dimension et structure telles qu'elles provoquent une détorsion de la molécule d'ADN, ce qui empêche la progression des ARN et ADN polymérasés et inhibe donc la réplication et la transcription. Mais ces molécules induisent également la génération de radicaux libres et une liaison non dissociable aux ADN topoisomérases II, et donc des cassures mono- et bicaténaires.

3.5 Inhibiteurs des topoisomérases

Les topoisomérases sont des enzymes intervenant dans la réplication, la transcription et la réparation de l'ADN en réalisant des coupures mono ou double brin permettant l'accessibilité des enzymes, puis la relégation.

Les inhibiteurs des topoisomérases I (irinotécan, topotécan) et II (étoposide) stabilisent le complexe topoisomérase-ADN et ainsi inhibent la religation. Ils interfèrent non seulement dans l'élaboration de la molécule d'ADN, mais aussi avec la tubuline.

3.6 Antimétabolites

Les antimétabolites sont des molécules qui inhibent la synthèse des acides nucléiques, première étape nécessaire à toute multiplication cellulaire, en inhibant les enzymes clés ou en jouant le rôle de substrat piège.

3.7 Activités anticancéreuses de molécules connues en littérature

3.7.1 Les travaux de X. Li *et al*

Les composés indolyquinones sont connus essentiellement pour leurs propriétés biologiques bien distinctes qui sont : l'activité antidiabétique, l'activité antivirale et l'activité anticancéreuse ^[8].

Dans les travaux de X. Li, une série de nouvelles molécules « indolyquinones » a été synthétisée par le traitement d'halogéno-quinone avec des dérivés d'indoles substituées en position 2 et en présence de carbonate de potassium, de TEBA (chlorure de triéthylbenzylammonium) et d'acétonitrile à température ambiante. Des molécules mono et bis-indolyquinones sont obtenues avec des rendements compris entre 30-70% ^[9] (Figure III-3).

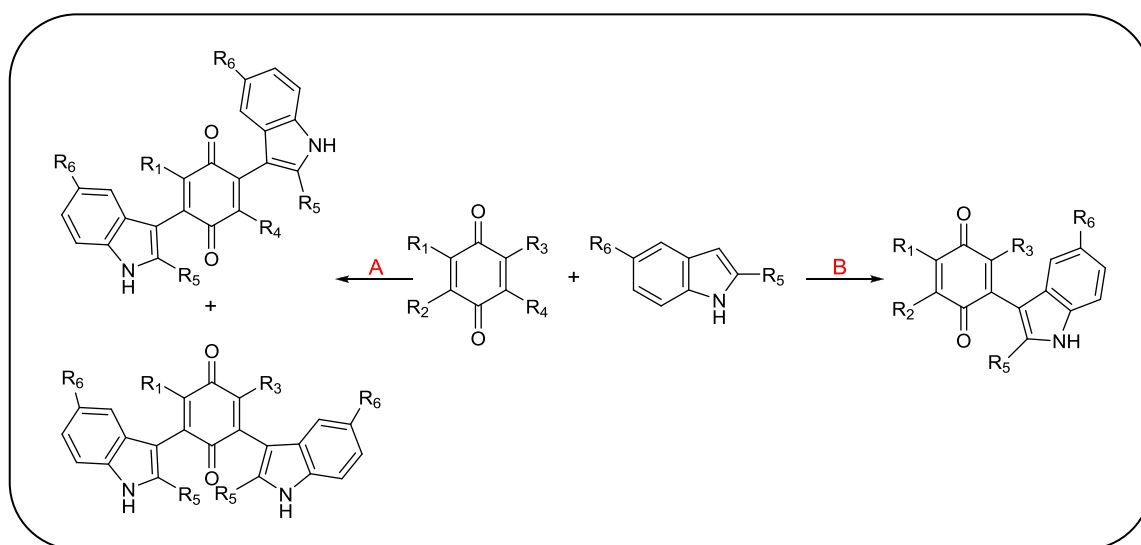


Figure III-3 : Synthèses des molécules mono et bis-indolyquinones ; conditions opératoires : (A) K₂CO₃, TEBA, CH₃CN, T.A, 1 :2,1, 24h ; (B) K₂CO₃, TEBA, CH₃CN, T.A, 1 :2,1, 6h.

⁸ P. Schneider, M. Weber, K. Rosenberger, D. Hoffmeister, *Chem. Biol*, 2007, 14, 635-644.

⁹ X. Li, S. Zheng, X. Li, J. Li, O. Qiang, R. Liu, L. He, *Europ. J. Med. Chem*, 2012, 54, 42-48.

L'activité antiproliférative de ces composés a été évaluée par rapport à deux types de cellules humaines tumorales référencées : MDA-MB-231 et MCF-7 qui représentent des cellules tumorales mammaires.

Il a été prouvé que l'activité *'in-vitro'* anticancéreuse des bis-indolylquinones est plus importante que celle des mono-indolylquinones et que généralement les dérivés chlorés d'indolylquinones possèdent une meilleure activité anticancéreuse par rapport aux dérivés bromés d'indolylquinones.

La relation entre la structure et l'activité anti-tumorale des indolylquinones a déjà été étudiée dans le cas des astérriquinones, puisque les dérivés de l'hydroxyle benzoquinone ont une meilleure activité anticancéreuse comparés aux dérivés du méthyle benzoquinone.

3.7.2 Les travaux de S. Maruo *et al*

La vitamine K₃ (ménadione ou 2-méthyl-1,4-naphtoquinone) est connue pour son activité inhibitrice de l'ADN polymérase mitochondriale. Par définition, l'ADN polymérase mitochondriale constitue un complexe enzymatique intervenant dans la réplication de l'ADN au cours du cycle cellulaire, mais aussi dans des processus de réparation et de recombinaison de L'ADN ^[10]. Dans ce travail, les recherches de S. Maruo ^[11] sont basées sur la molécule de la juglone (5-hydroxy-1,4-naphtoquinone) et ses dérivées obtenues par la réaction de la juglone avec différents acides gras (de 2 jusqu'à 22 carbones).

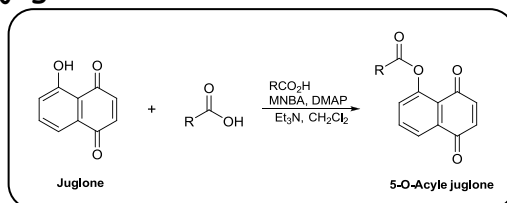


Figure III-4 : Synthèse de la 5-O-Acyle juglone ; conditions opératoires : MNBA (2-méthyl-6-anhydride nitrobenzoïque), DMAP (N,N-diméthyl-4-aminopyridine, Et₃N (anhydride acétique), CH₂Cl₂ (dichlorométhane).

¹⁰ http://fr.wikipedia.org/wiki/ADN_polymerase.

¹¹ S. Maruo, I. Kuriyama, K. Kuramochi, K. Tsubaki, H. Yoshida, Y. Mizushima, *Bioorg. Med. Chem*, 2011, 19, 5803-5812.

La juglone chimiquement modifiée (5-O-Acyle juglone) a présenté une activité anti-tumorale très intéressante. Dans le cas de l'acide oléique ($C_{18}H_{34}O_2$), la juglone conjuguée obtenue a montré la plus forte inhibition de la réplication de l'ADN ainsi que l'inhibition de la croissance de cellules cancéreuses humaines du type HCT116 (cancer du colon).

3.7.3 Les travaux de J.A. Valderrama *et al*

Concernant la recherche d'agents anticancéreux, J. A. Valderrama ^[12] a synthétisé de nouvelles molécules du type amino-quinone, ayant comme structure de base celle de l'isoquinolinequinone.

Ce choix est justifié par le fait que les molécules naturelles portant cette même structure telles que la cribrostatine 3, la caulibugulone A, et la mansouramycine C, possèdent une activité anticancéreuse (figure III-5).

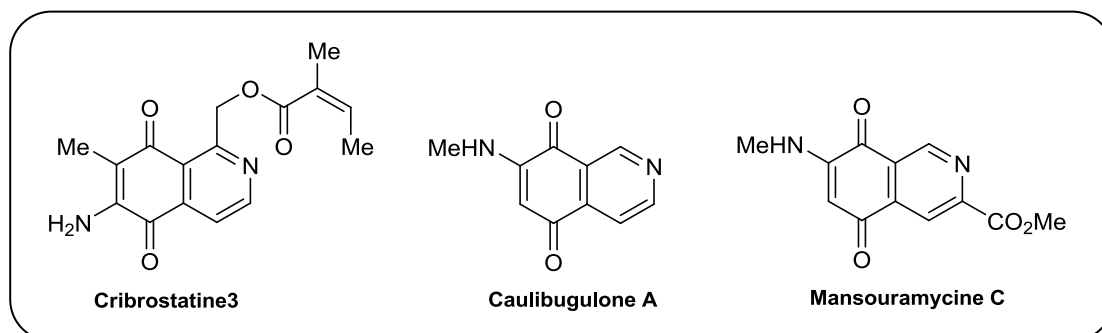


Figure III-5 : Molécules naturelles contenant la structure de l'isoquinolinequinone.

L'activité anti-tumorale des nouveaux produits synthétisés a été évaluée *in vitro*, par une méthode colorimétrique par rapport à trois cellules cancéreuses humaines qui sont celles du cancer du poumon, de l'estomac et de la vessie.

¹² J. A. Valderrama, A. Ibacache, J. A. Rodriguez, C. Theoduloz, J. Benites. *Europ. J. Med. Chem*, 2011, 46, 3398-3409.

Les résultats indiquent que l'emplacement de l'azote sur le noyau quinone et la présence des groupements méthyle, phényle, furyle et thiényl en position 6 dans la molécule du phénanthridine-7,10-quinones jouent un rôle très important dans l'augmentation du potentiel cytotoxique de ces molécules (figure III-6).

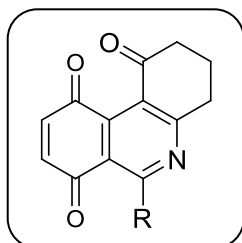


Figure III-6 : la phénanthridine-7,10-quinone

3.7.4 Les travaux de C.C Cheng *et al*

Dans cette étude, Cheng ^[13,14] et ses collaborateurs ont testé l'activité antiproliférative des molécules du type [2,3]furan-4,9-dione (benzofurano-naphtoquinones) obtenues par la réaction entre les dérivés du phénol et le 2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone ; sur des cellules humaines de leucémie (HL-60) et de cancer de la langue (SCLC).

Nous prenons l'exemple des molécules **3**, **5** et **6** existantes en littérature (voir le chapitre 1) qui ont été testées dans les travaux de Cheng. Les composés **3** et **5** ont montré une bonne activité antiproliférative, justifiée par la présence du groupement hydroxyle sur le cycle aromatique.

3.8 RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les différentes recherches menées dans notre travail nous ont permis d'obtenir de nouvelles molécules de type « benzodioxines naphtoquinones » et « indolyquinones ».

¹³ C. C. Cheng, Q. Dong, D. Liu, Y. Luo, L. F. Liu, A. Y. Chen, C. Yu, N. Savaraj, T. Chou. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 4108-4112.

¹⁴ H. Chang, T. Chou, N. Savaraj, L. Liu, C. Yu, C. C. Cheng, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 405-408.

Dans la littérature, ces molécules sont connues pour leur activité biologique, ce qui nous a conduits à vouloir faire des tests sur nos molécules synthétisées (collaboration avec l'université de Paris XIII).

3.8.1 Tests de prolifération cellulaires

Sept nouvelles molécules ont été testées sur des lignées de cellules cancéreuses humaines et animales référencées comme suit : MDA-MB-231 (cancer du sein), A431 (cancer de la peau 'carcinome épidermoïde'), B16F10 (cellules animales du cancer de la peau 'mélanome') et U87-MG (cancer du cerveau).

L'activité antiproliférative effectuée sur les nouveaux composés a été évaluée à l'aide du test MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium) qui représente une méthode rapide de numération des cellules vivantes, dans lequel le sel de tétrazolium MTT est réduit en formazan par la succinate déshydrogénase mitochondriale (figure III-7).

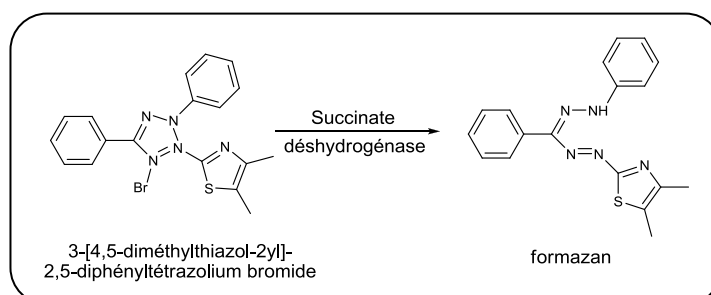


Figure III-7 : Oxydation du sel MTT par la succinate déshydrogénase.

L'activité antiproliférative à été mesurée aussi en déterminant la concentration efficace médiane 'CE₅₀' qui représente la concentration qui induit la moitié de l'effet maximal. Le tableau III-1 ci-dessous regroupe les valeurs de CE₅₀ pour les différents composés testés.

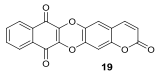
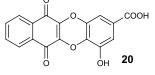
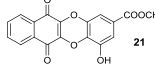
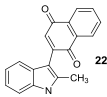
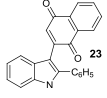
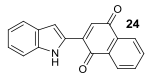
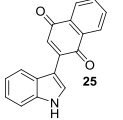
Composés	CE ₅₀			
	MDA-MB-231	A431	B16F10	U87-MG
	100 µMol	100 µMol	10 µMol	10 µMol
	100 µMol	100 µMol	100 µMol	100 µMol
	10 µMol	10 µMol	1 µMol	10 µMol
	10 µMol	10 µMol	1 µMol	10 µMol
	10 µMol	10 µMol	1 µMol	10 µMol
	100 µMol	10 µMol	100 nMol	10 µMol
	10 µMol	10 µMol	1 µMol	10 µMol

Tableau III-1 : Valeurs de CE₅₀ pour les différents composés testés.

L'interprétation des résultats repose sur la structure des produits synthétisés. En effet, les synthèses présentées dans le chapitre 1 et 2 nous ont permis d'aboutir à deux types de molécules : les dioxines (19, 20 et 21) et les indolylquinones (22, 23, 24 et 25).

Pour les benzodioxines naphthoquinones, les composés 19 et 21 présentent des CE₅₀ inférieures ou égales à 10 µMol dans le cas des cellules atteintes de mélanome B16F10 et de cancer du cerveau U87-MG. Le composé 21 présente une activité plus étendue, il est plus actif sur les cellules du cancer de la peau (A431) et celui du cancer du sein (MDA-MB-231). La différence des structures nous a permis d'établir une relation entre la structure et l'activité du composé. Les résultats ont montré que la

présence d'un groupement carboxylique libre ainsi que d'un groupement hydroxyle sur le noyau phényle faisait diminuer considérablement la cytotoxicité (composé 20). En général, plus la concentration de l'inhibiteur est élevée, plus l'activité du composé correspondant sera diminuée.

Le remplacement par un groupement ester augmente de manière significative l'activité biologique du composé **19** dans le cas du cancer de la peau (B16F10) et celui du cerveau (U87-MG) et aussi celle du composé **21** pour les 4 types de cellules cancéreuses. La nature de la fonction ester est un facteur important pouvant mener à l'explication de la différence entre les activités biologiques trouvées. L'introduction de la lactone n'a pas fait augmenter l'activité biologique sur les quatre lignées cellulaires ; par contre la présence de l'ester avec un groupement hydroxyle libre sur le noyau phényle entraîne une meilleure activité biologique.

Concernant les indolylquinones, nous constatons une activité biologique élevée pour tous les composés (22, 23, 24, 25) ; selon la littérature, cela est dû essentiellement à la présence de structures aromatiques liées à d'autres cycles.

3.8.2 Étude comparative de l'effet des benzodioxines naphthoquinones sur la prolifération des différentes cellules cancéreuses utilisées

Les résultats obtenus précédemment ont été représentés sous forme d'histogrammes permettant d'étudier l'effet des benzodioxines naphthoquinones sur la prolifération des cellules cancéreuses (MDA-MD231, A431, B16F10 U87-MG et) (figure III-8). Ces dernières ont été traitées à des concentrations allant de 0,01 à 100 μMol .

Cette étude nous a permis d'aboutir aux mêmes conclusions : le composé **19** a donné la meilleure activité biologique, et le composé **21** peut être

intéressant pour une évaluation biologique *in vivo*. Les benzodioxines naphthoquinones sont très lipophiles. La présence d'un groupe hydroxyle libre devrait permettre d'augmenter l'hydrophilie et la solubilisation dans un milieu biocompatible.

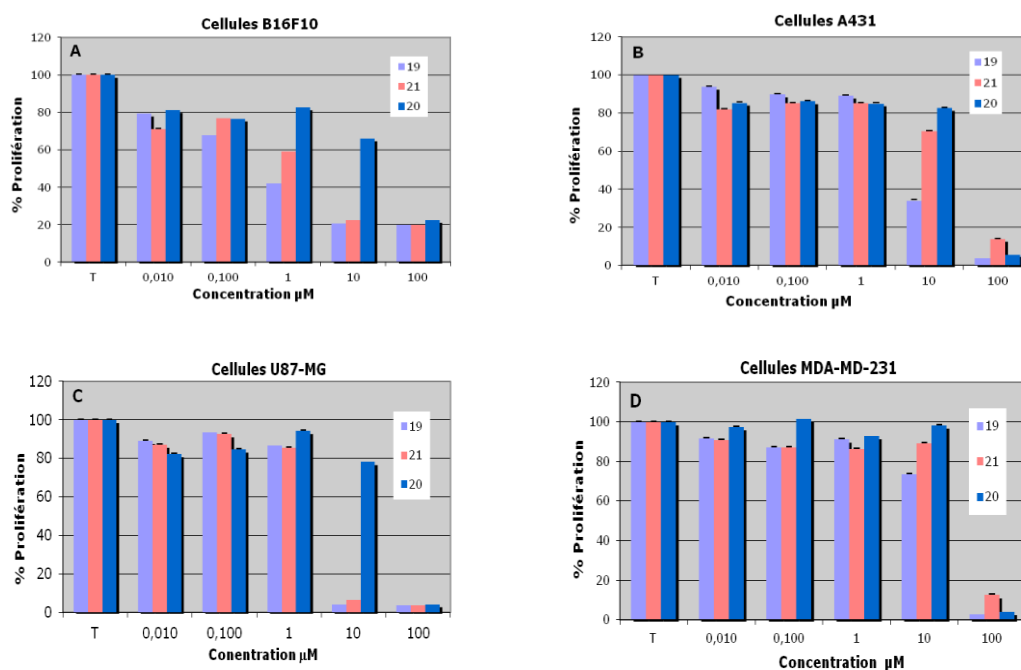


Figure III-8 : Étude comparative des benzodioxines naphthoquinones sur la prolifération des cellules B16F10 (A), A431 (B), U87-MG (C) et MDA-MD-231 (D).

3.9 CONCLUSION

Dans ce chapitre, nous avons testé l'activité biologique des composés synthétisés sur différentes cellules cancéreuses. Pour les indolylquinones, les résultats ont montré la présence d'un effet cytotoxique 'très significatif' sur les cellules tumorales qui ont été choisies, cela est conforme avec la littérature du fait qu'ils possèdent une structure cyclique très actif d'où l'effet obtenu.

Les résultats obtenus quant aux benzodioxines naphthoquinones sont très prometteurs du fait qu'ils ont montré une activité biologique sur les quatre lignées cellulaires utilisées. La cytotoxicité de ses molécules synthétisées n'a jamais été rapportée dans la littérature.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Lignées cellulaire utilisées

Les cellules A431, MDA -MB-231, B16F10, et U87-MG ont été achetées auprès de American Tissue Culture Collection (Rockville, MD, USA). Le milieu de culture cellulaire utilisé est le DMEM (Life Technologies Inc., Gaithersburg, MD, USA), complété avec 10 % de sérum cellulaire (FCS), 2 mM de L-glutamine (acide aminé), 1 mM de pyruvate de sodium, 50 U_{mL}⁻¹ de pénicilline et 50 mL⁻¹ streptomycines (produits obtenus à partir de Life Technologies Inc.), à une température de 37° C dans une atmosphère à 5 % de CO₂ humidifié.

Tests de prolifération cellulaires

La prolifération des cellules A431, MDA -MB-231, B16F10, et U87-MG, a été évaluée en utilisant un test MTT basé sur la capacité des enzymes mitochondriaux à réduire le bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium (Sigma , LO, USA) en formazan ayant l'aspect de cristaux violets . Brièvement, les cellules ont étéensemencées dans 10% de sérum FCS- DMEM à une densité de cellules de 5x10³ / puits dans des plaques de culture cellulaire à 96 puits (Falcon, Strasbourg, France) pour une adhérence cellulaire d'une durée de 24 h. Les cellules sont lavées et incubées dans du DMEM - FCS à 2% avec différentes concentrations de 2-hydroxy-4-méthoxybenzophénone (HMBP) variant de 1,5 x 10⁻⁵ Mol à 10⁻³ Mol. Après 72 heures, les cellules sont lavées avec untampon phosphate salin (PBS) et sont incubées avec 0,1 mL de MTT (2 mg mL⁻¹) pendant 4 heures. Les cellules ont été lysées dans 200 µL de DMSO et l'absorbance correspondante aux cristaux de formazan solubilisé (qui reflète le nombre de cellules viables relatives) est mesurée dans un lecteur de micro-plaque de type Labsystem à 570 nm. Le tracé des courbes de réponse des différentes concentrations nous a permis d'obtenir les valeurs de CE₅₀ en utilisant le logiciel Prism GraphPad (San Diego, CA, USA).

Chapitre 4
Tests de tannage

4 INTRODUCTION

Dans ce dernier chapitre, nous avons vu que les molécules synthétisées n'ont pu avoir un intérêt certain dans le processus du tannage ; cependant, nous avons jugé utile de rapporter les résultats obtenus dans ce cadre. Nous rappelons que cette études a pour but de tester le pouvoir de fixation de nos produits sur le collagène ainsi que d'étudier l'indice de rétraction des peaux imprégnés afin d'obtenir un produit fini de bonne qualité. Cette partie a été réalisée au sein de l'unité de production du cuir (tannerie-mégisserie) TAMEG située dans la zone industrielle de Rouiba (Alger). Cette unité est spécialisée dans la transformation des peaux brutes ovines ou caprines en cuir.

4.1 Tannage

Le tannage est une opération qui a pour but de transformer une peau animale en cuir, c'est-à-dire transformer une matière putrescible en une matière non putrescible, en bloquant l'action des microorganismes qui s'attaquent aux fibres du collagène.

Il existe un certain nombre de matières tannantes qui réagissent avec la peau pour la transformer en cuir, par exemple ^[1,2] :

- Substances d'origine végétale (tanins végétaux) ;
- Substances minérales (sels de chrome, d'aluminium, de zirconium, etc.) ;
- Substances organiques autres que les tanins (tanins synthétiques ; composés organiques : formol, quinone, etc.).

Le choix de l'agent tannant est fait suivant le cuir que l'on souhaite obtenir, par exemple, le tannage végétal est conseillé pour faire du cuir à semelle ; le tannage au formol et aux tannins synthétiques sont préconisés afin d'obtenir un cuir blanc.

¹ K. Bienkiewicz, *Physical Chemistry of Leathermaking*, Krieger Publishing Co., Malabar, FL, 1983.

² T. C. Thorstensen, *Practical Leather Technology*, 4th Ed., Krieger Publishing Co., Malabar, FL, 1993.

4.2 Les différentes étapes de traitement de la peau avant le tannage (atelier de rivière)

On ne peut considérer comme matière que 28% de la composition totale d'une peau salée ; car après avoir débarrassé le derme de l'hypoderme et de toutes les productions kératiniques, il en résulte du travail de rivière une substance blanchâtre faisant office de support sur lequel se poursuivra le reste des processus de transformations.

Au final ; la transformation des peaux en cuir est réalisée grâce à différentes opérations de traitement présentées ci-dessous [3,4] :

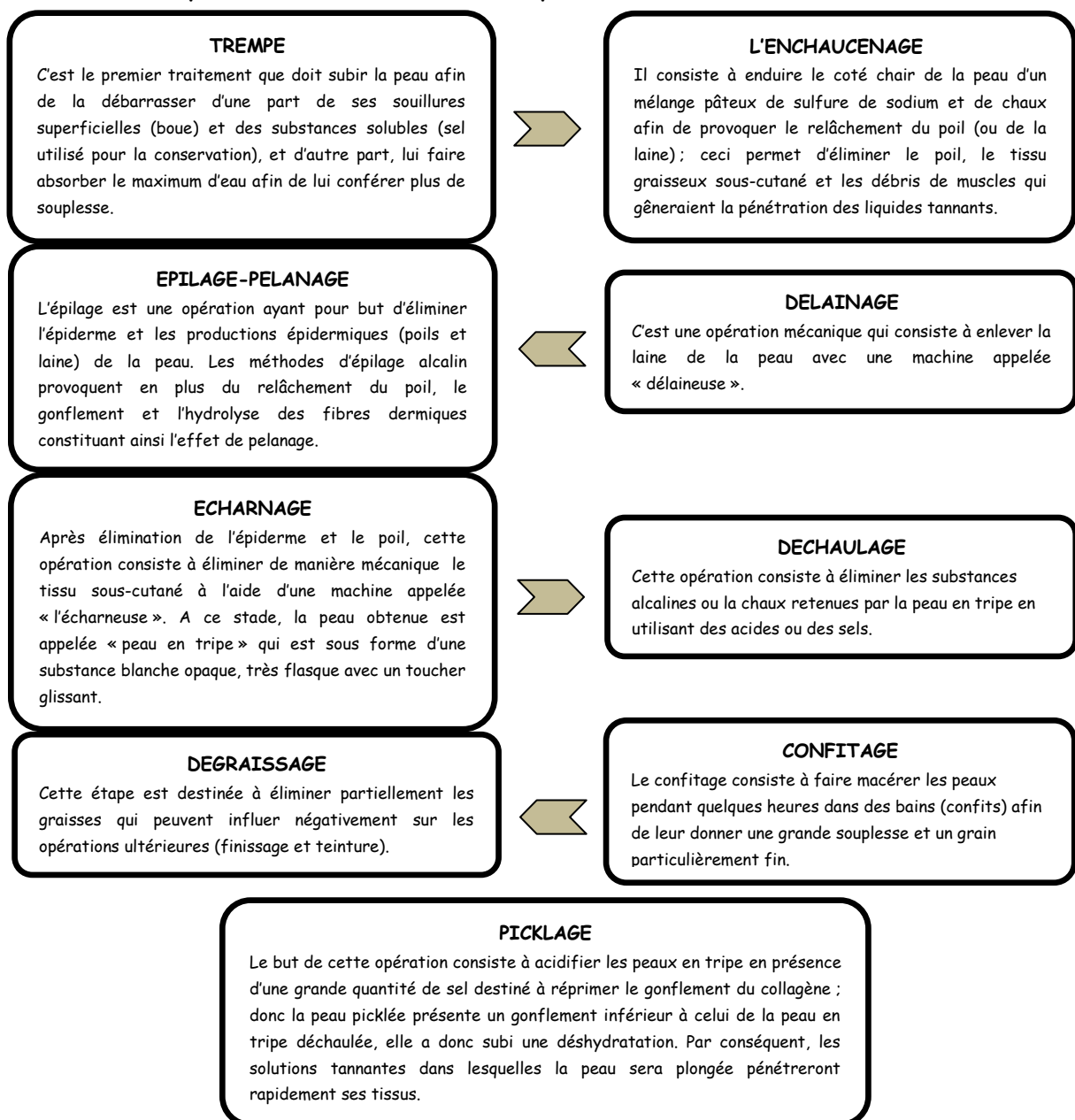


Figure VI-1 : Étape de traitement de la peau avant tannage.

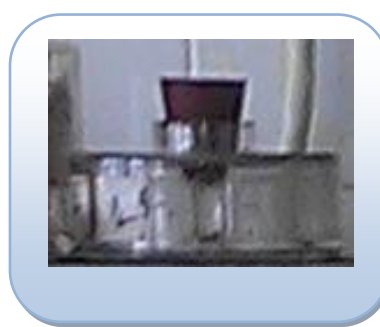
4.3 PARTIE PRATIQUE

Les tests effectués sur les peaux picklées se divisent en deux étapes importantes ; la première étape est effectuée en présence seulement de notre produit synthétisé; la deuxième étape est réalisée en présence d'un mélange de chrome avec notre produit.

Nos essais ont été réalisés dans des vaccaires de tannage (petit foulon en verre) à l'échelle de laboratoire en raison des faibles quantités de produits synthétisés utilisés (figure VI-2 (b)) :



(a)



(b)

Figure VI-2 : (a) Foulon de tannage à l'échelle industrielle ; (b) Foulon de tannage à l'échelle de laboratoire.

4.4 PROTOCOLE OPÉRATOIRE

Pour nos travaux, nous nous sommes inspirés du protocole utilisé dans la tannerie de Rouiba qui comporte deux types de tannage : le tannage basique et le tannage acide.

4.4.1 Tannage basique

Dans cette partie, nous avons effectué deux essais, l'un sans chrome et l'autre en présence de chrome en utilisant le produit **22** qui est le

³ J. Madhavi, J. Srilakshmi, M. V. R. Rao and K. R. S. S. Rao, *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*, 2011, Vol. 3, No. 4, 11-26.

⁴ EMISSION FACTOR DOCUMENTATION FOR AP-42 Section 9.15, final report of Leather Tanning, U. S. Environmental Protection Agency Office of Air Quality Planning and Standards. 1997.

2-(2-méthyl-3-indolyl)-1,4-naphtoquinone.

Nous commençons ce mode opératoire par la découpe de deux peaux picklées que nous appellerons P₁ et P₂, dont les masses sont mentionnées dans le tableau ci-dessous:

Echantillons	masses (g)
P ₁	24,64
P ₂	28,27

Tableau VI-1 : Masses des échantillons P₁ et P₂.

La masse de notre produit utilisée est de 6% de la masse de la peau utilisée. Ensuite, notre produit est dissout dans 2 mL de chloroforme avant d'être introduit dans le foulon avec la peau P₁ et les 80% de l'ammoniaque pris par rapport à la masse de la peau aussi. Le mélange est laissé sous agitation dans le vaccaire durant 6 heures.

L'étape suivante a pour but de fixer le produit sur la peau par le rajout de 0,5% d'acide formique de la masse de la peau par petites quantités et par intervalles de 20 minutes en mesurant et en surveillant le pH de la solution (pH avoisinant 3).

A la fin de cette étape, un dernier test est effectué sur la peau afin de mesurer son indice de rétraction. Cet indice nous permet de savoir si la peau a bien absorbé et fixé le produit, pour cela une partie de la peau déjà tannée est coupée en prenant son empreinte à l'aide d'un feutre et d'une feuille, et est plongée par la suite dans une eau à 90°C pendant 1 minute, si la peau ne se rétracte pas, cela induit que la fixation du produit est réussie.

Dans notre test, la peau s'est rétractée et même enroulée comme le montre la figure VI-3, preuve que le produit n'a pas été fixé « totalement » sur la peau.



Figure VI-3 : Test de rétraction sur la peau P₁.

Pour ce qui est de la deuxième peau P₂, de la même façon, le produit sera préalablement dissout dans du chloroforme et mélangé cette fois ci avec du chrome en proportion 3/3 avant d'être introduit dans le vaccaire avec la peau P₂. Par la suite le même mode opératoire sera appliqué. Au final, nous remarquons que la peau a rétréci et que le produit n'a été que superficiellement imprégné dans la peau (figure VI-4).



Figure VI-4 : Test de rétraction sur la peau P₂.

Par constat, nous changerons le pourcentage chrome/produit pour le second essai afin d'augmenter la fixation de notre produit sur la protéine animale.

4.4.2 Tannage acide

Deux essais sont réalisés dans cette partie aussi sur le produit 2-(1H-Indol-3-yl)-1,4-naphthoquinone (**25**). Comme précédemment, nous utiliserons deux peaux que nous appellerons P₁' et P₂', dont les masses sont mentionnées dans le tableau ci-dessous :

Echantillons	masses (g)
P ₁ '	13,70
P ₂ '	13,59

Tableau VI-2 : Masses des échantillons P₁' et P₂'.

La première peau P_1' est introduite dans le vaccaire avec 6% de notre produit pris par rapport au poids de la peau, préalablement dissout dans le chloroforme comme cité précédemment et 0,6% d'acide formique en petites quantités par intervalles de 20 minutes. Le mélange est laissé sous agitation dans le vaccaire durant 6 heures. Ensuite 0,3% d'acide sulfurique est ajouté tout en mesurant le pH régulièrement afin d'atteindre un pH aux alentours de 3.

Afin de fixer le produit sur la protéine animale, on procède au rajout de 1% en bicarbonate afin de basifier le milieu.

Nous avons procédé au test de la rétraction de la peau et nous avons remarqué comme précédemment le rétrécissement de la peau P_1' .

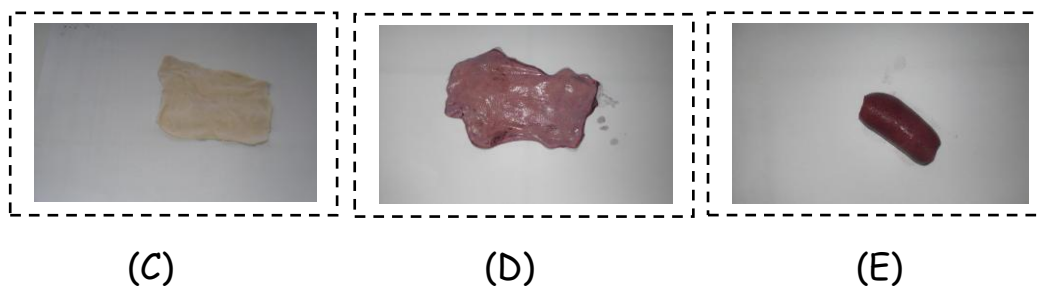


Figure VI-5 : (C) Peau P_1' picklée ; (D) Peau après mélange avec le produit ; (E) Peau P_1' après le test de rétraction.

Pour la deuxième peau P_2' , le même mode opératoire est réalisé, avec cette fois-ci un mélange chrome/produit dans les proportions 4/2.

Après le test de rétraction, nous avons remarqué une peau légèrement froissée, signe que le produit a été fixé partiellement (Figure VI-6).

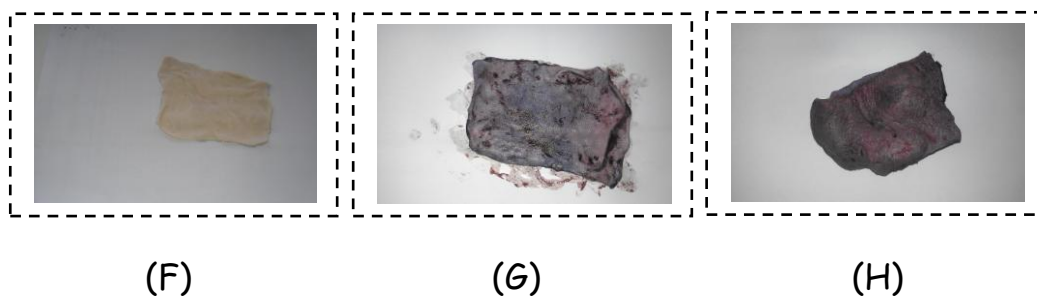


Figure VI-6: (F) Peau P_2' picklée ; (G) Peau après le mélange de notre produit avec le chrome ; (H) Peau P_2' après le test de rétraction.

4.5 CONCLUSION

Dans ce dernier chapitre, nous avons testé deux produits que nous avons synthétisés précédemment [2-(2-méthyl-3-indolyl)-1,4-naphthoquinone et 2-(1H-Indol-3-yl)-1,4-naphthoquinone]. Notre choix s'est porté sur ces produits en fonction de la quantité de matière obtenue nous permettant de réaliser ces tests en tannerie.

Le but de cette partie est d'établir des tests préliminaires pouvant indiquer la possibilité de la fixation de ces produits sur une protéine animale.

Comme perspectives, nous envisageons de réaliser d'autres tests en changeant différents paramètres du protocole opératoire tels le pH ou le pourcentage chrome/produit utilisé.

Conclusion générale et perspectives

Au cours de ce travail de thèse, notre objectif était d'élaborer des molécules synthétiques susceptibles de remplacer le chrome dans le processus de tannage des peaux animales, et cela dans l'esprit de la « green chemistry ». Compte tenu de la complexité de la synthèse des molécules 'psoralènes' et du peu de résultats fructueux obtenus (qui restent à améliorer), notre travail était réorienté vers la synthèse de molécules obtenues par condensation du DCNQ sur différents dérivés de phénols. Cela nous a permis d'aboutir à de nouvelles molécules du type « **benzodioxines naphthoquinones** » connues en littérature pour leurs propriétés biologiques importantes. En collaboration avec les biologistes de l'université de **Paris XIII**, nos produits ont été testés sur différentes cellules cancéreuses (cancer du sein, cancer du cerveau, cancer de la peau). Les résultats obtenus ont montré que nos produits sont capables de s'intercaler dans l'ADN, d'où l'activité biologique anticancéreuse détectée sur la majorité des cellules souches testées.

Par la suite, nous avons redirigé nos travaux vers la réaction d'addition de quinones sur différents dérivés d'indoles qui nous a permis d'accéder à une large variété de molécules appelées « indolylquinones » en obtenant de bons rendements. L'originalité de cette méthode réside dans la facilité et la rapidité de cette réaction comparée à ce qui a été fait en littérature et surtout dans l'obtention de nouvelles molécules tout en respectant l'environnement. Ces dernières sont connues en littérature pour leurs effets intercalant dans l'ADN, d'où l'intérêt de les tester. Dans le cadre

de notre collaboration avec les biologistes, les quelques molécules testées ont montré qu'elles avaient un effet anticancéreux très important.

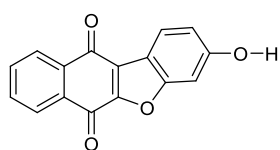
Les molécules testées dans l'étape du tannage n'ont pas permis la formation de liaisons entre nos produits et le collagène, d'où l'absence du processus de cross-linking et la mauvaise fixation de ces derniers sur les peaux animales.

En perspective, nous nous proposons d'effectuer d'autres tests avec le changement de quelques paramètres de réaction afin d'obtenir une meilleure fixation de nos produits sur la protéine animale, et ceci en favorisant le processus du cross-linking.

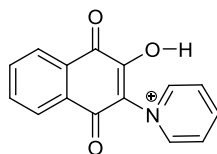
Afin d'approfondir ce travail, nous nous proposons d'étendre la synthèse des indolylquinones, à d'autres réactions d'addition entre les quinones et d'autres analogues d'indoles saturés en position 2 et 3 afin d'obtenir des molécules **ayant un radical en position 1**, c'est-à-dire directement lié à l'azote, représentant de nouveaux hétérocycles importants et non étudiés jusqu'à maintenant. Pour cette même partie, nous suggérons des tests biologiques qui sont indispensables pour évaluer les intérêts de ces hétérocycles.

ANNEXE

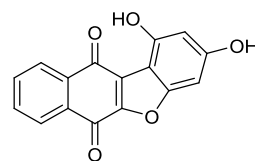
Récapitulatif des molécules synthétisées



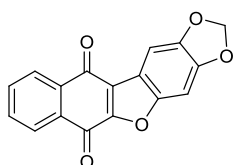
3



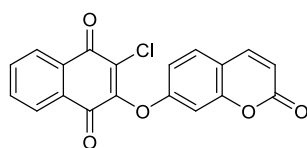
4



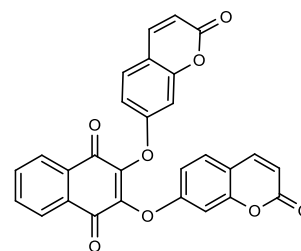
5



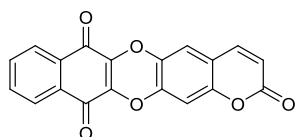
6



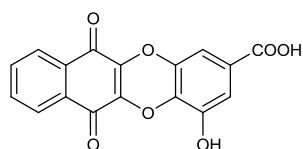
15



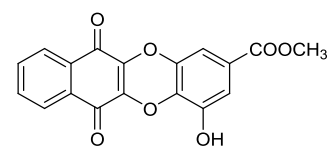
16



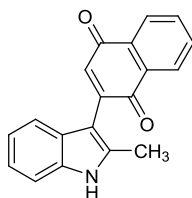
19



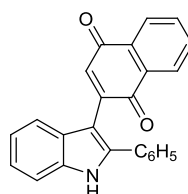
20



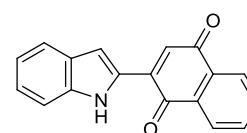
21



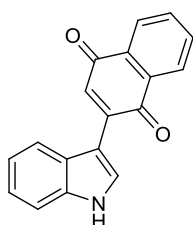
22



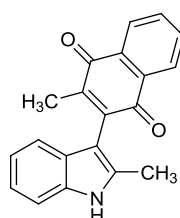
23



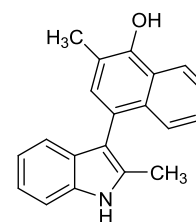
24



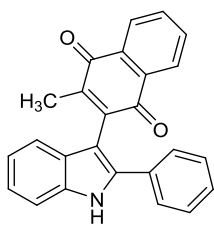
25



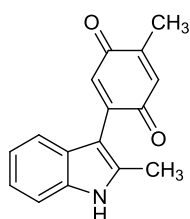
26



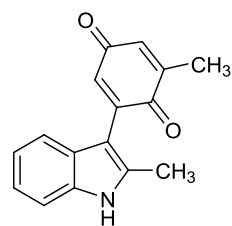
27



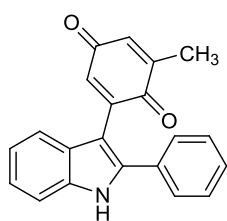
28



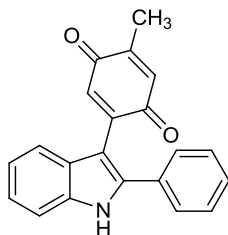
29



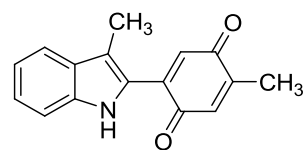
30



31



32



33