

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à remercier chaleureusement toutes les personnes, qui par leurs enseignements, leurs soutiens, leurs conseils, ont contribué à sa réalisation.

Tout d'abord, je souhaite exprimer toute ma reconnaissance au Professeur Abdoulaye GASSAMA pour la confiance qu'il m'a accordée, pour ce sujet, pour l'encadrement, pour tous ses conseils avisés et le suivi continu de mes travaux. Merci pour ton soutien et pour ta disponibilité tout au long de ce mémoire. Ce fut un plaisir de travailler avec vous également au cours de mon stage dans lequel je garde d'excellents souvenirs. La fin de ce travail fut laborieuse vu le temps imparti et, sans votre soutien et vos corrections efficaces et rapides des différentes versions du manuscrit, je n'aurais pu le terminer, alors encore un grand Merci !

Je remercie le Pr Chérif BALDE, le Dr Mbaye Diagne MBAYE, le Pr Magatte CAMARA, le Dr Mamadou LO, le Dr Abdou MBAYE, le Dr Papa Aly GAYE, le Dr Anastasie MANGA, le Dr Seydou Nourou DIOP enseignants chercheurs et le Dr Oumar SAMBOU du département de chimie à l'Université Assane SECK de Ziguinchor pour tous les efforts consentis, pour la qualité de notre formation, leurs encouragements. Je tiens à leur exprimer ma reconnaissance. Merci d'avoir accepté de siéger au sein de ce jury.

Je remercie également tous les enseignants chercheurs des départements de physique, d'informatique, de mathématique de l'université malgré que je ne suis pas dans ces filières mais ils m'ont donné au moins un savoir.

Merci également aux membres du jury, pour le temps et l'effort investis lors de la lecture du manuscrit. Je tiens également à remercier les doctorants Moussa TOURE, Aminata THIAM et Ibrahima Paka MANGA qui ont contribué à une partie de ces recherches et à tout le groupe de chimie organique et thérapeutique.

Merci à tous les doctorants et étudiants du département de chimie particulièrement avec qui j'ai partagé ces 6 années d'études.

Mes sincères remerciements vont également à l'endroit de mes parents et de mon cher mari qui ont œuvré pour ma réussite, de par leur amour, leur soutien, tous les sacrifices consentis et de leurs précieux conseils, pour toute leur assistance et leur présence dans notre vie, à travers ce modeste travail. Recevez l'expression de mes sentiments distingués et notre éternelle gratitude.

Merci à mes frères et mes sœurs.

Table des matières

REMERCIEMENTS	I
LISTE DES ABREVIATIONS	IV
LISTE DES SCHEMAS REACTIONNELS	VI
RESUME	VII
ABSTRACT	VII
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : ETUDES BIBLIOGRAPHIQUES	3
I- Etudes bibliographiques	4
I-1 Le Paracétamol	4
I-1-1 Historique du paracétamol	5
I-1-2 Structure et Réactivité du paracétamol	7
I-1-3 Mécanisme d'action du paracétamol	8
I-1-4 Association avec le paracétamol	9
I-2 Dérivés du Paracétamol	10
I-2-1 L'Aspirine	10
I-2-2 L'Ibuprofène	11
I-2-3 L'Acide salicylique	11
DEUXIEME PARTIE : ETUDE AU LABORATOIRE	13
II- Objectif des travaux de recherche	14
II-1 Synthèse des molécules dérivées du paracétamol	15
II-1-1 Synthèse du composé 3	15
II-1-2 Synthèse du composé 5	17
II-1-3 Synthèse du composé 8	18
II-2 Synthèse des hétérocycles azotés	18
II-2-1 Synthèse du composé 11	18
II-2-2 Synthèse du composé 12	19

II-3 Etude d'Activité Anti-inflammatoires	20
II-3-1 Méthodologie	20
II-3-2 Procédure expérimentale	21
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	23
TROISIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE	24
III- Partie Expérimentale	25
III-1 Matériels	25
III-1-1 Techniques expérimentales	25
III-1-2- Spectroscopies et caractéristiques physiques	25
III-2 Mode opératoire	26
III-2-1 Préparation du composé 3	26
III-2-2 Préparation du composé 5	27
III-2-3 Préparation du composé 8	27
III-2-4 Préparation du composé 11	28
III-2-5 Préparation du composé 12	29
ANNEXES	31

LISTE DES ABREVIATIONS

AINS : Activité Anti-inflammatoire non stéroïdien

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

APAP : N-Acétyl-ParaAaminophénol

ASS : Acide Acétylsalicylique

Boc : tert-butoxycarbonyle

CCM : Chromatographie sur Couches Mince

¹³C : Carbone 13

COSY : Correlation Spectroscopy

COX : Cyclo-oxygénase

DCC : Dicyclohexylcarbodiimide

DEP135 : Spectre de carbone qui permet d'identifier les carbones quaternaires

DIPEA : N, Ndiisopropyléthylamine

Do : Diamètre initiale

EDCI : Ethyl 3 (3-diméthylaminopropyl) carbodiimine

FDA : Food and Drug Administration

HMBC : Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HOAt : Hydroxyde benzoazatriazole

HOBt : Hydroxyde benzotriazole

HSQC : Heteronuclear Single-Quantum Correlation

IHA : Insuffisance Hépatique Aiguë

IR : Infrarouge

NAPAP : N-(4-hydroxyphényl) -acétamide, N-acétyl-para-aminophénol

NOE-différence : Nuclear Overhauser Difference

NOESY : Nuclear Overhauser Difference Spectroscopy

OTC : Over The Counter

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RT : Température ambiante

LISTE DES FIGURES

Figure 1: La molécule du paracétamol	4
Figure 2: Schéma de l'Aniline, Phénacétine, Paracétamol et Acétanilide	8
Figure 3: Molécule de l'Aspirine	10
Figure 4: Molécule de l'ibuprofène	11
Figure 5: Molécule de l'acide salicylique	12
Figure 6: Molécules cible 1	14
Figure 7: Molécules cible 2	15
Figure 8: Molécule de DCC et de EDCI	16

LISTE DES SCHEMAS REACTIONNELS

Schéma 1: Schéma réactionnel de la synthèse du paracétamol	4
Schéma 2: Deux précurseurs possibles pour deux voies de synthèse	5
Schéma 3: Synthèse du composé 3	16
Schéma 4: Mécanisme de formation du composé 3	17
Schéma 5: Synthèse du composé 5	18
Schéma 6: Synthèse du composé 8	18
Schéma 7: Synthèse du composé 11	19
Schéma 8: Mécanisme de formation du composé 11	19
Schéma 9: Synthèse du composé 12	20

RESUME

Le paracétamol est l'un des médicaments les plus vendus au monde, à la fois pour son effet antalgique mais aussi pour son effet antipyrétique. Le problème est, qu'en cas de surdosage ou de prise volontaire abusive, il peut entraîner des lésions hépatiques sévères. Ces intoxications au paracétamol présentent une gravité potentiellement mortelle. De nouvelles molécules anti-inflammatoires ont été développées pour préparer les médicaments dans le but de soigner les populations. Pour répondre à cela nous avons synthétisé des molécules dérivées du paracétamol et des hétérocycles azotés en vue d'obtenir de nouveaux modes d'action rapide, avec moins d'effets secondaires et des rendements satisfaisants. L'étude d'activité anti-inflammatoire de ces molécules sera faite sur des souches de souris et de rats de wistar. Pour des problèmes de disponibilité de réactifs de tests anti-inflammatoires, l'étude est toujours en cours.

Mots clés : Antalgique, Antipyrétique, lésions hépatiques, Anti-inflammatoire.

ABSTRACT

Paracetamol is one of the best-selling drugs in the world, both for its analgesic effect and for its antipyretic effect. The problem is that, in case of overdose or excessive voluntary intake, it can lead to severe liver damage. These paracetamol poisonings are potentially life-threatening. New anti-inflammatory molecules have been developed to prepare drugs for the purpose of treating people. To answer this we synthesized molecules derived from paracetamol and nitrogenous heterocycles in order to obtain new modes of rapid action, with less side effect and satisfactory yields. The study of anti-inflammatory activity of these molecules will be made on strains of mice and wistar rats. For reagent availability problems of anti-inflammatory tests, the study is still in progress.

Keywords : Analgesic, Antipyretic, hepatic lesions, Anti-inflammatory.

INTRODUCTION

Le paracétamol, autrement appelé « acétaminophen », est un antalgique, antipyrétique de choix, largement utilisé, prescrit et utilisé en première intention. Il s'agit, depuis quelques années, d'un traitement disponible en libre-service dans les pharmacies d'officine mais aussi en ligne sur Internet. Mais qu'en est-il de la possibilité d'acheter le paracétamol en grande surface ? Peut-on considérer le paracétamol comme un produit de consommation courante ? Voici des questions auxquelles les professionnels de la santé sont actuellement confrontés.

Analgésique non morphinique administré depuis les années 1950, le paracétamol a largement démontré son efficacité et son innocuité. En effet à dose thérapeutique, il est responsable d'effets secondaires moindres comparés à l'acide acétylsalicylique et représente le traitement de choix sécurisant et rassurant.

Il est, par exemple, un des rares médicaments autorisés pour les femmes enceintes ou chez les enfants en bas âges. De ce fait, la production actuelle mondiale de paracétamol est très importante : dont 420 millions de boîtes se vendent par an¹ (soit près de 150 000 t/an avec une progression annuelle de 2 à 3 %²). La simplicité de sa formule en fait une molécule aisément synthétisable. Du fait de cette simplicité, le prix de vente aux laboratoires pharmaceutiques s'établit ainsi à environ 3 €/kg (soit 1967,86 Franc CFA/Kg). Essentiellement produit en Asie (en Chine et en Inde) et un peu aux Etats-Unis, le paracétamol n'est plus synthétisé en Europe depuis l'arrêt, en 2008, de l'usine de Roussillon (Rhodia).

En France, le paracétamol est présent dans 124 médicaments autorisés par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). Plus d'un tiers de ces médicaments (48) contiennent du paracétamol seul pour près de deux tiers (76) utilisés en associations. D'après l'ANSM, la consommation du paracétamol représente à elle seule 10 % des boîtes de médicaments vendues en officines, avec le Doliprane, l'Effergal et le Dafalgan qui occupent les trois premières places des ventes en quantités³. Le paracétamol occupe également la première place des médicaments vendus en valeur mais avec seulement 2 % de part de marché. Ceci est dû à son faible coût de commercialisation : environ 2 € la boîte de 8 g

¹<http://www.leparisien.fr/societe/sante/le-paracetamol-n-est-pas-un-bonbon-17-09-2018-7891548.php> (consulté(e) le 12 février 2019).

² [www.bloomberg.com \(www.bloomberg.com/apps/news?pid=newsarchive&sid=az9ShNouwC8U\)](http://www.bloomberg.com/apps/news?pid=newsarchive&sid=az9ShNouwC8U) (consulté(e) le 3 Janvier 2019).

³ <https://ansm.santé.fr/var/ansm-site/storage/original/application/> (consulté(e) le 9 février 2019).

de paracétamol. Il est la substance active la plus vendue en France et sa consommation a augmenté de 53% en 10 ans.

Ensuite, les antidouleurs les plus connus, près de 200 médicaments contenant du paracétamol, seul ou associé à d'autres substances, sont actuellement disponibles avec ou sans prescription médicale pour traiter les douleurs, la fièvre ou les symptômes du rhume. Dans ce contexte, l'Agence a engagé différentes actions afin de garantir aux patients un accès sécurisé à ce médicament.

En revanche, à fortes doses et/ou de façon chronique, le paracétamol peut causer une hépatite cytolytique potentiellement grave et, plus rarement, une insuffisance rénale organique. Les intoxications médicamenteuses sont un des motifs principaux de consultation aux urgences et d'admission en réanimation, faisant de cette molécule, l'une des molécules potentiellement la plus à craindre.

C'est dans ce sens que les présents travaux s'inscrivent. Ils ont pour but de la synthèse des dérivés du paracétamol : Etude d'activités anti-inflammatoires.

Pour cela une étude bibliographique suivie d'une étude au laboratoire a été faite. Ainsi notre manuscrit se résume en trois parties : une première partie portant sur la bibliographie du paracétamol, une deuxième partie qui sera consacrée à la synthèse des dérivées du paracétamol et aux tests d'activités anti-inflammatoires des composés, suivie d'une conclusion et perspectives et enfin une troisième partie portant sur l'étude expérimentale.

PREMIERE PARTIE :
ETUDES
BIBLIOGRAPHIQUES

I- Etudes bibliographiques

I-1 Le Paracétamol

Le paracétamol (figure 1), aussi appelé acétaminophène, est un composé chimique utilisé comme antalgique (anti-douleur) et antipyrétique (anti-fièvre), qui figure parmi les médicaments les plus communs, utilisés et prescrits au monde.

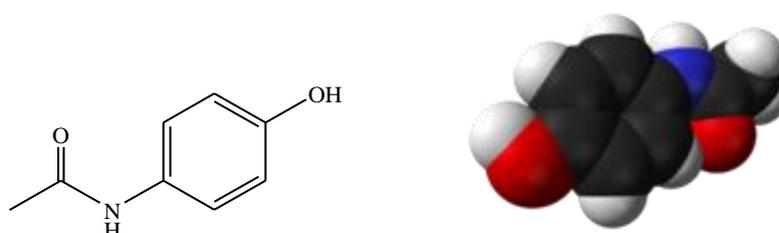


Figure 1: La molécule du paracétamol

Il est indiqué dans le traitement des symptômes d'intensité faible à modéré, seul ou en association avec d'autres analgésiques, notamment opioïdes, et est très populaire car il a moins de contre-indications que d'autres antalgiques et jouit d'une bonne image auprès du public.

Son mécanisme est encore mal connu ; en effet, il diminue la fièvre, mais pas par le même mécanisme que l'aspirine ou l'ibuprofène, qui agissent sur l'inflammation⁴.

En effet, le paracétamol appartient à deux classes chimiques : l'acétanilide et l'anilide. Il est issu de la réaction entre un para-aminophénol (ou 4-hydroxyaniline) et un anhydride acétique suivant le schéma réactionnel ci-dessous (Schéma 1).

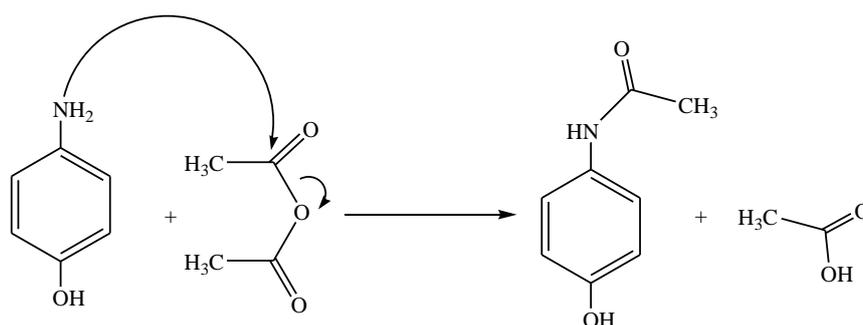


Schéma 1: Schéma réactionnel de la synthèse du paracétamol

De ce fait, le *p*-aminophénol est devenu l'intermédiaire clé de la synthèse du paracétamol et les synthèses de ces deux composés sont donc indissociables. D'un point de vue rétro synthétique, deux choix sont possibles : introduire l'hydroxyle sur l'aromatique en premier et l'acétamide

⁴ <https://fr.wikipedia.org/wiki/paracétamol> (consulté(e) le 14 Mars 2019).

en second (Schéma 2, Voie 1) ; ou bien l'inverse, c'est-à-dire, introduire l'azote en premier, et l'oxygène ensuite (Schéma 2, Voie 2).

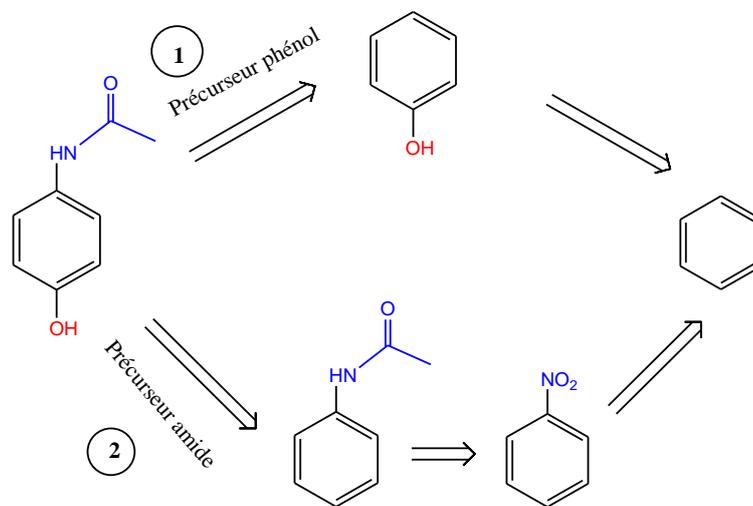


Schéma 2: Deux précurseurs possibles pour deux voies de synthèse

Le paracétamol est le médicament à privilégier en première intention en cas de fièvre, mais aussi dans les douleurs légères à modérés. Il est également indiqué dans les états grippaux, les douleurs dentaires, les courbatures ou encore dans le traitement de l'arthrose. Il peut être utilisé de façon ponctuelle tout au long d'une grossesse. Ses seules contre-indications sont les maladies graves du foie. Cependant, en cas de prise conjointe d'anticoagulants, il est tout de même recommandé au patient de demander conseil à son médecin. Nous avons vu que le paracétamol était à l'origine de nombreuses IHA (Insuffisance Hépatique Aiguë) mais que connaît-on aujourd'hui du paracétamol ?

I-1-1 Historique du paracétamol

Le paracétamol est aujourd'hui une molécule plus que centenaire. Son utilisation a connu un succès croissant au fil des années. La découverte de cette molécule populaire est pourtant née d'un heureux hasard.

Harmon Northrop Morse, synthétise en 1878, une molécule qu'il nommait l'acétylaminophénol, plus connu aujourd'hui sous le nom de paracétamol. Cependant, il ne testera pas cette molécule avant 1887 sur des patients et ne verra jamais sa commercialisation⁵.

Huit ans plus tard, un professeur de l'université de Strasbourg, Adolf Kussmarl et ses deux étudiants, Arnold Cahn et Paul Hepp, décident d'analyser les effets du naphthalène sur les

⁵ P.J. AMAR, E.R. SCHIFF E.R. - Acetaminophen safety and hepatotoxicity- where do we go from here? – *Expert Opin drug Saf.* **2007**, 6 :341-355.

parasitoses intestinales. Leur réserve épuisée en naphthalène, ils décident de se réapprovisionner auprès d'une pharmacie de ville. A leur grande surprise le produit étudié ne révèle aucun effet antiparasitaire, en revanche la courbe de température de leur patient diminue de façon inhabituelle démontrant un effet antipyrétique très efficace. Une investigation fut alors menée, et ils découvrirent que le pharmacien avait délivré par erreur de l'acétanilide au lieu du naphthalène demandé⁶. Ils seront les premiers à commercialiser le premier antipyrétique non salicylique sous le nom d'antifébrine®.

En 1887, la compagnie Bayer (Friedrich Bayer & Co) introduit la phénacétine dans la pharmacopée. Les tests démontreront que la phénacétine provoque moins d'effets indésirables et semble être plus puissant que l'antifébrine. Cependant, elle sera interdite en raison des effets néphrotoxiques observés lors de son utilisation chronique.

Un autre dérivé, le N-acétyl-para-aminophénol (APAP) est synthétisé par Morse en 1878 : c'est le paracétamol. En 1889, Karl Morner découvre que ce dérivé possède des propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires. En 1893, un médecin allemand Joseph Von Mering publie une étude clinique dans la revue « Therapeutische Monatschrift » dans laquelle il conclut de façon erronée que l'APAP est aussi voir même plus néphrotoxique que la phénacétine et n'encourage pas son utilisation malgré ses effets thérapeutiques⁷. L'acétanilide continuera à être utilisé comme antalgique, on le retrouvera commercialisé associé à de l'alcool et également avec de la caféine sous le nom de Saridon®.

Ce n'est qu'à la toute fin des années 40, grâce au progrès de la pharmacocinétique et des études métaboliques menées par les chercheurs américains Brodie et Axelrod que l'innocuité du paracétamol sera démontrée. Dès 1947, des études métaboliques réalisées par Lester et Greenberg de l'université de Yale et en 1948 par Flinn et Brodie de l'université de New York, montreront que l'APAP est un dérivé déséthylé de la phénacétine et obtiendront ainsi une forme pure que l'on connaît aujourd'hui⁸.

Les chercheurs américains Bernard Brodie et Julius Axelrod établissent que le paracétamol est un produit de dégradation de la phénacétine et que lui seul représente la molécule active contre la fièvre et la douleur, contrairement aux autres produits de dégradation qui induisent des effets toxiques.

⁶ <http://portails.inspq.qc.ca/toxicologieclinique/historique-delacetaminopx> (consulté(e) le 20 Février 2019).

⁷ <https://www.sup.org/books/title/?id=3084> (consulté(e) le 5 Mai 2019).

⁸ M.D. Kevin ; 28 Projects, from the Creation of Fire to the Production of Plastics, Universal-Publishers, *Caveman Chemistry* **2003** :333.

C'est ainsi qu'en 1955, après un regain d'intérêt pour le paracétamol, la FDA autorise la vente de ce médicament aux Etats-Unis. La compagnie Mc Neil Consumer Healthcare commercialisera le paracétamol sous forme de comprimés de 500 mg. Il en fera un blockbuster sur le marché des analgésiques, le Tynelol®².

En France, les laboratoires Bottu introduisent le paracétamol en 1957. Ensuite, le laboratoire Teraplix après accord, reprend la gamme thérapeutique du laboratoire Bottu et place ainsi le paracétamol en tant que leader français sur le marché des antalgiques, essentiellement sous les noms commerciaux de Doliprane® et Codoliprane®. En 1960, le paracétamol obtient aux Etats-Unis le statut de médicament OTC signifiant qu'il est alors disponible sans ordonnance⁹.

Les premiers cas d'intoxication au paracétamol témoignant d'un risque d'hépatotoxique sont publiés en 1966. Cependant, le nombre de cas d'intoxication au niveau mondial, ne cesse de croître, devenant aujourd'hui un enjeu de santé publique.

Aujourd'hui, le paracétamol est le médicament le plus consommé au monde et dépasse l'aspirine. En effet, l'utilisation de l'aspirine a soulevé plusieurs inquiétudes en causant des ulcères gastro-intestinaux, des hémorragies et un risque de syndrome de Reye permettant de placer le paracétamol comme traitement de choix par les praticiens. En France, il est l'antalgique de référence tant chez les jeunes enfants que chez les adultes. Ceci s'explique par un bon rapport bénéfice/risque du paracétamol associé à de moindres effets secondaires. C'est ainsi nous nous sommes intéressés à la structure et à la réactivité du Paracétamol.

I-1-2 Structure et Réactivité du paracétamol

La molécule N- acétyl-p-aminophénol a donné deux noms « le paracétamol » (para-acétyl-amino-phénol) et « Acetaminophen » (N-acetyl-para-aminophenol).

La formule brute du paracétamol est $C_8H_9NO_2$ et il est nommé le p-acétylaminophénol, p-acétamidophénol. On utilise également sa prodrogue, le proparacétamol en perfusion.

Chimiquement, le paracétamol est désigné sous le terme de 1-hydroxy-4-acétamidobenzène. Il est également désigné par d'autres noms, tous désignant la même molécule : N-(4-hydroxyphényl)-acétamide, N-acétyl-para-aminophénol (en abrégé NAPAP ou APAP), acétaminophénol, phydroxyacétanilide, 4'-hydroxyacétanilide, acétaminophène, N-paraacétyl-aminophénol.

⁹<http://emedicine.medscape.com/article/820200-overview#aw2aab6b2b4/> (consulté(e) le 18 janvier 2019).

Le paracétamol est un aminophénol. Sur le noyau benzénique de la molécule se substitue un groupement hydroxyle et un groupement amide en position para. La molécule de paracétamol ne contient pas de carbone asymétrique ni de stéréoisomère. On peut voir en revanche un système conjugué avec l'un des doublets libres de l'atome d'oxygène du groupement hydroxyle, les doublets du cycle benzénique, le doublet libre de l'atome de l'azote et la double liaison du carbonyle. Cette conjugaison va permettre de réduire la basicité des oxygènes et de l'azote et de ce fait rendre le groupement hydroxyle plus acide (comme les phénols) car la délocalisation des charges va s'effectuer sur un ion phénolate. Les deux groupes activant rendent le cycle hautement réactif et vont ainsi faciliter d'éventuelles substitutions électrophiles aromatiques en position ortho ou para. Cependant, dans le cycle toutes les positions (ortho, méta, para) sont activées de façon équivalente, en cas de substitution électrophile, il n'y aura pas de site privilégié¹⁰.

L'histoire du paracétamol nous a démontré que le paracétamol était un dérivé actif de l'acétanilide et de la phénacétine. Il est en effet un produit de dégradation de ces deux derniers dans l'organisme. Ils ont donc une structure chimique très proche et appartiennent à la même famille. De ce fait, il a été mis en évidence que l'activité pharmacologique du paracétamol est liée à la portion aminobenzène, dérivé de l'aniline. L'introduction du groupement hydroxyle en para substitué d'un groupement alkyle ainsi que l'acétylation du groupement amine va diminuer les effets toxiques de l'acétanilide et de la phénacétine (Figure 2).

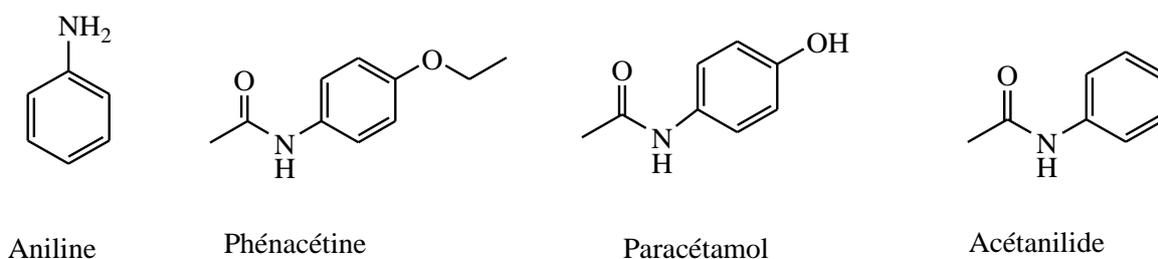


Figure 2: Schéma de l'Aniline, Phénacétine, Paracétamol et Acétanilide

I-1-3 Mécanisme d'action du paracétamol

Le mécanisme d'action complet responsable des effets thérapeutiques et des effets secondaires du paracétamol reste à être davantage précisé. En effet, toutes les hypothèses posées n'ont pas encore été démontrées chez l'Homme.

¹⁰ M.E.Bowden, A.B.Crow, T.Sullivan : the human face of pharmaceutical research, *Pharmaceutical achievers* **2003**, 214-216.

Le paracétamol agit comme un analgésique central et antipyrétique. Il est l'un des médicaments les plus utilisés dans le monde et pourtant son mécanisme d'action reste encore incertain. Les scientifiques proposent régulièrement de nombreuses théories tentant d'élucider les causes et mécanismes d'action de ce vieux médicament.

Le paracétamol est d'abord transformé au niveau du foie. Cette substance passe ensuite dans le sang et arrive au cerveau où elle se combine avec l'acide arachidonique pour donner un acide gras. Ce dernier agit alors sur des récepteurs situés à la surface des neurones et impliqués dans la modulation de la douleur. Cependant, il a été démontré qu'il agit principalement au niveau du système nerveux central. C'est ainsi que le paracétamol est utilisé en association avec d'autres substances actives pour profiter de ses propriétés antalgiques et antipyrétiques.

I-1-4 Association avec le paracétamol

Le paracétamol peut être associé à d'autres antalgiques au sein d'un même médicament, dans le but principal d'améliorer l'efficacité globale et d'optimiser le rapport bénéfice/risque en diminuant les posologies, mais aussi afin d'allonger la durée d'action, de diminuer l'accoutumance, d'améliorer l'observance et de minimiser le risque d'usage détourné. Le but des associations de médicaments étant de produire des interactions pharmaceutiques bénéfiques, c'est-à-dire une synergie, permettant d'augmenter l'efficacité et d'améliorer la tolérance tout en utilisant les doses les plus faibles possibles. L'association doit permettre d'élargir le spectre d'efficacité en combinant des antalgiques agissant simultanément sur des cibles différentes, mais impliqués dans des mécanismes physiopathologiques identiques¹¹.

L'un des problèmes des associations est l'accumulation des effets secondaires ; cependant, le paracétamol étant très bien toléré, il est particulièrement intéressant dans le cadre des associations, et c'est pourquoi les laboratoires pharmaceutiques ont développé de très nombreuses formules comprenant du paracétamol. Un dérivé lipidique, le palmitostéarate de glycérol atomisé est parfois ajouté aux mélanges pour masquer le goût du paracétamol¹². Ainsi, dans le cadre de la recherche de molécules anti-inflammatoires, nous envisageons de synthétiser des dérivés du paracétamol.

¹¹R.Rhum. Développement pharmacologiques rationnel des associations d'analgésiques. (*éd. (fr)*) **2003** ; 69(1).

¹²C. Duru, P. Boudeville, M. Delalonde et N. Farah, « Masquage de goût du paracétamol par thermogranulation au palmitostéarate de glycérol », *Ann. Pharm. Fr.* **2004** ;62(3),186-192 (ISSN 0003-4509, DOI 10.1016/S0003-4509(04)94301-5, résumé [archive]).

I-2 Dérivés du Paracétamol

Les anti-inflammatoires, antalgiques et antipyrétiques forment une vaste famille de composés apparemment très hétérogène puisque constituée de substances aux structures chimiques très diverses. Néanmoins, ces produits présentent des propriétés communes tant au point de vue de leurs actions thérapeutiques que de leurs effets indésirables. Le prototype de ces drogues, que nous prendrons comme substance de référence, est l'aspirine, qui avec les autres médicaments constitue la classe des anti-inflammatoires non stéroïdiens ou AINS.

I-2-1 L'Aspirine

On considère actuellement que près de 60% des médicaments chimiques présents sur le marché sont issus de dérivés de substances naturelles, généralement d'origine végétale.

Ainsi, l'un des médicaments les plus consommés au monde provient du saule blanc et de la reine-des-prés : il s'agit de l'aspirine. L'acide acétylsalicylique a été isolé et synthétisé au milieu du XIX^{ème} siècle par les scientifiques allemands Gerhardt et Hoffman puis commercialisé dès 1899 par les laboratoires Bayer. Le saule blanc était déjà recommandé par le médecin grec Hippocrate pour soulager les douleurs et les fièvres. Deux autres grands antalgiques, la morphine et la codéine, sont quant à eux extraits de l'opium qui est lui-même un produit du pavot blanc.

L'acide acétylsalicylique (AAS) (figure 3), plus connu sous le nom commercial d'aspirine, est la substance active de nombreux médicaments aux propriétés antalgiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires. Il est aussi utilisé comme antiagrégant plaquettaire. Il s'agit d'un anti-inflammatoire non stéroïdien. C'est un acide faible, dont la base conjuguée est l'anion acétylsalicylate.

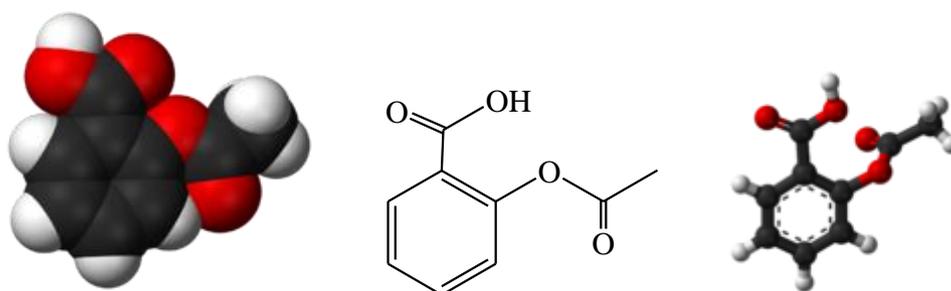


Figure 3 : Molécule de l'Aspirine

I-2-2 L'Ibuprofène

L'ibuprofène, encore appelé acide 2-[4-(2-méthylpropyl) phényl]propanoïque (figure 4), est la substance active d'un médicament AINS utilisé pour soulager les symptômes de l'arthrite spécialement en cas d'inflammation comme l'analgésique. Il est utilisé dans le traitement des douleurs légères à modérées, dans les états fébriles et dans le traitement de certaines maladies rhumatismales. Il fait partie des anti-inflammatoires dit « non stéroïdiens » ou AINS. Son mode d'action passe par le blocage de l'action de certaines enzymes, les cyclo-oxygénases, ce qui entraîne les propriétés suivantes :

- ✓ Antalgique ou anti douleur
- ✓ Antipyrétique (diminue la fièvre)
- ✓ Anti-inflammatoire
- ✓ Blocage de courte durée des fonctions plaquettaires

L'ibuprofène a été développé par les chercheurs de chez Boots UK dans les années 1960, à la suite d'un test systématique des propriétés antipyrétiques et analgésiques de 600 molécules potentiels. Il est commercialisé sous divers noms commerciaux par exemple Brufen, Nurofen, Algifen.

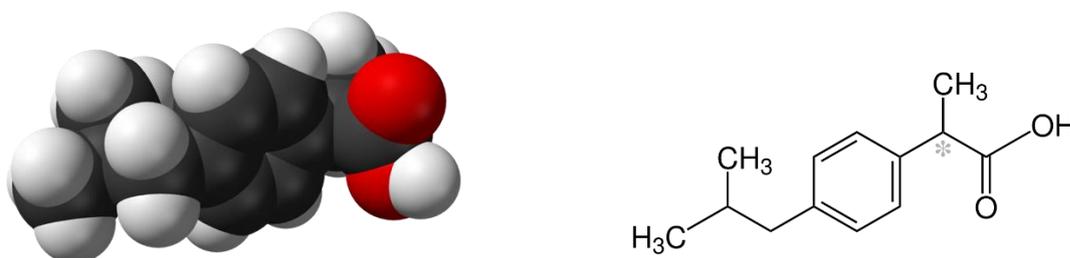


Figure 4 : Molécule de l'ibuprofène

I-2-3 L'Acide salicylique

L'acide salicylique est un acide carboxylique (figure 5) incolore et cristallin utilisé comme médicament. Il est naturellement synthétisé par certains végétaux (comme la Reine-des-prés ou le Saule) et on le retrouve surtout dans des fruits, sous forme estérifiée de salicylate de méthyle. Il peut agir comme un signal hormonal pouvant déclencher, occasionnellement, une thermogénèse végétale¹³. Ingré en grandes quantités, c'est un produit toxique, mais en de moindres quantités il est utilisé comme conservateur alimentaire et antiseptique. Il est

¹³ M.Giberneau , D.Brabé , Des fleurs « à sang chaud», *Pour la Science*, **2007**, 50-56.

désormais plus utilisé pour son action apaisante (analgésique) et on le retrouve dans de nombreux produits en dermatologie en complément d'un autre principe actif. Il est par exemple utilisé dans le traitement de l'acné, des verrues ou de l'hyperhidrose.

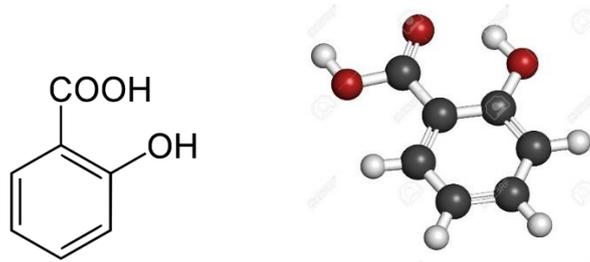


Figure 5: Molécule de l'acide salicylique

Après avoir terminé cette première partie, nous entamerons la seconde partie portant sur l'étude au laboratoire.

DEUXIEME PARTIE :
ETUDE AU
LABORATOIRE

II- Objectif des travaux de recherche

Face à une potentielle impasse thérapeutique pour le traitement de l'inflammation avec du paracétamol, de nouvelles molécules doivent aujourd'hui être développées pour préparer les médicaments de demain. Ainsi, l'objectif principal de ce travail est l'obtention d'une nouvelle classe de molécules présentant des propriétés anti-inflammatoires. Ces molécules devront être accessibles à moindre coût et présenter peu d'effets secondaires. Nous avons vu dans le paragraphe précédent que certains dérivés du paracétamol présentent des propriétés anti-inflammatoires intéressantes. Le paracétamol étant une molécule aisément accessible à faible coût et facilement modulable, nous avons voulu l'utiliser comme échafaudage moléculaire

C'est pourquoi nous avons proposé ce projet de recherche qui est articulé sur la conception, la synthèse et les tests anti-inflammatoires de ces nouvelles classes de molécules dérivés du paracétamol.

Plusieurs cibles chimiques peuvent être définies (Figure 6 et 7).

Les cibles 1 et 2 représenteront le travail principal de ce mémoire. Ces molécules synthétisées, feront l'objet d'études bioactives sur des souches de souris et de rats de wistar.

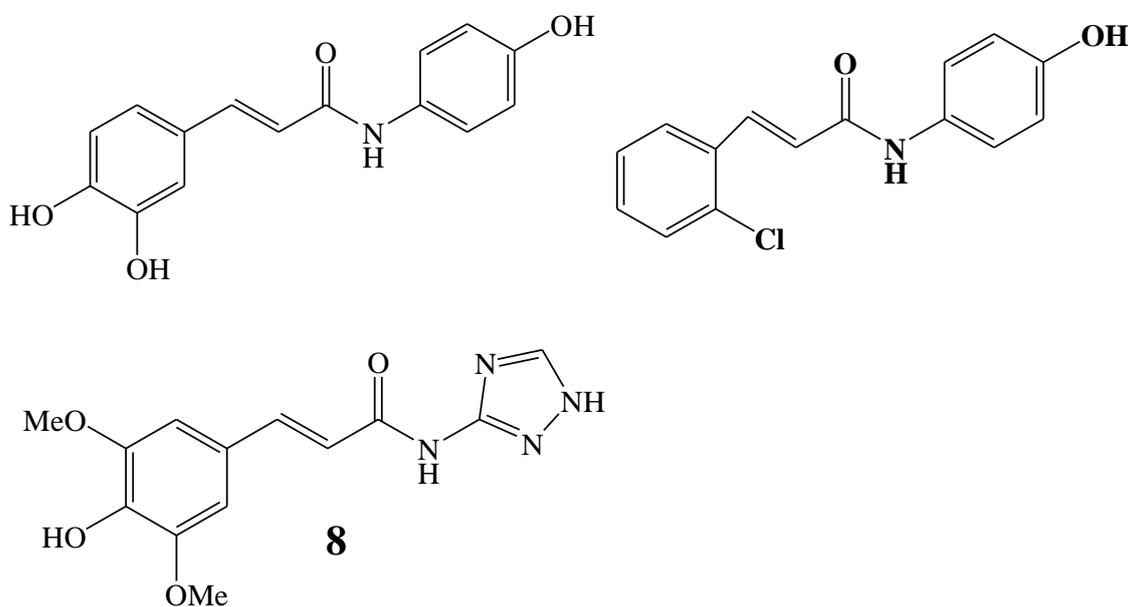


Figure 6 : Molécules cible 1

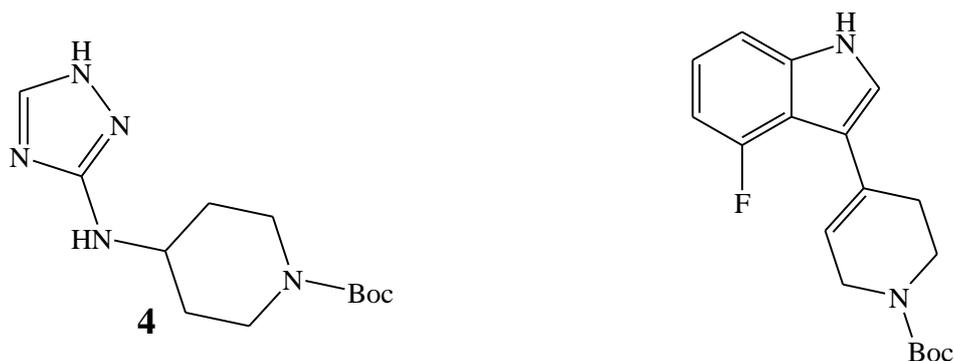


Figure 7 : Molécules cible 2

Ainsi plusieurs thématiques principales seront étudiées :

- La synthèse de molécules dérivées de l'acide cinnamique impliquant la réaction de couplage pseudo peptidique (cible 1).
- Amination réductrice et/ou condensation suivie d'une crotonisation (cible 2)
- Tests anti-inflammatoires sur des souches de souris ou de rats de wistar.

II-1 Synthèse des molécules dérivées du paracétamol

Le paracétamol est le médicament de premier choix le plus consommé et le plus prescrit dans le monde notamment en France. Il obtient une large place dans les armoires à pharmacie. Ainsi les pharmaciens rappellent systématiquement qu'il ne faut pas dépasser la dose de 3g maximum par jour, au-delà il devient toxique pour le foie. Le problème est que le paracétamol entre dans la composition de plusieurs médicaments, le surdosage est vite arrivé. C'est ainsi que nous envisageons la synthèse des molécules dérivées du paracétamol et la synthèse des hétérocycles azotés. Le paracétamol est connu pour le traitement des douleurs, de la fièvre et du rhume. A la différence de l'aspirine et de l'ibuprofène, le paracétamol n'est pas anti-inflammatoire, il soulage donc moins bien que ces deux médicaments les douleurs de ce type.

Dans le cadre de notre étude, nous avons développé plusieurs séries de réaction dont cinq ont pu marcher.

Cependant deux voies de synthèses ont été exploitées.

II-1-1 Synthèse du composé 3

Le couplage de l'acide 3,4-dihydroxycinnamique **1** et le 4-aminophénol **2** au moyen du HOBT en présence du DIPEA /EDCI utilisé comme agent de couplage dans l'acétonitrile a conduit au composé **3** avec un rendement de 51,57% après purification par chromatographie sur gel de silice (Schéma 3). La réaction est suivie sur plaque CCM avec un éluant Acétate d'éthyle/

ainsi augmente l'efficacité du couplage peptidique. L'utilisation des couples DCC/HOBt ou EDCI/HOBt s'est ainsi largement répandue en synthèse peptidique.

Dans un premier temps, il se forme une O-acylurée instable sur laquelle HOBt réagit rapidement pour former un ester activé. Ainsi le groupe NH_2 attaque le carbonyle pour faciliter la formation de la liaison peptidique et libérer le HOBt dans le milieu puis conduisant au composé 3 (schéma 4).

✓ Mécanisme de la réaction

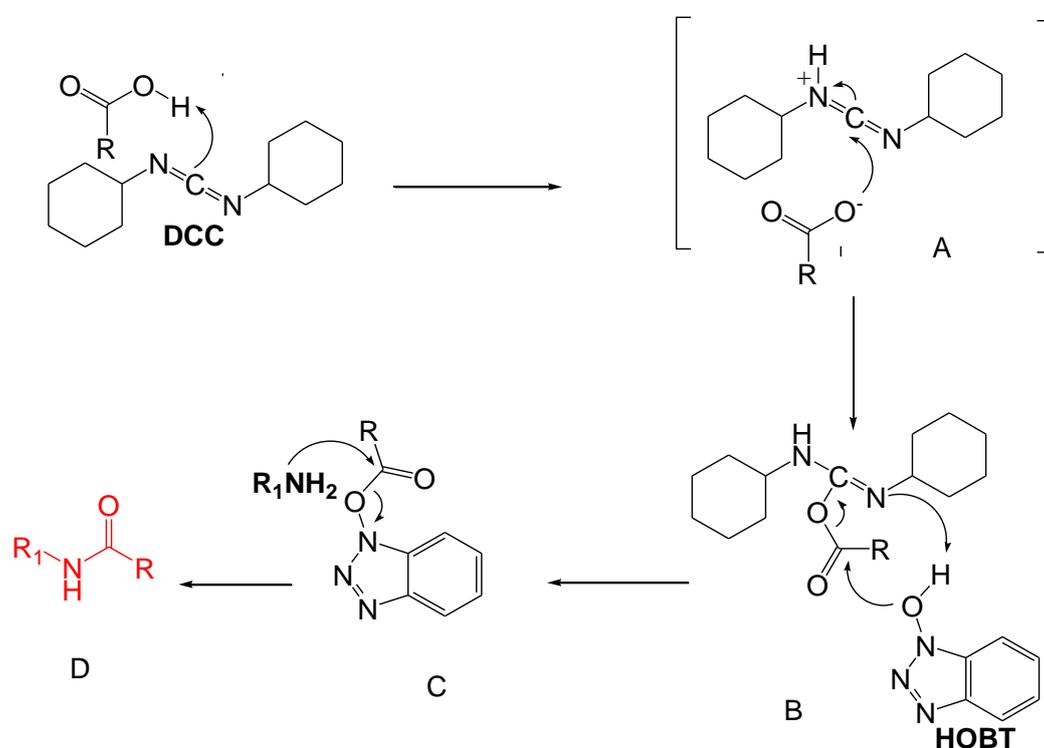


Schéma 4: Mécanisme de formation du composé 3

II-1-2 Synthèse du composé 5

L'acylation du 2-chlorocinnamoyl **4** avec le para hydro aniline **2** dans l'acétonitrile a fourni le composé **5** avec un rendement de 24,68% après purification par chromatographie sur gel de silice (Schéma 5). Ce faible rendement peut-être probablement dû par le manque de base de piégeage de l'acide chlorhydrique libéré dans le milieu réactionnel. Effet, en milieu acide l'amide peut s'hydrolyser

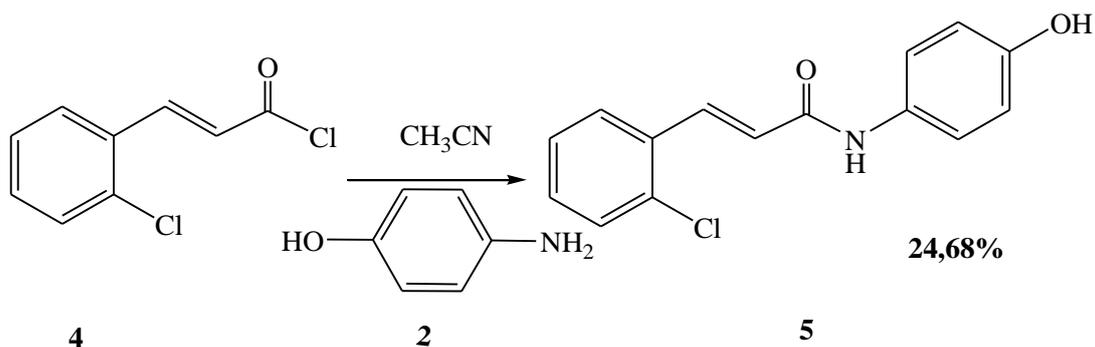


Schéma 5: Synthèse du composé 5

II-1-3 Synthèse du composé 8

Le couplage de l'acide 4-hydroxy-3,5-diméthoxycinnamique **6** et le triazole **7** avec la HOBT en présence du DIPEA /EDCI utilisé comme agent de couplage dans l'acétonitrile a fourni le composé **8** avec un rendement de 67,23% après purification par chromatographie sur gel de silice (Schéma 6).

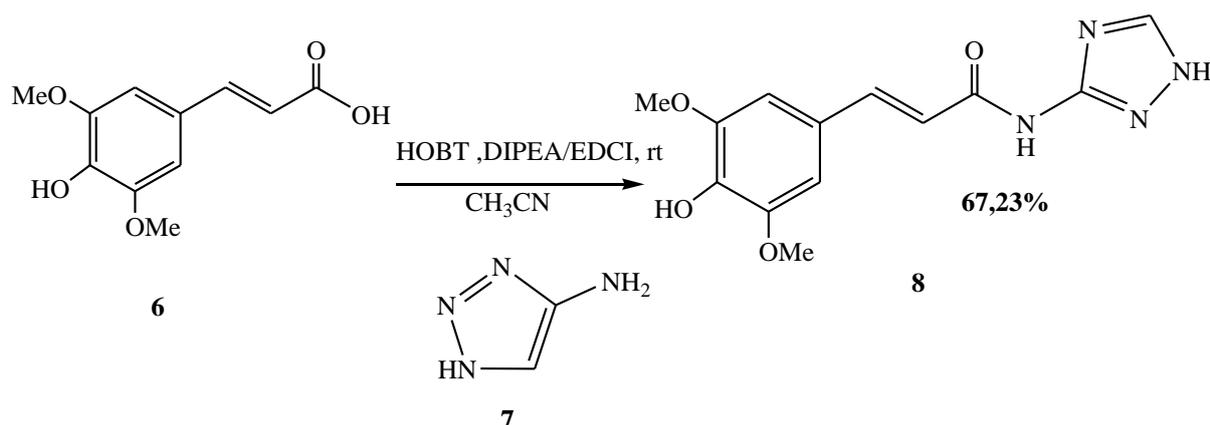


Schéma 6: Synthèse du composé 8

II-2 Synthèse des hétérocycles azotés

II-2-1 Synthèse du composé 11

La condensation du *tert*-butyl-4-oxopipéridine-1-carboxylate **10** avec le 4-fluoro indole **9** au moyen du KOH dans l'isopropanol au reflux a conduit au composé **11** avec un rendement de 85% après purification par chromatographie sur gel de silice (Schéma 7).

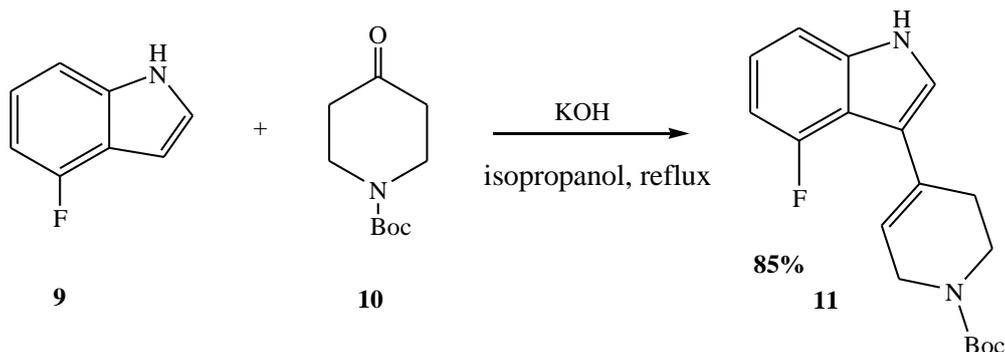


Schéma 7: Synthèse du composé 11

Cette réaction est une aza énamination. En effet, la première étape est une déprotonation de l'azote qui va générer un aza énamine. Cette dernière se condense sur le carbonyle du composé **10** suivi d'une crotonisation fournissant ainsi le composé **11** (Schéma 8).

✓ Mécanisme de la réaction

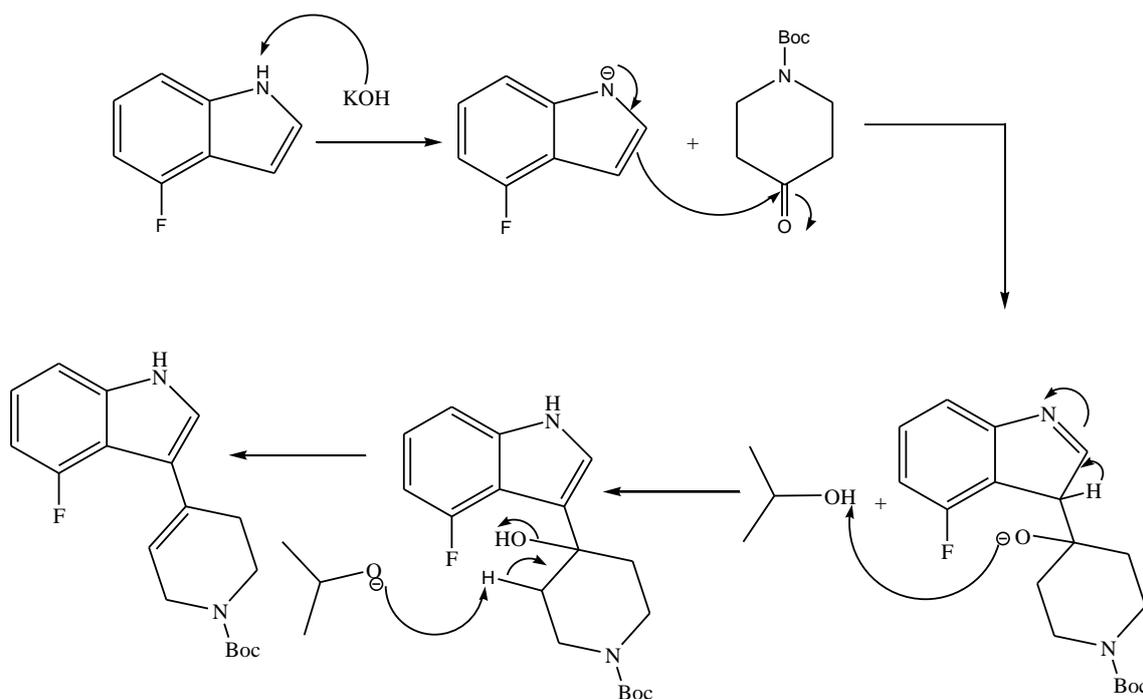


Schéma 8: Mécanisme de formation du composé 11

II-2-2 Synthèse du composé 12

L'amination réductrice du tert-butyl-4-oxopiperidine-1-carboxylate **10** avec le 4-amino-1,2,3-triazole **7** au moyen du $\text{NaBH}(\text{OAc})_3/\text{AcOH}$ dans le 1,2-dichloroéthane a conduit au composé **12** avec un rendement modeste de 36% après purification par chromatographie sur gel de silice (Schéma 9).

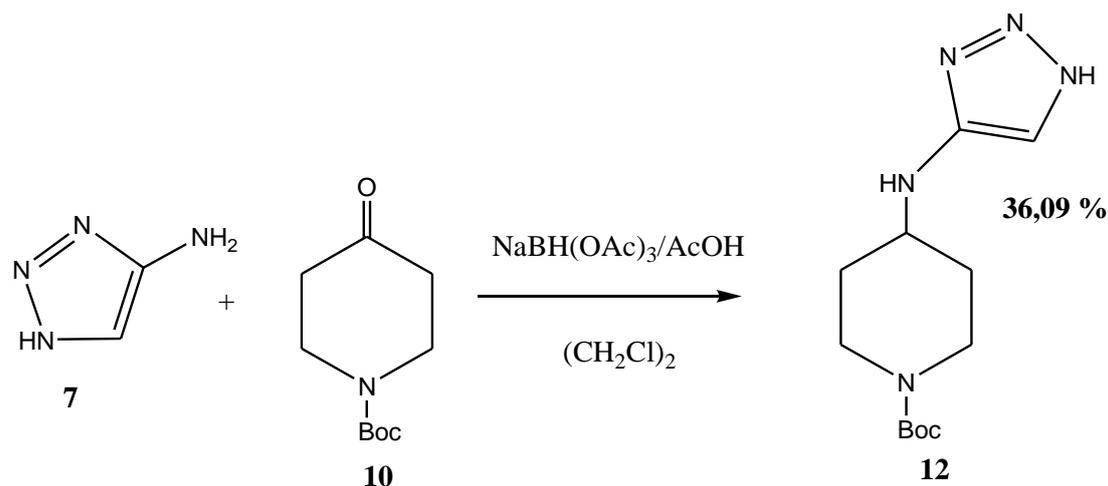


Schéma 9 : Synthèse du composé 12

II-3 Etude d'Activité Anti-inflammatoires

II-3-1 Méthodologie

L'inflammation est un processus biologique crucial pour maintenir l'homéostasie. Il est essentiel de combattre efficacement les agents pathogènes et de réparer les lésions tissulaires¹⁷. La douleur est l'un des symptômes les plus importants de la maladie inflammatoire, qui est un processus physiopathologique qui active les mécanismes de défense pour protéger l'organisme contre l'agent causal¹⁸. Cependant, le processus inflammatoire est associé à des effets, composants essentiels de diverses maladies telles que la polyarthrite rhumatoïde, le diabète de type 2, le cancer, l'obésité, l'asthme, les pathologies cardiovasculaires et neurodégénératives^{19,20}. Les médicaments couramment utilisés pour prévenir la réponse inflammatoire sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les glucocorticoïdes. Et le choix de ces molécules, c'est d'étudier leurs activités anti-inflammatoires. Ils sont efficaces mais entraînent toutefois des effets indésirables graves²¹.

¹⁷ R. Fürst, I. Zündorf. Plant-derived antiinflammatory compounds : hopes and disappointments regarding the translation of preclinical knowledge into clinical progress. *Mediators of Inflamm.* **2014** :1-9.

¹⁸ J.A.Rodrigues, E.S.Vanderlei, L.M.Silva, I.W.Araujo, I.N.Queiroz, G.A. Paula. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of a sulfated polysaccharide isolated from the green seaweed *Caulerpa cupressoides*. *Pharmacol Rep.*, **2012** ;64 (2) :282-292.

¹⁹ P.Galanaud. Inflammation et antiinflammatoires. *La Revue du Praticien.* **2003** ;53(5) :476-477.

²⁰ R.Scrivo, M.Vasile, I. Bartosiewicz, G. Valesini. Inflammation as "common soil" of the multifactorial diseases. *Autoimmun Rev.* **2011** ;10(7) :369-374.

²¹ G. Orliaguet, O. Gall, F. Lambert-Benabess, Nouveautés concernant les antiinflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Mapar.* **2013** :557-571.

Le but de notre travail est d'étudier les activités anti-inflammatoires de molécules dérivés du paracétamol et de la pipéridine chez la souris et l'œdème de la patte du rat induit par la carragénine.

Les matériels et méthodes sont utilisés suivant les médicaments pour l'activité anti-inflammatoire. Et parmi les médicaments, nous avons le carraghénane, l'acide acétylsalicylique, l'acide acétique ont été obtenus auprès de Sigma Aldrich, la bétaméthasone et les nouvelles molécules dérivés du paracétamol.

C'est ainsi que l'étude de l'activité anti-inflammatoire sera faite sur les animaux tels les rats et les souris. Des rats adultes de souche Wistar KYOTO (environ 180 g) et un poids corporel de souris (environ 20 g) ont été utilisés. Les animaux avaient libre accès à la nourriture et à l'eau. Les protocoles expérimentaux seront conduits conformément aux directives sur le soin et l'utilisation des animaux de laboratoire (Comité national d'éthique pour la recherche en santé du Sénégal).

II-3-2 Procédure expérimentale

L'étude anti-inflammatoire sera réalisée selon la méthode décrite par Winter²². Les rats seront divisés en 8 groupes de 5 animaux. Ils seront ensuite à jeun 12 heures avant l'expérience. Pour chaque rat, le diamètre initial (Do) de la patte postérieure gauche sera mesuré avec un compas numérique :

- Groupe 1 (témoin) : solution saline normale (10 mL / kg, per os)
- Groupe 2 (référence) : Bétaméthasone (1 mg / kg, per os)
- Groupe 3 (référence) : Acide acétylsalicylique (AAS) (10 mg / kg, per os)
- Groupes 4 et 5 (traité) : cible1 (1 et 3 mg / kg, per os)
- Groupes 6, 7 et 8 (traités) : cible 2 (1, 3 et 10 mg / kg, per os).

L'œdème de la patte du rat sera induit par l'injection d'une solution de carraghénane à 1%

(100 µL) sous la région planteuse de la patte postérieure gauche du rat, 1 h après l'administration orale de différentes solutions.

L'augmentation de l'œdème sera mesurée avec un compas digital à 180 et 300 minutes (T3h et T5h) après une injection de carraghénane.

²²C.A.Winter, F.A. Risley, G. Nuss. Carrageenan induced oedema in hand paw of the rat as assays anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1962** ; *111* :544-547.

L'essai de résistance sur souris sera utilisé. Les contorsions ont été induites par une injection intrapéritonéale d'acide acétique à 3%. Les animaux seront divisés en 6 groupes de 5 souris chacun. Ils seront ensuite mis à jeun 12 heures avant les tests. Les souris seront traitées avec les solutions suivantes :

- Groupe 1 (témoin) : solution saline normale (10 ml / kg, per os)
- Groupe 2 (référence) : acide acétylsalicylique (AAS) (10 mg / kg, per os)
- Groupe 3 et 4 (traités) : cible 1 (3 et 10 mg / kg, per os)
- Groupes 5 et 6 (traités) : cible 2 (3 et 10 mg / kg, per os).

Une injection intrapéritonéale de solution d'acide acétique à 3% sera réalisée 1 heure après le gavage. La sensibilité à la douleur sera évaluée par le nombre de contorsions compté pendant 30 min après le temps de latence.

L'étude est toujours en cours car pour des problèmes de disponibilité de réactif de tests anti-inflammatoires nous avons bouclé cette rédaction en attendant d'y revenir avec les résultats de tests.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le paracétamol est un médicament largement prescrit et utilisé. Cependant, l'image de produit sûr qu'il véhicule n'en fait pas pour autant un produit de grande consommation. En effet, comme nous l'avons vu, pris à mauvais escient en surdosage, les conséquences peuvent s'avérer dramatiques malgré une prise en charge des intoxications du paracétamol par les services de soins très bien optimisée.

Cette étude nous a permis de synthétiser de molécules dérivées du paracétamol et de la pipéridine et de faire des tests d'activité anti-inflammatoires qui sont en cours. Nous avons à travers ce travail valorisé en chimie médicinale la synthèse des nouvelles molécules d'hétérocycle azoté.

Dans ce travail, nous avons développé de nouvelles méthodologies permettant d'accéder à une grande diversité de composés anti-inflammatoires en proposant des réactions de type pseudo peptidique, d'amination réductrice, d'acylation et de condensation. Les procédures expérimentales seront réalisées par les groupes de médicaments permettant d'étudier l'inflammation sur chaque rat.

En perspectives, il serait donc plus intéressant de poursuivre nos études dans le sens de découvrir de nouvelles molécules anti-inflammatoires dérivés du paracétamol en vue de pouvoir développer et de synthétiser d'autres molécules biologiquement actives afin d'améliorer la potentielle impasse thérapeutique.

Ce travail de mémoire m'a permis de me familiariser avec les méthodologies de synthèse, de la recherche bibliographie, de manipulation chimique, un suivi de réaction chimie (CCM), et de purification sur colonne chromatographique de gel de silice. Elle nous a permis également de développer un savoir être, un savoir-faire et un travail d'équipe.

TROIXIEME PARTIE :
PARTIE
EXPERIMENTALE

III- Partie Expérimentale

III-1 Matériels

III-1-1 Techniques expérimentales

Les chromatographies sur couche mince (CCM) sont réalisées sur des plaques Merck Kieselgel 60 F254 de 0,25 mm d'épaisseur. Les révélations sont faites par éclairage ultraviolet à 254 nm, par les réactifs de Kâgi-Misher ou de Dragendorff ou à l'iode, puis chauffage à 100°C. Les réactifs sont séchés par le MgSO₄ et les chromatographies sur colonne sont effectuées sur gel de silice Merck 230-400 Mesh ou sur alumine neutre standardisée Merck 70-230 Mesh. L'éluant acétate d'éthyle / cyclohexane ((7 /3) et (6 /4)) et une verrerie sèche à l'étuve ont été utilisés.

III-1-2- Spectroscopies et caractéristiques physiques

➤ Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres RMN du proton et du carbone ont été enregistrés sur des spectromètres, Brüker ARX 400 et 500.

Les déplacements chimiques (δ) observés sont exprimés en ppm (partie par million) soit par rapport au tétraméthylsilane pris comme référence interne, soit par rapport au solvant deutéré utilisé. La multiplicité des signaux en RMN du proton est indiquée de la manière suivante : RMN ¹H (fréquence, solvant deutéré) : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), quint (quintuplet) et m (multiplet ou massif). Pour l'attribution des signaux des spectres de ¹H et ¹³C, on a eu recours dans certains cas à des techniques de J-module et NOE-différence en une dimension, ainsi qu'à des corrélations à deux dimensions : COSY, HMBC, HMQC et NOESY.

➤ Spectroscopie Infrarouge (IR)

La spectroscopie d'infrarouge permet de déterminer la présence de groupements fonctionnels dans les molécules organiques, et les structures dans certaines molécules simples. En effet, l'expérience montre que certaines fréquences de vibration, dites « fréquences de groupe », sont caractéristiques de la présence d'un groupement chimique dans la molécule étudiée. La théorie mécanique des vibrations permet de prévoir l'existence des fréquences de groupe à partir des ordres de grandeur des différents types de constante de force²³. Ainsi, la spectroscopie infrarouge est un très puissant moyen de caractérisation pour identifier des groupements

²³ G. HERZBERG ; D.V Nostrand Company, Inc In Infrared and Raman Spectra of Polyatomic Molecules *Molecular Spectra and Molecular Structure.*, **1945**.

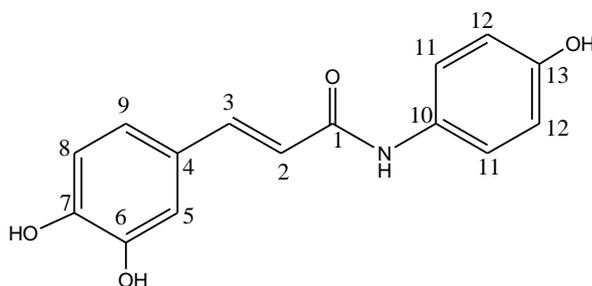
moléculaires et obtenir de nombreuses informations microscopiques sur leur conformation et leurs éventuelles interactions²⁴.

III-2 Mode opératoire

III-2-1 Préparation du composé 3

Dans un ballon de 50mL contenant (100 mg ; 0,916 mmol) de 4-aminophénol on y ajoute de l'acide 3,4-dihydroxycinnamique (329 mg ; 1,832 mmol) et 5 mL de l'acétonitrile. La réaction est maintenue sous agitation pendant 24h. Après 24h d'agitation sous pression d'azote à température ambiante, 10mL d'acétate d'éthyle et 10 mL d'HCl sont ajoutés. La phase aqueuse est extraite par 3 fois 5 mL d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies puis lavées successivement avec 10 ml de NaHCO₃ saturé, 10 ml d'eau, et 10 ml de NaCl. La phase organique est séchée par le MgSO₄ puis filtrée et concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par colonne sur gel de silice (acétate d'éthyle / cyclohexane (6 /4) pour donner une poudre noire correspondant au dérivé du paracétamol avec un rendement de 51,57% (0,1281 g).

Formule brute : **C₁₅H₁₃NO₄** Masse molaire : **271,1g/mol**



IR (cm⁻¹) : ν N–H associé = 3208,67 cm⁻¹ ; ν C=O = 1654,02 cm⁻¹ ;

RMN ¹H (400MHZ, DMSO-d₆) : δ ppm : 9,84 (s, 1H, NH) ; 7,67 (d, 1H, H) ; 7,47 (d, 2H, H) ; 6,77 (d, 1H, H) ; 6,71 (d, 2H, H) ; 6,52 (d, 1H, H) ; 6,49 (s, 1H, H) ; 6,28 (s, 1H, H) ; 4,16 (s, 3H, 3OH).

RMN ¹³C (100MHZ, DMSO-d₆) : δ ppm : 163,89 (C_{carboxyle}) ; 153,71 C ; 148,11 C ; 146,12 C ; 140,42 C ; 131,66 C ; 126,73 C ; 121,22 (2C) ; 121,10 C ; 119,13 C ; 116,26 C ; 115,58 (2C) ; 114,32 C.

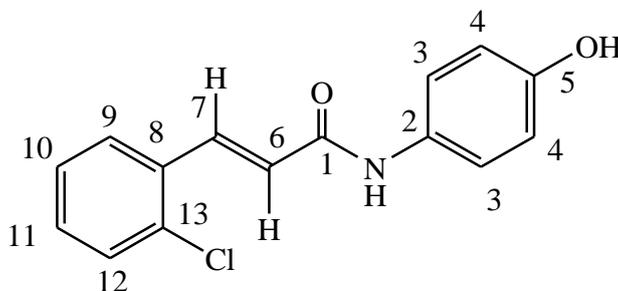
²⁴ R. T. CONLEY. *Infrared Spectroscopy*. Alin and Bacon Inc., **1966**.

III-2-2 Préparation du composé 5

On ajoute dans un ballon de 50 ml (162 mg ; 1,492 mmol) de 4-aminophénol et (150 mg ; 0,746 mmol) de 2-chlorocinnamoyl chloride avec 5 ml de l'acétonitrile. La réaction est mise en reflux pendant 3h puis remontée à température ambiante. Après évaporation du solvant, on met 5 ml d'acétate d'éthyle et 2 ml d'eau. La phase aqueuse est lavée 3 fois 5 ml par l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies puis séchées par MgSO₄ et concentrées sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (acétate d'éthyle / cyclohexane (7/3) pour donner une poudre noire correspondant au dérivé du paracétamol avec un rendement de 24,68% (0,0274 g).



Masse molaire $M=273\text{g/mol}$



IR (cm⁻¹) : ν_{NH} associé=3286,44cm⁻¹ ; $\nu_{\text{C=O}}$ =1647,84cm⁻¹ ; ν

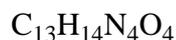
RMN ¹H (500MHZ, DMSO-d₆) : δ ppm : 10,25 (s, 1H, NH) ; 9,75 (s, 1H, H) ; 7,85 (d, 1H, H) ; 7,75 (s, 1H, H) ; 7,5 (d, 1H, H) ; 7,45 (d, 2H, H) ; 7,25 (s, 2H, H) ; 6,75 (s, 1H, H) ; 2,5 (d, 2H, H).

RMN ¹³C (125MHZ, DMSO-d₆) : δ ppm : 164,01 C ; 154,40 C ; 136,36 C ; 134,37 C ; 133,19 C ; 132,23 C ; 131,28 C ; 130,90 C ; 128,72 C ; 128,65 C ; 125,62 (2C) ; 122,43 C ; 116,25 (2C).

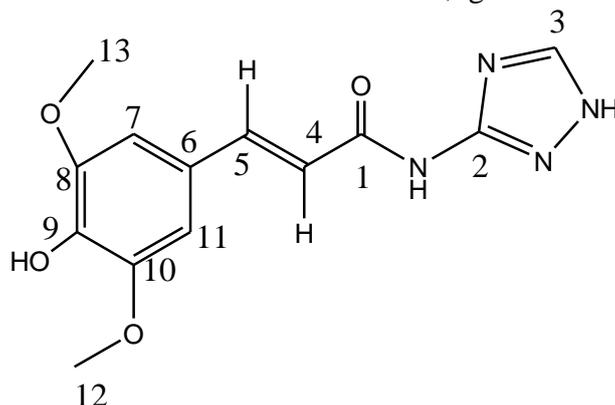
III-2-3 Préparation du composé 8

Dans un ballon de 50 mL contenant (100 mg ; 1,189 mmol) de 3-amino-1,2,4-triazole on y ajoute de l'acide 4-hydroxy 3,5-diméthylcinnamique (410 mg ; 1,783 mmol) et 5 mL de l'acétonitrile. La réaction est maintenue sous agitation pendant 24h. Après 24h d'agitation sous pression d'azote à température ambiante, 10 mL d'acétate d'éthyle et 10 mL d'HCl sont ajoutés après évaporation de l'acétonitrile utilisé comme solvant. La phase aqueuse est lavée par 3 fois 5 mL d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies puis lavées successivement avec

10 ml de NaHCO₃ saturé, 10 ml d'eau, et 10 ml de NaCl. La phase organique est séchée par le MgSO₄ puis filtrée et concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par colonne sur gel de silice (acétate d'éthyle / cyclohexane (6 /4) pour donner une poudre noire correspondant au dérivé de l'acide cinnamoyle avec un rendement de 67,23% (0,231 g).



Masse molaire: 290,1g/mol

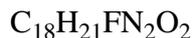
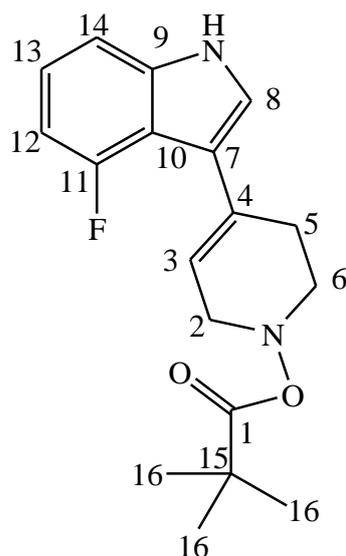


RMN (500MHZ, DMSO) : δ ppm : 9,5 (s, 1H, HN) ; 8,3 (s, 1H, H) ; 8 (s, 1H, NH) ; 7,57 (d, 1H, H) ; 7,5 (s, 1H, H) ; 7,37 (d, 1H, H) ; 7,29 (s, 1H, OH) ; 3,82 (s, 6H, 2OCH₃).

RMN ¹³C (125MHZ, DMSO) : δ ppm 165,77 (C=O) ; 157,89 C ; 151,39 C ; 148,55 (2C) ; 139,89 (C=C), 124,71 C ; 124,20 C ; 119,21 C ; 113,45 C, 107,07 C ; 56,59 (2C)

III-2-4 Préparation du composé 11

Dans un ballon de 100 ml, on introduit (100 mg ; 5,26 mmol) de 4-fluoro indole et 1-tert butyl-4-piperidone (747 mg ; 3,748 mmol) avec du KOH (373 mg ; 4,444 mmol) dans l'isopropanol avec 3,46 ml. Le mélange est laissé au reflux pendant 24h puis remonté à température ambiante et condensé sous vide. Le résidu brut est traité avec 20 ml d'acétate d'éthyle et 10 ml d'eau. La phase aqueuse est lavée 3 fois 5 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont rassemblées puis séchées par MgSO₄ et concentrées sous vide. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel sur colonne de gel de silice (acétate d'éthyle / cyclohexane (7 /3) pour donner une poudre correspondant à l'hétérocycle azoté avec un rendement de 85%.



Masse Molaire= 316,2g/mol

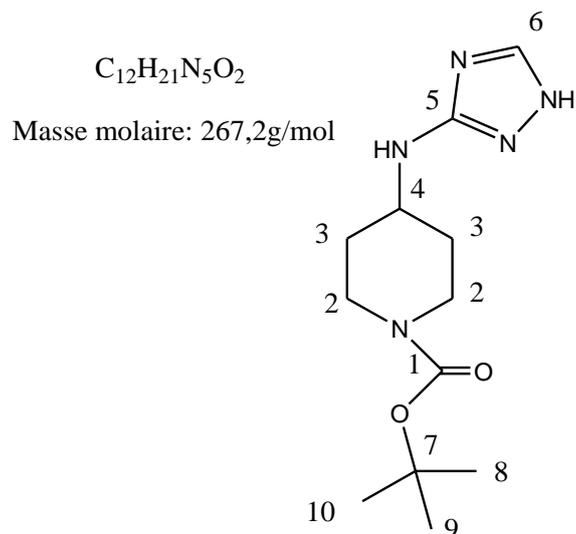
IR(cm^{-1}) : ν_{NH} =3319,29 cm^{-1} ; $\nu_{C=O}$ =1662,65 cm^{-1} ;

RMN 1H (500MHZ, $CDCl_3$) : δ ppm : 8,5 (s, 1H, NH) ; 7,8 (q, 1H, H) ; 7,1 (d, 1H, H) ; 7,05 (dd, 1H, H) ; 6,9 (m, 1H, H) ; 6,1 (s, 1H, H) ; 4,1 (s, 2H, H) ; 3,7 (t, 2H, H) ; 2,5 (s, 2H, H) ; 1,5 (s, 10H, H).

RMN ^{13}C (125MHZ ; $CDCl_3$) : δ ppm : 151,40 C, 148,05 C, 124,20 C, 119,21 C, 113,85 C, 110,57 C, 107,34 C, 107,09 C, 106,50 C, 106,38 C, 106,23 C, 40,36 CH, 40,22 CH, 40,09 C, 39,951 (3C).

III-2-5 Préparation du composé 12

A une solution du 1,2-dichloroéthane est ajoutée successivement (200 mg ; 2,379 mmol) du 3-amino 1,2,4-triazole et dans (474,178 mg ; 2,379 mmol) du 1-tert butyl-4-piperidone avec du $NaBH(OAc)_3/AcOH$ (757 mg ; 3,569 mmol). La réaction est mise au reflux pendant 24h puis remise à température ambiante. Ensuite le solvant a été évaporé. Après agitation, 20 ml d'acétate d'éthyle et 10 ml d'eau sont additionnés dans l'ampoule à décanté. Après séparation, les deux phases ont été récupérées. La phase aqueuse a été lavée par 3 fois 5 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques ont été réunies, séchées par $MgSO_4$ et concentrées sous vide. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel sur colonne de gel de silice (Acétate d'éthyle / cyclohexane (7 /3) pour donner une poudre correspondant à l'hétérocycle azoté avec un rendement de 36,09% (0,2312 g)



RMN 1H (500MHZ, $CDCl_3$) : δ ppm : 10,5 (s, 1H, NH) ; 9 (d, 1H, H) ; 4,6 (s, 1H, NH), 3 (s, 4H, H) ; 1,7 (s, 1H, H) ; 1,4 (t, 4H, H) ; 1,2 (s, 9H, H).

RMN ^{13}C (125MHZ, $CDCl_3$) : δ ppm : 172 C, 154,38 C, 154,32 C, 42 C, 41,93 C, 40,19 (2C), 28,58(2C), 28,54 (3C).

ANNEXES



Rota vapeur



RMN haute résolution à 500MHZ



Plaque CCM du composé 5 Plaque CCM du composé 3 Après traitement du composé 3



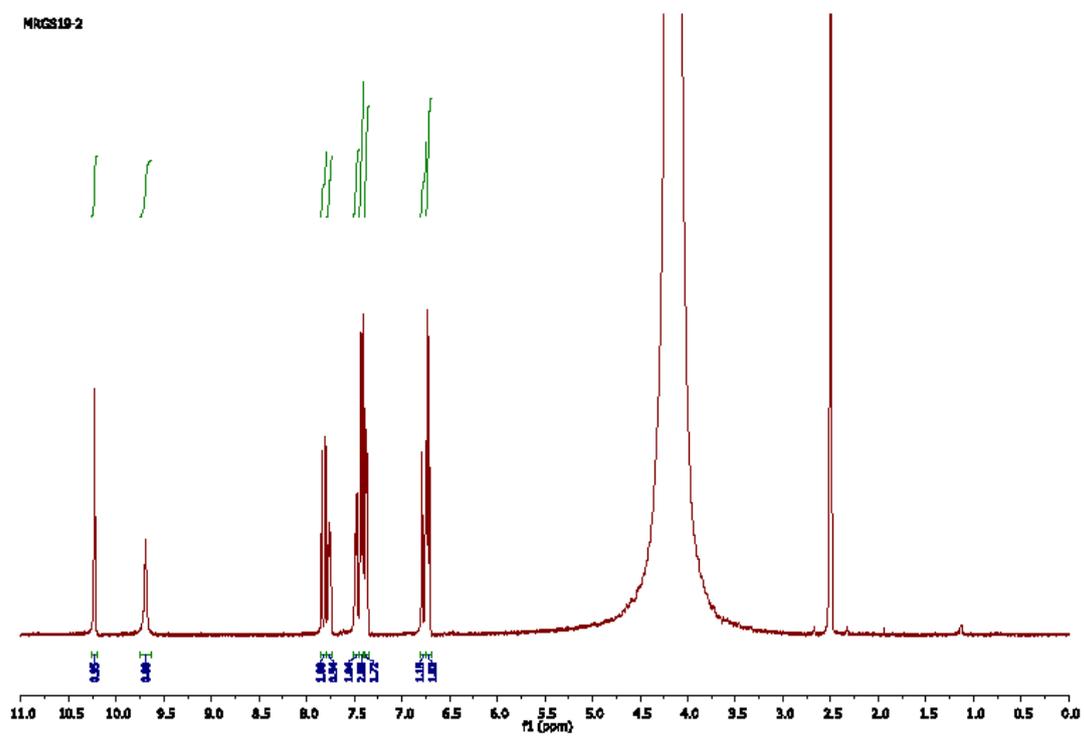
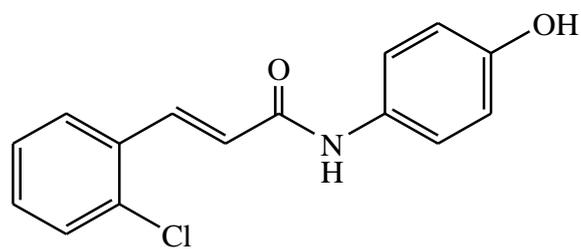
Ampoule à décanté

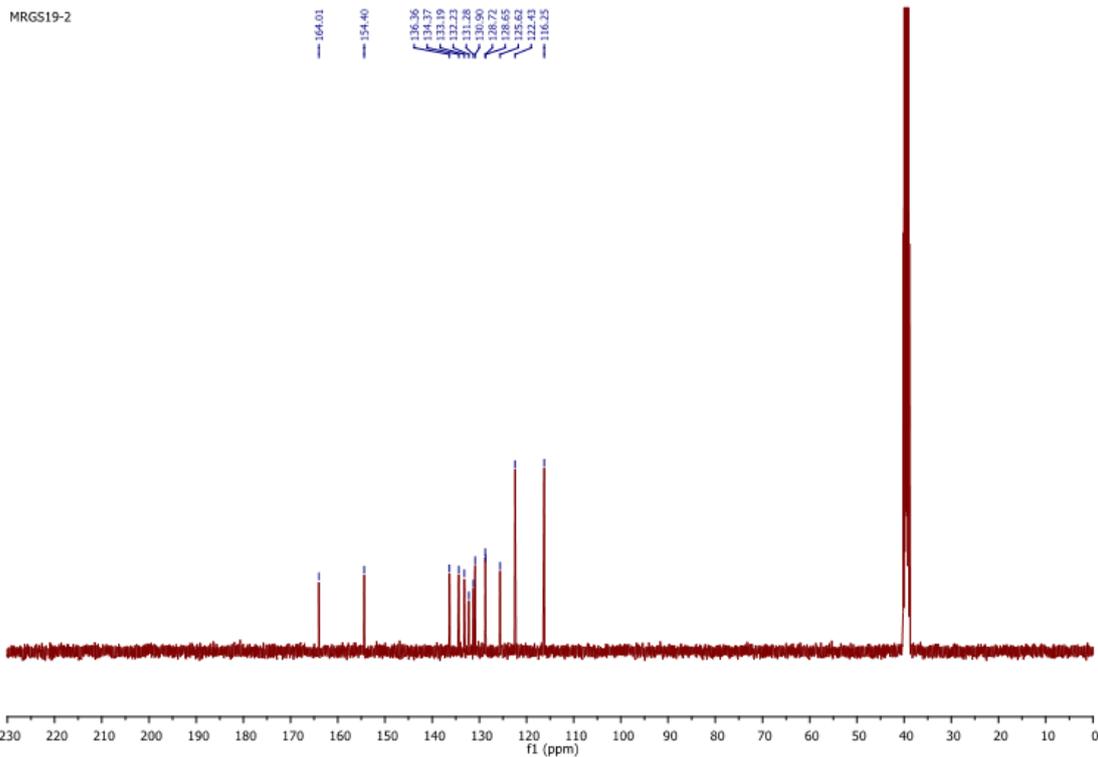


Chromatographique sur colonne du composé 5

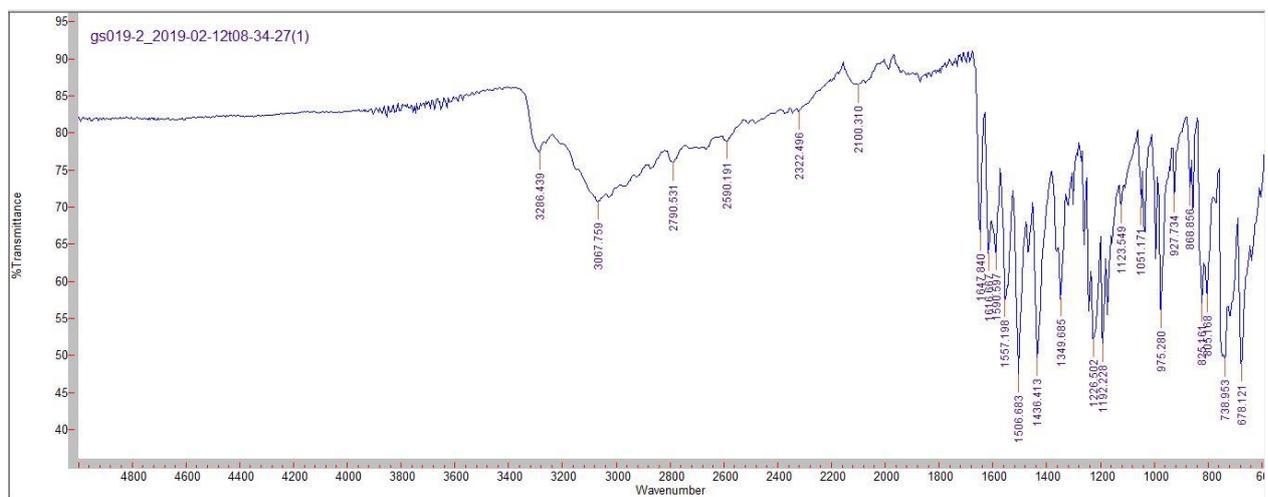


✓ Les spectres RMN de carbone et proton du composé 5

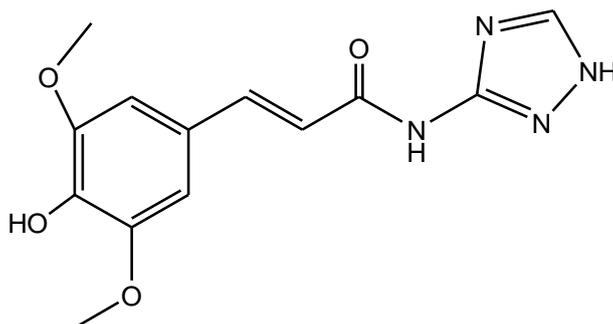




✓ Le spectre IR du composé 5



✓ Les spectres de carbone et de proton du composé 8



Les spectres RMN du Carbone et du Proton du composé 12

