

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD
FACULTE DE MEDECINE
DR. B. BENZERDJEB - TLEMCEM



وزارة التعليم العالي
والبحوث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد
كلية الطب
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME :

COUMARINES À INTÉRÊT THÉRAPEUTIQUE : SYNTHÈSE ET CONTRÔLE ANALYTIQUE

Présenté par: REZINE Fethi
FEDAUCHE Mohammed Selem

Soutenu le : 04/07/2017

Le Jury

Président :

Pr MOSTEFA-KARA Bachir Professeur en chimie de la faculté des sciences. Université de Tlemcen

Membres :

Pr BENSAID Okkacha Professeur en chimie de la faculté des sciences. Université de Tlemcen
Dr MERZOUG Soumia Maître assistante hospitalo-universitaire en chimie thérapeutique.
Université de Tlemcen

Dr HASSAINE Sarah Maître assistante hospitalo-universitaire en pharmacognosie.
Université de Tlemcen

Encadreur

Dr BEGHDAI Sara El Mansouria Maître assistante hospitalo-universitaire en chimie thérapeutique.
Université de Tlemcen

Co-encadreur

Dr BETTIOUI Souad Doctorant en chimie de la faculté des sciences. Université de Tlemcen

Remerciements

Ce travail a été réalisé, en majeure partie, au niveau du laboratoire de Chimie Thérapeutique et Chimie Organique, à la faculté de médecine Tlemcen [Université Abou BekrBelkaid]

Avant toute chose, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail.

*Au terme de ce travail, nous tenons d'abord à remercier respectueusement **Dr.BEGHDADI SARA**, maître assistante en Chimie Thérapeutique, pour nous avoir accueillis au sein du laboratoire, d'avoir dirigé ce travail, pour ses conseils et ses orientations, ainsi que pour sa rigueur scientifique*

*Notre sincère gratitude s'adresse aussi à **Dr.BETIOUI Souad**, doctorante en chimie –Faculté des Sciences- pour sa disponibilité, ainsi que ses conseils qui nous ont été précieux.*

*Nous remercions également **Pr MOSTEFA-KARA Bachir**, professeur en chimie à la faculté des sciences, pour son aide et ses avis scientifiques, et d'avoir accepté de présider ce jury.*

*Nous présentons nos sincères remerciements à **Dr MERZOUG Soumia**, maître assistante en Chimie thérapeutique, **Dr. HASSAINE Sarah**, maître assistante en pharmacognosie, et **Pr.***

***BENSAID Okkacha**, professeur en Chimie à la faculté des sciences, d'avoir accepté d'examiner et discuter ce modeste travail.*

*Mr **BENSAID**, merci pour votre aide à réaliser le test de point de fusion.*

*Nous tenons à remercier **Dr Benzerdjeb Salima** pour ses précieux conseils scientifiques qui nous ont servi dans l'orientation de nos travaux.*

*Nos remerciements ne seraient pas complets sans mentionner, **madame Malek Rachida**, ingénieur de laboratoire de chimie thérapeutique et organique qui, à travers sa disponibilité permanente en étant toujours à notre service et son soutien, on a réussi à finaliser notre étude.*

*On tient à remercier **mademoiselle CHERIFI Imene** de nous avoir accueillis pour le test d'infrarouge à Oran.*

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

À mes chers parents, ma mère Meriem et mon père

Bouziane

qui m'ont encouragé pour que je réussisse dans mes études

Pour leur sacrifice, soutien et leur patience

À ma famille mes frères et sœurs pour leur encouragement

À mes amis de la promotion de 6^{ème} année pharmacie

que j'ai vécu avec eux des beaux moments au cours de mon

cursus à l'université



Dédicaces

*À ma chère mère Meriem pour son soutien infatigable, sa patience
admirable.*

*À mon cher père Habib pour son affection continuelle, qui m'a
beaucoup aidé dans ma vie et durant mes études.*

*À mon frère Soufyane qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier
pour moi.*

À ma sœur Radia et tous les membres de sa famille.

*À ma chère tante Djamila pour son soutien tout le long de ma vie
scolaire.*

À tous les membres de ma famille.

*À mes amis : Ibrahim, Abdessah, Mohammed, Mohammed Amine,
Amine, Ancuar, Mohammed, Abdou, Ahmed Charaf Eddine,
Fares, Moussaab, Ismail.*

*À toute ma promotion: Abderrahmen, Otmane, Mohammed, Bilal,
Djaber, Ismail, Oussama, Yassine, Oday, Habib, Abdessatif,
Aymen, Nazime et Nadjib.*

LISTE DES FIGURES	8
LISTE DES TABLEAUX	12
LISTE DES ABREVIATIONS	14
INTRODUCTION GENERALE	16
CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	19
I. Coumarines : Généralités	20
I.1. Introduction	20
I.2. Structure chimique et nomenclature.....	21
I.3. Classification.....	22
I.3.a. Coumarines simples	23
I.3.b. Furocoumarines	25
I.3.c. Pyranocoumarines	26
I.4. Les différentes méthodes de synthèses des coumarines	26
I.4.a. Synthèse des coumarines par la réaction de Pechmann	27
I.4.b. Synthèse des coumarines par réaction de Perkin	28
I.4.c. Synthèse des coumarines par la réaction de Wittig	28
I.4.d. Synthèse des coumarines par la réaction de Knoevenagel.....	29
I.4.e. Synthèse des coumarines par la réaction de Reformatsky.....	29
I.5. Activités thérapeutiques des coumarines.	30
I.5.a. Activité anti spasmodique.....	30
I.5.b. Activité anti tumorale.....	31
I.5.c. ctivité anti inflammatoire et analgésique.....	32
I.5.d. Activité photo sensibilisante	32
I.5.e. ctivité anticoagulante.....	33
I.5.f. Activité vasodilatatrice.....	33
I.5.g. Activité antibiotique.....	34
I.5.h. Activité antivirale.....	34
I.5.i. Autres activités	34
I.6.Relation structure activité	35
I.6.a. C'est quoi SAR	35
I.6.b. Pourquoi SAR	35
I.6.c. SAR des coumarines dans les maladies.....	35

I.7. Propriétés physiques.....	39
I.7.a. _Caractères organoleptiques.....	39
I.7.b. Propriétés physiques.	40
I.8. Analyse structurale des coumarines..	40
I.8.a. Fluorescence sous la lumière UV	40
I.8.b. Spectroscopie infrarouge IR	41
I.8.c. ectroscopie ultraviolet UV	41
I.8.d. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire RMN	42
I.8.e. La spectrométrie de masse des coumarines.....	42
II. Synthèse des coumarines à activité thérapeutique	43
II.1.7-hydroxy-4-méthylcoumarine(HM).....	43
II.1.a. Généralités.....	43
II.1.b. Principe de synthèse	43
II.1.c. Bilan réactionnel	44
II.1.d. Mécanisme de la réaction.....	44
II.1.e. Applications pratiques	45
II.1.f. Profil pharmacologique	46
II.1. f.1. Indication	46
II.1. f.2. Contre-indication	46
II.1. f.3. Mises en garde et précautions d'emploi	46
II.1. f.4. Interaction	46
II.1. f.5. Grossesse et allaitement	46
II.1. f.6. Effet indésirable	46
II.1. f.7. Pharmacodynamique	46
II.1. f.8. Pharmacocinétique	46
II.1.g. Recherche et développement.	47
II.1.h. Hymecromone : Relation structure activité	47
II.2. 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine.....	48
II.2.a. Généralités.	48
II.2.b. .b. Principe de synthèse	48
II.2.c. Bilan réactionnel	48
II.2.d. .d. Mécanisme de la réaction	49
II.2.e. re applications de synthèse.....	49
II.3. 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine.....	50
II.3.a. Généralités	51
II.3.b. Principe de synthèse.....	51
II.3.c. Bilan réactionnel.....	51
II.3.d. .d. Mécanisme de la réaction	51
II.3.e. Applications pratiques	52

III. Propriétés thérapeutiques du 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine et 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine.....	53
III.1. Activité antibactérienne.....	53
III.2. Activité anti-inflammatoire	54
CHAPITRE II : PARTIE PRATIQUE.....	55
MATERIEL ET METHODES	56
I. Introduction :	57
II. Synthèses chimiques :	58
II.1 Synthèse de 7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P1)	58
II.1.a. purification du résorcinol.....	58
II.1.a.1. étape de recristallisation	58
II.1.a.2. choix de solvant de recristallisation	59
II.1.a.3. Réactifs	60
II.1.a.4. Matériel	61
II.1.a.5. Méthode	61
II.1.b. Synthèse du 7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P1) :.....	64
II.1.b.1. Réactifs	64
II.1.b.2. Produits	65
II.1.b.3. Matériel	66
II.1.b.4. Méthode	67
II.2. Synthèse de 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P2) :.....	72
II.2.a. Réactifs.	72
II.2.b. Produits.	73
II.2.c. Matériel	74
II.2.d. Méthode	75
II.3. Synthèse de 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P3) :.....	77
II.3.a. Réactifs	77
II.3.b. Produits..	78
II.3.c. Matériel	78
II.3.d. Méthode..	79
III. Identification :	81
III.1. Test de solubilité	81
III.1.a. Principe.....	81
III.1.b. Réactifs	81
III.1.c. Matériel	81
III.1.d. Méthode	82

III.2. Réactions chimiques	82
III.2.a. Principe	82
III.2.b. Réactifs.	82
III.2.c. Matériel	83
III.2.d. Méthode	83
III.3. Mesure de point de fusion.....	84
III.3.a. Principe	84
III.3.b. Réactifs.....	84
III.3.c. Matériel	84
III.3.d. Méthode	84
III.4. Caractérisation par une technique séparative : chromatographie sur une couche mince	85
III.4.a. Principe	85
III.4.b. But	85
III.4.c. Réactifs.....	86
III.4.d. Matériel	87
III.4.e. Méthode	87
III.5. Identification spectrale par analyse infrarouge	88
III.5.a. Principe	88
III.5.b. Réactifs	89
III.5.c. Matériel	89
III.5.d. Méthode.....	90
RESULTATS ET DISCUSSION.....	92
I. Synthèses chimiques	93
I.1. Synthèse de 7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P1)	93
I.1.a. Purification du résorcinol.....	93
I.1.a.1. Aspect	93
I.1.a.2. Calcul de rendement de purification	94
I.1.b. Synthèse de 7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P1).....	95
I.1.b.1. Aspect	95
I.1.b.2. Calcul de rendement de synthèse du P1(R1).....	96
I.2. Synthèse de 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P2)	98
I.2.a. Aspect.....	98
I.2.b. Calcul du rendement de synthèse du P2a et P2b.....	100
I.3. Synthèse de 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P3)	102
I.3.a. Aspect :	102
I.3.b. Calcul du rendement de synthèse de P3b et P3a	103

II. Identification	106
II.1. Test de solubilité.....	106
II.1.a. Résultat.....	106
II.1.b. Discussion :	109
II.2. Réactivité chimique avec le chlorure du fer(III) :	110
II.2.a. Résultat	110
II.2.b. Discussion	111
II.3. Mesure de point de fusion :	111
II.3.a. Résultat	111
II.3.b. Discussion	114
II. 4. Caractérisation par une technique séparative : chromatographie sur une couche mince :	115
II.4.a. Résultat	115
II.4.b. Discussion	118
II.5. Identification spectrale par analyse infrarouge :.....	121
II.5.a. érorcinol purifié	121
II.5.a.1. Résultat	121
II.5.a.2. Discussion	122
II.5.b. .b. Produit de réaction de pechmann P1	123
II.5.b.1. Résultat	125
II.5.b.2. Discussion	126
II.5.c. ation.....	126
II.5.c.1. at des produits P2 (P2a et P2b)	129
II.5.c.2. Résultat du P2'	130
II.5.c.3. Discussion.....	130
II.5.d. .d. Produit de réduction P3b.....	130
P3b.....	132
CONCLUSION	133
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	135
ANNEXE	144

Liste des Figures

Etude Bibliographique

Figure 1: Fèves Tonka.....	20
Figure 2: Combinaison d'un benzène avec un pyrane en une coumarine.....	21
Figure 3: Parenté chimique de la coumarine et de son isomère structural.....	22
Figure 4: Structure générale des coumarines.....	23
Figure 5: Structure chimique du xanthylétine : pyranocoumarine linéaire.....	25
Figure 6: Structure chimique de quelques pyranocoumarines simples angulaires	25
Figure 7: Différentes voies de synthèses des coumarines.....	27
Figure 8: Condensation de Pechmann à partir du phénol.....	28
Figure 9: Schéma de synthèse des coumarines par la réaction de Perkin.....	28
Figure 10: Schéma de synthèse des coumarines par la réaction de Wittig	29
Figure 11: Schéma de synthèse des coumarines par la réaction de Knoevenagel.....	29
Figure 12: Schéma de synthèse des coumarines par la réaction de Reformatsky.....	29
Figure 13: Coumarines du khella (<i>Ammi visnaga. L</i>).....	31
Figure 14: Structure chimique des dérivés de 3-(N-aryl) carboxamide coumarine...	31
Figure 15: Structure chimique du cloricromène.....	32
Figure 16: Structure chimique d'une bicoumarine (état dimérique).....	32
Figure 17: Structure chimique des coumarines à activité photo sensibilisante.....	33
Figure 18: Structure chimique de la Warfarine.....	33
Figure 19: Structure chimique d'une coumarine à activité vasodilatatrice.....	33
Figure 20: Structure chimiques de quelques coumarines à activité antibiotique.....	34
Figure 21: Structure chimique du noyau coumarine.....	36
Figure 22: Structure chimique de l'hymécromone.....	43
Figure 23: Bilan de la réaction de Pechmann.....	44
Figure 24: Mécanisme de la réaction de Pechmann.....	45
Figure 25: Structure chimique du 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarin.....	48
Figure 26: Bilan réactionnel de synthèse du 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine..	48
Figure 27: Mécanisme réactionnel de synthèse du 8-nitro-7-hydroxy-4- méthylcoumarine.....	49
Figure 28: Structure chimique du 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine.....	50

Figure 29: Bilan réactionnel de synthèse du 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine	50
Figure 30: Mécanisme réactionnel de synthèse du 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine.....	52

Matériel et Méthode :

Figure 31: Schéma réactionnel des synthèses réalisées.....	57
Figure 32: Photographies illustrant la recristallisation du résorcinol.....	63
Figure 33: Photographies illustrant la synthèse du P1.....	71
Figure 34: Photographies illustrant la synthèse de P2 et P2'.....	76
Figure 35: Photographies illustrant la synthèse du P3a et P3b.....	80
Figure 36: Photographie montrant les étapes de préparation d'un échantillon à l'infrarouge.....	91

Résultat et Discussion :

Figure 37: Aspect comparatif du résorcinol impur avec le résorcinol purifié.....	93
Figure 38: Aspect comparatif entre P1 impur et P1 purifié.....	95
Figure 39: Bilan réactionnel de synthèse de l'hymecromone.	96
Figure 40: Aspect comparatif du P2b et P2a avec 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine	98
Figure 41: Aspect comparatif du P2' isolé et 6-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine	99
Figure 42: Bilan de synthèse des isomères nitrés par nitration du P1	100
Figure 43: Aspect des produits P3b et P3a obtenus par réduction successive du P2b et P2a.....	102
Figure 44: Bilan de synthèse d'un dérivé aminé par réduction du P2a	103
Figure 45: Solubilité du résorcinol dans différents solvants.....	106
Figure 46: Solubilité du P1 dans différents solvants.....	106
Figure 47: Solubilité du P2a dans différents solvants.....	107
Figure 48: Solubilité du P2b dans différents solvants.....	107
Figure 49: Solubilité du P2' dans différents solvants.....	108
Figure 50: Solubilité du P3b dans différents solvants.....	108
Figure 51: Résultat comparatif de la réaction au chlorure ferrique des composés avec un témoin négatif (à gauche)	110
Figure 52: Point de fusion du R au banc kofler.	111
Figure 53: Point de fusion du P1 au banc kofler.	112

Figure 54: Point de fusion comparatif du P2a et P2b au banc kofler.	112
Figure 55: Point de fusion du P2' au banc kofler.	113
Figure 56: Point de fusion comparatif du P3a et P3b au banc kofler.....	113
Figure 57: Plaque CCM, du résorcinol purifié et des produits synthétisés, examinée au visible puis sous UV dans l'éluant N°1.....	115
Figure 58: Plaque CCM, du résorcinol purifié et des produits synthétisés, examinée au visible puis sous UV dans l'éluant N°2.....	116
Figure 59: Spectre infrarouge du résorcinol purifié.....	121
Figure 60: Spectre infrarouge de référence du résorcinol selon Spectral Database for Organic compounds.....	121
Figure 61: Spectre infrarouge du produit de P1.....	123
Figure 62: Spectre infrarouge de référence de l'hymecromone selon Spectral Database for Organic Compounds.....	124
Figure 63: Spectre infrarouge de référence de l'hymecromone selon la Pharmacopée Japonaise XVI ^{ème} édition.....	124
Figure 64: Spectre infrarouge du produit P2a.....	126
Figure 65: Spectre infrarouge du produit P2b.....	127
Figure 66: Spectre infrarouge de l'isomère structural P2'.....	129
Figure 67: Spectre infrarouge du P3b.....	131

Liste des Tableaux

Etude Bibliographique

Tableau I: Distribution de quelques principales coumarines dans le règne végétal.....	21
Tableau II: Structure chimique des coumarines simples hydroxylés en C6, C7 ou C8....	23
Tableau III: Coumarines simples avec hydroxyle méthylé.....	23
Tableau IV: Coumarines simples à structure hétérosidique.....	24
Tableau V: Structure des coumarines simples prénylées et leur intérêt Thérapeutique	24
Tableau VI: Structure chimique des principales furocoumarines linéaires et angulaires...	25
Tableau VII: Relation structure activité des coumarines.....	37
Tableau VIII : Evaluation de l'activité antibactérienne du 8-nitro-7- hydroxy-4-méthylcoumarine et 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine.....	53
Tableau IX : Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de 8-nitro-7-hydroxy-4- méthylcoumarine et 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine.....	54

Matériel et Méthodes :

Tableau X: Réactifs utilisés dans la purification du résorcinol.....	60
Tableau XI: Matériel utilisé dans la purification du résorcinol.	61
Tableau XII: Réactifs de l'étape de synthèse du P1.....	64
Tableau XIII: Réactifs des étapes d'isolement et purification du P1.	65
Tableau XIV: Produits de synthèse du P1.	65
Tableau XV: Matériel utilisé dans la synthèse de l'hymecromone P1.....	66
Tableau XVI: Réactifs utilisés pour la synthèse de P2 et P2'.....	72
Tableau XVII: Produits de nitration du P1.....	73
Tableau XVIII: Matériel utilisé pour la nitration du P1.....	74
Tableau XIX: Réactifs de synthèse du produit P3.....	77
Tableau XX: Produits de synthèse du P3.....	78
Tableau XXI: Matériel utilisé dans la synthèse du P3.....	78
Tableau XXII: Réactifs utilisés dans le test de solubilité.....	81
Tableau XXIII: Matériel adopté pour le test de solubilité.....	81

Tableau XXIV: Réactifs utilisés dans la réaction au chlorure ferrique.....	82
Tableau XXV: Matériel utilisé pour la réaction au chlorure ferrique.....	83
Tableau XXVI: Réactifs utilisés dans la mesure du point de fusion.....	84
Tableau XXVII: Matériel utilisé pour la mesure du point de fusion	84
Tableau XXVIII: Réactifs utilisés dans la chromatographie sur couche mince.....	86
Tableau XXIX: Matériel utilisé dans la séparation chromatographique.....	87
Tableau XXX: Réactifs utilisés dans l'analyse infrarouge.....	89
Tableau XXXI: Matériel utilisé dans l'analyse infrarouge.	89

Résultats et Discussions

Tableau XXXII: Solubilité du résorcinol purifié et des produits synthétisés dans différents solvants.....	109
Tableau XXXIII: Coloration des solutions de solubilité dans les différents solvants.....	109
Tableau XXXIV: Résultats de la réaction du chlorure de fer(III) avec les produits	111
Tableau XXXV : Point de fusion mesuré pour les différents échantillons.....	114
Tableau XXXVI : Point de fusion de références des produits.....	114
Tableau XXXVII: Résultat du chromatographie sur couche mince dans l'éluant N°1 : [Cyclohexane/Ac-OEt ,10: 10(v/v)]	117
Tableau XXXVIII: Résultats du chromatographie sur couche mince : Éluant n°2 [AcOEt/ CHCl ₃ / AcOH, 8 :7 :0,5 (v/v/v)]	118
Tableau XXXIX: Analyse comparative du spectre IR du résorcinol purifié (R) avec le spectre de référence.....	122
Tableau XL: Analyse comparative du spectre IR du P1 avec le spectre de référence de l'hymecromone.....	125
Tableau XLI: Analyse comparative des spectres IRdes produits P2a et P2b.....	128
Tableau XLII: Analyse du spectre IR de l'isomère structural P2'	130
Tableau XLIII : Analyse du spectre IR du produit P3b.....	132

Liste des Abréviations

4-MU : 4- méthylumbeliferone

AcOEt : acétate d'éthyle

AcOH : acide acétique

AlCl₃ : chlorure d'aluminium

APTS : acide paratoluène sulfonique

CAS : chemical abstracts service

CCM : chromatographie sur couche mince

CF₃COOH : acide trifluoroacétique

CH₃-SO₃H : acide méthanesulfonique

CHCl₃ : chloroforme

d : densité

DCI: dénomination commune internationale

DMF : diméthylformamide

DMSO : diméthylsulfoxyde

Fe : fer

FeCl₂: chlorure de fer (II)

FeCl₃: chlorure de fer (III)

FeCl₄: ion tétrachloroferrate(III)

FTIR : spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

GC : chromatographie gazeuse

H₂SO₄ : acide sulfurique

HA : acide hyaluronique

HAS: Hyaluronate Synthetase

HCA : anhydrase carbonique humaine

HCl : acide chlorhydrique

HClO₄: acide perchlorique

HNO₃ : acide nitrique

HPLC : chromatographie liquide haute performance

IR : infra rouge

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

KBr : bromure de potassium

KMnO₄: permanganate de potassium

KOH : hydroxyde de potassium

LiBr : bromure de lithium

m.th : masse théorique

Ma : masse atomique

Mr : masse relative

N° ech : numéro de l'échantillon

NaCl : chlorure de sodium

NaOCH₃ : méthanolate de sodium

NaOH : hydroxyde de sodium

NH₃ : ammoniac

NH₄OH : hydroxyde d'ammonium

NO₂ : dioxyde d'azote

P₂O₅ : pentoxyde de phosphore

PEG-HSO₃ : polyéthylène glycol-acide sulfonique

Pf: point de fusion

Pka : constante d'acidité

QSP : quantité suffisante pour

Rf : rapport frontal

RMN : résonance magnétique nucléaire

S /vide : sous vide

SAR : Structure Activity Relationship (relation structure activité)

SE_{Ar} : substitution électrophile aromatique

SiO₂-SO₄H : dioxyde de silicium-acide sulfurique

Sn : étain

UDP: uridine diphosphate

UDP-Glc UA: UDP-acide glucoronique

UDP-GlcN Ac: UDP-N-acétyl-glucosamine

UGT : UDP-glucuronosyl transférase

Uma : unité de masse atomique

UV : Ultra violet

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

Zn : zinc

ZrCl₄: Chlorure de zirconium (IV)

NF-κB : facteur nucléaire kappa B

Tat : trans-activateur de la transcription

Introduction

Introduction Générale

Les coumarines constituent une grande classe d'hétérocycles. La plupart d'entre elles, sont douées d'activités biologiques variées. Parmi elles, on peut citer, l'activité anticoagulante dont le chef de file est la warfarine, l'activité anticancéreuse et hépatotrope dont le chef de file est l'hymecromone, l'activité antibiotique [1], l'activité analgésique et anti inflammatoire ou encore, l'activité anti-HIV [2] et photo-sensibilisante. Outre le domaine pharmaceutique, ces molécules peuvent avoir diverses applications en agroalimentaire et en cosmétique.

Vu l'importance de ces molécules et la diversité de leurs applications dans l'industrie pharmaceutique, les chercheurs s'intéressent de plus en plus à leurs conception, notamment les dérivés de l'ombélliférone. Le développement des procédés de synthèse peut déboucher sur de nouvelles molécules, ayant une action similaire ou meilleure que celle du médicament prototype, comme il peut améliorer les conditions opératoires d'une technique.

L'hymecromone est une coumarine dérivée de l'ombélliférone, commercialisée pour son effet hépatotrope et antispasmodique. De nombreuses recherches et études récentes portant sur des essais expérimentaux ou précliniques, ont prouvé son excellent pouvoir inhibiteur de l'acide hyaluronique (HA), un acide jouant un rôle primordial dans de nombreux processus pathologiques, y compris l'inflammation et la progression du cancer. L'hymécromone pouvait donc être indiquée pour le cancer de la prostate et du sein.

L'objectif principal de notre travail est de synthétiser, par condensation de pechmann, l'hymecromone. Cette substance est ensuite caractérisée, identifiée et sa pureté est contrôlée.

Accessoirement à cela, notre objectif était aussi de synthétiser et identifier des pyrocoumarines et autres, ayant des intérêts thérapeutiques variés surtout anti-inflammatoire et antibiotique, tels que 6-méthyl-2-[3',4'-dichlorobenzyl]-8H-pyrano[2,3-e] benzoxazol-8-one, le 6-méthyl-2-benzyl-8H-[2,3-e]benzoxazol-8-one et le 3-chloro-7-méthyl -9H-pyrano [2, 3-e] benzo-1, 4-oxazine-2,9-dione. Ces molécules ont tous l'hymécromone, comme précurseur de synthèse.

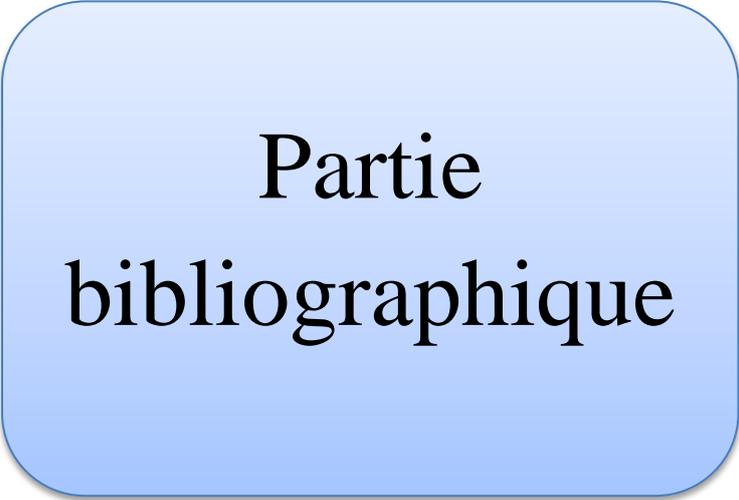
Ces synthèses ne se réaliseront qu'après la nitration préalable de l'hymécromone suivie de son amination réductrice. Ces intermédiaires sont aussi caractérisés, identifiés et leur pureté est estimée.

Introduction Générale

Notre travail porte sur deux grands chapitres :

- Le premier chapitre sera consacré à une étude bibliographique subdivisée en deux parties, la première traitant une étude généralisée sur les coumarines : leur structure, les différentes méthodes de synthèse, la relation structure activité....La seconde, expose les caractéristiques et chemins de synthèse et intérêt thérapeutique des trois dérivés, en question, de coumarine : l'hymecromone, le 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine, le 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine
- Le second chapitre, est aussi subdivisé en deux parties. La première expose le matériel et les techniques expérimentales suivies pour la synthèse, la caractérisation, l'identification et essais de pureté, des différents produits synthétisés. La seconde partie traite les résultats et leur discussion.

Ce manuscrit s'achève par une conclusion et des perspectives en vue d'amélioration de notre travail ou de le compléter.



Partie
bibliographique

I. Coumarines : Généralités

I.1. Introduction :

Le nom coumarine vient de « cumaru », qui représente, en langue amazonienne, l'arbre de « Tonka » (cf. Figure 1), dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine. Ces composés sont très importants et diversifiés car, beaucoup d'entre eux, existent à l'état naturel. En effet, aujourd'hui, près d'un millier de coumarines ont été décrites dans plus de 800 espèces de plantes et dans des micro-organismes [3].



Figure 1 : Fèves Tonka

Les coumarines sont formées dans les différentes parties des plantes et s'accumulent essentiellement dans les fruits et les racines, telles que les racines des flouves (Graminées d'Eurasie du genre *Anthoxanthum*), suivies par les feuilles et les écorces, ainsi que les tissus âgés ou lésés [4]. Ils sont présents sous forme libre ou hétérosides dans la plus part des familles de dicotylédones. On trouve des coumarines simples chez les Oléacées, Loganiacées et Solanacées [5], et des coumarines complexes, en particulier, chez les Apiacées, Astéracées, Fabacées, Moracées, Rosacées, Rubiacées, Rutacées [6]. La coumarine, l'ancêtre de tous les dérivés coumariniques, est également présente dans le miel, le thé vert, la cannelle, principalement la cannelle de Chine ou Casse [7]. La distribution de quelques principales coumarines dans le règne végétal est illustrée sur le tableau ci-après.

Coumarine	Plante	Localisation	Référence
Umbélliferone	<i>Anethum graveolens</i>	Fruits et racines	
	<i>Angelica archangelica</i>	Fruits et racines	Steck, W <i>et al.</i> , 1969
	<i>Levisticum officinalis</i>	Feuilles et racines	
	<i>Ruta graveolens</i>	Racines	Lièvre, K. 2004
Scopoletine	<i>Anethum graveolens</i>	fruits, feuilles et racines	
Osthole	<i>Angelica archangelica</i>	fruits et racines	
Psoralene	<i>Angelica archangelica</i>	Racines	Lièvre, K. 2004
Bergaptene	<i>Anethum graveolens</i>	Fruits	Kostova, I., 2005
Xanthotoxine	<i>Anethum graveolens</i>	Fruits	Kostova, I., 2005
Xanthyletine	<i>Ruta graveolens</i>	Racines	Lièvre, K. 2004

Tableau I : Distribution de quelques principales coumarines dans le règne végétal

I.2. Structure chimique et nomenclature :

❖ Structure chimique :

La coumarine est un composé chimique hétérocyclique, produit par la combinaison d'un noyau benzène avec un pyrane, présentant une fonction cétone en position α par rapport à l'oxygène.

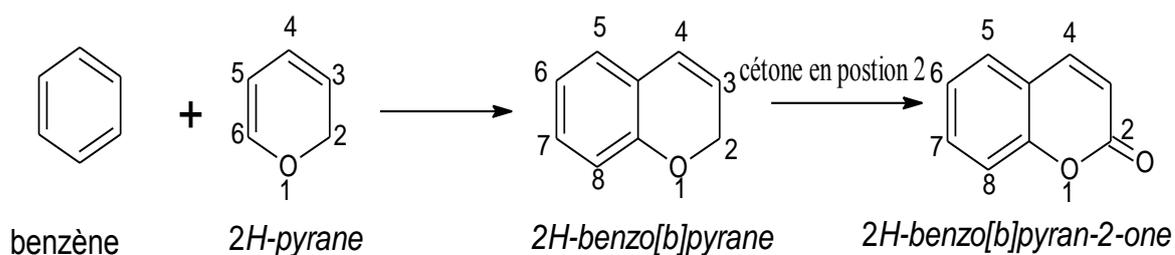


Figure 2 : Combinaison d'un benzène avec un pyrane en une coumarine

❖ **Formule brute** : C₉H₆O₂

❖ **Noms chimiques**:

- **Nom IUPAC** : 2*H*-chromen-2-one ou 2*H*-1-benzopyran-2-one
- **Autres**: 1,2-benzopyrone (α -benzopyrone) [8].

L'IUPAC considère la coumarine comme, étant, un dérivé de 2*H*-chromène (ou chrom-3-ène), un des deux isomères structuraux du produit d'insaturation de la chromane. (Cf. fig. 3)

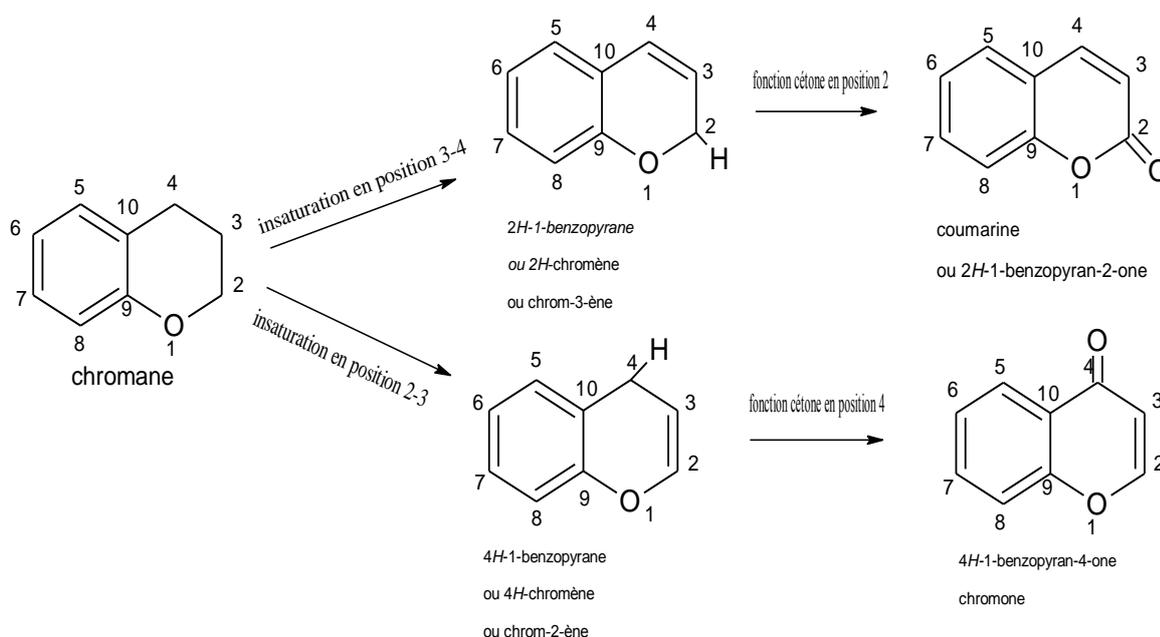


Figure 3 : Parenté chimique de la coumarine et de son isomère structural.

I.3. Classification :

La classification la mieux étudiée, et détaillée ci-après, est celle des coumarines naturelles, c'est une classification sur des bases structurales. Elle constituera un support pour celle des dérivés synthétiques à activité thérapeutique.

La coumarine est le point de départ d'une famille de composés, qui se forment par substitution de son cycle aromatique [9]. De ce fait, d'après la nature des substituants. On peut classer les coumarines en : coumarines simples, furocoumarines et pyranocoumarines.

I.3.a. Coumarines simples :

Ces composés sont très répandus dans le règne végétal, plus de 700 structures sont déjà décrites [10]. La majorité d'entre eux, sont substituées en C7 par un hydroxyle: c'est la **7-hydroxycoumarine** connue sous le nom d'**ombélliférone** qui constitue un précurseur des coumarines 6,7-di-et 6, 7,8-trihydroxylées.

La structure générale des coumarines est reportée dans la figure ci-après.

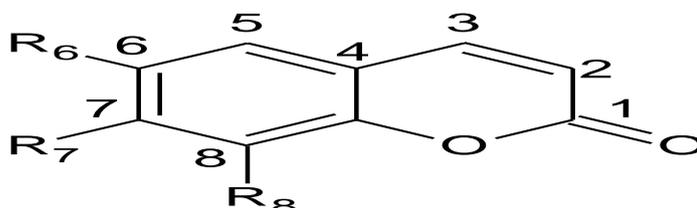


Figure 4 : Structure générale des coumarines

La structure de certaines coumarines simples est illustrée dans le tableau II.

Composé	R6	R7	R8
Ombélliférone	H	OH	H
Daphnetine	H	H	OH
Esculitétine	OH	H	OH
Esculétol	OH	OH	H

Tableau II: Structure chimique des coumarines simples hydroxylés en C6, C7 ou C8

Les divers groupes hydroxylés en C6, C7 et C8 peuvent ensuite :

❖ **Etre méthylés :(cf. Figure 4)**

	R6	R7	R8
Scopolétine	O-CH₃	H	OH
Fraxétine	O-CH₃	OH	OH

Tableau III: Coumarines simples avec hydroxyle méthylé

❖ Etre glycosylés :

Le tableau suivant expose les principales coumarines engagées dans une liaison hétérosidique. (cf. Figure 4)

	Synonyme	R6	R7	R8
Skimmine	7-O-glucosylombéliciférone	H	OGluc	H
Esculoside	6-O-glucosylesculétol	OGluc	OH	H
Cichoriine	7-O-glucosylesculétol	OH	OGluc	H
Scopoline	7-O-glucosyl-6-méthoxycoumarine	OCH₃	OGluc	H

Tableau IV: Coumarines simples à structure hétérosidique.

❖ Etre prénylées :

Se sont surtout les éthers de coumarines sesquiterpènes, des farnésyle coumarines cycliques. Ces molécules peuvent aussi être associées avec des chaînes isopréniques en C5, C10 (mono terpènes) ou plus rarement C15 (sesquiterpènes). Un élément structural commun à beaucoup de coumarines est la prénylation : O-prénylation, ou prénylation en C6 ou en C-8 de l'ombellifère ou de l'herniaire.

Le tableau suivant détaille la structure de deux coumarines prénylées à intérêt thérapeutique, établie sur la base de la figure 4.

Composé	Synonyme	R6	R7	R8	Intérêt thérapeutique
Auraptène	7-géranxyloxy coumarine	H	O-géranyl	H	antimicrobien Antispasmodique
Osthol	7-méthoxy-8-(3-méthyl-2-butényl) coumarine	H	OCH ₃	Amylényl	Anti tumoral Antioxydant

Tableau V : Structure des coumarines simples prénylées et leur intérêt thérapeutique

I.3.b. Furocoumarines:

Les furocoumarines sont des molécules tricycliques, produites par la combinaison de deux hétérocycles (coumarine et furane). Ils constituent une classe abondante où chaque membre se distingue par la présence de divers groupements (hydroxy, alkoxy, géranyloxy...) sur les carbones 2, 5,6 et 8 [11].

On distingue deux types de furocoumarines en fonction de la position du noyau furane sur l'hétérocycle coumarinique (cf. tableau VI):

- ❖ **La série linéaire** : constitue un groupe très important des psoralènes, molécules hautement **photo sensibilisantes**. Le noyau furane est en position 6-7. Les deux substituants R1 et R2 sont en position 5 et 8 ou encore en 2' et 3'. Les plus connues sont des dérivées méthoxylées du psoralène tels que : le 5-méthoxypsoralène (ou bergaptène), le 8- méthoxypsoralène (ou xanthotoxine), etc.
- ❖ **La série angulaire** : Les molécules appartenant à ce groupe sont, en général, très peu photo sensibilisantes. Le noyau furane est en position 7-8 et les deux substituants sont en position 5 et 6 ou encore en 2' et 3'.

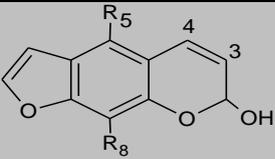
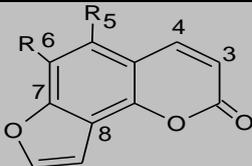
Linéaires			Angulaires		
					
Composé	R5	R8	Composé	R5	R6
Psoralene	H	H	Angélicine	H	H
Bergaptene	OCH ₃	H	Pimpinelline	OCH ₃	OCH ₃
Isopimpenelline	OCH ₃	OCH ₃	Sphondine	H	OCH ₃
Xanthotoxine	H	OCH ₃			

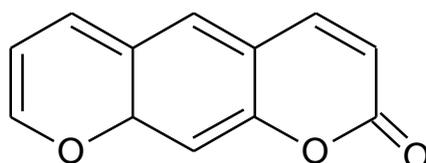
Tableau VI: Structure chimique des principales furocoumarines linéaires et angulaires

I.3.c Pyranocoumarines:

I.3.c.1 Pyranocoumarines simple :

Ils sont formés par la fusion d'un hétérocycle pyrane avec la coumarine :

- ❖ Série linéaire : xanthylétine.
- ❖ Série angulaire : séseline, visnadine.



Xanthylétine

Figure 5: Structure chimique de xanthylétine : pyranocoumarine linéaire

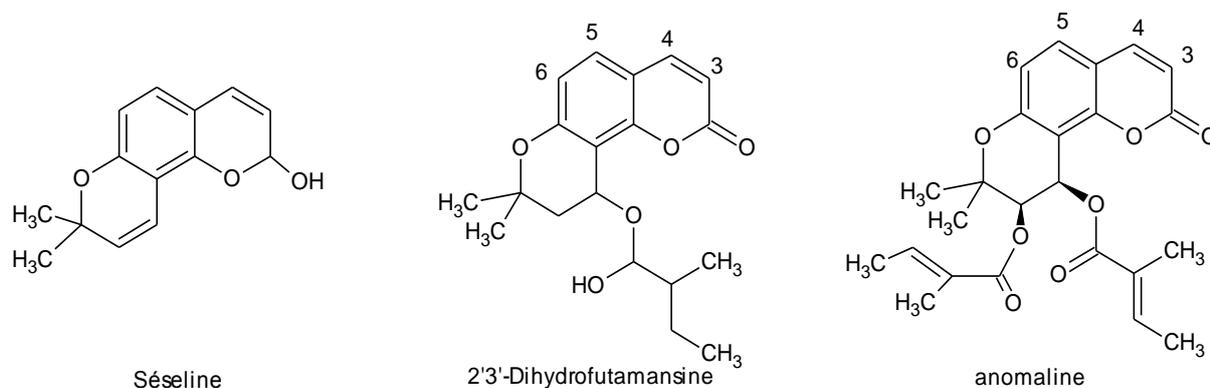


Figure 6: Structure chimique de quelques pyranocoumarines simples angulaires

I.4. Les différentes méthodes de synthèses des coumarines :

Il existe plusieurs réactions qui permettent d'accéder à de nombreux composés à structure de coumarine, nous pouvons citer :

- ❖ La réaction de Pechmann,
- ❖ La réaction de Perkin,
- ❖ la réaction de Wittig
- ❖ La réaction de Knoevenagel,
- ❖ La réaction de Reformatsky[12,13]

La figure, ci-dessous, résume les principales voies de synthèse des coumarines [12,13].

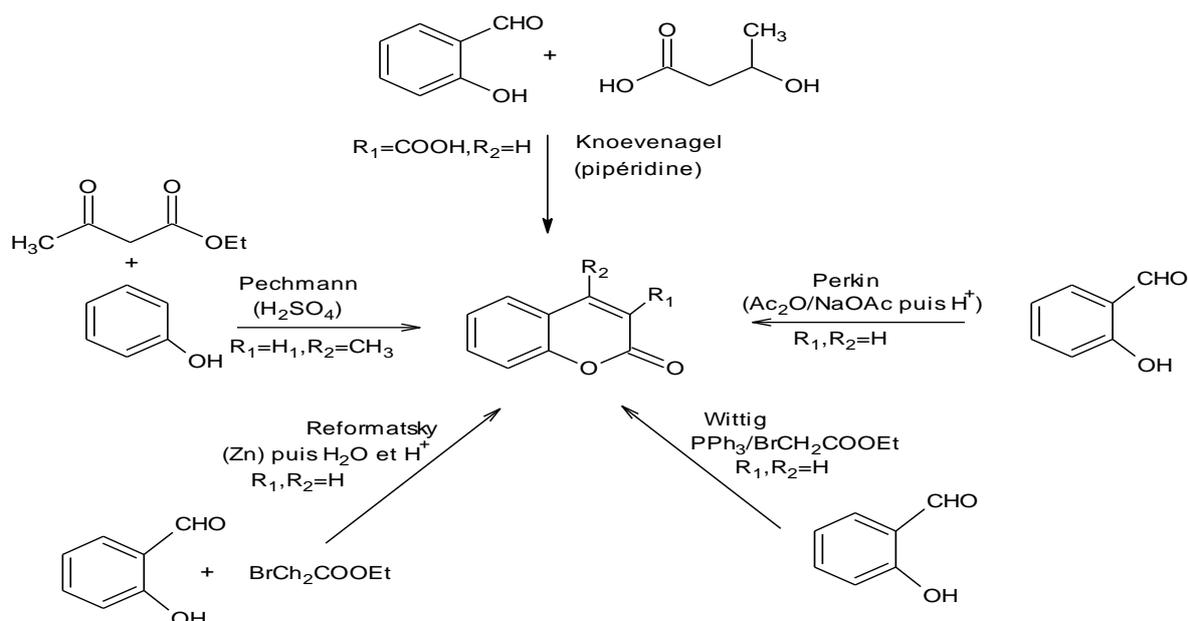


Figure 7 : Différentes voies de synthèses des coumarines

I.4.a. Synthèse des coumarines par la réaction de Pechmann :

Parmi les méthodes les plus simples et les plus utilisées pour la synthèse des coumarines, on trouve la réaction de von Pechmann[14].

Classiquement, le processus consiste à la condensation d'un phénol avec un β -céto-ester en présence des divers réactifs et donne de bons rendements des coumarines substitués en position 4[14].

Plusieurs catalyseurs acides ont été utilisés dans cette réaction incluant H_2SO_4 , HClO_4 , P_2O_5 , CF_3COOH [14].

Dans d'autres méthodes, des chercheurs ont utilisé des liquides ioniques et irradiation par micro-ondes, mais ces méthodes génèrent également des sous-produits fortement acides et / ou ils utilisent des agents très coûteux et non récurrents[14].

Récemment, un certain nombre de catalyseurs hétérogènes tels que Nafion-H, zéolite H-BETA, Amberlyst 15, argile montmorillonite, silice avec l'acide sulfurique, alumine, l'irradiation par ultra-sons ont été employés dans la condensation Pechmann[14].

Au cours des dernières années, la direction de la science et de la technologie s'est déplacée vers des ressources écologiques, des produits naturels et des catalyseurs réutilisables. Ainsi, les biopolymères naturels sont des candidats attirants dans la recherche de catalyseurs à support solide. Les copolymères, en particulier l'amidon et ses dérivés, ont des caractères

uniques, qui en font des alternatives attrayantes, dans les supports organiques ou inorganiques conventionnels pour les catalyseurs des applications [14].

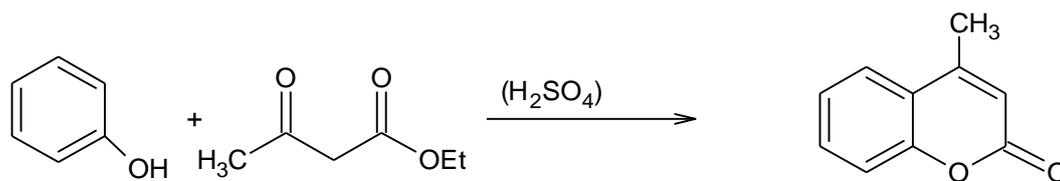


Figure 8 : Condensation de Pechmann à partir du phénol

I.4.b. Synthèse des coumarines par la réaction de Perkin :

W. H. Perkin a décrit une synthèse de la coumarine en chauffant le sel de sodium du salicylaldéhyde avec l'acide acétique. Une étude plus approfondie a conduit à une nouvelle découverte pour la préparation de l'acide cinnamique et ses analogues au moyen d'une synthèse, d'application très générale, qui est devenue connue sous le nom de la réaction de Perkin. De nombreuses études sont effectuées sur cette réaction et sont décrites. Elle démarre à partir d'un aldéhyde aromatique [12,13].

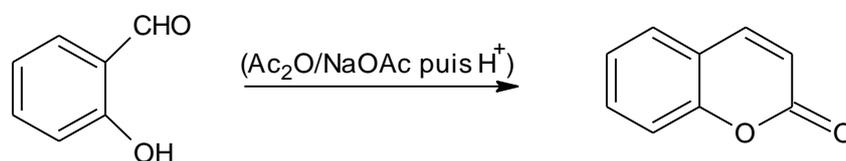


Figure 9 : Schéma de synthèse des coumarines par la réaction de Perkin

I.4.c. Synthèse des coumarines par la réaction de Wittig :

La réaction de Wittig est considérée comme une addition nucléophile.

Dans cette réaction, le réactif de Wittig qui est ylure de phosphore (appelé aussi phosphorane) qui agit par addition sur un composé carbonyle pour former des composés éthyléniques [15].

Cette réaction fut développée par Bare et ces collaborateurs, en faisant réagir l'aldéhyde salicylique avec l'éthoxycarbonyl méthylène triphénylphosphorane dans le but de synthétiser les coumarines [15].

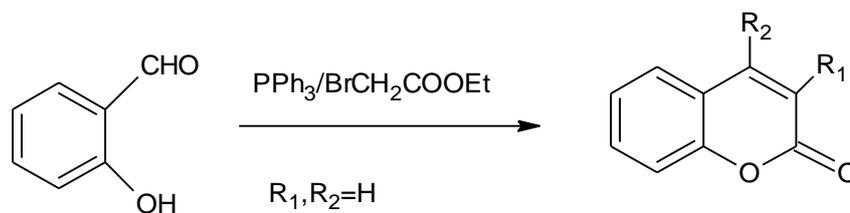


Figure 10: Schéma de synthèse des coumarines par la réaction de Wittig

I.4.d. Synthèse des coumarines par la réaction de Knoevenagel :

La réaction (ou condensation) de Knoevenagel est parmi les méthodes les plus utilisées pour la synthèse des doubles liaisons C=C. Ce type de réaction se produit entre un aldéhyde et un composé à méthylène actif, par exemple: l'acide malonique ou un ester de l'acide malonique, nécessitant la présence d'une base faible comme catalyseur. Elle donne des composés α, β insaturés par déshydratation intramoléculaire [12,13].

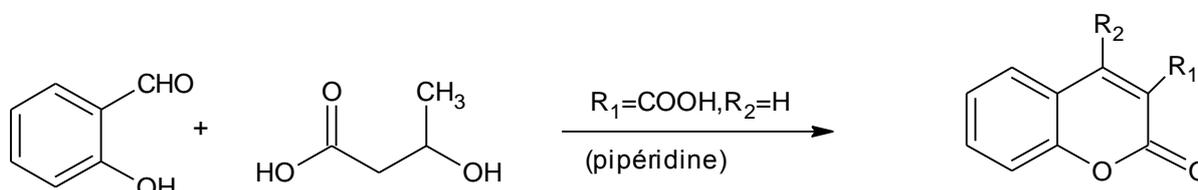


Figure 11: Schéma de synthèse des coumarines par la réaction de Knoevenagel

I.4.e. Synthèse des coumarines par la réaction de Reformatsky

C'est une réaction qui se déroule entre un composé carbonyle tel qu'un aldéhyde, une cétone ou un ester et un α -halogénoïde, en présence de zinc. Il représente une extension des réactions des composés carbonyles avec un zinc dialkyle ou un halogénure de zinc allylique. Le processus crée une nouvelle liaison carbone-carbone et implique ce qui suit:

- ❖ A partir d'un halogénure
- ❖ Ajout au groupe carbonyle de l'aldéhyde ou de la cétone.
- ❖ Trans-estérification suivie d'une déshydratation par des acides dilués [12,13].

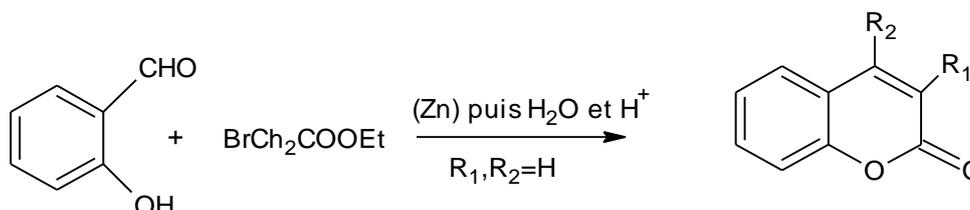


Figure 12: Schéma de synthèse des coumarines par la réaction de Reformatsky

I.5. Activités thérapeutiques des coumarines:

Les coumarines ont de nombreuses propriétés biochimiques et pharmacologiques. L'activité de ces molécules dépend de la structure et de la nature des substituants [16,17]. La majorité des coumarines et leurs dérivées ont été soumises à de profondes investigations afin d'évaluer leurs effets sur la santé humaine. Les recherches ont montré qu'elles peuvent être des agents anti HIV, anti tumoraux [18] anticancéreux, antimicrobiens [19,20] anti inflammatoires [21,22] antifongiques [23] anti oxydants[24]et même vasodilatateurs[25].

Ces composés peuvent aussi manifester des effets estrogéniques[26] antinéoplasiques[27] Elles inhibent l'agrégation plaquettaire[28] ainsi que l'activité d'acétylcholinestérase[29,36].

Deux chercheurs Kaneko [30,31] et Zhang [32] ont élucidé en particulier l'influence de la structure des coumarines sur leur activité anti radicalaire. Ces deux chercheurs ont mis en évidence que la structure caractéristique des coumarines [1,2-pyrone] affecte peu l'activité antioxydante de ces molécules, et ils ont remarqué aussi que, la présence d'une fonction catéchol a un rôle très important pour les propriétés anti radicalaires. D'une manière générale, les coumarines sont considérées comme des phyto alexines produites en réponse à des attaques pathogènes ou à des stress antibiotiques [33].

Les furocoumarines retrouvées dans le cadre des nouveaux développements des divers domaines thérapeutiques, ont été utilisées pour le traitement symptomatique de multiples scléroses [34], la photo chimiothérapie des lymphomes à cellules T [35] et la chimiothérapie de tumeurs résistantes à la poly chimiothérapie [36].

D'autres études ont d'ailleurs confirmé l'activité insecticide et larvicide des furocoumarines [37,38]. Ces derniers possèdent des propriétés photo toxiques, utilisées pour la protection des plantes contre les herbivores, les insectes et les microorganismes pathogènes [39].

Parmi leurs nombreuses activités on peut citer :

I.5.a. Activité antispasmodique :

Certaines substances végétales douées de propriétés hypotensive et antispasmodique sont capables d'inhiber la contraction spasmodique du muscle lisse gastro-entérique et urogénital associée à des crampes ou des coliques, elles sont extraits à partir ces coumarines *Viburnum prunifolium*(Scopolétine) et *Angelica* (huile essentielle extraite des racines).

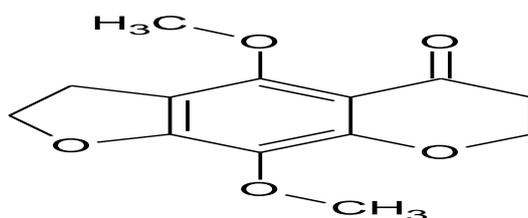


Figure 13: structure chimique du khella (*Ammi visnaga. L*)

Cette coumarine est connue par leur propriété anti angineuse, et concentrent leur action spasmolytique au niveau du muscle lisse des vaisseaux coronaires.

I.5.b. Activité anti-tumorale :

Les coumarines ont un potentiel cytotoxique (propriété chélatante, anticoagulante et antioxydante) pouvant s'avérer intéressant dans le cas d'un traitement anti tumoral [40] Elles ont été classées parmi les molécules potentiellement cytotoxiques [40]. Cette cytotoxicité est dépendante de la cellule ciblée.

Des études faites au niveau de l'institut de **Fels** pour la recherche sur le cancer. Des chercheurs ont synthétisé des composés coumariniques dérivés de la 3-(N-aryl) carboxamide coumarine (cf figure 14) et évalué leurs activités cytotoxiques sur des cellules tumorales. Ils ont trouvé que ces composés empêchent d'une manière sélective la croissance des cellules cancéreuses [41].

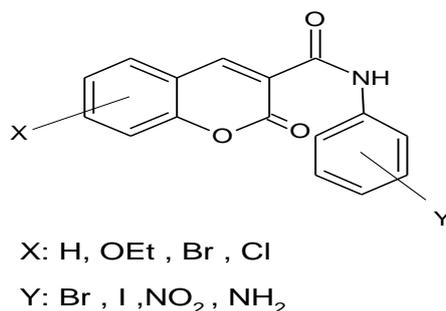


Figure 14 : Structure chimique des dérivés de 3-(N-aryl) carboxamide coumarine.

En effet, une première étude a montré que l'**Auraptène**, une coumarine géranylée, intervenait dans la prévention de la tumorigénèse de la peau chez la souris et cela de façon plus efficace que l'umbelliférone qui ne possède pas de groupement géranyl. L'activité anticancéreuse a aussi été vérifiée par des chimistes, qui ont pu exalter le pouvoir anti-tumoral de la Geiparvarin[42].

I.5.c. Activité anti-inflammatoire et analgésique :

Des recherches faites par **Han** et ces collaborateurs ont montré que certains analogues des coumarines telles que le Cloricromène [43] possèdent une activité anti-inflammatoire et analgésique.

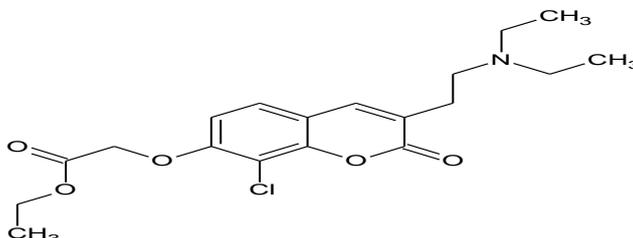


Figure 15: Structure chimique du cloricromène

Une autre étude a montré que la duplication de la coumarine (état dimérique) en bicoumarine (cf. figure 16) [44] donne à cette dernière une activité anti-inflammatoire et analgésique.

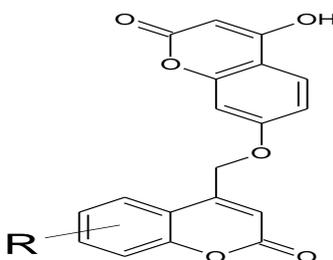


Figure 16: Structure chimique d'une bicoumarine (état dimérique)

I.5.d. Activité photosensibilisante :

La photosensibilisation est une réaction anormale de la peau au soleil, d'origine médicamenteuse.

Deux types de coumarines extraits du bergamote : bergaptène et psoralène (cf. Figure 17), et les 6,7-furane-coumarines comme *xantossina*, ont une action photo-sensibilisante marquée (en renforçant l'action cutanée des rayons ultraviolets, en particulier ceux responsables du bronzage). Elles sont utilisées dans une thérapie dite photo dynamique, utilisée pour stimuler la pigmentation de la peau dans le vitiligo et dans une moindre mesure, le psoriasis et la pelade. Cette pratique consiste en l'administration orale ou l'application topique de

préparations de la coumarine photo sensibilisante, suivie par une exposition à un rayonnement UVA (320-400 nm) [45].

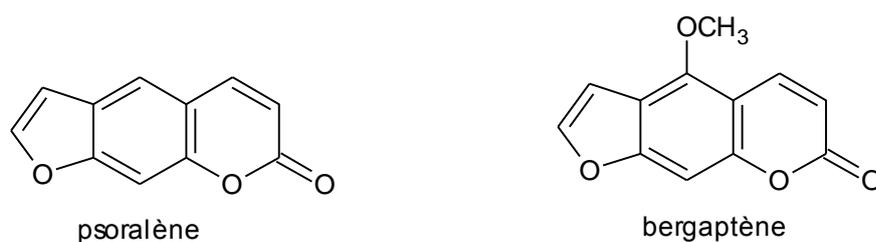


Figure 17: Structure chimique des coumarines à activité photo sensibilisante

I.5.e. Activité anticoagulante :

De façon générale, les médicaments coumariniques sont utilisés dans le but de prévenir la formation de caillots sanguins ou d'empêcher leur développement. On prend comme exemple la warfarine (cf. Figure 18), appelée aussi coumaphène qui est synthétisée par deux chercheurs : **S. Vilar** et celle de Ansell [46,47]. C'est la molécule la plus utilisée en tant qu'anticoagulant oral (Cravotto *et al.* 2001).

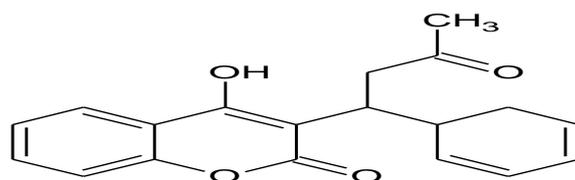


Figure 18: Structure chimique de la Warfarine

I.5.f. Activité vasodilatatrice :

Le Carbochromène [47] et coumarine-7-yl α -méthylène γ -butyrolactone [48] ont tout deux fait l'objet d'une étude réalisée par Ansell et Chen qui révéla leur fort potentiel vasodilatateur.

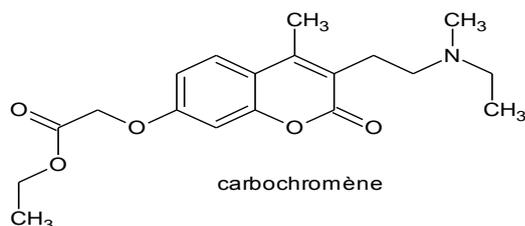


Figure 19 : Structure chimique d'une coumarine à activité vasodilatatrice

I.5.g. Activité Antibiotique :

Le Novobiocine, le Clorobiocine et le Novenammine (cf. Figure 20) [49-53] sont des antibiotiques à base de coumarine. Ils présentent un large spectre d'activité contre les bactéries Gram positif, surtout la méthiciline qui résiste aux souches de type staphylocoque.

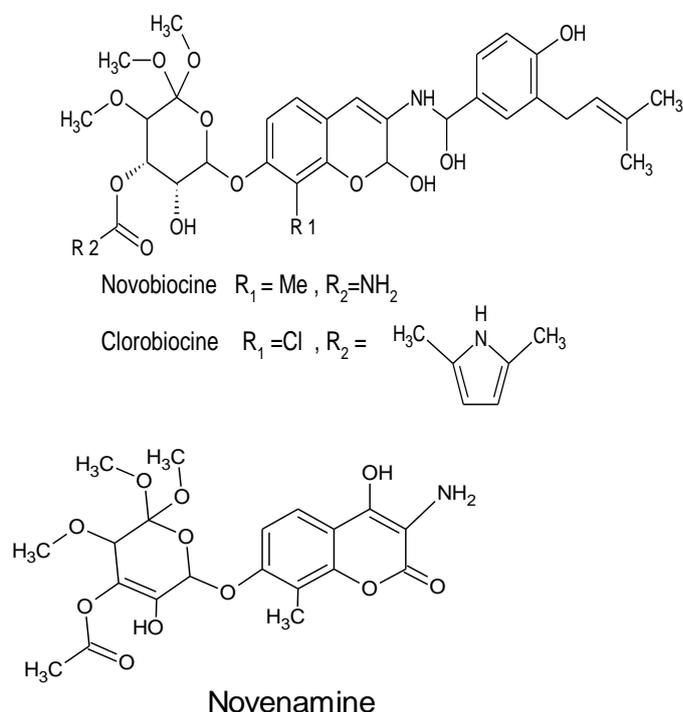


Figure 20: Structure chimique de quelques coumarines à activité antibiotique

I.5.h. Activité Antivirale :

Des chercheurs espagnols ont évalué l'activité anti-VIH de 11 composés dérivés de la 4-phénylcoumarine qu'ils ont isolé de l'espèce *Marila pluricostata*. Les résultats obtenus prouvent que l'effet antiviral des dérivés de la 4-phénylcoumarine peut être lié à l'inhibition de NF-κB d'une protéine régulatrice (Tat), et suggèrent que ces composés peuvent être utiles dans le traitement de l'infection par le VIH [54].

I.5.i. Autres activités :

Les coumarines possèdent une action anti œdématisante qui résulte de l'augmentation du drainage lymphatique et de la stimulation de l'activité protéolytique des macrophages. Mais la multiplication des cas d'hépatite chez les patientes traitées à fortes doses avec cette molécule a conduit au retrait du marché de la spécialité correspondante.

La coumarine reste utilisée en phytothérapie, mais à des doses beaucoup plus faible, comme dans les spécialités contenant du mélilot.

I.6. Relation structure activité

I.6.a. C'est quoi la SAR

La relation structure-activité (SAR) est une approche conçue pour étudier les interactions entre la structure chimique d'un ligand (ou le composé étudié) et l'objectif biologique. Un plus haut niveau d'information concernant le niveau moléculaire d'un médicament et son mécanisme d'activité biologique conduit à une meilleure compréhension afin de développer le médicament avec une efficacité optimale.

De même, pour toutes les molécules On admet également que des molécules similaires ont des activités similaires. Cette hypothèse est bien considérée comme le principe directeur du pharmacophore dans le concept de la SAR.

Ces propriétés liens-structurels d'un médicament peuvent être résolues soit par méthode informatique (in silico) ou par méthode expérimentale in vivo et in vitro.

I.6.b. Pourquoi SAR

- ❖ La SAR est utilisée pour déterminer les parties de la structure d'un composé qui sont responsables de son activité biologique bénéfique, c'est-à-dire son pharmacophore, et de ses effets indésirables. Par conséquent, la SAR est nécessaire pour déterminer le comportement physico-chimique et l'activité biologique de manière cohérente.
- ❖ La SAR permet aux chercheurs d'identifier les changements des propriétés pharmacologiques en effectuant des changements mineurs dans la molécule de médicament.
- ❖ La SAR permet aux chercheurs de comprendre et d'expliquer les mécanismes d'activité dans un ensemble de ligands.
- ❖ La SAR permet aux chercheurs d'économiser sur les coûts de développement de produits. L'estimation peut bien diminuer la nécessité d'un animal coûteux et prolonger des tests. Diminuer l'utilisation des animaux réduit leur douleur et leur malaise aussi.

I.6.c. SAR des coumarines dans les maladies biologiques :

Les coumarines présentent une gamme remarquable de produits à activités biochimiques et pharmacologiques. Certaines parties de ce groupe de composés peuvent affecter de manière significative la fonction de divers systèmes cellulaires des mammifères.

Etude Bibliographique

Chimiquement, la coumarine est un composé aromatique ayant une structure bi cyclique dont le 2eme cycle est une lactone constituée d'un hétérocycle lié à un groupement carbonyle.

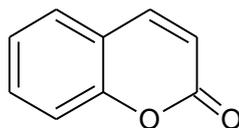


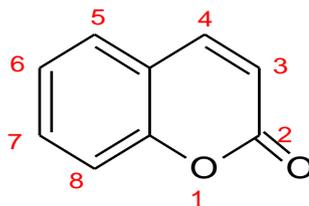
Figure 21 : Structure chimique du noyau coumarine

En général, la substitution des carbones par un atome électronégatif est efficace pour la formation de liaison hydrogène et donc pour l'hydrosolubilité, par contre, la présence d'un cycle aromatique et d'éventuels hétérocycles comme substituants est responsable de l'hydrophobicité. Ces propriétés sont à l'origine d'une meilleure interaction de la molécule avec un site récepteur.

L'activité biologique des coumarines est plus significative par la substitution des divers carbones du système bi-cyclique. Les propriétés pharmacologiques et biochimiques et les applications thérapeutiques des coumarines simples dépendent du motif de substitution. Par conséquent, il est nécessaire de mener une attention particulière à l'étude de la SAR des coumarines. L'activité biologique peut être une activité anticancéreuse [55,56], Anti-VIH [56,57] anticoagulante [58], antimicrobienne [59,60], anti-oxydante [61], hépatoprotecteurs [62] antituberculeuses, antivirales, anti-carcinogènes et activités anti-inflammatoires [63].

Les propriétés pharmacologiques et biochimiques et les applications thérapeutiques des coumarines simples dépendent du motif de substitution dans la fraction coumarine basique. Par conséquent, il est nécessaire de mener une attention particulière à l'étude de la SAR des coumarines.

Le tableau ci-après résume les activités thérapeutiques variées que peut présenter le noyau coumarine après sa substitution par divers groupements chimiques et en diverses positions.



Position	Groupement	Activité						
		Anti- tumorale	Anti- coagulante	Antibiotique	Anti-oxydante	Anti- inflammatoire	Anti-dépressive	Neuroprotective
C3	Chaine alkylée	-	+	+	-	+	-	-
	Carbonyl, alkoxyimino	-	-	+	-	-	-	-
	Amide, hydroxamate	-	-	+	-	-	-	-
	Benzyl avec différentes substituants	-	-	+	-	+	-	-
	Benzimidazole avec différents substituants	-	-	+	-	-	-	-
	SCH ₂ lié	-	-	+	-	-	-	-
	Nitro	-	-	+	-	-	-	-
	Hydroxy	+	-	-	-	-	-	-
	Amine	+	+	-	-	-	-	-
	Sulfonamide	+	-	-	-	-	-	-
	Hydrazide-hydrazone	+	-	-	-	-	-	-
	Benzyl alkyl amino	-	-	-	-	-	-	+
	Phényl terminal	-	-	-	-	-	-	+
	Nitrogène basique substitué	-	-	-	-	-	-	+
	Aryl	-	-	-	-	+	+	-
	Hétérocycle	-	-	-	-	+	-	-
	Acétoxy	-	+	-	-	-	-	-
Guanidine	-	+	-	-	-	-	-	

Etude Bibliographique

	Pyridine	-	+	-	-	-	-	-
	Courte chaîne							
	aliphatique	-	-	+	-	+	-	-
	Aryloxyméthyl iodé	+	-	+	-	-	-	-
	Dérivés sulfurique	-	-	+	-	-	-	-
	Acétyl	-	-	-	-	-	-	-
	Méthyl	-	-	-	+	-	+	+
	Hydroxyl	-	-	-	+	+	+	-
	Chlore	-	-	-	-	-	-	-
	Tosyl	+	-	-	-	-	-	-
C4	Triazole	+	-	-	-	-	-	-
	Acide Carboxylique	-	-	-	-	-	+	-
	Ester	-	-	-	-	-	+	-
	Amide	-	-	-	-	-	+	-
	Substituant Cyclique	-	-	-	-	+	-	-
	Alkoxy	-	-	-	-	+	-	-
	Pyrimidine	-	-	-	-	+	-	-
	β-enaminone et piperazinyll	-	+	-	-	-	-	-
	Amine	-	-	+	-	-	-	-
C5	Nitro	-	-	+	-	-	-	-
	hydroxyl	+	-	-	-	-	-	-
	Alkoxy	+	-	-	-	-	-	-
	Ether	-	-	+	-	-	-	-
	Acétyl	-	-	+	-	-	-	-
	Nitro	-	-	+	-	-	-	-
C6	Hydroxyl	+	-	-	+	-	-	-
	Méthoxy	+	-	-	-	-	-	-
	chlore	+	-	-	-	-	-	-
	Halogène	-	-	-	-	+	-	-
	Eléctrodonneur	-	-	-	-	+	-	-
	Alkenyl, alkynyl	-	-	+	-	-	-	-
	Carbamoyl	-	-	+	-	-	-	-
C7	Complexe alkoxyll	-	-	+	-	-	-	-
	Phényll	-	+	+	-	-	-	-
	Biphényll	-	-	+	-	-	-	-

	Hydroxyl	+	-	+	+	-	-	-
	Acétyl	-	-	+	-	-	-	-
	Nitro	-	-	+	-	-	-	-
	Thiosemicarbazide et thiazolidinone	-	-	+	+	-	-	-
	Méthoxy[64]	-	-	-	-	-	-	+
	Diéthylamino[64]	-	-	-	-	-	-	+
	Chlore	-	-	-	-	-	-	-
	Alkoxy	+	+	-	-	-	+	-
	Amide	+	-	-	-	-	-	-
	Sulfonate	+	-	-	-	-	-	-
	Dérivés sucrés	+	-	-	-	-	-	-
	Amine	-	+	-	-	-	-	-
	Benzyloxy	-	-	-	-	-	+	-
	NHCH ₂ Lié	-	-	-	-	-	+	-
	NHSO ₂ lié	-	-	-	-	-	+	-
	O-SO ₂ Lié	-	-	-	-	-	+	-
	Thio lié	-	-	-	-	+	-	-
	Diméthyl avec un méthyl en C7	-	-	-	-	-	-	-
C8	Ethyl	-	-	-	-	-	-	-
	Substituants alkoxylés	-	-	-	-	+	-	-
	Méthyl	-	+	-	-	-	-	-

Tableau VII : Relation structure activité des coumarines

I.7. Propriétés physiques :

I.7.a. Caractères organoleptiques :

- ❖ les coumarines se présentent sous formes de cristaux orthorhombiques de couleur jaunâtre.
- ❖ saveur généralement amère.
- ❖ ces molécules dégagent une odeur agréable, rappelant la vanilline et l'odeur de foin fraîchement coupé, on l'utilise comme parfum et aromate [65]

I.7.b. Propriétés physiques:

❖ Solubilité :

La coumarine est largement soluble dans l'éthanol, le chloroforme et les huiles, alors qu'elle est soluble en petite quantité dans l'eau bouillante et légèrement soluble dans l'eau à 20°C [66].

Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et les solvants organiques, tels que l'éther ou les solvants chlorés, avec lesquels, on peut les extraire [66] Les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau, et dans l'alcool [67].

Certaines coumarines sont sublimables et entraînable à la vapeur d'eau.

❖ Point de fusion / point d'ébullition :

Les coumarines sont caractérisées par un point de fusion élevé, vu leur structure importante. Le point de fusion de la coumarine se situe vers 68-70°C et son point d'ébullition est de 303°C [66].

❖ Stabilité thermique :

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

I.8. Analyse structurale des coumarines:

I.8.a Fluorescence sous la lumière UV :

Les coumarines sont caractérisées par une fluorescence à l'UV à 366 nm [68]. Cette fluorescence est en général :

- ❖ Bleue pour les coumarines hydroxylées en 7 (Umbélliférone).
- ❖ Pourpre pour les coumarines prénylées.
- ❖ Jaune pour les furocoumarines [69]

Cette fluorescence est intensifiée sur le chromatogramme, observée sous la lumière UV

- par les vapeurs de NH_3 ,
- par pulvérisation du chromatogramme
- par le réactif de Bornträger
- l'acétate de plomb.

La présence des cycles aromatiques chez les furocoumarines confère une forte absorbance pour des longueurs d'ondes comprises entre 270 et 300 nm.

I.8.b. Spectroscopie infrarouge IR :

Cette technique fournit des informations sur les groupements fonctionnels d'une molécule.

Pour les coumarines :

- ❖ L'absorption $\text{C}=\text{O}$ de la lactone conjuguée apparaît pratiquement dans la région [1600-1780] cm^{-1} [70]
- ❖ L'absorption OH du phénol est observée à 3550 cm^{-1} .

I.8.c. Spectroscopie ultraviolette UV :

Les coumarines ont un spectre UV caractéristique, fortement influencé par la nature et la position des substituants, profondément modifié en milieu alcalin : KOH , NaOH , NaOCH_3 et en présence d' AlCl_3 .

AlCl_3 forme un complexe avec les hydroxyles portés par des carbones adjacents, ce qui induit un déplacement bathochrome [71].

Pour la coumarine, les absorptions maximales sont présentées dans deux bandes en 276 nm et 311 nm. La présence des substituants alkylés induit par des modifications des valeurs de la bande en 311 nm vers 325 nm. Selon la position d' OH , le déplacement est plus au moins fort.

I.8.d. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire RMN :

L'allure des spectres RMN ^1H des coumarines est caractéristique, les protons oléfiniques H-3 et H-4 apparaissent respectivement sous forme de deux doublets à :

δ (ppm) [6,10 – 6,40], [7,50 – 7,90] pour les coumarines simples et les furocoumarines.

I.8.e. La spectrométrie de masse des coumarines :

Les composés cycliques fortement insaturés tels que les « coumarines », et mêmes les ions qui ont formés par fragmentation α au niveau d'un groupement carbonyle, ont la propriété de pouvoir perdre un groupement CO (28 uma). S'il y a plusieurs groupements CO dans une molécule, ils peuvent être éliminés les uns après les autres [72].

II. SYNTHÈSE DES COUMARINES A ACTIVITÉ THÉRAPEUTIQUE :

II.1. 7-hydroxy-4-méthylcoumarine (hymécromone)

II.1.a. Généralité :

C'est un composé hétérocyclique dérivé coumarine type ombelliférone.

- ❖ N°CAS : 90-33-5
- ❖ Formule brute : C₁₀H₈O₃
- ❖ Mr : 176.17 g/mol
- ❖ Structure chimique

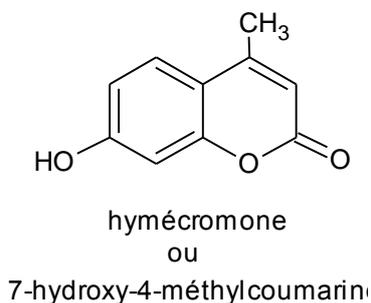


Figure 22: Structure chimique de l'hymécromone

- ❖ Noms chimiques : 7-hydroxy-4-méthylcoumarine
4-méthylombélférone
- ❖ DCI : hymécromone
- ❖ ND : CANTABILINE® : hépatotrope (augmente la production de bile et lutte contre les spasmes des voies biliaires).
- ❖ Inscrite dans plusieurs pharmacopées, telles que la pharmacopée Européenne 7^{ème} édition, la pharmacopée japonaise XVI^{ème} édition.

II.1.b. Principe de synthèse

L'un des parcours synthétiques possibles pour avoir des coumarines est la réaction de condensation de Han Von Pechmann [73]. Dans cette réaction, les phénols activés et l'acéto-acétate d'éthyle donnent des coumarines et des sous-produits : l'éthanol et de l'eau. Ce processus est la voie de synthèse la plus largement utilisée pour les coumarines parce que les réactifs utilisés sont disponibles [74-76].

Etude Bibliographique

Dans la production conventionnelle des coumarines par Pechmann, l'acide sulfurique concentré est utilisé comme catalyseur. Ce processus nécessite une longue période durant la réaction, et introduit des problèmes de corrosion [14].

Autre chercheurs ont utilisés autre catalyseurs comme $\text{SiO}_2\text{-SO}_4\text{H}$, $\text{CH}_3\text{-SO}_3\text{H}$, APTS, AlCl_3 et Amberlyst-15[14].

II.1.c. Bilan réactionnel :

La synthèse de Pechmann résulte de l'interaction entre un phénol (résorcinol) et un α - β céto-ester (acétoacétate d'éthyle), cette réaction nécessite un catalyseur, dans ce cas on utilise l'acide sulfurique, le bilan réactionnel est le suivant :

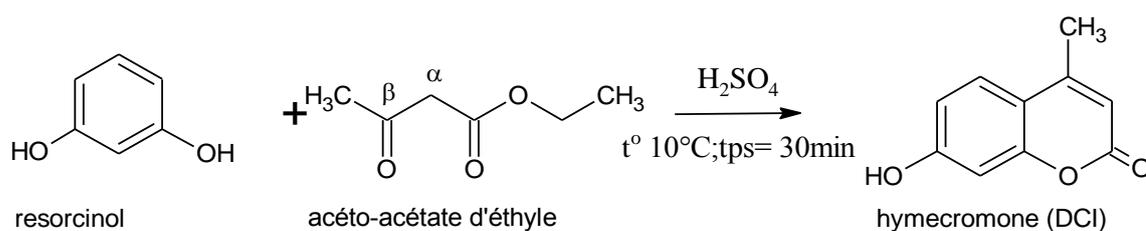


Figure 23 : bilan de la réaction de Pechmann

II.1.d. Mécanisme de la réaction :

Le mécanisme de la réaction de Pechmann démarre par une trans estérification en milieu acide, suivie d'une tautomérisation céto-énolique. Le noyau coumarine est ensuite formé par une addition de Michael suivie d'une réaromatisation par déprotonation. Enfin, une déshydratation par catalyse acide conduit à la formation de l'hymécromone.

Le mécanisme de synthèse de Pechmann est illustré dans la figure 24.

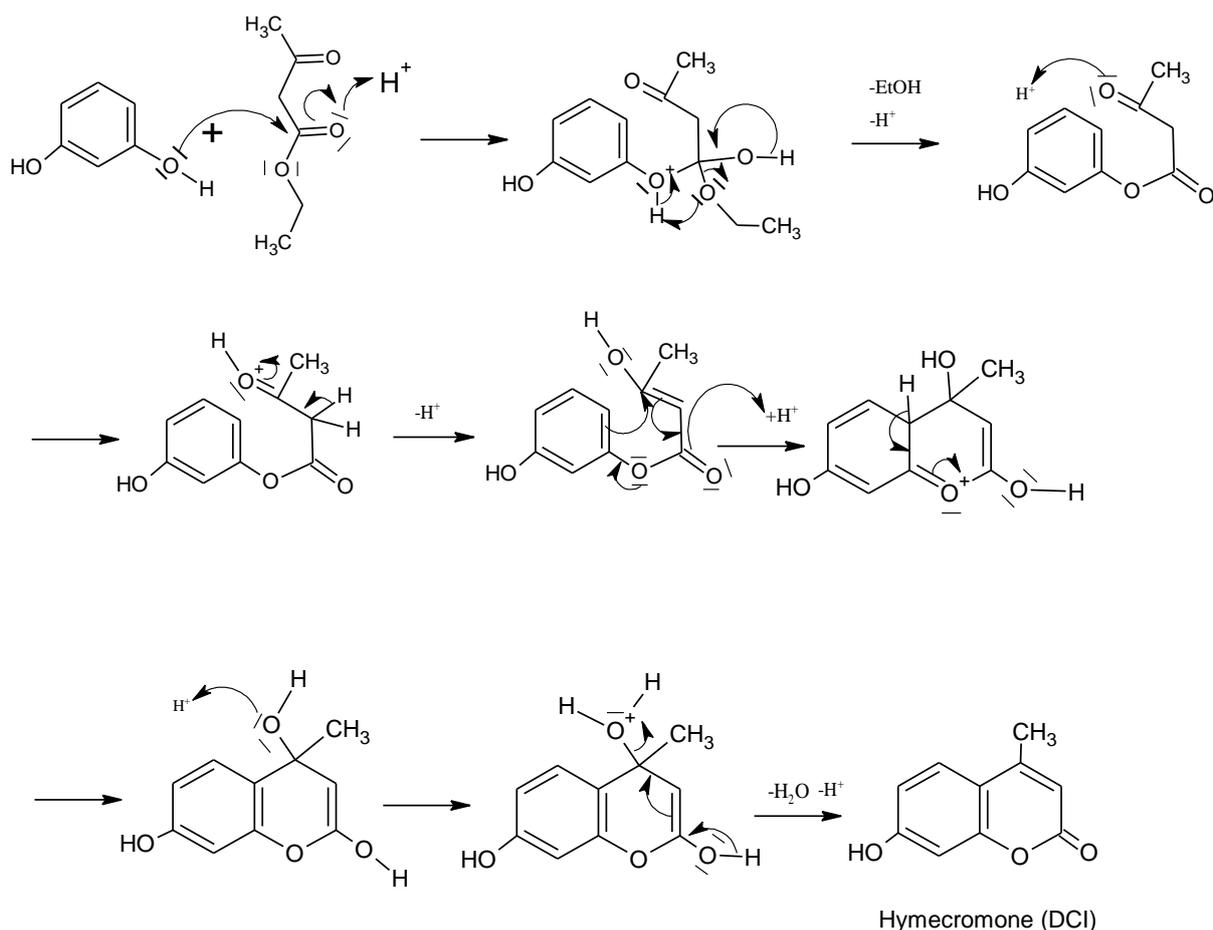


Figure 24 : Mécanisme de la réaction de Pechmann

II.1.e. Applications pratiques de synthèse :

Une étude publiée par Ashutoch Kar et ses collaborateurs en 2004 montrée que ces chercheurs ont utilisé pour la synthèse de l'hymécromone, l' H_2SO_4 comme catalyseur à une température inférieure à 10°C et sous agitation pendant 30 à 40 min. Ils ont utilisé une double purification :

- ❖ La première purification par une solution alcalino acide (NaOH/HCl)
- ❖ La deuxième purification par un solvant organique (méthanol)

Ils ont obtenu un rendement de 65.89%.

Fadia Al Haj Hussien, Mohammad Keshe et ses collaborateurs (2016) [12], ont utilisés Amberlyst-15 comme catalyseur, avec un chauffage à reflux pendant 100 min et à température réglée à 110°C . Ils ont abouti à un rendement de 95% [77]. Puis ils ont utilisé l'APTS comme catalyseur avec une durée de chauffage de 10 min et à température égale à 60°C . et ont abouti un rendement de 50% [77].

II.1.f. Profil pharmacologique

II.1.f.1. Indication :

Traitement symptomatique de douleurs liées aux troubles dyspeptiques.

II.1.f.2. Contre-indication :

Sensibilité à l'hymécromone.

II.1.f.3. Mises en garde et précautions d'emploi :

Ne pas utiliser en cas d'obstruction des vois biliaires et d'insuffisance hépatocellulaire grave.

II.1.f.4. Interaction

Les données disponibles à ce jour ne laissent pas supposer l'existence d'interactions cliniquement significatives. .

II.1.f.5. Grossesse et allaitement :

Les données expérimentales chez l'animal n'ont pas montré d'effet tératogène. En l'absence de donnés dans l'espèce humaine, il est préférable de ne pas le prescrire chez la femme enceinte.

II.1.f.6. Effets indésirables :

Quelques cas de diarrhées et, exceptionnellement, réactions cutanées d'origine allergique.

II.1.f.7. Pharmacodynamique :

Médicament à visée hépatobiliaire (hépatotrope).

L'hymécromone exerce, sur les voies biliaires extra hépatiques, un effet spasmolytique.

Le mécanisme de cette action est de type musculotrope, sans effets atropiniques.

II.1.f.8. Pharmacocinétique :

La concentration sanguine maximale est atteinte entre 2 et 3 heures après une prise orale.

La demi-vie plasmatique est d'environ 1 heure.

L'excrétion se fait par voie urinaire sous forme de dérivés glycuo et sulfoconjugués.

II.1.g. Recherche et développement :

Des recherches ont été réalisées sur l'influence de la 4-méthylombélliférone sur l'acide hyaluronique.

L'utilisation expérimentale de 4-méthylombélliférone a montré que ce composé inhibait la production de l'acide hyaluronique dans de multiples lignées cellulaires et des types de tissus in vitro et in vivo [78,79]

Ces études montrent que la 4-méthylombélliférone inhibe la production de l'acide hyaluronique de deux manières au moins. Tout d'abord, elle est censée fonctionner comme un substrat compétitif pour UDP-glucuronosyltransférase (UGT), une enzyme impliquée dans la synthèse HA [80].

L'acide hyaluronique est produit par HAS1, HAS2 et HAS3 à partir des précurseurs UDP-glucuronic acid (UDP-GlcUA) et UDP-N-acétyl-glucosamine (UDP-GlcNAc). Ceux-ci sont générés par le transfert d'un résidu UDP à la N-acétylglucosamine et à l'acide glucuronique via l'UGT. La disponibilité d'UDP-GlcUA et UDP-GlcNAc contrôle ainsi la synthèse de l'acide hyaluronique [81].

Cependant, lorsque 4-méthylombélliférone est présent, il se lie de manière covalente par son groupe hydroxyle à la position 4 de l'acide glucuronique via l'UGT. En conséquence, la concentration de UDP-GlcUA diminue dans la synthèse du cytosol et de l'acide hyaluronique est réduite. La 4-méthylombélliférone réduit ainsi le contenu UDP-GlcUA à l'intérieur des cellules et inhibe la synthèse de l'acide hyaluronique.

II.1.h. Hymécromone, relation structure activité :

Des études récentes sur l'activité du 7-hydroxy-4-méthylcoumarine ont démontré que la substitution d'un groupement hydroxyl en C7 donne à la molécule un caractère cytotoxique considérable contre les cellules sélectionnées [82,83].

Les isoformes IX et XII de l'enzyme hCA (anhydrase carbonique humain) liés à la tumeur ont été modérément inhibés par l'hymécromone avec une valeur de K_i (K_i : Concentration inhibitrice à laquelle 50% d'inhibition est observé) entre 754-8100 nm. Or il inhibe faiblement l'isoforme I de l'enzyme hCA cytosolique [84].

II.2. 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

II.2.a. Généralités :

C'est un hétérocycle dérivé de coumarine obtenu par la nitration de 7-hydroxy-4-méthylcoumarine.

- ❖ **Formule brute:** C₁₀H₇NO₅
- ❖ **Mr:** 221.17 g/mol
- ❖ **Structure chimique :**

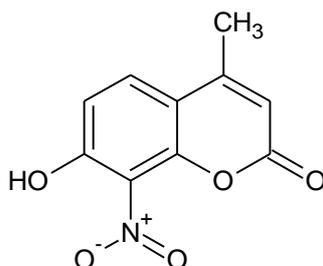


Figure 25: Structure chimique du 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

II.2.b. Principe de synthèse :

Il s'agit d'une nitration ionique, utilisée le plus souvent avec les composés aromatiques. Des mélanges d'acides contenant de l'acide nitrique et un acide fort, tel l'acide sulfurique, l'acide perchlorique ou des résines échangeuse d'ions porteuses de groupes acide sulfonique, sont utilisés comme agents de nitration. Ils catalysent la formation d'ion nitronium NO₂⁺ [85]

II.2.c. Bilan réactionnel :

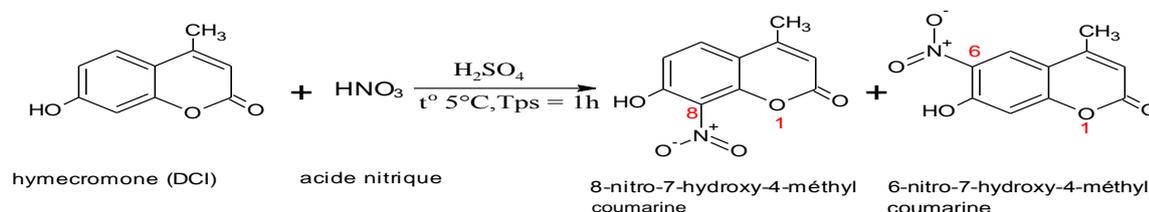


Figure 26 : Bilan réactionnel de synthèse du 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

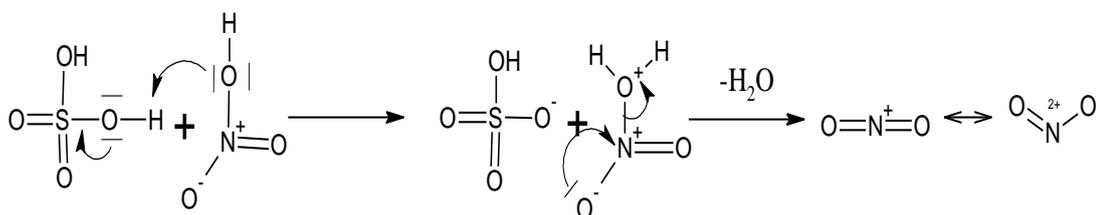
II.2.d. Mécanisme de la réaction :

Il s'agit d'une SE_{Ar} de l'hymécromone par l'ion nitronium, formé in situ à partir du mélange sulfonitrique.

La nitration de l'hymécromone est une réaction régiosélective (Lorsque l'action d'un réactif peut a priori s'orienter sur plusieurs sites distincts d'une molécule, en fournissant plusieurs isomères structuraux différents, la réaction est dite régiosélective) [85], elle conduit à 2 isomères structuraux dont l'un est majoritaire : le 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylhymécromone, il constituera une matière première pour la prochaine étape.

❖ Formation de l'électrophile : nitronium NO_2^+

C'est une déprotonation d'un acide très fort : l'acide sulfurique (catalyseur) suivie d'une déshydratation.



❖ Substitution de l'hymécromone par le nitronium et formation du dérivé 8-nitré :

C'est un mécanisme d'addition suivie d'une élimination pour régénérer le catalyseur.

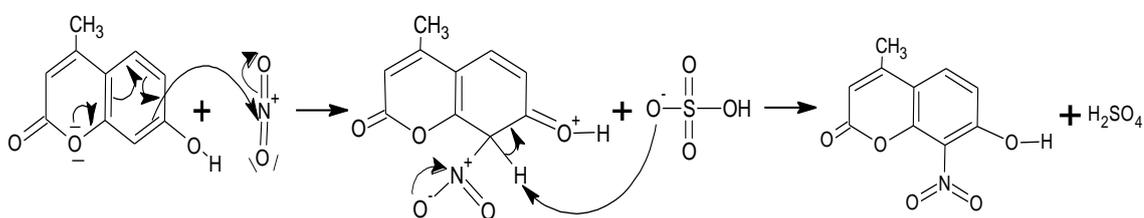


Figure 27 : Mécanisme réactionnel de synthèse du 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

II.2.e. Applications pratiques de synthèse :

Les travaux de Swayam Sourav Sahoo et ses collaborateurs (2012), ont procédé à l'utilisation de l'acide sulfurique comme catalyseur et laissant le mélange à une température ambiante pendant une heure.[86]

Ils ont utilisé l'éthanol comme solvant de recristallisation et ont abouti à un rendement est égale à 60% [86].

II.3. 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

II.3.a. Généralités :

C'est un dérivé coumarinique aminé

- ❖ Formule brute: $C_{10}H_9O_3$
- ❖ Mr: 191.186 g/mol
- ❖ Structure chimique :

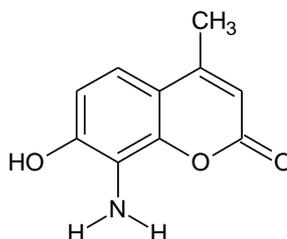


Figure 28 : Structure chimique du 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

II.3.b. Principe de synthèse :

La réduction des dérivés nitrés $R-NO_2$ représente une méthode de synthèse importante des amines primaires $R-NH_2$, particulièrement en série aromatique. On peut utiliser plusieurs méthodes : l'action d'un métal en milieu acide, celle d'un hydrure, l'hydrogénation catalytique, ou le transfert d'hydrogène d'un composé donneur[85].

II.3.c. Bilan réactionnel :

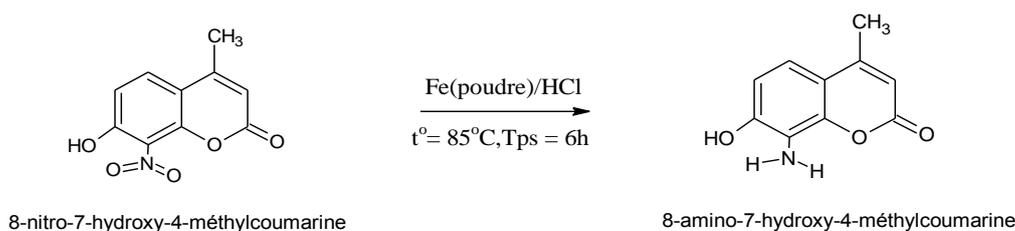


Figure 29 : Bilan réactionnel de synthèse du 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

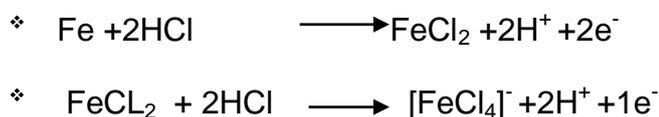
II.3.d. Mécanisme de la réaction :

Lorsqu'un dérivé nitré est réduit par un métal (Zn, Sn, Fe) en présence d'un acide, comme l'acide acétique avec Fe, le mécanisme admis se fait via un composé nitrosé, RN=O, et une hydroxylamine, R-NH-OH [85].

Il débute par l'apport d'un électron du métal à l'azote du groupe nitro, puis un proton est ensuite additionné. L'entité formée additionne un nouvel électron du métal, et l'anion résultant élimine un anion hydroxyle pour former le dérivé nitrosé [85].

De nouveau, un électron est cédé par le métal, ce qui conduit à un radical-anion. L'addition d'un proton fournit un radical qui est transformé en un anion amidure par l'apport d'un nouvel électron. Sa protonation conduit à l'hydroxylamine[85].

Le passage de l'hydroxylamine à l'amine (ou plus exactement à un sel d'amine en raison de la présence d'acide) n'est pas connu, toutefois un mécanisme de même nature que celui du retrait du groupe hydroxyle des alcools benzyliques est probable [85].



Les protons et électrons libérés réagissent sur le groupe nitro et le réduisent en groupe amino. (cf. Figure 30)

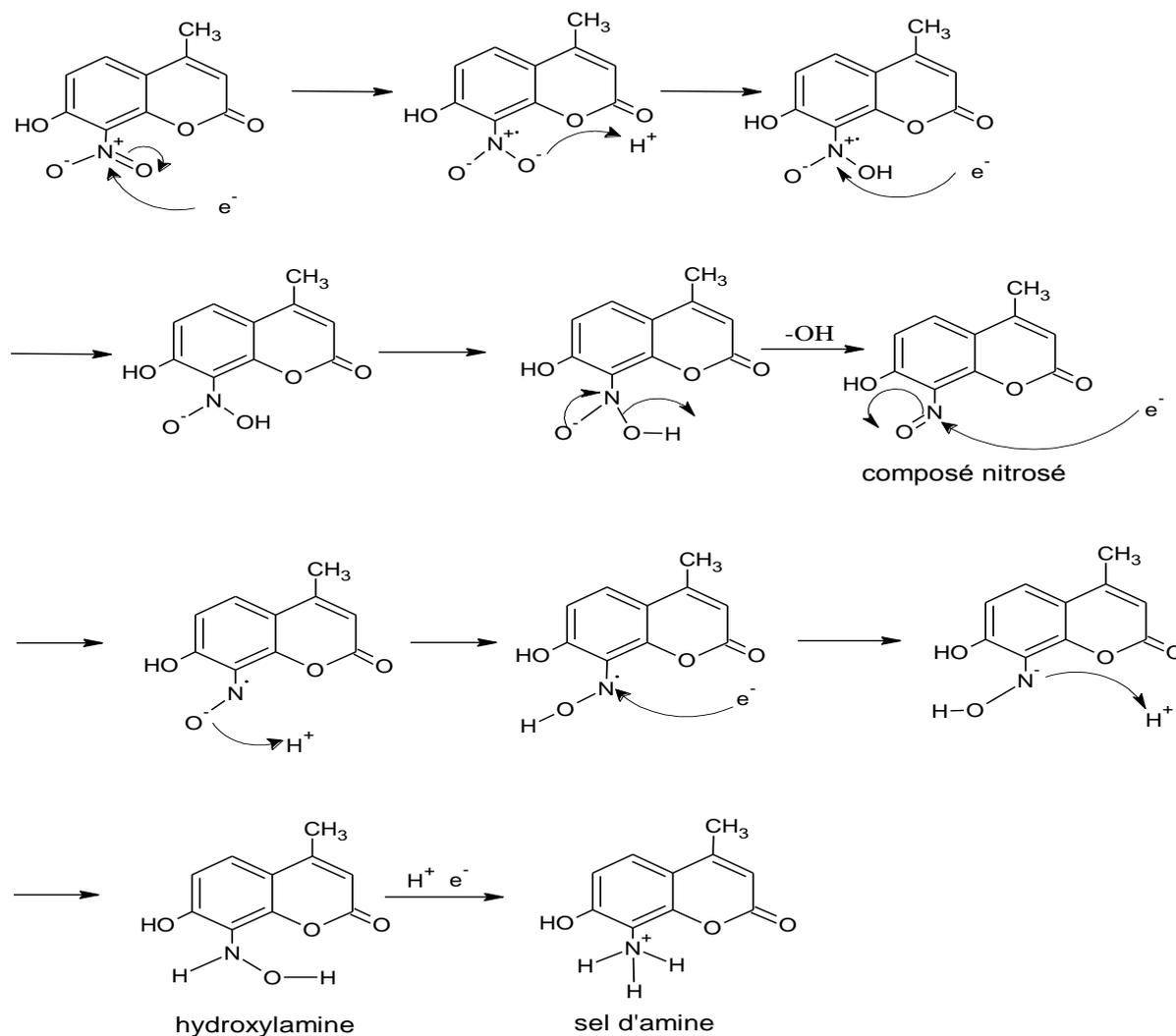


Figure 30: Mécanisme réactionnel de synthèse du 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

II.3.e. Applications pratiques de synthèse :

Des travaux de **Swayam Sourav Sahool**, et ses collaborateurs en année 2012 ont montré que ces chercheurs ont utilisés H_2SO_4 comme catalyseur dans un milieu à température basse 5°C et le méthanol comme solvant de recristallisation , tout en rinçant et filtrant ,ils ont abouti à un rendement de 60%.**[92]**

Les traveaux de **B. Prasanna** et ses collaborateurs (2013) ont utilisé le NH_4Cl comme catalyseur avec un chauffage à reflux pendant 3-4 heures. Après la filtration, ils ont fait l'extraction par le dichlorométhane ($3 \times 25\text{mL}$). Ce dernier est évaporé pour obtenir le 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine. Ils ont utilisés comme solvant de recristallisation le méthanol et aboutit à un rendement de 78% **[87]**.

III. Propriétés thérapeutiques du 8-nitro- et 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

III.1. Activité anti bactérienne :

Ces travaux sont effectués par Swayam Sourav Sahoo et ses collaborateurs (2012) selon la technique suivante :

❖ Technique :

L'activité antibactérienne des nouvelles coumarines a été testée contre une bactérie Gram positive qui est *Staphylococcus aureus* et une bactérie Gram négatif qui est *Escherichia coli* en utilisant une méthode de galerie api [88-90].

Et pour comparer les résultats, les chercheurs ont utilisé l'amoxicilline comme référence. Chacun de ces deux composés (8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine et 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine) a été dissous dans une solution de DMSO [5 mL à une concentration de 1000µg/mL] [88-90].

Ils ont aussi préparé une solution d'amoxicilline à une concentration de 1000µ/mL dans l'eau distillée. Après l'incubation, le diamètre de la zone entourant chacun de ces composés coumarines a été mesuré à l'aide d'un lecteur de zone antibiotique[88-90].

❖ Résultats et discussion :

Composé	Zone d'inhibition (en mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine	17 ± 1.93	20 ± 1.43
8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine	17 ± 1.74	18 ± 1.21
Amoxicilline	29 ± 1.32	36 ± 1.43

Tableau VIII: Evaluation de l'activité antibactérienne du 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine et 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

Le tableau précédent montre que les deux composés (8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine et 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine) présentent une activité anti-bactérienne considérable pour les deux espèces (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) [92].

III.2. Activité anti-inflammatoire

Ces travaux sont effectués par Swayam Sourav Sahoo et ses collaborateurs (2012) selon l'expérience suivante :

❖ **Technique :**

Les deux composés ont été testés pour une activité anti-inflammatoire par un modèle d'œdème de patte de rat albinos (divisés en 15 groupes de six animaux de chacun) induit par la carraghénane [91].

L'inflammation a été induite par injection de 0,05 ml de suspension de carraghénane à 1% par voie sous-cutanée dans la région sous plantaire de la patte arrière gauche et 0,05 ml de solution saline injectée dans la région sous-plantaire de la patte arrière gauche pour tous les groupes [91].

Une heure avant l'injection de carraghénane, les groupes III à XV traités avec un nouveau dérivé de coumarine (8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine ou 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine) administré 10 mg / kg, le DMSO était donné au groupe-I utilisé comme contrôle traité par le carraghénane et un médicament standard [91].

L'ibuprofène (5 mg / kg) a été administré au groupe II [91].

Toutes les doses ont été administrées par voie orale. L'activité anti-inflammatoire a été évaluée en mesurant le volume d'œdème induit. L'augmentation en pourcentage du volume d'œdème de la patte [92,93] a été déterminée aux première, deuxième et troisième heures après l'induction de l'inflammation [92,93]

❖ **Résultats et discussion :**

Composé	Pourcentage(%) d'inhibition		
	Après 1 heure	Après 2 heures	Après 3 heures
8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine	1.37 ± 0.0987	4.65 ± 1.263	8.75 ± 1.381
8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine	1.25 ± 0.165	6.3 ± 1.793	27.88 ± 1.499
Ibuprofène	20.8 ± 0.342	35.7 ± 1.994	57.14 ± 1.769

Tableau IX : Evaluation de l'activité anti-inflammatoire du 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine et 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

La comparaison entre les pourcentages d'inhibition après trois heures entre les deux molécules montre que le 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine a une activité anti-inflammatoire significative et qui est plus importante que celle du 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine [92,93].

Partie pratique

Matériel et Méthodes

I. INTRODUCTION :

L'étude expérimentale porte sur:

1. la synthèse chimique d'un dérivé de coumarine simple, à structure d'ombélliférone : (**hymécromone (DCI) : P1**), ensuite le nitrer (**2 essais : P2a + P2b**), enfin réduire le groupement fonctionnel nitro en amino (**2 essais : P3a + P3b**).

Au stade de la nitration, un isomère structural apparait en même temps que le P2, mais en faible quantité, il sera nommé **P2'**.

Le schéma réactionnel suivant (figure 31) représente le cheminement, que nous allons suivre, au cours de la partie pratique.

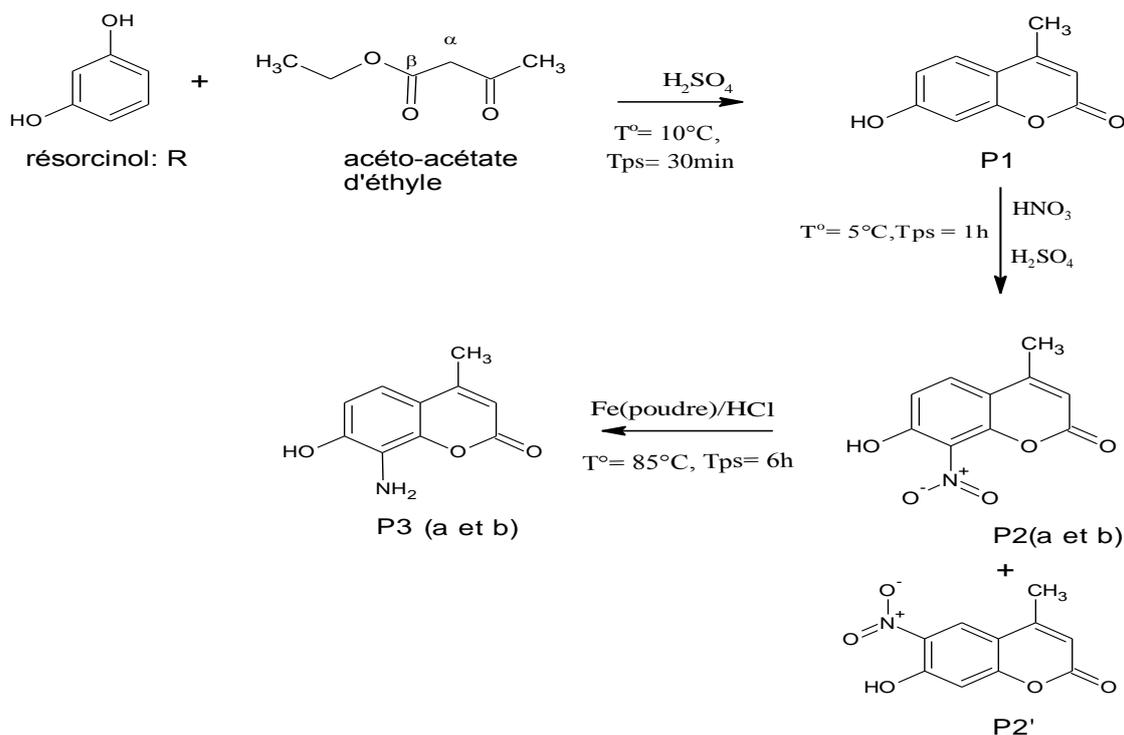


Figure 31 : Schéma réactionnel des synthèses réalisées

2. l'identification, caractérisation et estimation de la pureté des réactifs et produits, par

- ❖ Solubilité dans différents solvants
 - ❖ Réaction chimique avec du FeCl_3
 - ❖ Chromatographie sur couche mince
 - ❖ Infrarouge
 - ❖ Mesure du point de fusion.
- } → **R, P1, P2a, P2b, P2', P3b**
- } → **R, P1, P2a, P2b, P2', P3a et P3b**

L'hymécromone est inscrite à plusieurs pharmacopées, telles que, la pharmacopée européenne 7^{ème} Edition, la pharmacopée japonaise XVI^{ème} édition.

II. SYNTHÈSES CHIMIQUES :

II.1. Synthèse du 7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P1) :

La 7-hydroxy-4-méthylcoumarine (hymecromone) est synthétisée par condensation de pechmann à partir du résorcinol (R) et l'acéto-acétate d'éthyle comme matières premières, et en présence de l'acide sulfurique comme catalyseur.

Le résorcinol (résorcine) se présente sous forme de cristaux blancs, or ceci ne correspond pas à l'aspect du résorcinol présent au laboratoire. D'où la nécessité d'opérer une purification par une recristallisation sous vide.

II.1.a. Purification du résorcinol :

II.1.a.1. Principe de recristallisation :

La recristallisation est une méthode de purification des produits solides. Elle permet d'éliminer les impuretés d'un produit, obtenu après une réaction chimique ou une extraction. Son principe se base sur la différence de solubilité d'un composé, à chaud et à froid, dans un solvant.

La recristallisation consiste en une dissolution, du solide à purifier, dans un minimum de solvant (appelé solvant de recristallisation) chaud (bouillant), ensuite à refroidir la solution, ce qui provoque la cristallisation. Le produit est alors récupéré par filtration sous vide.

Le refroidissement doit être le plus lent possible, sinon les cristaux ne se forment pas, ou bien, se forment très rapidement en retenant les impuretés. Généralement, la recristallisation est renouvelée jusqu'à l'obtention d'un point de fusion constant du produit.

Pour la séparation du produit des impuretés :

- ❖ **Le produit** : doit être soluble à chaud, insoluble à froid
- ❖ **Les impuretés** : 2 cas possibles :
 - Si elles sont solubles à chaud et solubles à froid → Pas de problèmes! Éliminées directement lors de la filtration.
 - Par contre, si elles sont insolubles à chaud (et à froid) → Nécessité d'une filtration préalable de la solution chaude.

II.1.a.2. Critères de choix du solvant de recristallisation

Le critère important pour une meilleure recristallisation réside dans le bon choix du solvant : un solvant où la solubilité du solide, à température ambiante, est nulle (ou presque) et, à température d'ébullition, est maximale (ou presque, aussi).

Le solide doit être stable à cette température d'ébullition. L'efficacité de la recristallisation est moins bonne à une température plus basse que la température d'ébullition du solvant : il faut donc éviter d'utiliser un solvant de température d'ébullition supérieure à la température de fusion du solide.

Si on veut améliorer le solvant de recristallisation, il faut être patient et tester les solvants classiques, puis les mélanges de solvants en tenant compte de deux facteurs principaux :

- ❖ Le respect de polarité.
- ❖ Le respect de l'écart de solubilité du composé à chaud et à froid.

On prend en considération aussi, que le solvant de recristallisation doit :

- ❖ Être inerte vis-à-vis du produit à purifier.
- ❖ Dissoudre les impuretés à chaud et à froid.
- ❖ Avoir un point d'ébullition le plus bas possible.
- ❖ Être le moins toxique possible.

II.1.a.3. Réactifs :

Dans cette purification, on a utilisé les réactifs suivants :

Réactifs	Caractères	Laboratoire	Toxicité
Résorcinol impur N°CAS : 108-46-3	Mr = 110g mol ⁻¹ Pf = 110 °C Pe = 276.5°C d = 1.28 à 20°C pka= 9,15 Soluble dans l'eau à 25 °C, dans DMSO , acétone à 18°C	-	 Irritant pour la peau Irritant pour les yeux
Toluène N°CAS : 108-88-3	Mr = 92.14g mol ⁻¹ Pf = -94.9°C Pe =110.6°C d = 0.867 soluble dans l'eau 0,526mg/L à 25°C miscible avec chloroforme, benzène, diéthyl éther, acétone	BIOCHEM CHEMOPHARMA	 Irritant et inflammable
Ethanol absolue N°CAS : 64-17-5	Mr =46 g.mol ⁻¹ Pf = -114°C Pe =79°C d = 0.789 miscible dans les solvants polaires et apolaires	SIGMA ALDRICH	 Inflammable

Tableau X : Réactifs utilisés dans la purification du résorcinol.

II.1.a.4. Matériel :

On a utilisé le matériel et la verrerie disponibles dans notre laboratoire.

Prise de masse	Balance de précision	2 béchers (1000 ml, 250 ml)	Tubes à essais
	<ul style="list-style-type: none"> model : GIBERTINI Max : 1010 g E =0.01 g T = - 1010 g +15e/+30°C 	Spatule	
Purification	Agitateur magnétique chauffant	Cristallisoir	Bécher 1000ml
	<ul style="list-style-type: none"> AREHeating Magnetic Stirrer VELP SCIENTIFICA 	Fiole à vide	
	Thermomètre :	Büchner /papier filtre	Éprouvette 25ml
	<ul style="list-style-type: none"> batch 1556 -10°C/ +150°C Lenght :300mm 	Joint conique/ Trompe à eau	Spatule
	Etuve:		
	<ul style="list-style-type: none"> Model: JOUAN SA 240±10 V ~ 1000w 50/60Hz 		

Tableau XI: Matériel utilisé dans la purification du résorcinol.

II.1.a.5. Méthode:

❖ Choix du solvant de recristallisation :

- Dans deux tubes à essais ; dissoudre, par chauffage, une quantité égale de résorcinol impur dans deux solvants différents : toluène et éthanol.
- Refroidir, et filtrer.

❖ Protocole:

La figure 32 représente les photographies illustrant la recristallisation de résorcinol

Une quantité de 100 g de résorcinol a été utilisée par fractionnement.

- Dans un bécher de 1000 ml, introduire 50 g de résorcinol.
- Ajouter le toluène et chauffer le mélange jusqu'à dissolution totale (qsp toluène = 750 ml).
- Refroidir la solution dans un bain de glace*: un précipité est formé, le filtrer sous vide (une double filtration sous vide est réalisée pour améliorer le rendement de purification).
- Laisser sécher le précipité dans l'étuve à température 80°C.

Matériel et Méthodes

*Remarque : Dans toutes les manipulations réalisées dans notre travail, le refroidissement se faisait d'abord à température ambiante (ou jet d'eau), ensuite dans un bain d'eau glacée.

Matériel et Méthodes



Pesée du résorcinol



Toluène + résorcinol



Résorcinol pur



Filtration s/v

Figure 32 : Photographies illustrant la recristallisation du résorcinol

II.1.b. Synthèse du 7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P1) :

II.1.b.1. Réactifs :

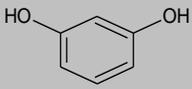
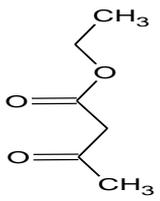
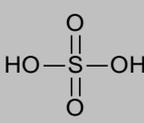
Etape	Réactifs	Structure	Caractères	Laboratoire	Toxicité
Synthèse	Résorcinol Purifié		Poudre cristalline blanche	Purifié au laboratoire	
	Acéto-acétate d'éthyle :		Mr = 130.14g.mol ⁻¹ Pf = -45°C Pe = 181°C d = 1.029 à 20°C	SIGMA Aldrich	
	Acide sulfurique		Mr = 98.08g.mol ⁻¹ Pf = -6.94°C Pe = 290°C(lit) d = 1.840 à 25°C pureté = 95-97%	SIGMA Aldrich	 Corrosif
	Chlorure de sodium	Na ⁺ , Cl ⁻	Poudre blanche cristaux cubiques Mr = 58,44 g.mol ⁻¹ Pf = 801 °C Pureté: 99.5% Très soluble dans l'eau	SIGMA Aldrich	 Sur- consommation danger pour la santé

Tableau XII : Réactifs de l'étape de synthèse du P1

Etape	Réactifs	Structure	Caractères	Laboratoire	Toxicité
Isolement	Eau distillée	$\text{H}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{O}}}$	-	-	-
	Acide chlorhydrique	H^+, Cl^-	Mr = 36.461 g.mol ⁻¹ Pf = -30°C Pe = 48°C d = 1,19 à 20°C pureté=37%	SIGMA Aldrich	 Corrosif
Purification	Soude (pastilles)	Na^+, OH^-	Mr= 40 g.mol ⁻¹ Pf = 318 °C Pe =1388°C d = 2.13 à 20°C	SIGMA Aldrich	 Corrosif
	Méthanol dénaturé	$\text{H}_3\text{C}-\text{OH}$	Mr = 32.04g.mol ⁻¹ Pf = -98°C Pe = 65°C d = 0.79 Pureté = 95%	Prolabo	 Toxique inflammable

Tableau XIII : Réactifs des étapes d'isolement et de purification du P1.

II.1.b.2. Produits :

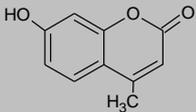
Produit	Structure	Caractères	Toxicité
P1 (hymecromone)		Poudre blanche cristalline. Mr = 176 g.mol ⁻¹ Pf = 192°C Pka = 7,79	  Irritant les poumons et la peau
Ethanol	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{OH}$	Mr = 46,068 g.mol ⁻¹ Pf = -114°C Pe = 79°C d = 0.789 à 20°C	 Inflammable
Eau H₂O	-	-	-

Tableau XIV : Produits de synthèse du P1.

II.1.b.3. Matériel :

Prise d'essai	Balance de précision : <ul style="list-style-type: none"> Model: Scout ProSPU401 Max =400 g 	Eprouvette 50ml	Spatule
	pipette graduée de 2ml	Pro pipette	
Synthèse	Agitateur magnétique chauffant <ul style="list-style-type: none"> ARE Hagnetic Stirrer VELP SCIENTIFICA 	ballon tricol à fond rond 250 ml	Cristallisoir
	Thermomètre: <ul style="list-style-type: none"> batch 1556 -10°C/ +150°C Lenght :300mm 	Ampoule à addition 250ml	Barreau magnétique
Isolement	Potence	3 béchers (1000ml, 250ml, 100ml)	
	Bécher 1000ml	Fiole à vide 500ml	Joint conique
Purification	Baguette en verre	Büchner/ Papier filtre	Trompe à eau
	Préparation d'une solution NaOH 10%	Balance de précision <ul style="list-style-type: none"> Model: GIBERTINI Max : 1010g E =0.01 g T = -1010 g +15°C/+30°C 	Fiole jaugée 500ml, 50ml) Bécher 100ml, 50ml)
Purification	Préparation d'une solution HCl 6N	Eprouvette 200ml	Spatule
	Recristallisation	Bécher 100ml	
		Agitateur magnétique chauffant : <ul style="list-style-type: none"> ARE Heating Magnetic Stirrer VELP SCIENTIFICA 	Chauffe ballon Réfrigérant à boule
	Recristallisation	Etuve: <ul style="list-style-type: none"> Model: JOUAN SA 240±10ù V ~ 1000w 50/60Hz 	Fiole à vide
Ballon Bicol à fond rond 500ml		Pipette 2ml	Papier filtre
		Pro pipette	Joint conique
		Papier pH	Trompe à eau

Tableau XV: Matériel utilisé dans la synthèse de l'hymecromone P1

II.1.b.4. Méthode :

Comme toute autre synthèse ordinaire, le produit est d'abord obtenu chimiquement, puis, isolé du mélange réactionnel. Enfin, purifié.

❖ Synthèse :

La figure 33 représente les photographies illustrant la synthèse de P1

2 essais de ce protocole ont été réalisés au même moment, dans les mêmes conditions et par la même équipe.

▪ Condensation de Pechmann :

- Dans un ballon tricol à 250 ml, introduire 93,75 ml d'acide sulfurique concentré et adapter un thermomètre. Refroidir dans un bain d'eau glacé préalablement préparé (avec du sel NaCl), sous agitation constante, jusqu'à ce que la température devienne inférieure à 04° C.
- D'autre part et dans un bécher de 250 ml dissoudre progressivement et complètement, sous agitation magnétique constante, 23 g de résorcinol purifié dans 27,4g d'acéto-acétate d'éthyle. Une fois la solution limpide, verser là dans une ampoule à addition fixée au ballon
- Ajouter le mélange goutte à goutte sur la solution refroidie de H₂SO₄, sous agitation constante du mélange réactionnel qui devient de plus en plus visqueux et, tout en gardant une température, inférieure à 10°C.
- Une fois l'addition est achevée, retirer le ballon du bain de glace en le laissant sous agitation permanent durant une heure, ceci permettra d'accomplir la réaction de Pechmann.

▪ Isolement de l'hymécromone impure :

- Dans un bécher de 1000 ml, Peser 665g d'eau distillée glacée.
- Y verser le mélange réactionnel avec un débit constant et en file mince.
- Mélanger avec une baguette, jusqu'à la dissolution totale de la glace.
- Filtrer sous vide puis rincer avec de l'eau distillée froide : produit P1 impur.

❖ Purification (recristallisation sous vide) :

Il s'agit d'une double purification : d'abord en solution alcalino-acide, puis dans un solvant organique : le méthanol dénaturé.

▪ Préparation de 550 ml d'une solution de NaOH à 10 % : (QSP 2 essais)

Dans deux fioles jaugées (de 500ml et de 50 ml), dissoudre complètement et respectivement 50g et 5 g de soude (sous forme de pastilles), préalablement pesée, dans une quantité d'eau distillée. Compléter avec ce même solvant jusqu'aux traits de jauge.

▪ Préparation d'une solution d'HCl 6N :

Calcul de la normalité de la solution commerciale :

1L de la solution contient 1190 g (d=1.19)

La masse d'acide chlorhydrique pur : $m = X$ (g)

37g d'HCl \longrightarrow 100 g de solution

X (g) \longrightarrow 1190 g de solution

$$m = 37 \times 1190 / 100$$

$$m = 440.3 \text{ g}$$

Donc :

La quantité de matière en (mole) de HCl : $n = m / M_r$

$$n = 440.3 / 36.461$$

$$n = 12 \text{ mol}$$

Comme, on a un monoacide, la molarité est égale à la **normalité** soit 12 molaire = **12 N**

Préparation de 200 ml d'une solution HCl 6N (QSP 2 essais):

La préparation de 200 ml d'une solution HCl 6N (f) se fera par dilution de la solution commerciale (i)

$$N_i \cdot V_i = N_f \cdot V_f$$

$$V_i = 12 \times 200 / 6$$

$$V_i = 100 \text{ ml}$$

Donc, dans une fiole de 200ml, introduire une quantité importante ne dépassant pas 100ml d'eau distillée puis verser 100ml d'HCl progressivement. Une fois l'addition est terminée, compléter avec d'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

▪ **Technique de purification:**

Première purification :

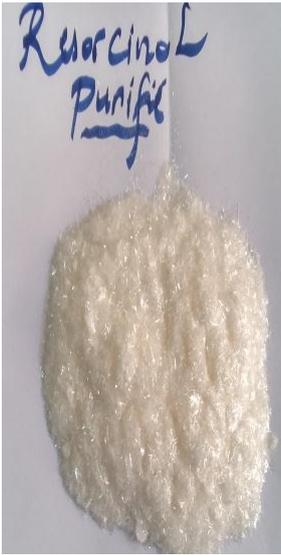
Elle s'effectue par dissolution à chaud en milieu alcalin, suivie d'une cristallisation en milieu acide. Enfin, une filtration sous vide.

- Avec agitateur magnétique chauffant, dissoudre complètement le produit **P1 impur** dans la solution NaOH 10% (QSP= 275 ml), en augmentant la température au fur et à mesure.
- Une fois l'aspect de la solution limpide, ajouter progressivement, la solution HCl 6N jusqu'à cristallisation totale (QSP= 55ml). *Un excès de solution HCl nuit à la qualité de la purification (il favorise d'avantage la cristallisation du résorcinol), il devra donc, être évité par surveillance du pH de la solution avec le papier pH.*
- Filtrer sous vide et récupérer les cristaux du **produit P1**

Seconde purification :

- Dans un ballon bicol adapté à un réfrigérant, verser sur le produit P1 récupéré, le **méthanol dénaturé** au fur et à mesure, jusqu'à dissolution totale par chauffage (QSP méthanol = 150 ml), filtrer à chaud pour éliminer certaines impuretés.
- Refroidir le filtrat dans un bain de glace : **P1 purifié** cristallise, Filtrer sous vide en rinçant le précipité avec 5 ml d'eau distillée à la fois.
- Sécher le produit à l'étuve.

Matériel et Méthodes



Résorcinol purifié



acéto-acétate d'éthyle



addition du H_2SO_4 sur
le mélange (résorcinol+acéto-
acétate d'éthyle)



avec
Séchage
rinçage



Purification
méthanol,



Matériel et Méthodes



Recrystallisation avec l'eau
distillée glacée et froide



Filtration s/vide : P1 impur

Alcalinisation



Recrystallisation
par acidification
puis filtration s/vide

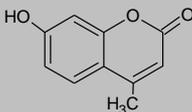
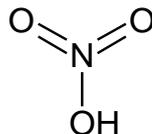
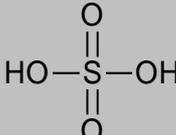
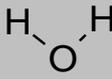


Dissolution à chaud

Figure 33 : Photographies illustrant la synthèse du P1

II.2. Synthèse de 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P2) :

II.2.a. Réactifs :

	Réactifs	Structure	Caractère	Laboratoire	Toxicité
Synthèse	Hyméchromone (P1) N° CAS: 90-33-5		Poudre blanche cristalline. Mr : 176 g.mol ⁻¹ Pf : 192°C	Synthétisée au laboratoire	 Irritant les poumons et la peau
	Acide nitrique HNO ₃ N° CAS: 7697-37-2		Liquide incolore à jaune, odeur acre Mr=63,01g.mol ⁻¹ Pf= 121°C d = 1,42 Pureté = 69% miscible à l'eau	SIGMA ALDRICH	 Corrosif et oxydant
	Acide sulfurique H ₂ SO ₄ N° CAS : 7664-93-9		Liquide hygroscopique, huileux, incolore, Mr= 98.08g .mol ⁻¹ Pf = -6.94°C Pe =290°C(lit) d = 1.84 à 25°C pureté = 95-97%	SIGMA ALDRICH	 Corrosif
	Chlorure de sodium N° CAS 7647-14-5	Na ⁺ , Cl ⁻	Poudre blanche cristaux cubiques Mr= 58,44 g.mol ⁻¹ Pf = 801 °C Pureté = 99.5% Très soluble dans l'eau	SIGMA ALDRICH	 Surconsommation danger pour la santé
Isolement	Eau distillée		-	-	-

Purification	Ethanol absolu	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{OH}$ Liquide incolore, miscible dans les solvants polaires et apolaires Mr = 46 g.mol ⁻¹ Pf = -114°C Pe = 79°C d = 0.789 Pureté = 99.8%	SIGMA ALDRICH	 Inflammable
	N°CAS : 64-17-5			

Tableau XVI : Réactifs utilisés pour la synthèse de P2 et P2'

II.2.b. Produits :

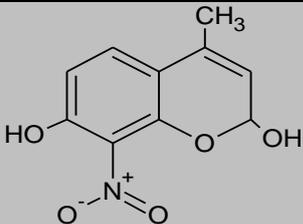
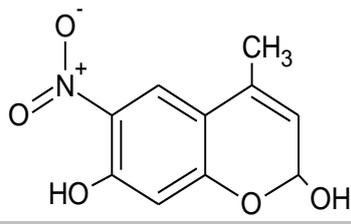
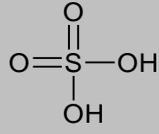
Produits	Structure	Caractères	Toxicité
8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine		Poudre jaune foncée Mr = 221 g.mol ⁻¹ Pf = 255-256°C	aucune donnée
6-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine		Poudre jaune claire Mr = 221 g.mol ⁻¹ Pf : 255-256 °C	aucune donnée
Acide sulfurique		Mr = 98.08 g.mol ⁻¹ Pf = -6.94 °C Pe = 290°C Pureté = 95-97%	 Corrosif

Tableau XVII : Produits de nitration du P1.

II.2.c. Matériel

Prise d'essai	Balance de précision model Scout pro spu 401 max = 400g	Eprouvette 100 ml	
Synthèse	Agitateur magnétique chauffant : [ARE Heating Hagnetic Stirrer VELP SCIENTIFICA	Ballon Bicol à fond rond (250 ml)	Bécher (50 ml)
	Thermomètre [Batch17556 -10°C/+150°C Lenght: 300mm	Ampoule d'addition 250ml	Barreau magnétique
		Cristallisoir	
Isolement	Bécher 1000ml	Büchner	Papier filtre
	Fiolle à vide (500 ml)	Joint conique	
	Baguette	Trompe à eau	
Purification	Agitateur magnétique chauffant : [ARE Heating Hagnetic Stirrer VELP SCIENTIFICA	Ballon Bicol à fond rond (500 ml)	Büchner
	Etuve: [Model: JOUAN SA 240±10V ~ 1000w 50/60Hz	Cristallisoir	Papier filtre
		Baguette	Trompe à eau
	Barreau magnétique	Fiolle à vide	Joint conique

Tableau XVIII : Matériel utilisé pour la nitration du P1.

II.2.d. Méthode:

La figure 34 représente les photographies illustrant la synthèse du P2 et P2'.

2 essais de ce protocole ont été réalisés : essai a + essai b

❖ Synthèse : nitration du P1

- Dans un ballon bicol de 250 ml, Mélanger 12g de P1 purifié avec 100 ml d'H₂SO₄
- adapter un thermomètre dans un col
- Poser le ballon dans un bain de glace (glace+NaCl) et garder une température de la solution <1°C
- Préparer un mélange (15ml de H₂SO₄+5ml de HNO₃) dans un bécher de 50ml, puis, le transvaser dans une ampoule d'addition
- L'addition se fait goutte à goutte, tout en gardant une température <10°C
- A la fin de l'addition, laisser le mélange à une température ambiante 25°C pendant 1 heure

❖ Isolement :

- Dans un bécher de 1000 ml, peser 46,03g d'eau distillée glacée
- Y verser la solution du produit obtenu avec un débit constant et en file mince : un produit jaunâtre précipite
- Filtrer sous vide avec rinçage avec l'eau distillée froide.

❖ Purification :

- Mettre le produit dans un ballon Bicol de 500 ml
- Ajouter de l'éthanol et chauffer pendant une durée assez suffisante (300 ml d'éthanol) : le produit solide a diminué de volume mais reste toujours solide
- Filtrer à chaud :
 - le résidu solide = P2' (6-nitro-8-hydroxy-4-méthyle coumarine = ?)
 - le filtrat est concentré, refroidir dans un bain de glace jusqu'à recristallisation, filtrer sous vide. Le résidu solide = P2 (8-nitro-7-hydroxy-4-méthyle coumarine= ?)
- Sécher P2 et P2' à l'étuve.

Matériel et Méthodes



Mélange réactionnel



Isolement



Filtration s/vide



P2'
+
Filtrat

+Ethanol à chaud



Filtration à chaud



Obtention du mélange
des isomères



Concentration +
Filtration s/vide



P2

Figure 34 : Photographies illustrant la synthèse de P2 et P2'

II.3. Synthèse de 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P3) :

II.3.a. Réactifs :

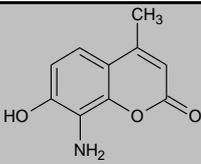
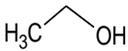
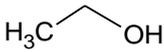
	Réactifs	Structure	Caractère	Laboratoire	Toxicité
Synthèse	Produit P2		Poudre jaune Mr = 221 g.mol ⁻¹ Pf = 255-256°C	Synthétisé au niveau du laboratoire	 Irritant (yeux, peau, bouche)
	Ethanol absolu N°CAS : 64-17-5		liquide incolore, Miscible dans les solvants polaires et apolaires Mr = 46 g.mol ⁻¹ Pf = -114°C Pe = 79°C d = 0.789 Pureté= 99.8%	SIGMA Aldrich	 Inflammable
	Acide chlorhydrique N°CAS : 7664-38-2	H ⁺ , Cl ⁻	Mr= 36.461 g.mol ⁻¹ d=1.19 Pureté =37%	SIGMA Aldrich	 Corrosif
Isolement	Poudre de fer	Fe	Ma=55,845 uma	Aucune donnée	 Inflammable
	Eau distillée	H ₂ O	-	-	-
Purification	Ethanol absolu N°CAS : 64-17-5		liquide incolore, d'odeur caractéristique miscible dans les solvants polaires et apolaires Mr =46 g/mol Pe=79°C Pf = -114°C Pureté= 99.8%	SIGMA Aldrich	 Inflammable

Tableau XIX: Réactifs de synthèse du produit P3

II.3.b. produits :

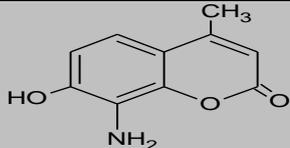
Produits	Structure	Caractères	Pictogramme de toxicité
8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P3)		Poudre blanche Mr = 191 g.mol ⁻¹ Pf = 280 °C	Aucune donnée

Tableau XX : Produits de synthèse du P3

II.3.c. Matériel :

Prise d'essai	Balance de précision model GIBERTINI Max = 1010g E = 0.01 g T = -1010 g +15°C/+30°C	Eprouvette (20ml, 50mL) Spatule
	Synthèse	Agitateur magnétique chauffante : [ARE Heating Magnetic Stirrer VELP SCIENTIFICA Thermomètre [Batch 17556 -10°C/+150°C Length: 300mm Barreau magnétique Ballon Bicol à fond rond (250mL) Réfrigérant à boules Bécher 100 ml Entonnoir
Isolement	Cristalliseur Fiole à vide à 250 ml	Papier filtre
	Büchner Joint conique	Trompe à eau

Tableau XXI: Matériel utilisé dans la synthèse du P3

II.3.d. Méthode :

La figure 35 représente les photographies illustrant la synthèse du P3a et P3b

Deux essais ont été effectués :

Le 1^{er}, à partir de P2b pour donner du P3b, et le 2^{ème}, à partir de P2a, avec une poudre de fer de meilleure qualité, pour avoir le P3a.

❖ Synthèse : réduction en amine

- Dans un ballon Bicol de 250 ml, introduire 4.4 g de P2 (P2b et P2a)
- Dans un bécher de 100 ml, mélanger 30 ml de HCl avec 20 ml d'éthanol absolu
- Verser ce mélange, sous agitation, sur le P2 au fur et à mesure jusqu'à dissolution complète du P2
- Chauffer le ballon dans un bain marie en augmentant la température jusqu'à l'apparition du reflux d'éthanol sur le réfrigérant ($T^{\circ} = 60^{\circ}\text{C}$). A ce stade là, ajouter 8g de poudre de fer a l'aide d'un entonnoir.
- Une fois l'addition est terminée, laisser le mélange sous agitation et à température de reflux pendant 6 heures.

❖ Isolement :

- Filtrer sous vide ce précipité avec rinçage par l'eau distillée froide.

Remarque :

La purification des produits des deux essais de cette synthèse n'a pas pu être réalisée, suite aux faibles quantités des produits obtenus.

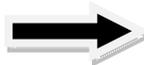
Matériel et Méthodes



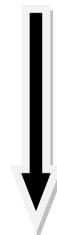
Poudre de fer



P2 (a et b)



**mélange du P2
avec HCl alcoolique**



P3a impur (essai a)

Chauffage 6h + filtration



**L'ajout de la poudre de
Fer au fur et à mesure**



P3b impur(essai b)

Figure 35: Photographies illustrant la synthèse du P3a et P3b

III. IDENTIFICATION :

Le résorcinol purifié et les produits synthétisés sont ensuite caractérisés par l'essai de solubilité et une réaction colorimétrique (FeCl_3) ; identifiés par mesure du point de fusion et par méthode spectrale infrarouge. Enfin, leur degré de pureté est estimé par analyse séparative chromatographique et aussi par la mesure du point de fusion.

III.1. Test de solubilité :

III.1.a. Principe:

La solubilité d'un soluté dans un solvant donné est définie par la quantité maximale de ce soluté qui peut se dissoudre dans un volume donné de solution.

La solubilité d'un corps pur dépend, pour une température donnée :

- de la structure du composé
- et de la nature du solvant.

III.1.b. Réactifs :

Numéro d'échantillon (N° ech)	Ech N° 1 : R	Ech N° 3 :P2a	Ech N° 5 :P2'
	Ech N° 2 :P1	Ech N° 4 :P2b	Ech N° 6 :P3b
Solvant de dissolution	Chloroforme	Ethanol	Cyclohexane
	Solution d'hydroxyde de sodium 10%	Eau distillée	DMSO

Tableau XXII: Réactifs utilisés dans le test de solubilité

III.1.c. Matériel :

Prise d'essai	Balance de précision :	Béchers 50 ml	Spatule
	<div style="border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; padding: 0 5px;"> Model : GIBERTINI Max : 1010g E= 0,01g T= -1010g +15°C/30°C </div>	Pipette 1ml	Pro pipette
Dissolution	Tubes à essai	Portoir	Entonnoir

Tableau XXIII: Matériel adopté pour le test de solubilité.

III.1.d. Méthode :

- ❖ Pour chaque échantillon, introduire 0,10 g de poudre complètement déshydratée, dans cinq tubes à essai. Rajouter 1 ml de chaque solvant.
- ❖ Agiter manuellement, Observer la solubilité.

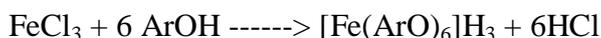
N.B : *Ce test est réalisé sans aucune source de chaleur.*

III.2. Réactions chimiques :

III.2.a. Principe:

Le chlorure de fer (III) est un acide de Lewis assez fort, qui forme avec les bases de Lewis des composés stables.

C'est un oxydant fort qui forme avec les fonctions enol ou phénol des complexes colorés, selon la réaction ci-dessous, et la coloration dépend de la nature du produit.



III.2.b. Réactifs :

Réactifs	Caractères	Laboratoire	Toxicité
Ethanol absolu N° CAS : 64-17-5	Mr =46 g.mol ⁻¹ Pf = -114°C Pe =79°C d = 0.789 miscible avec les solvants polaires et apolaires	SIGMA Aldrich	 Inflammable
Chlorure du fer(III) N° CAS : 7705-08-0	Mr =162,20 g.mol ⁻¹ Pf =304 °C Pe =316°C d = 2,804 pureté=97%	SIGMA Aldrich	 Corrosif

Echantillon (N° éch)	Ech N° 1 : R	Ech N° 3 :P2a	Ech N° 5 :P2'
	Ech N° 2 :P1	Ech N° 4 :P2b	Ech N° 6 :P3b

Tableau XXIV: Réactifs utilisés pour la réaction au chlorure ferrique.

III.2.c. Matériel :

Prise de masse	Balance de précision : Model : GIBERTINI Max : 1010g E= 0,01g T= -1010g +15°C/30°C	Bécher 25ml Spatule	Eprouvette 10ml
	Réaction chimique	Pro pipette	Entonnoir
	Tubes à essai Pipette (1ml, 5ml)	Bécher 25ml	Portoir

Tableau XXV: matériel utilisé pour la réaction au chlorure ferrique.

III.2.d. Méthode :

Le test de l'hymecromone avec le chlorure ferrique figure dans la monographie de la pharmacopée japonaise XVI édition, ce test a été élargi aux autres produits (censés contenir aussi des fonctions phénols).

❖ Préparation d'une solution éthanolique de FeCl₃ à 10% :

Dissoudre 0,5g de FeCl₃ dans une petite quantité d'éthanol, compléter avec ce même solvant jusqu'à trait de 5ml.

❖ Protocole :

- Introduire 0,02 g de chaque échantillon dans des tubes à essai
- Ajouter 3ml d'éthanol dans chaque tube, agiter jusqu'à dissolution.
- Additionner quelques gouttes de la solution éthanolique de FeCl₃ 10%, dans chaque tube. observer le changement de couleur après l'addition de ce réactif.

Remarques :

1. Un témoin négatif (T(-)) est préparé aussi par addition de quelques gouttes de FeCl_3 sur 3 ml d'éthanol.
2. pour le P1, deux tubes sont préparés (2a et 2b) à un intervalle de temps de 5 min, l'observation de la coloration se fait à T0 (pour le tube 2a) et à T1 (pour la tube 2b).

III.3. Mesure du point de fusion :

III.3.a. Principe :

Le point de fusion ou température de fusion d'un corps représente la température à une pression donnée, à laquelle un composé chimique pur sera fondu ; c'est-à-dire passe de l'état solide à l'état liquide.

Le but d'examiner le point de fusion d'un solide est à la fois d'identifier et d'avoir une première idée du degré de pureté : un écart de plusieurs degrés, par rapport au point de fusion du produit pur (décrit par la littérature) signifie qu'il faut envisager une étape de purification.

III.3.b. Réactifs :

Echantillon (N° ech)	Ech N° 1 : R	Ech N° 3 :P2a	Ech N° 5 :P2'	Ech N° 7 :P3b
		Ech N° 2 :P1	Ech N° 4 :P2b	Ech N° 6 :P3a
Etalons	Acétanilide Pf=114,5°C	Benzanilide Pf=163°C	Saccharine Pf=228°C	
Solvant pour nettoyage	Ethanol			

Tableau XXVI : Réactifs utilisés dans la mesure du point de fusion

III.3.c. Matériel :

Banc kofler :	Micro spatule
Puissance : 100w Alimentation : 220V-50/60Hz Température : +50°C à +260°C	Coton

Tableau XXVII: Matériel utilisé pour la mesure du point de fusion

III.3.d. Méthode :

- ❖ Le banc doit être allumé au moins 30 min avant la mesure, dans une pièce sans courants d'air, à l'abri des solvants inflammables.
- ❖ Déposer quelques cristaux du produit à analyser sur la partie froide (généralement à droite du banc).
- ❖ Les déplacer en biais à l'aide d'une micro spatule en évitant les bords inférieurs et supérieurs de la partie métallique du banc, jusqu'à apparition de la fusion.
- ❖ Déplacer le curseur et rabattre l'index de lecture sur la zone de séparation des parties fondues et non fondues et lire la température approximative.
- ❖ Nettoyer à sec (et puis avec très peu d'éthanol) avec un coton vers la partie froide du banc.

N.B :

Avant de commencer les mesures, le banc Kofler doit être d'abord étalonné avec les produits étalons figurant dans le tableau XXVI, ces étalons sont choisis de telle façon qu'ils aient le point de fusion le plus proche possible (supérieur ou inférieur), que celui du produit à étudier.

III.4. Caractérisation par une technique séparative : chromatographie sur couche mince :

III.4.a. Principe :

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode physique qui permet de séparer les constituants d'un mélange à analyser par un phénomène appelé élution. Cette séparation est basée sur la différence d'affinité des différents constituants entre les deux phases : stationnaire (fixe) et mobile.

La phase stationnaire est fixée sur une plaque, et la phase mobile liquide, appelée éluant. Cet éluant représente un solvant ou un mélange de solvants. Chaque constituant, migre d'une certaine hauteur caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétention frontale.

$$R_f = \frac{\text{Hauteur de la tache}}{\text{Hauteur du front du solvant}}$$

Révélation de la CCM : Chaque tache correspond à un constituant, elle peut apparaître :

- A l'œil nu : si le produit est coloré.
- A la lampe UV (les noyaux aromatiques par exemple).

- Avec un révélateur chimique : KMnO_4 , KOH ... si le produit n'est pas coloré

III.4.b. But :

Réaliser une analyse séparative des réactifs et produits des trois différentes synthèses :

- ❖ Résorcinol purifié
- ❖ Synthèse 1 : produit de la réaction de Pechmann
- ❖ Synthèse 2 : produits de nitration (2 essais, 2 isomères structuraux)
- ❖ Synthèse 3 : produit de la réduction (Essai b)

Les produits de nitration des deux essais ont été testés dans le but de repérer le produit doué de la meilleure pureté.

Deux CCM ont été réalisées en fonction de la polarité des phases mobiles.

III.4.c. Réactifs :

	Protocole	Réactifs	Laboratoire	Toxicité
Echantillon		R: Résorcinol purifié	-	 
	Protocole 1	P1: Produit de Synthèse 1	Synthétisé	
	+	P2a : Produit de Synthèse 2, essai a	Synthétisé	aucune donnée
	Protocole 2	P2b : Produit de Synthèse 2, essai b	Synthétisé	aucune donnée
		P2' : Produit secondaire de synthèse 2 (Isomère structural)	Synthétisé	aucune donnée
		P3b : Produit de Synthèse 3essai b	Synthétisé	aucune donnée
Solvant de dissolution	Protocole 1	Chloroforme	VWR PROLABO CHEMICALS	 
	Protocole 2	Acétate d'éthyle	VWR PROLABO CHEMICALS	 
Eluant	Protocole1	Cyclohexane	BIOCHEM	 
		Acétate d'éthyle	VWR PROLABO CHEMICALS	 

Protocole 2	Acide acétique	VWR PROLABO CHEMICALS		
	Chloroforme	VWR PROLABO CHEMICALS		
	AcOEt	VWR PROLABO CHEMICALS		

Tableau XXVIII: Réactifs utilisés dans la chromatographie sur couche mince.

III.4.d. Matériel:

Pour la CCM, on a utilisé le matériel suivant :

Balance de précision { model Scout pro spu 401 { max = 400g	Lampe UV (254 nm) : { VILBER LOURMAT { 4 W- 365 nm tube { 4W- 254 nm tube { POWER : 8W	Plaque CCM TLC Silica gel 60 F ₂₅₄
Bécher avec couvercle	Tubes à hémolyse	Pipette pasteur
Éprouvette 10 ml	Pipette graduée 2 mL	Portoir
Spatule	Pro pipette	

Tableau XXIX: Matériel utilisé dans la séparation chromatographique.

III.4.e. Méthode:

Deux CCM ont été réalisées en fonction de la nature de l'éluant et du solvant de dissolution des échantillons.

❖ Préparation des deux éluants:

- Éluant n°1 : deux solvants → Cyclohexane/AcOEt , 10 : 10 (v/v)
- Éluant n°2 : trois solvants → AcOEt/ CHCl₃/AcOH, 8 :7 : 0,5 (v/v/v)

❖ Préparation des solutions des échantillons :

Dans des tubes à hémolyse, dissoudre une quantité suffisante de chacun des six échantillons (R, P1, P2a, P2b, P2', P3b) (Cf. tableau XXVI) dans chaque solvant de dissolution :

- Solvant de dissolution n°1 : chloroforme
- Solvant de dissolution n°2 : acétate d'éthyle.

❖ Protocole de CCM :

- Remplir le bécher par l'éluant ; le recouvrir, afin que l'atmosphère dans la cuve soit saturée en vapeurs d'éluant.
- Tracer sur la plaque chromatographique un très fin trait au crayon de papier à 1 cm du bord inférieur et à 1cm du bord supérieur

Trait supérieur = ligne du front du solvant.

Trait inférieur = ligne de dépôt

- A l'aide de pipette pasteur, prélever une goutte de chaque solution des 6 échantillons (Cf. tableau XXVI) et la déposer sur le bord inférieur. Laisser sécher à l'air libre.

Position 1 : R

Position 2 : P1

Position 3 : P2a

Position 4 : P2b

Position 5 : P2'

Position 6 :P3b

- Déposer la plaque verticalement dans le bécher et la couvrir.
- Lorsque le mélange de solvant atteint la ligne du front du solvant, faire sortir la plaque du bécher et la laisser sécher.
- Examiner les plaques à l'air libre puis sous une lampe UV (254 nm).

III.5. Identification spectrale par analyse Infrarouge :

III.5.a. Principe :

Le principe de la spectroscopie infrarouge repose sur l'exposition d'un échantillon à une gamme de rayonnements électromagnétiques de l'IR moyen. Certains d'entre eux provoquent des modifications de l'état énergétique de la molécule étudiée : les signaux, ainsi obtenus, sont traduits en bandes (ou pics) d'absorption qui correspondent aux radiations absorbées. Ces bandes caractérisent les modes normaux de vibrations de groupes d'atomes et de groupements fonctionnels remarquables présents dans les molécules. Cette technique fonctionne quasi-exclusivement sur les échantillons présentant des liaisons covalentes.

Au sein d'une molécule, toutes les liaisons ne donnent pas lieu à une absorption dans l'infrarouge : il existe une règle de sélection : pour qu'il y ait absorption il faut que le moment dipolaire de la molécule varie lors de la vibration, ainsi, la variation de la fréquence de vibration est due à la variation de la constante de la force de liaison.

Il existe deux types de vibrations :

- ❖ **Les vibrations d'élongation** : ce sont des mouvements relatifs suivant leur axe de liaison, il y a 2 types : étirements (*stretching*) symétriques et antisymétriques
- ❖ **Les vibrations de déformation** : ce sont des mouvements avec variation des angles de liaison, on trouve communément des composés organiques vibrer en : cisaillement (*scissoring*), basculement (*rocking*), agitation hors du plan (*wagging*) et torsion (*twisting*).

Chaque pic d'absorption se caractérise par sa position au niveau du spectre (nombre d'onde), son intensité d'absorption, ainsi que sa forme .

III.5.b. Réactifs:

Numéro d'échantillon (N° Ech)			Poudre pour compression
Ech N°1 : R	Ech N°3 : P2a	Ech N°5 : P2'	Bromure de potassium : poudre blanche
Ech N°2 :P1	Ech N°4 : P2b	Ech N°6 : P3b	

Tableau XXX: Réactifs utilisés dans l'analyse infrarouge

III.5.c. Matériel:

Ce tableau regroupe le matériel utilisé dans cette technique:

Spectrophotomètre IR à transformée de fourrier (FTIR) : Type : ALPHA BRUKER avec module ATR DIAMOND	Presse hydraulique (pastilleuse)	Mortier en Aghate avec pilon
	Moule à pastiller	Support pour pastille

Tableau XXXI: Matériel utilisé dans l'analyse infrarouge

III.5.d. Méthode:

- ❖ Préparation de l'échantillon en pastille de KBr
 - Incorporer les échantillons en poudre (R, P1, P2a, P2b et P2' P3b), parfaitement déshydratés, l'un après l'autre, à un support qui n'absorbe pas dans l'IR moyen (KBr).
 - Préparer un mélange homogène de poudre (ech+KBr) et le broyer finement. Déposer le mélange dans un moule (Cf figure 36)
 - Soumettre le tout à une très forte pression dans une presse hydraulique (Cf figure 36).
 - Extraire du moule le mélange sous forme d'une pastille (Cf figure 36)
- ❖ acquisition des spectres d'absorption (FTIR) :
 - Placer le porte-échantillon contenant la pastille (KBr-ech) dans le compartiment de mesure du spectrophotomètre sur le trajet du faisceau incident. (Cf figure 36)
 - Le signal enregistré par le détecteur du spectrophotomètre prend en compte, non seulement l'absorption du rayonnement d'IR par l'échantillon à étudier, mais aussi par l'air présent dans le compartiment de mesure et éventuellement par le KBr s'il n'est pas complètement anhydre.
 - Il faut donc enregistrer un spectre de bruit de fond (background) de l'air (éventuellement d'une pastille de KBr pur).
 - Soustraire du spectre obtenu avec la pastille contenant l'échantillon, cela permet de se débarrasser des absorptions parasites.
 - Les spectres sont enregistrés en transmittance.



Préparation de l'échantillon en pastille de KBr



pression hydraulique de la pastille



Introduire la pastille dans le spectrophotomètre



Faire sortir la pastille du moule



Figure 36: Photographie montrant les étapes de préparation d'un échantillon à l'infrarouge

Résultats et discussions

I. SYNTHÈSES CHIMIQUES :

I.1. Synthèse du 7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P1) :

I.1.a. Purification du résorcinol :

I.1.a.1. Aspect:

❖ **Résultat :**

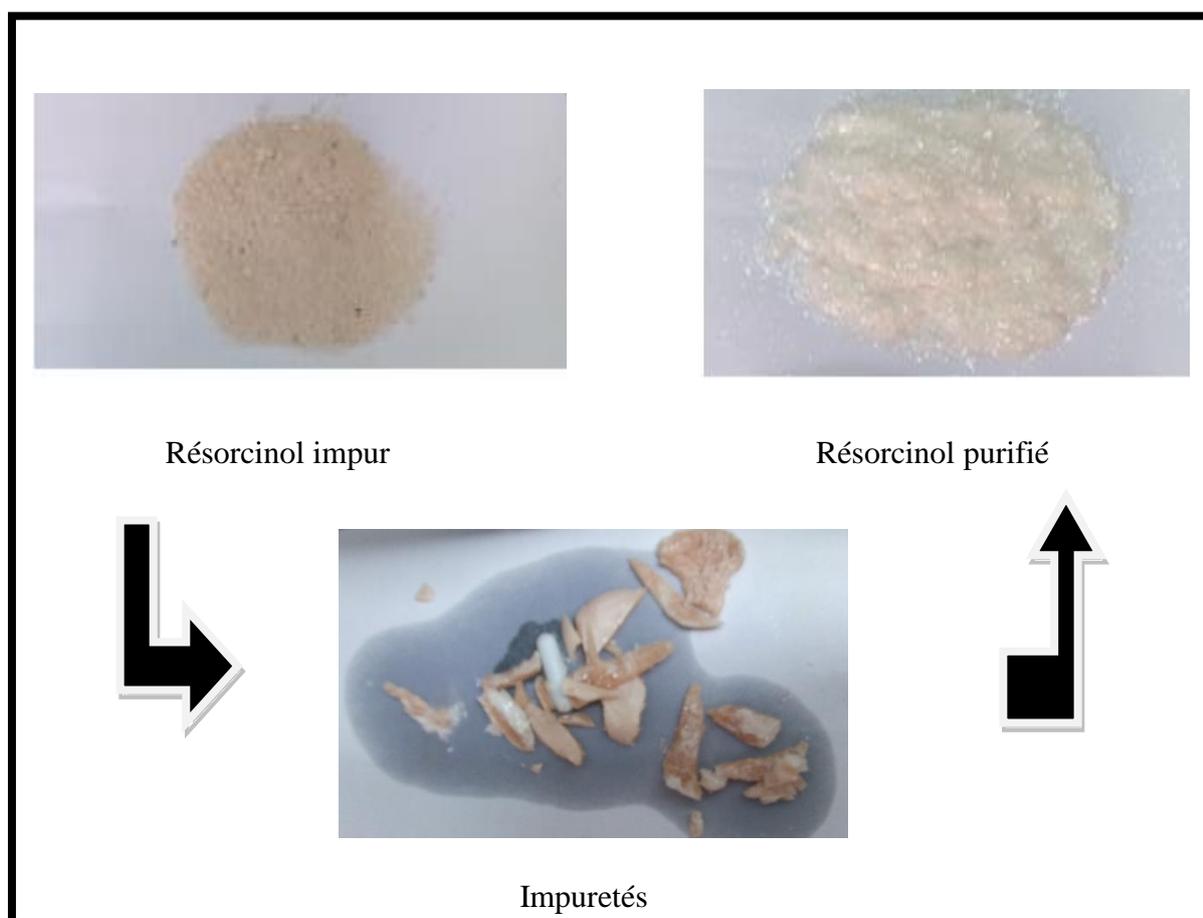


Figure 37 : Aspect comparatif du résorcinol impur avec le résorcinol purifié

Le résorcinol impur a un aspect granuleux et de couleur marron claire,

Après recristallisation, le résorcinol purifié se présente sous forme d'une poudre cristalline blanche.

❖ Discussion :

Selon la littérature, le résorcinol se présente sous forme de cristaux blancs. L'aspect du résorcinol purifié répond donc aux données de la bibliographie.

La comparaison entre l'aspect du résorcinol impur et le résorcinol purifié justifie la nécessité de cette étape avant de l'utiliser comme réactif de synthèse de l'hymécromone.

Les impuretés éliminées, durant la recristallisation, proviennent de l'oxydation du résorcinol à l'air, ou à la lumière. En effet, l'oxydation des phénols peut avoir lieu sous l'action de très nombreux oxydants: Fe^{3+} , O_2 , ... Elle démarre par la formation de radicaux libres phénoxyles relativement stables, qui évoluent pour donner, par couplage, des produits complexes souvent colorés (complexes de quinones), dont la structure est mal définie. C'est la raison pour laquelle les récipients contenant du résorcinol doivent être soigneusement conservés à l'abri de l'air et de la lumière.

I.1.a.2. Calcul du rendement de purification:

❖ Résultat :

Contrairement à l'éthanol, le toluène a été choisi comme solvant de recristallisation.

Le rendement de purification R.P :

$$R.P = (\text{pesée du résorcinol purifié}) / (\text{pesée du résorcinol impur}) \times 100$$

$$R = (47.3) / (100) \times 100$$

$$R=47.3 \%$$

❖ Discussion:

Le toluène a été choisi comme solvant de recristallisation, malgré son point d'ébullition relativement élevé. Ceci, vu qu'une faible quantité de ce solvant a permis de dissoudre, à chaud, le résorcinol et les impuretés (qui sont des complexes de quinones). Cette dissolution est due au caractère polaire aprotique de ce solvant. Contrairement à l'éthanol (solvant polaire protique) où les impuretés ne sont pas complètement dissoutes malgré l'ajout d'un grand volume.

En plus de ça, ce solvant est inerte chimiquement avec le résorcinol.

Résultats et Discussions

Le rendement de purification est de 47.3%, relativement moyen, vu l'importance de la quantité des impuretés éliminées (Cf. figure 37). Cependant, il est tout de même peu satisfaisant (pour une purification). La principale cause pourrait être **la nature du Büchner**. En effet, le büchner utilisé est en porcelaine, il possède donc, des pores à diamètre élevé (de l'ordre de 1 ou 1.5 mm), une quantité assez importante de produit s'infiltré à travers eux pendant la filtration sous vide ou le rinçage. Un büchner en verre fritté (avec des pores de taille de l'ordre de quelques, ou d'une dizaine de microns) limitera considérablement les fuites.

I.1.b. Synthèse du 7-hydroxy-4-méthylcoumarine (hymécromone ou P1) :

I.1.b.1. Aspect:

❖ Résultat :

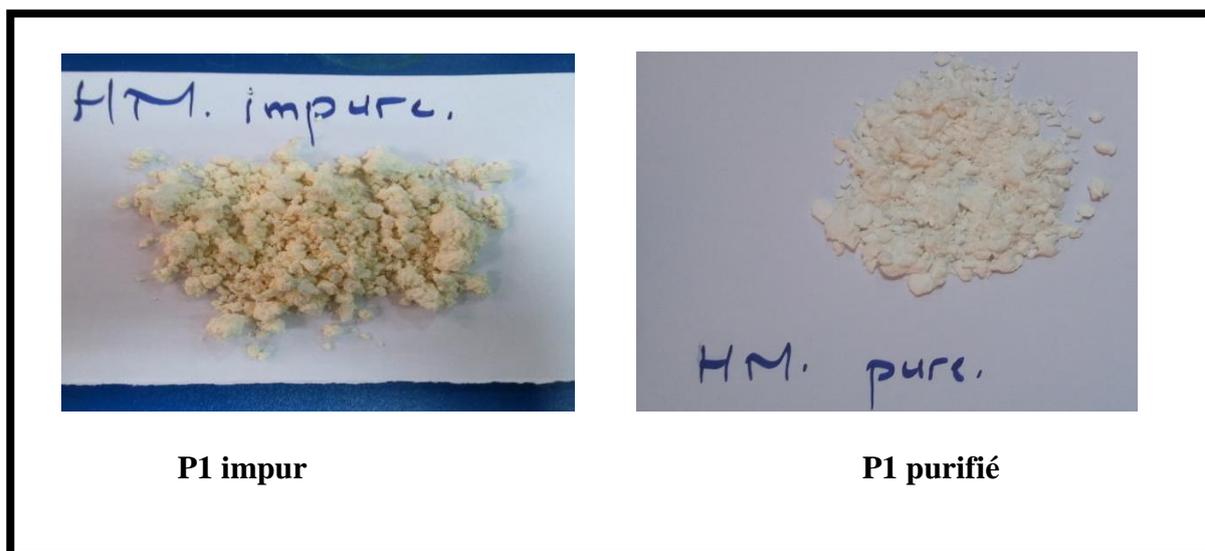


Figure 38 : Aspect comparatif entre P1 impur et P1 purifié

Le produit P1 purifié a l'aspect d'une poudre de cristaux fins aciculaires, de couleur blanche.

❖ Discussion :

Selon la monographie décrite à la Pharmacopée Européenne 7^{ème} édition, l'hymécromone se présente sous forme d'une poudre cristalline sensiblement blanche.

Le résultat obtenu est conforme aux données de la monographie.

I.1.b.2. calcul du rendement de synthèse R1:

❖ Résultat :

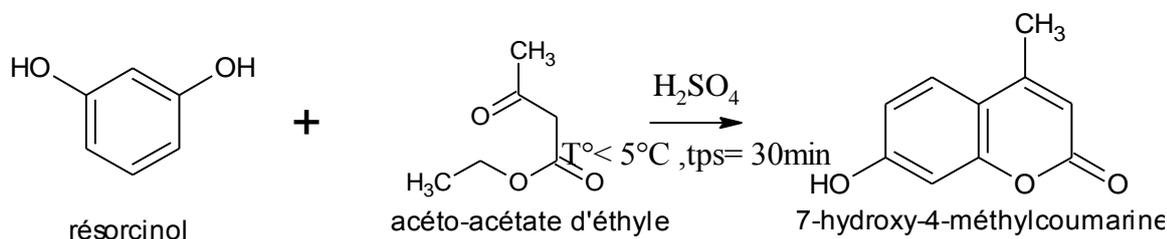


Figure 39 : bilan réactionnel de synthèse de l'hymécromone

$$R1 = \frac{\text{masse pratique du produit P1(pesée)}}{\text{masse théorique du produit P1}} \times 100$$

Le rendement est calculé à partir de la pesée du mélange des deux produits, issus des deux essais, réalisés au même moment, dans les mêmes conditions et par la même équipe.

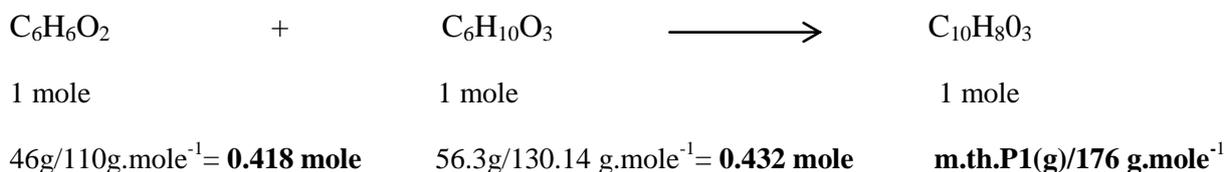
Les masses des réactifs pour les 2 essais :

- Pesée P1 = 45.7g
- Calcul de la masse théorique du P1 (m.th.P1) :

Avant de calculer la masse théorique du P1, il convient de rechercher d'abord le réactif limitant.

- Recherche du réactif limitant :

Réactif limitant $\begin{cases} \text{Résorcinol (C}_6\text{H}_6\text{O}_2) ? \\ \text{Acéto-acétate d'éthyle (C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3) ? \end{cases}$



Donc le **résorcinol (C₆H₆O₂) est le réactif limitant.**

Ceci, permet de calculer la masse théorique du P1 qui est de:

$$\text{m.th.P1} = 0.418 \times 176 = 73.57 \text{ g}$$

Le rendement de la première synthèse est, alors, de:

$$R1 = \frac{45.7}{73.57} \times 100$$

$$R1 = 62.11 \%$$

❖ Discussion:

Ashutosh Kar et ses collaborateurs (2004) ont utilisé H₂SO₄ comme catalyseur, à température basse 5°C, avec les mêmes solvants de recristallisation utilisés (hydroxyde de sodium et l'acide chlorhydrique puis le méthanol) et ont aboutit à un rendement de 65 %.

Les travaux de Fadia Al Haj Hussein et ses collaborateurs (2016), utilisant l'APTS comme catalyseur, à température 60°C, avec une durée de chauffage de 10 min et l'éthanol comme solvant de recristallisation, ont aboutit à un rendement de 50%.

Le Rendement de synthèse du produit P1 est de 62,11%, il est nettement meilleur que celui issu des travaux utilisant l'APTS, donc l'acide sulfurique, par la bonne efficacité de synthèse dans laquelle il intervient, et sa meilleure disponibilité, reste l'un des catalyseurs de choix dans la réaction de Pechmann.

Cependant, il est légèrement bas à celui des travaux similaires (65%). Ceci est dû probablement à :

- **La nature du Büchner**
- **La quantité d'eau distillée utilisée pour le rinçage du produit** (dans le but de décolorer le mieux possible les cristaux) : cette quantité était plus élevée que celle précisée dans d'autres études, et non précisée dans les travaux de Ashutosh Kar et ses collaborateurs. Sachant que la monographie de la pharmacopée européenne 7^{ème} édition spécifie que l'hymécromone est très peu soluble (et pas insoluble) dans l'eau.

I.2. Synthèse du 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P2)

I.2.a. Aspect :

❖ Résultat:

- Aspect du P2: (des 2 essais)



P2a purifié (pratique)



P2b purifié (pratique)



8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine (littérature)

Figure 40 : Aspect comparatif du P2b et P2a purifiés avec 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

Le produit P2b synthétisé et purifié se présente sous forme d'une poudre de couleur jaune foncée (teinte orangée). Alors que le P2a est beaucoup plus clair.

- Aspect du P2' (essai b):

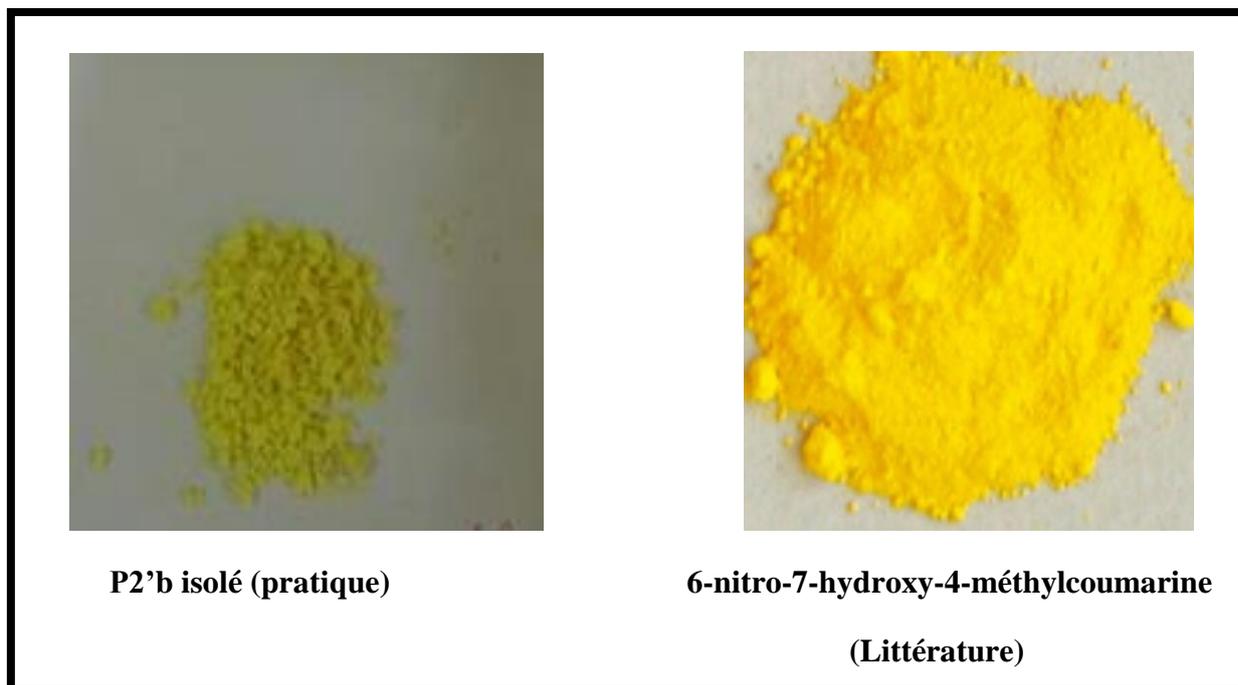


Figure 41: Aspect comparatif du P2'b isolé et 6-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine

Le produit P2'b synthétisé et isolé se présente sous forme d'une poudre de couleur jaune claire brillante.

❖ Discussion :

Selon les caractéristiques, décrites dans les références bibliographiques, des deux isomères : le 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine (de couleur jaune foncé à tendance orangée) et le 6-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine (de couleur jaune clair brillant) (cf. Figure 41), les aspects de P2b et P2' ,cité respectivement, sont en concordance avec ces références,

Pour le P2a issu du 1^{er} essai et qui est de couleur jaune clair (cf. Figure 40), c'est un aspect non conforme aux données de la littérature.

La différence entre l'aspect de P2a et P2b réside dans les deux étapes d'isolement et de purification. En effet, la durée de recristallisation dans l'eau glacée et l'éthanol était plus prolongée pour l'essai b (2^{ème} essai), ce qui a pour conséquence l'optimisation de cette étape.

I.2.b. Calcul du rendement de P2a et P2b:

❖ Résultat:

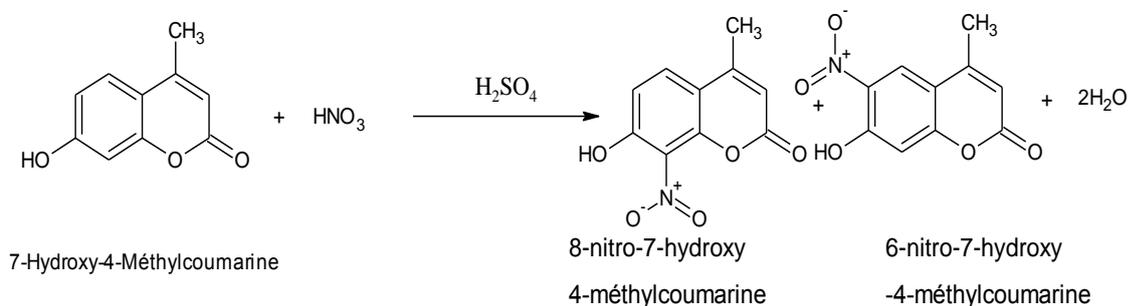


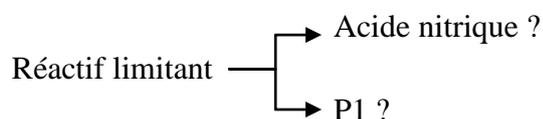
Figure 42 : Bilan de synthèse des isomères nitrés par nitration du P1

Le rendement de la 2^{ème} synthèse (R2) est calculé pour chaque essai (R2a et R2b) est :

$$R2 = \frac{\text{masse pratique du P2 (pesée)}}{\text{masse théorique du P2}} \times 100$$

▪ Calcul de masse théorique du P2 (P2a=P2b)

Tout d'abord, on recherche le réactif limitant, par le calcul de la quantité de matière de tous les réactifs :



Les masses des réactifs :

- **m.P1= 12g**

- **m. HNO₃ : calculée à partir d'un volume = 5 ml comme suit :**

Densité = 1.42 \Rightarrow 1420g de solution \rightarrow 1000ml de solution

Pureté = 69% : \Rightarrow 69g de HNO₃ \rightarrow 100g de solution

x'(g) \rightarrow 1420 g de solution

$$x' = 69 \times 1420 / 100$$

$$x' = 979.8 \text{ g}$$

Donc : 1000 ml de solution \rightarrow 979.8g d'HNO₃

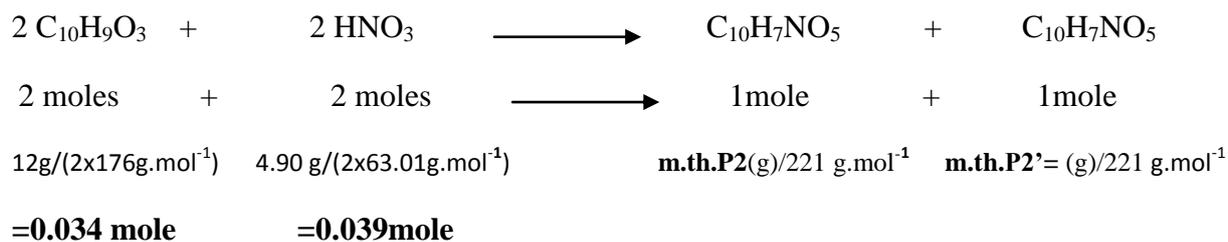
5 ml \rightarrow **m. HNO₃ (g)**

$$m. \text{HNO}_3 = 5 \times 979.8 / 1000$$

$$\mathbf{m. \text{HNO}_3 = 4,90 \text{ g}}$$

Résultats et Discussions

Cette réaction produit 2 isomères structuraux, son bilan est alors:



Donc l'hymecromone (P1) est le réactif limitant.

Ceci permet de calculer la masse théorique du P2 qui est de :

$$\text{m.th.P2} = 0.034 \times 221$$

$$\text{m.th.P2} = 7.514 \text{ g}$$

▪ Calcul du rendement du 1^{er} essai de synthèse de P2 : R2a

Pesée P2a : 6.32 g

Le rendement de l'essai a de la 2^{ème} synthèse est :

$$R2a = (6,32/7,514) \times 100$$

$$\mathbf{R2a = 83\%}$$

▪ Calcul du rendement du 2^{ème} essai de synthèse de P2 : R2b

Pesée du P2b : 4,8 g

Le rendement de l'essai b de la 2^{ème} synthèse est :

$$R2b = (4,8/7,514) \times 100$$

$$\mathbf{R2b = 63\%}$$

❖ Discussion :

Les travaux de **Swayam Sourav Sahool** et ses collaborateurs (2012), durant lesquels, ils ont utilisé HNO₃ comme réactif et H₂SO₄ comme catalyseur, dans un milieu à température basse 5°C et avec le méthanol comme solvant de recristallisation, ils ont aboutit à un rendement de 60%

Résultats et Discussions

Le rendement de l'essai a de synthèse du produit P2 (P2a) est de 83%. On pouvait suggérer que cette valeur est meilleure que celle rapportée par l'étude réalisée en 2012, seulement, et en tenant compte du résultat non conforme de l'aspect de ce produit, cette valeur est considérée comme étant faussement augmentée, probablement par la présence des impuretés.

Par contre, le rendement de l'essai b de synthèse du produit P2 (P2b) est de 63%, il est légèrement meilleur que celui rapportée par l'étude (60%).

I.3. 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine (P3) :

I.3.a. Aspect :

❖ Résultat :

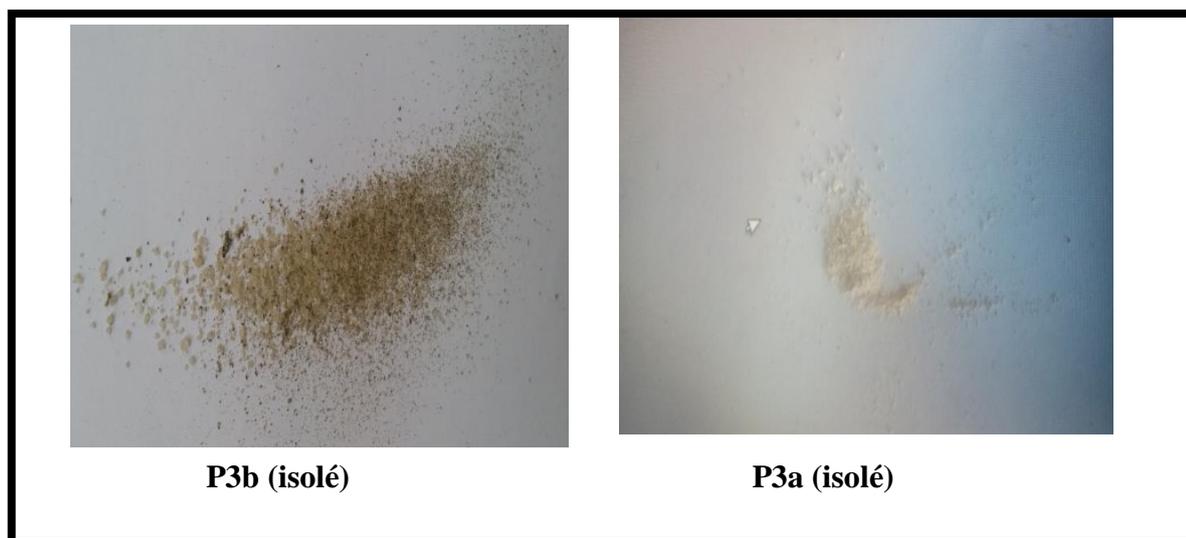


Figure 43: Aspect des produits P3b et P3a obtenus par réduction successive du P2b et P2a

Le produit P3a se présente sous forme de poudre cristalline blanche, alors que le P3b se présente sous forme de poudre de couleur blanc-beige mélangée à la poudre de fer.

❖ Discussion:

Selon les données bibliographiques (travaux de **Swayam Sourav Sahool** en 2012), la couleur des cristaux du 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine est blanche.

Résultats et Discussions

La disparition, dans le milieu réactionnel, de la coloration jaunâtre des cristaux P2a et P2b et l'apparition des cristaux blancs (P3a) ou blanc beige (du P3b) signifie qu'une réaction chimique s'est produite.

Produit P3b (essai b effectué en premier) : la couleur blanc-beige est due à la non réalisation de la purification du produit isolé en faible quantité. Au cours du chauffage du milieu réactionnel, on a remarqué la formation des cristaux blancs en formes d'aiguilles sur la paroi du ballon.

La poudre grisâtre mélangée avec le produit est la poudre de fer utilisée en 1^{er} essai et qui est de mauvaise qualité.

Produit P3a (2^{ème} essai effectué) : l'absence de la poudre grisâtre dans le produit isolé confirme que la nouvelle poudre de fer utilisée est de meilleure qualité. L'aspect de la poudre obtenue correspond aux caractéristiques de la littérature, sous réserve des résultats des essais de pureté effectués ultérieurement.

I.3.b. Calcul de rendement de synthèse du P3b et P3a :

❖ Résultat:

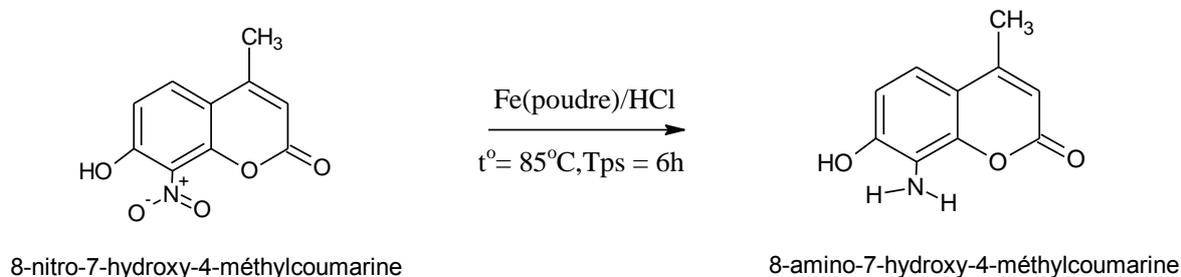
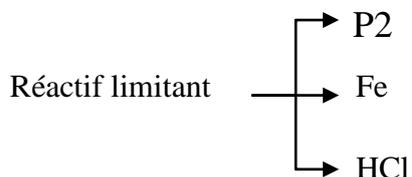


Figure 44 : Bilan de synthèse d'un dérivé aminé par réduction du P2

$$R3 = \frac{\text{masse pratique du produit P3}}{\text{masse théorique du produit P3}} \times 100$$

▪ Calcul de masse théorique du P3 (m.th.P3a=m.th.P3b)

On commence, comme auparavant, par la recherche du réactif limitant :



Résultats et Discussions

Les masses des réactifs :

- **m.P2b = m.P2a = 4,4g**
- **m (poudre de fer)=8 g**
- **m. HCl: calculée à partir d'un volume =30ml comme suit :**

1L de la solution contient 1190 g (d=1.19)

La masse d'acide chlorhydrique pur : m' (g)

$$37\text{g d'HCl} \longrightarrow 100 \text{ g de solution}$$

$$m' \text{ (g)} \longrightarrow 1190 \text{ g de solution}$$

$$m' = 37 \times 1190 / 100$$

$$m' = 440.3\text{g}$$

La masse de l'acide chlorhydrique utilisé (m.HCl), est alors de:

$$1000\text{ml de solution} \longrightarrow 440,3\text{g d'HCl}$$

$$30\text{ml de solution} \longrightarrow m. \text{HCl (g)}$$

$$m.\text{HCl} = 30 \times 440.3 / 1000$$

$$\mathbf{m.\text{HCl} = 13,21\text{g}}$$

Les quantités de matière des réactifs, est de :



$$2\text{mole} \quad 3 \text{ moles} \quad 18 \text{ moles} \longrightarrow 2 \text{ mole} \quad 3 \text{ mole} \quad 6 \text{ moles}$$

$$4,4\text{g}/(2 \times 221\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}) \quad 8 \text{ g} / (3 \times 55,845 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}) \quad 13,21\text{g}/(18 \times 36,461\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}) \quad \mathbf{m.th.P3(g)}/(2 \times 191\text{g}\cdot\text{mol}^{-1})$$

$$= \mathbf{0,0099\text{mol}} \quad = \mathbf{0,047\text{mol}} \quad = \mathbf{0,02\text{mol}}$$

Donc le **P2** est le réactif limitant.

Ceci permet de calculer la masse théorique du P3 qui est de:

$$m.\text{th.P3} = 0,0099 \times (2 \times 191)$$

$$\mathbf{m.\text{th.P3b} = m.\text{th.P3a} = 3,78 \text{ g}}$$

▪ Calcul du rendement du P3b (1^{er} essai) :

- **Pesée du P3b = 0,2 g**

Résultats et Discussions

Le rendement du 1^{er} essai de la 3^{ème} synthèse (R3b) est, alors, de:

$$R3b = \frac{0.2}{3.78} \times 100$$

$$\mathbf{R3b = 5,2 \%}$$

▪ **Calcul du rendement du P3a (2^{ème} essai) :**

❖ **Pesée du p3a= 0,09 g**

Le rendement du 2^{ème} essai de la 3^{ème} synthèse (R3a) est de:

$$R3a = \frac{0.09}{3.78} \times 100$$

$$\mathbf{R3a = 2,3 \%}$$

❖ **Discussion :**

Swayam Sourav Sahool et ses collaborateurs (2012) ont réalisé cette synthèse dans un milieu éthanolique à température de reflux, sans précision du solvant de recristallisation. Ils ont abouti à un rendement de 50%

Les rendements des deux essais de synthèse réalisés (R3b = 5,2 % et R3a = 2.3 %) sont très faibles, cela est dû aux circonstances de travail, car on n'avait pas terminé l'agitation qui devait durer 6 heures pour les deux essais. Donc la réaction était incomplète.

Concernant la différence entre les rendements R3a et R3b :

On pouvait expliquer l'élévation relative du R3b par le fait que le 1^{er} essai (b) s'est réalisé avec le produit P2b (dont la pureté est jugée être meilleure que celle du P2a, à partir des résultats exposés ultérieurement dans la partie II.3 et II.4). Mais cette valeur n'est pas considérée comme étant significative compte tenu de la présence de la poudre en fer comme impureté dans le produit isolé P3b.

II. IDENTIFICATION :

II.1. Test de solubilité :

II.1. Résultat :

Les résultats de solubilité du résorcinol purifié (R) et des différents produits (P1, P2a, P2b, P3b), dans les différents solvants (1. Ethanol, 2. Chloroforme, 3. Cyclohexane, 4. Solution NaOH à 10% , 5.eau distillée, 6. DMSO), sont illustrés dans les figures suivantes :

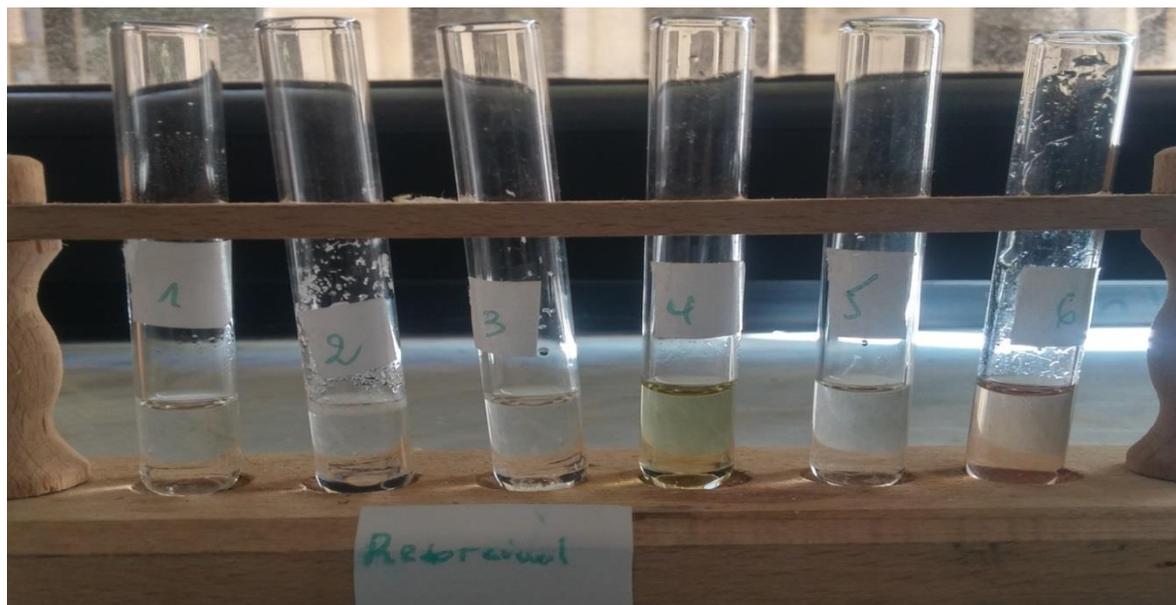


Figure 45: Solubilité du résorcinol dans différents solvants

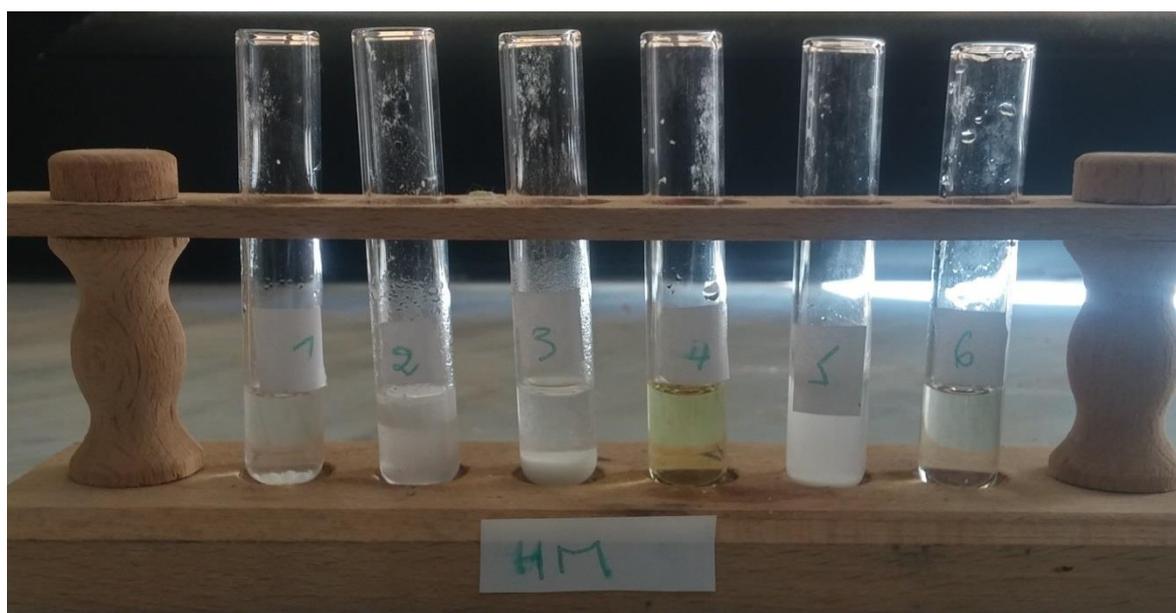


Figure 46: Solubilité du P1 dans différents solvants

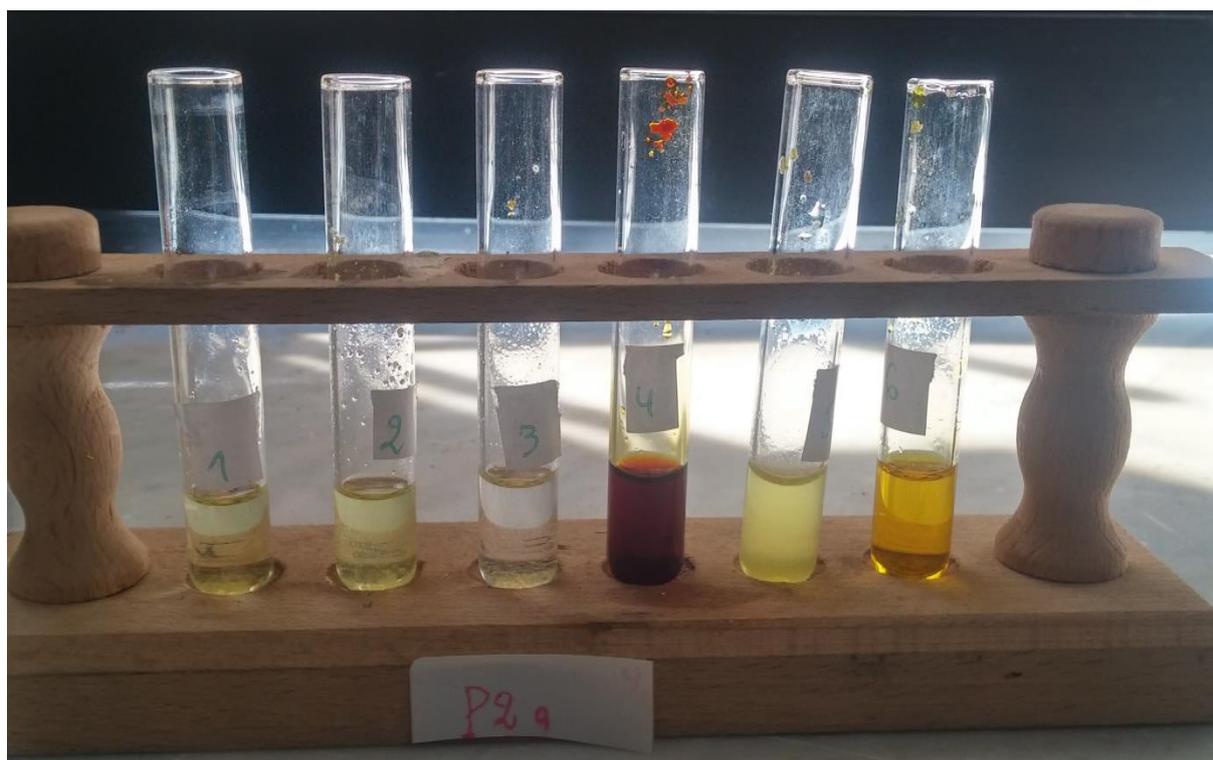


Figure 47: Solubilité du P2a dans différents solvants

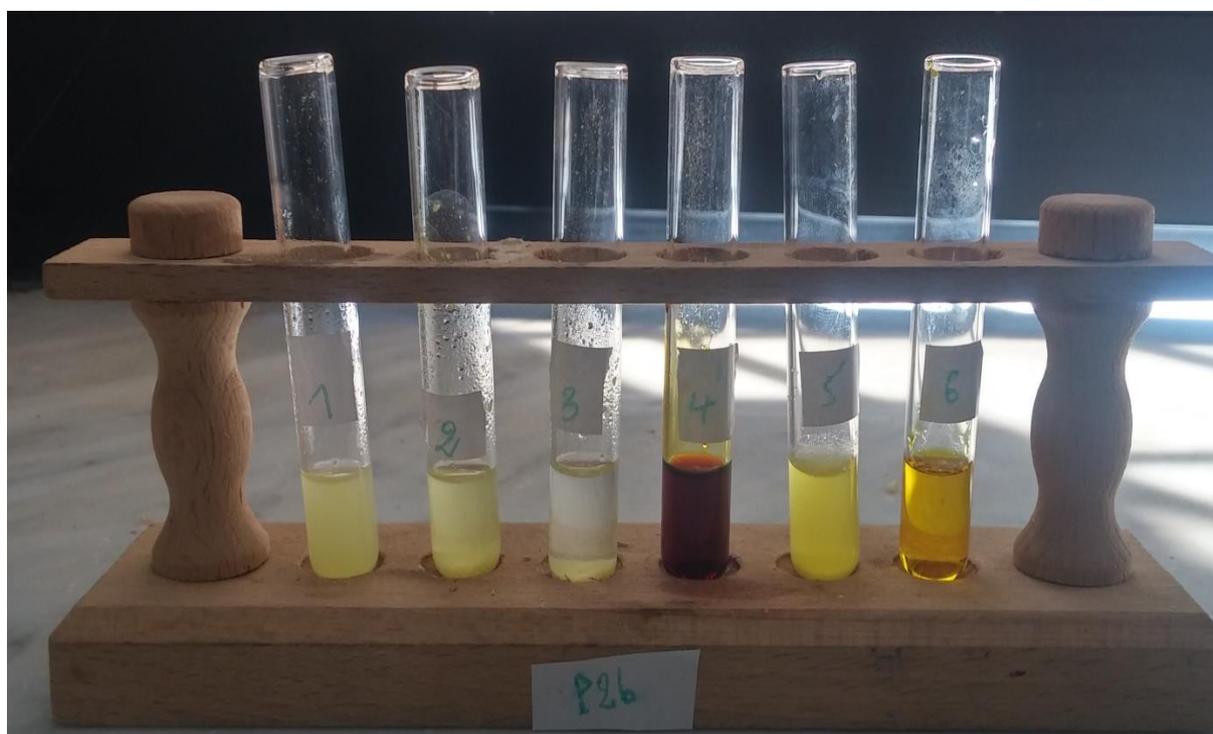


Figure 48: Solubilité du P2b dans différents solvants

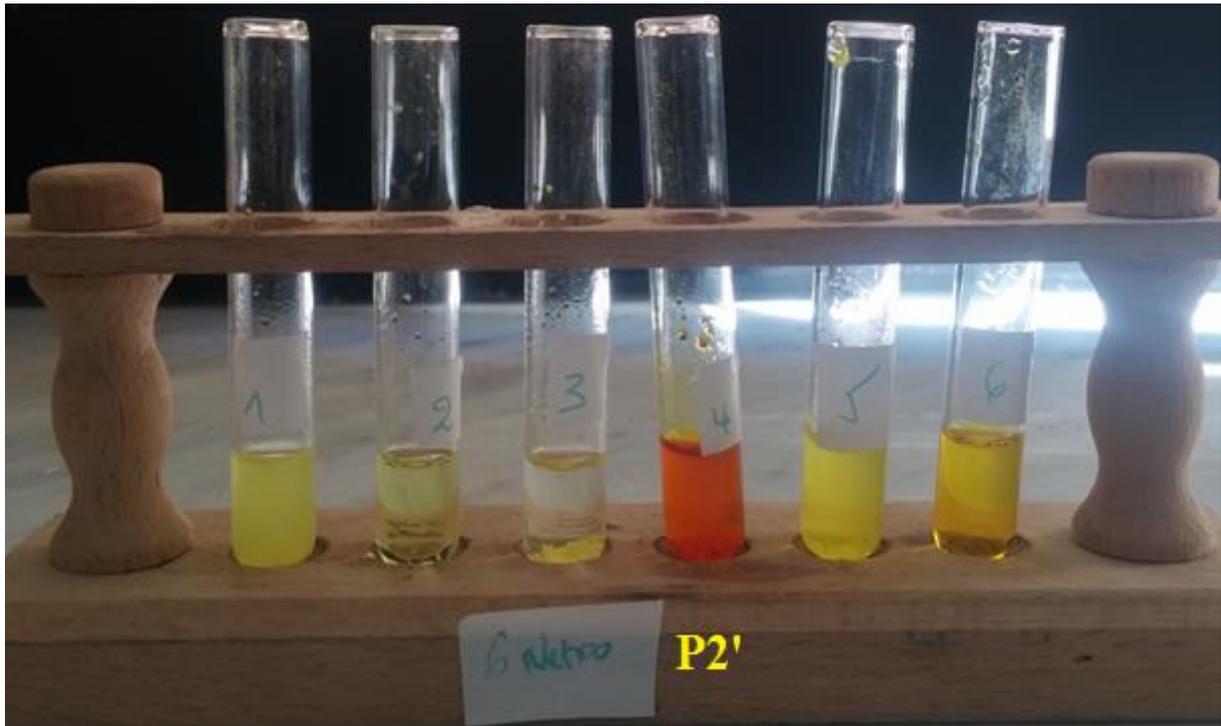


Figure 49: Solubilité du P2' dans différents solvants



Figure 50: Solubilité du P3b dans différents solvants

Résultats et Discussions

Les résultats de l'essai de solubilité sont d'ordre qualitatif et exprimés dans les tableaux ci-dessous :

	Ethanol (1)	Chloroforme (2)	Cyclohexane (3)	Hydroxyde de sodium (4) à 10%	Eau distillée (5)	DMSO (6)
R	Soluble	Insoluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
P1	Soluble	Insoluble	Insoluble	Soluble	Peu soluble	Soluble
P2a	Peu Soluble	Peu soluble	Insoluble	Soluble	Peu soluble	Soluble
P2b	Peu soluble	Peu soluble	Insoluble	Soluble	Peu soluble	Soluble
P2'	Insoluble	Peu soluble	Insoluble	Peu soluble	Peu soluble	Peu soluble
P3b	Soluble	Insoluble	Insoluble	Soluble	Peu soluble	Soluble

Tableau XXXII : Solubilité du résorcinol purifié et des produits synthétisés dans différents solvants

	Ethanol (1)	Chloroforme (2)	Cyclohexane (3)	Hydroxyde de sodium (4)	Eau distillée (5)	DMSO (6)
R	Incolore	Incolore	Incolore	Vert pale	Incolore	Vert-jaune
P1	Incolore	Blanc	Blanc	Jaune très clair	Blanc	Incolore
P2a	Jaune	Jaune	Jaune clair	Rouge brique clair	Jaune clair	Jaune foncé
P2b	Jaune clair	Jaune clair	Jaune clair	Rouge brique foncé	Jaune clair	Jaune foncé
P2'	Jaune	Jaune	Incolore	Rouge brique foncé	Jaune clair	Jaune foncé
P3b	Incolore	Blanc	Blanc	Rouge brique	Blanc	Incolore

Tableau XXXIII: Coloration des solutions de solubilité dans les différents solvants

II.1.b. Discussion :

Dans l'éthanol : R, P1, P2a et P2b sont peu soluble comme le décrit la littérature.

Le chloroforme est un solvant peu polaire, il a relativement fait dissoudre que les produits (P2a, P2b et P2').

Résultats et Discussions

Le cyclohexane est un solvant apolaire, il n'a fait dissoudre aucun produit, à l'exception du résorcinol.

Le DMSO est un solvant polaire aprotique qui a fait dissoudre la majorité des échantillons.

Dans la solution alcaline NaOH : la solubilité, de presque tous les échantillons, s'explique par leur caractère acide (fonction phénol libre).

L'eau est un solvant polaire, à température ambiante (= 25°C), la dissolution a été relative pour tous les produits (sauf pour le résorcinol qui s'est complètement dissout). Le rinçage, après filtration sous vide, doit se faire alors avec l'eau distillée bien froide pour éviter la perte du produit dans le filtrat, ces résultats sont analogues à ceux cités dans les références bibliographiques.

Tout cela, nous oriente vers la présence, dans les structures chimiques de ces composés, des groupements polaires tels que : OH, NO₂, cétone.. et vers le caractère acide de ces molécules.

II.2.Réaction chimique avec le chlorure du fer (III) :

II.2.a. Résultat :

Les résultats de la réaction colorimétrique sont exposés dans la figure suivante :

Le tube 2a : résultat avec P2 à T0, **le tube 2b** : résultat avec P2 à T1 (après 5min)



Figure 51: Résultat comparatif de la réaction au chlorure ferrique des composés avec un témoin négatif (à gauche).

Résultats et Discussions

Les résultats de la réaction colorimétrique sont résumés dans le tableau ci-dessous :

N° tube	T (-)	1	2a	2b	3	4	5	6
Echantillon		R	P1 (t ₀)	P1 (t ₁ :5 min)	P2a	P2b	P2'	P3b
Couleur	Jaune clair	Jaune clair	Marron noire	Jaune marron	Jaune orangé	Orange	Orange	Bleu turquois

Tableau XXXIV : Résultats de la réaction du chlorure de fer(III) avec les produits

II.2.b. Discussion :

D'après la monographie de la pharmacopée japonaise XVI édition, l'hymécromone réagit avec le chlorure de fer (III), il se produit instantanément une couleur marron noire. Cette couleur virera, après un moment, en jaune marron.

Les résultats obtenus avec le produit P1 sont conformes aux normes de la bibliographie.

Pour les autres échantillons, la couleur de tous les autres tubes a viré, ce qui confirme la présence d'une fonction phénol libre dans leur structure, à l'origine de la formation des complexes colorés avec le FeCl₃.

II.3. Mesure du point de fusion :

II.3.a. Résultat :

La figure 52 représente les résultats de mesure du Pf du résorcinol : à droite, la lecture et à gauche, une partie zoomée pour bien montrer le produit fondu.



Figure 52: Point de fusion du R au banc Kofler



Figure 53: Point de fusion du P1 au banc Kofler

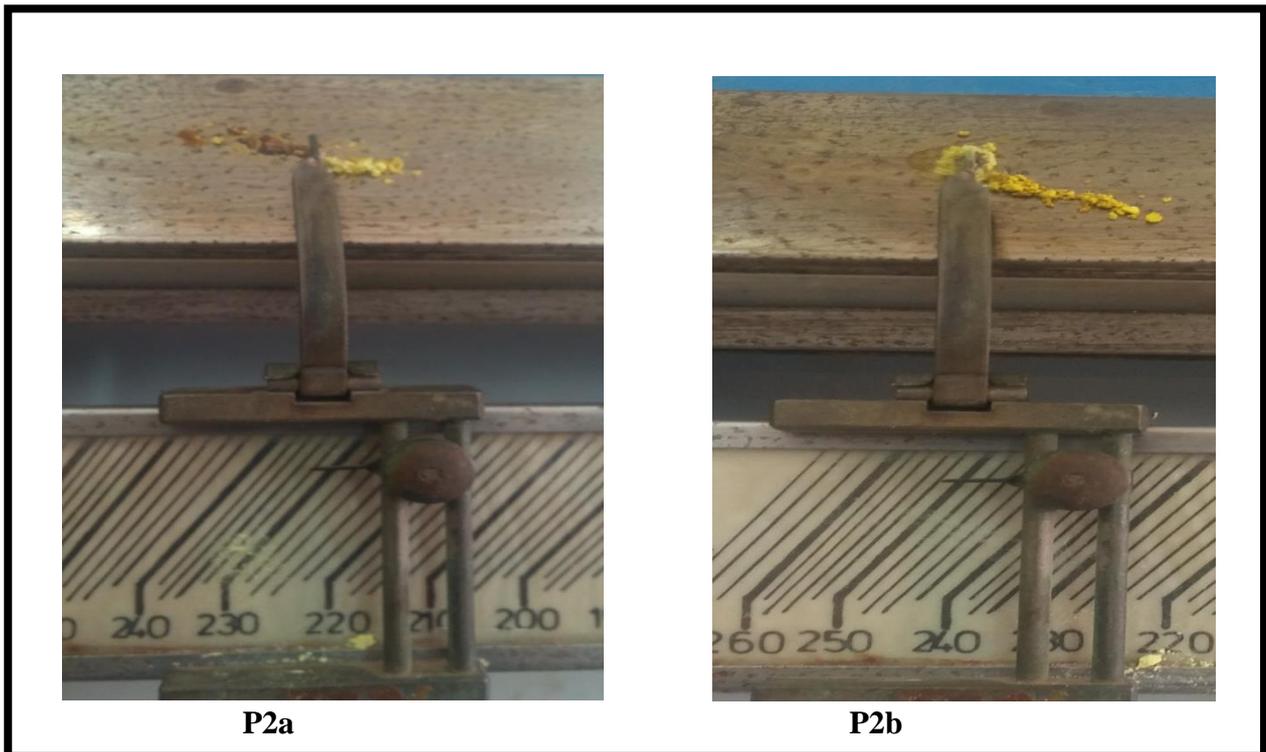


Figure 54: Point de fusion comparatif du P2a et P2b au banc Kofler

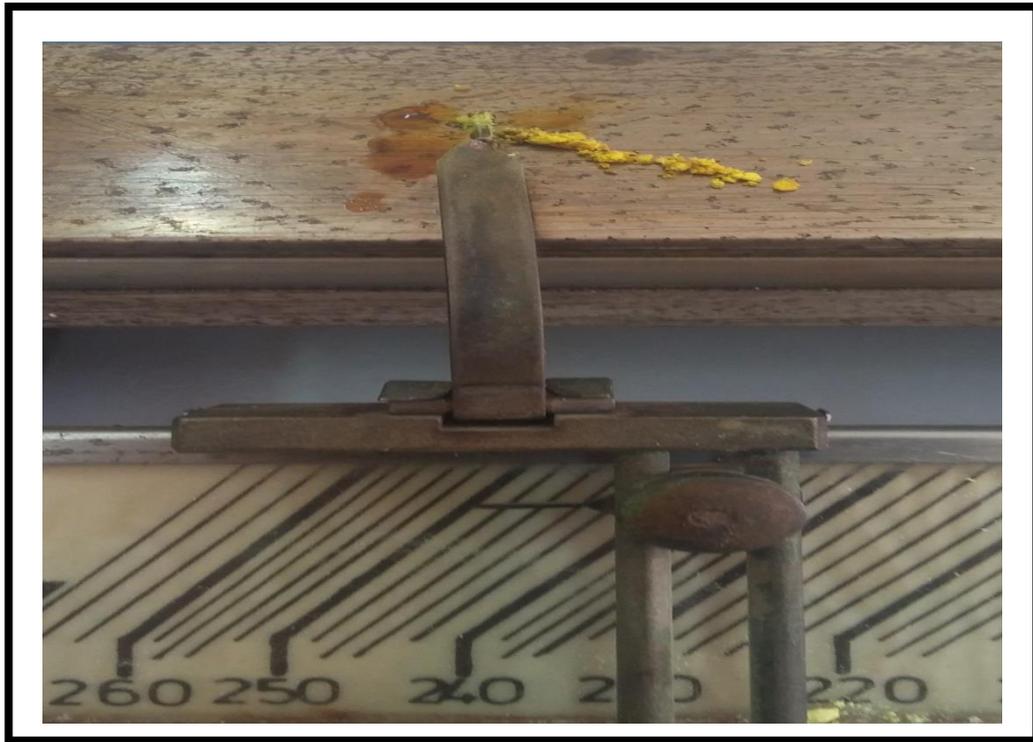


Figure 55: Point de fusion du P2' au banc Kofler



Figure 56: Point de fusion comparatif du P3a et P3b au banc Kofler

Résultats et Discussions

Le tableau ci-dessous expose les résultats de la mesure du point de fusion du résorcinol purifié et de tous les autres produits synthétisés.

Cet essai est le seul réalisé pour P3a, en raison de la faible quantité obtenue.

Echantillon	R	P1	P2a	P2b	P2'	P3a	P3b
Point de fusion (°C)	110	192	232	252	250	220	+ de 260

Tableau XXXV : Point de fusion mesuré pour les différents échantillons

II.3.b. Discussion

Les points de fusion, des références, décrits dans la littérature sont reportés dans le tableau suivant :

Produit	Résorcinol	hymécromone	8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine	6-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine	8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine
Point de fusion (°C) de référence	110	192	255	255	280

Tableau XXXVI : Point de fusion de références des produits

L'étude comparative des points de fusion des échantillons (cf. tableau XXXV) avec ceux des références (cf. tableau XXXVI) révèle :

Pour le résorcinol purifié (R) et (P1) : les résultats sont identiques. On peut s'assurer que :

- ❖ La purification du R a été efficace et satisfaisante.
- ❖ Le produit P1 est identifié : il s'agit de l'hymécromone, sous réserve des résultats IR

Pour le (P2a), un écart important existe entre le point de fusion de l'échantillon avec ceux de référence des deux produits nitrés. Ceci peut s'expliquer par la présence des impuretés (surtout le réactif de synthèse : hymécromone) responsables de cet abaissement.

Pour le (P2b) et (P2'), leurs points de fusion se rapprochent de ceux des références (dérivé 8-nitré et 6-nitré) avec un léger abaissement (écart de 3°C et 5°C). Ceci oriente que ces deux produits correspondent aux deux dérivés nitrés, sous réserve des résultats IR, tout en considérant qu'ils ne sont pas purs.

Résultats et Discussions

Celui du P2b (252°C) est convenable à celui du théorique (255°C) , un écart de 3°C ; ceci peut être justifier par la possibilité de l'existence d'impureté avec le produit ; la même chose pour le point de fusion de P2'(250°C) où le point de fusion du 6-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine est de 255°C (écart de 5°C)

Or le point de fusion de P2a (232°C) est informe à celui enregistré en bibliographie, ceci est dû à une présence considérable des impuretés.

Le Pf du P3a 220°C est proprement faible par rapport à 280°C (celui du 8-amino-7-hydroxy-4-méthylcoumarine).On peut juger cette enorme diminution par le fait qu'on a utilisé le P3a, qui a un point de fusion aussi bas, comme réactif.

Le Pf du P3b (230°C) est en accord avec celui du théorique (280°C) cela est expliqué par la manipulation avec P2b, qui a un point de fusion proche des normes, pour la synthèse du P3b.

II.4. Caractérisation par une technique séparative : chromatographie sur couche mince

II.4.a. Résultat :

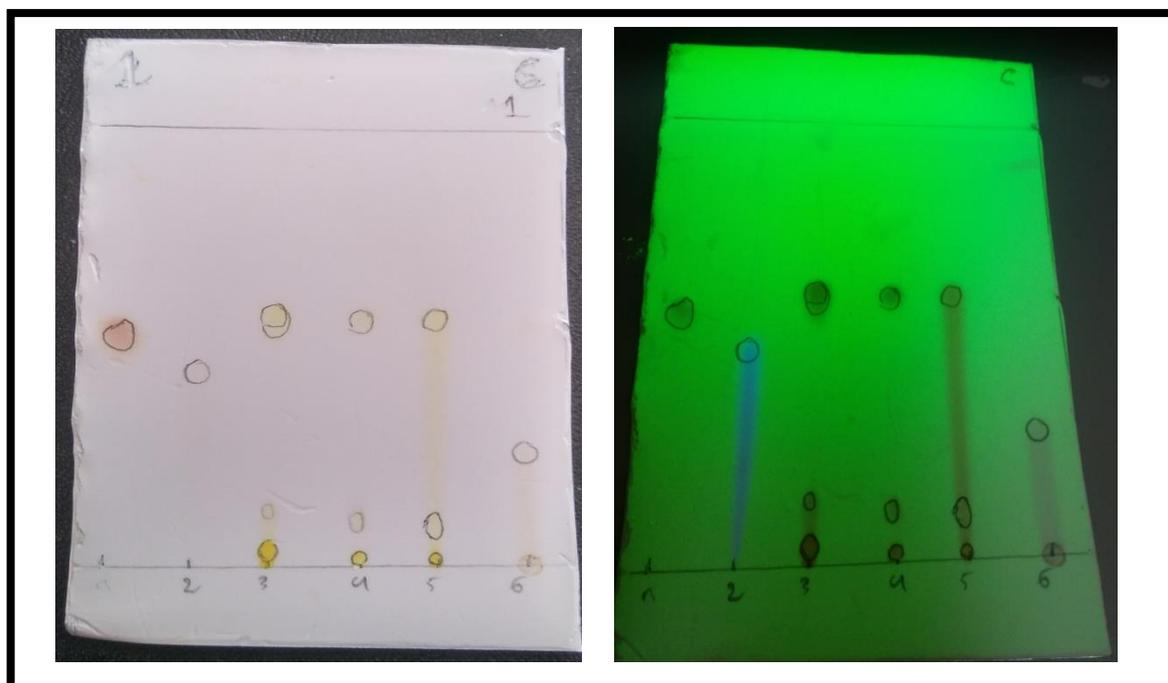


Figure 57: Plaques CCM, du résorcinol purifié et des produits synthétisés, examinées au visible puis sous UV dans l'éluant N°1

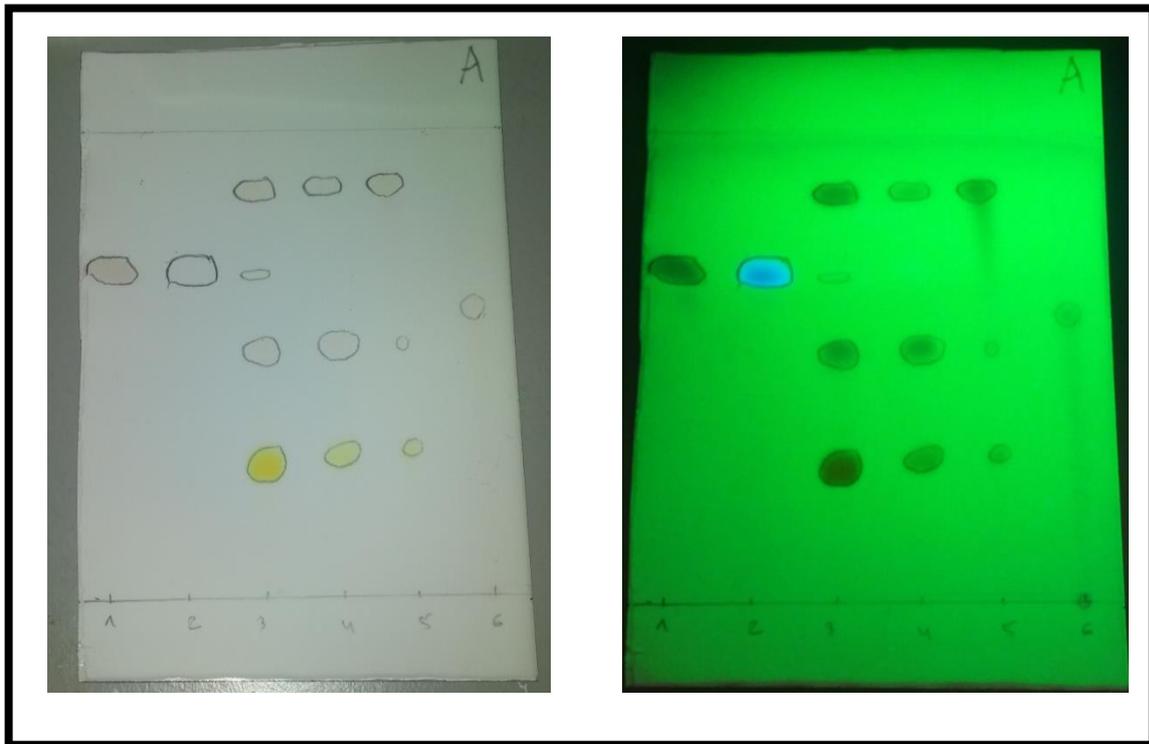


Figure 58: Plaque CCM, du résorcinol purifié et des produits synthétisés, examinée au visible puis sous UV dans l'éluant N°2

Front du solvant :

- ❖ Eluant N°1 : La hauteur du front du solvant est égale à 5,7 cm
- ❖ Eluant N°2 : La hauteur du front du solvant est égale à 5,9 cm

Les résultats des 2 CCM sont exposés dans les 2 tableaux suivants :

Résultats et Discussions

Pour l'éluant n°1 :

Produit	Migration (cm)	Rf	Couleur	
			Visible	Lampe UV (254 nm)
R	3	0,526	-	Gris
P1	2,5	0,438	-	Bleu fluorescent
P2a	0,2	0,035	Jaune foncé	Orange
	0,7	0,122	Jaune clair	Gris
	3,2	0,561	Jaune clair	Gris
P2b	0,1	0,017	Jaune foncé	Orange
	0,5	0,087	Jaune clair	Gris
	3,2	0,561	Jaune clair	Gris
P2'	0,1	0,017	Jaune foncé	Orange
	0,5	0,087	Jaune clair	Gris
	3,2	0,561	Jaune clair	Gris
P3b	1,4	0,245	-	Gris

Tableau XXXVII : Résultats de la chromatographie sur couche mince dans l'éluant N°1 : [Cyclohexane/AcOEt, 10: 10 (v/v)]

Pour l'éluant n°2 :

Produit	Migration (cm)	Rf	Couleur	
			Visible	Lampe UV (254 nm)
R	4	0,677	-	Gris
P1	4	0,677	-	Bleu fluorescent
P2a	1,6	0,271	Jaune foncé	Orange
	3	0,508	Jaune clair	Gris
	4	0,677	-	Bleu fluorescent
	5,1	0,864	Jaune clair	Gris
P2b	1,7	0,288	Jaune foncé	Orange
	3,1	0,525	Jaune clair	Gris
	5,1	0,864	Jaune clair	Gris
P2'	1,7	0,288	Jaune foncé	Orange
	3	0,508	Jaune clair	Gris
	5,1	0,864	Jaune clair	Gris
P3b	3,75	0,593	-	Gris

Tableau XXXVIII : Résultats de la chromatographie sur couche mince dans l'éluant N°2 : [AcOEt/ CHCl₃/ AcOH, 8 :7 :0,5 (v/v/v)]

II.4.b. Discussion :

L'examen comparative des deux plaques CCM au visible et sous UV (254nm) a montré :

- ❖ Une similitude entre les 2 plaques CCM en ce qui concerne le nombre de taches, leur couleur à la lumière visible et sous UV (254 nm), à l'exception de la position 3, dans l'éluant 2, où une tache supplémentaire est apparue à distance égale à celle de la tache unique apparue en position 2 à [Rf =0.677]
- ❖ Une analogie de disposition des taches les unes par rapport aux autres, pour les deux plaques CCM.

Cependant la migration des taches de la CCM 2 est plus importante que celle de la CCM 1, ceci est dû à la différence de polarité des deux éluants. En effet :

- L'éluant n°1 est moyennement polaire puisque c'est un mélange de deux solvants : le cyclohexane qui est apolaire (c'est un cycle dont les barycentres

Résultats et Discussions

des charges positives et les charges négatives sont confondues) et l'AcOEt qui est polaire.

- L'éluant n°2 est très polaire puisque c'est un mélange de solvants polaires : l'AcOEt et le chloroforme.

Donc : les échantillons testés contiennent des groupements polaires: nitro, hydroxy, cétone..., ce qui confirme les résultats de solubilité.

L'étude des taches, des deux plaques, apparues pour chaque échantillon montre :

- ❖ L'échantillon 1 : pour les deux plaques CCM, il y a une seule tache ce qui prouve que le résorcinol est pur.
- ❖ L'échantillon 2 : pour les deux plaques, il y a une tache unique, à Rf différent de celui du résorcinol, ce qui prouve que le produit P2 est pur. Sous UV (254 nm), cette tache apparaît de couleur bleue violacée fluorescente ce qui prouve que cette molécule fait partie des coumarines hydroxylées.
- ❖ Echantillon (3 ,4 ,5) :
 - Pour l'éluant N°1 : on retrouve pour chacun de ces échantillons P3, P4, P5, 3 taches à Rfs similaires. Elles paraissent semblables au visible et sous UV (254 nm), donc chacun de ces 3 échantillons est impur et constitue un mélange de 3 substances mais en proportion différente. La substance correspondante au tache à Rf très minime (dans les 3 échantillons), pratiquement il n'y a pas eu de migration, c'est fort probablement une substance ionisée (interaction ion /dipole). Sa migration s'est nettement améliorée dans un éluant polaire.
 - Pour l'éluant N°2 : on note une tache supplémentaire dans l'échantillon 3 à distance et caractéristiques semblables à celles retrouvées pour le P1, donc : le P2a purifié est contaminé par son réactif de synthèse (P1).

Outre ça, les 3 substances (taches) pour chacun des 3 échantillons migrent avec un Rf semblables et paraissent sous un aspect similaire, seulement, les proportions sont différentes :

En bas : -taches jaunes foncé (au visible) abondantes pour P2a et P2b et à faible abondance pour P3==>probablement c'est le dérivé 8-nitré

En haut : -taches à faible abondance pour P2a et P2b et abondante pour P2'==> probablement c'est le dérivé 6-nitré.

Résultats et Discussions

- Au milieu : - taches jaunes clair majoritaires en P2a et P2b et minoritaire en P2' ==>on a pensé à la formation d'un autre dérivé nitré et qui ne s'est éliminé au cours de l'isolement du P2 et ceci en position 2 car il y a une possibilité de conjugaison.
- ❖ L'échantillon 6 (P3b) : pour les deux éluants, on note la présence d'une seule tache à Rf différent de tous les autres, donc il s'agit d'une nouvelle substance et que l'échantillon P3b est complètement pur.

II.5. Identification spectrale par analyse Infrarouge :

L'attribution des pics des spectres IR, s'est faite pour chacune des substances analysées, sur la base des tables IR reprises de la littérature.

II.5.a. Résorcinol purifié :

II.5.a.1. Résultat:

Le spectre IR du résorcinol purifié et le spectre de référence sont reportés dans les figures 59 et 60

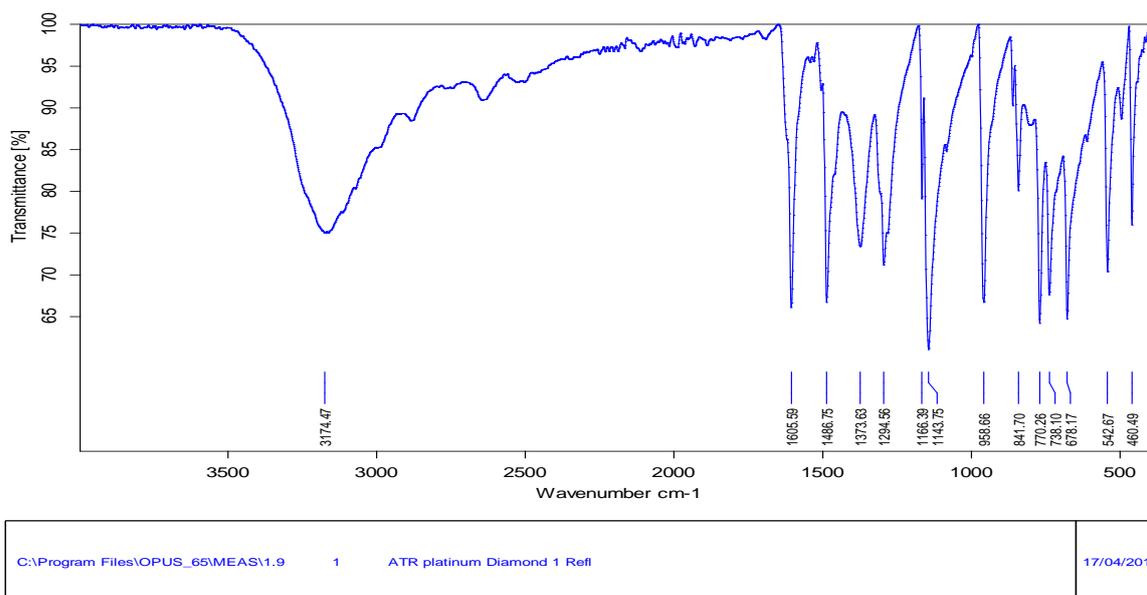


Figure 59: Spectre infrarouge du résorcinol purifié

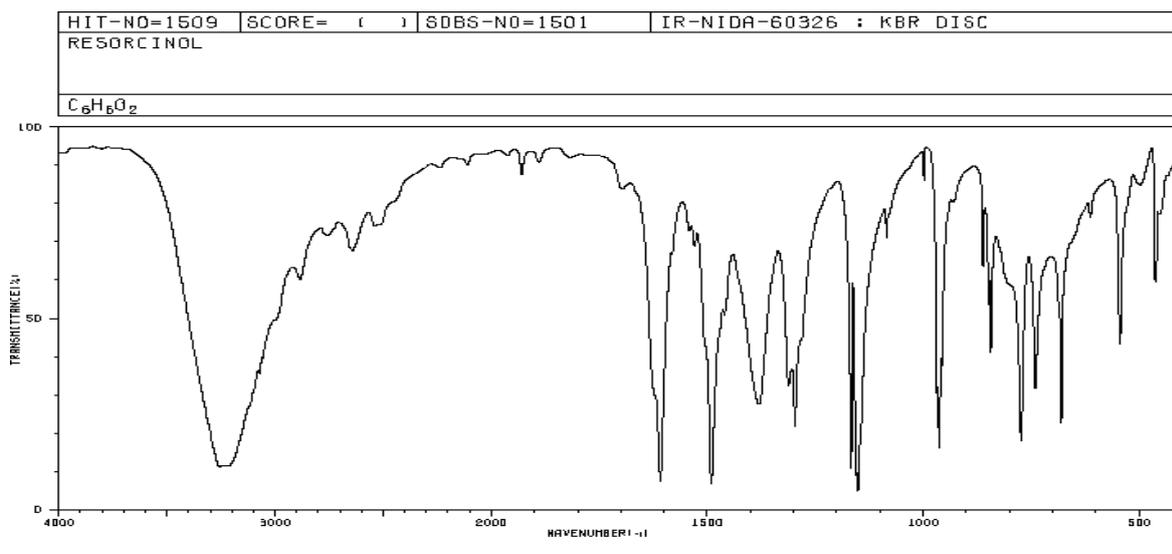


Figure 60: Spectre infrarouge de référence du résorcinol selon Spectral Database for Organic Compounds

Résultats et Discussions

L'exploitation des résultats du spectre de référence et du spectre pratique a permis d'établir le tableau comparatif suivant :

	<i>Spectre de référence</i> <i>Nb d'ondes en cm⁻¹</i>	<i>Spectre pratique (R)</i> <i>Nb d'ondes en cm⁻¹</i>	<i>Attribution des pics</i>
Groupement fonctionnel	3219	3174.47	O-H (ArOH) vibration d'élongation intensité (forte-large)
	1609	1605.59	C=C vibration d'élongation (variable) [1,3-bisubstitué, 3H adjacents]
Empreinte digitale	1481	1486.75	C=C vibration d'élongation [1,3-bisubstitué, 3H adjacents], intensité variable
	1381	1373.63	O-H phénol vibration de déformation, faible intensité
	1297	1294.56	C-H vibration de déformation dans le plan, forte intensité
	1168	1166.39	C-O vibration d'élongation forte intensité
	1145	1143.75	C-O vibration d'élongation, faible intensité
	843	841.70	C-H vibration de déformation hors plan, intensité moyenne
	774	770.26	C-H vibration de déformation noyau benzène à 3 H adjacents, moyenne intensité
	740	738.10	C-H vibration de déformation hors du plan, moyenne intensité

Tableau XXXIX : Analyse comparative du spectre IR du résorcinol purifié (R) avec le spectre de référence

II.5.a.2. Discussion :

La présence de certaines bandes caractéristiques sur le spectre pratique confirme l'existence des groupements fonctionnels présents dans le résorcinol tels que :

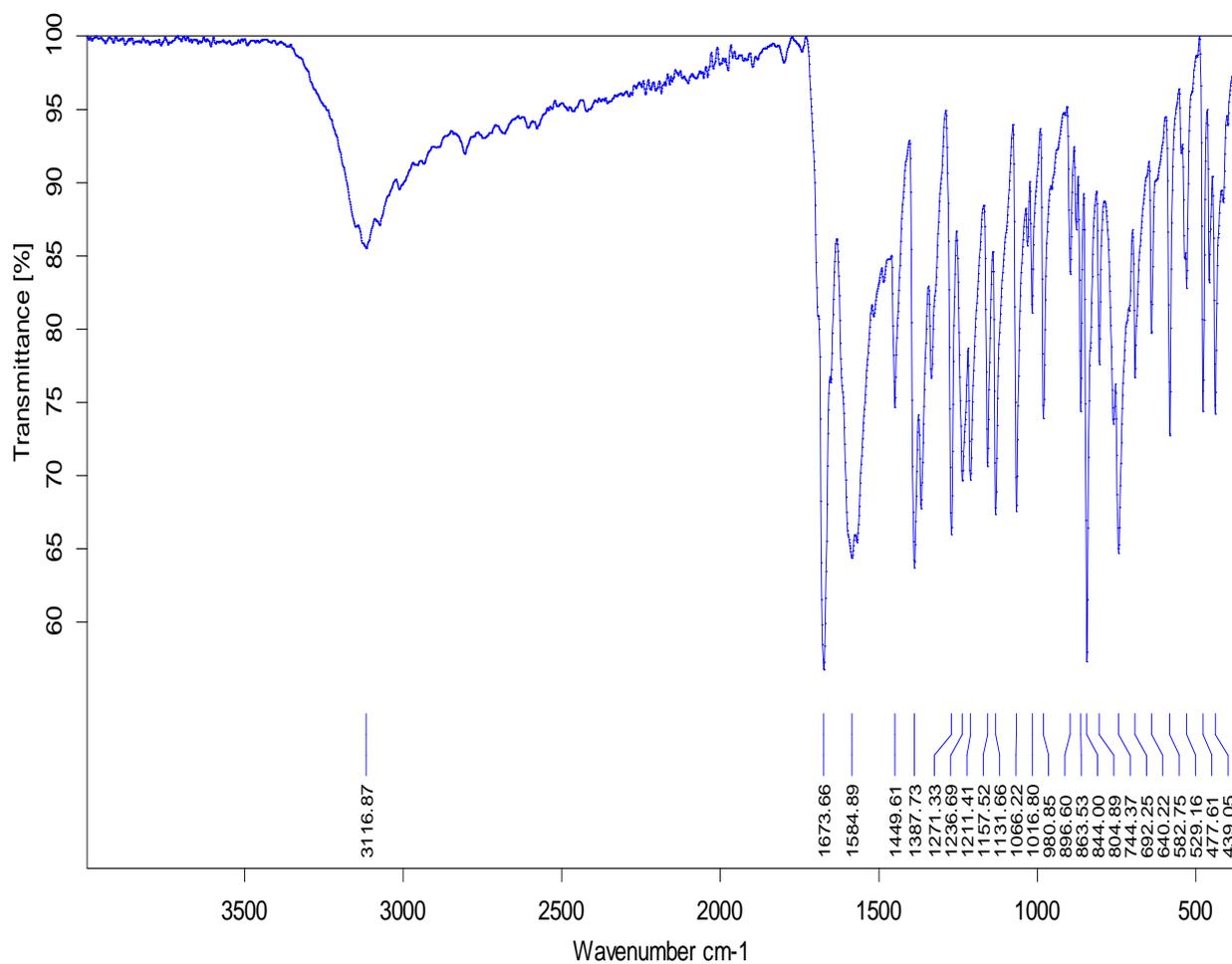
O-H (3174.47), C=C aromatique (1605.39), C-O (1166.39).

La superposition du spectre pratique avec le spectre de référence montre une analogie, ce qui confirme l'inertie du résorcinol vis-à-vis du solvant de purification et confirme donc son identité.

II.5.b. Produit de réaction de Pechmann P1 :

II.5.b.1.Résultat :

Le spectre IR pratique (P1) est illustré dans la figure ci-dessous :



C:\Program Files\OPUS_65\MEAS\2.8 2 ATR platinum Diamond 1 Refl

17/04/2017

Seite 1 von 1

Figure 61: Spectre infrarouge du produit P1

Les spectres IR de référence de l'hymécromone, repris du **Spectral Database for Organic Compounds** et de la **pharmacopée japonaise XVI^{ème} édition** sont reportés dans les figures 62 et 63.

Résultats et Discussions

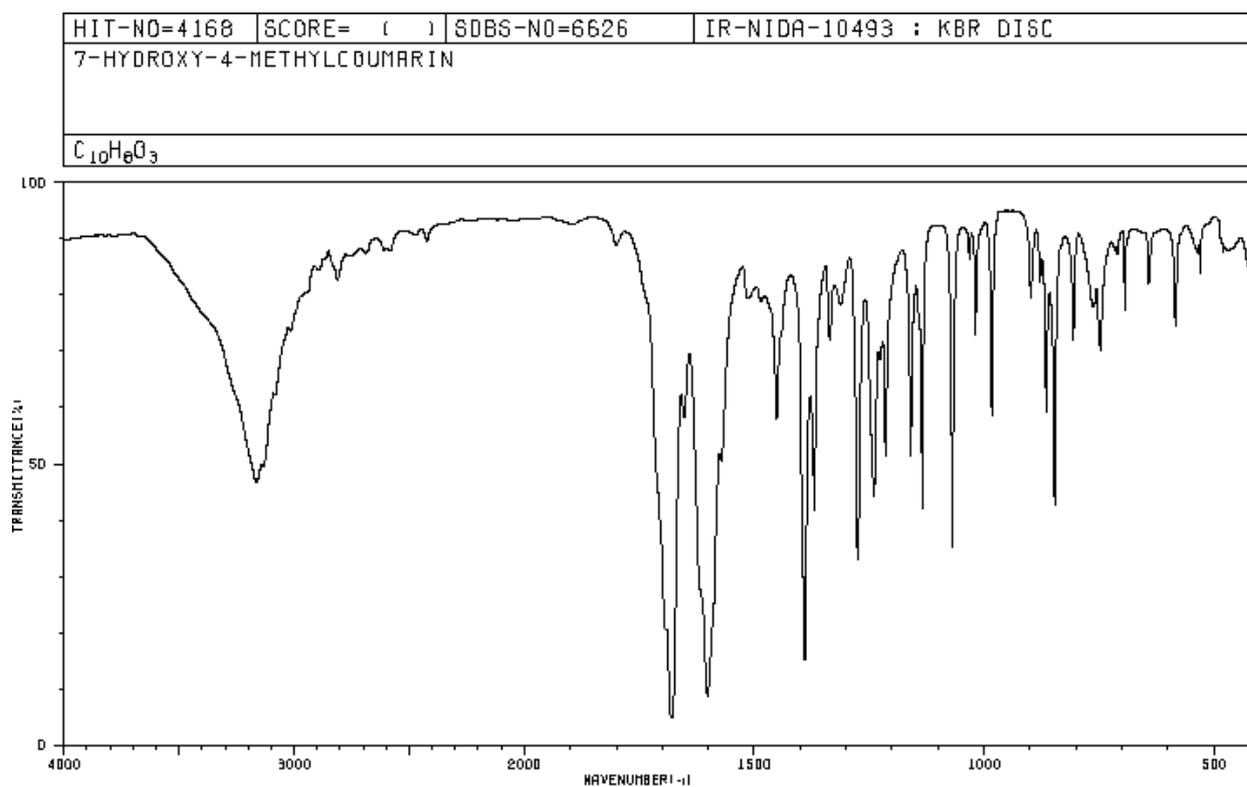


Figure 62: Spectre infrarouge de référence de l'hymécromone selon Spectral Database for Organic Compounds

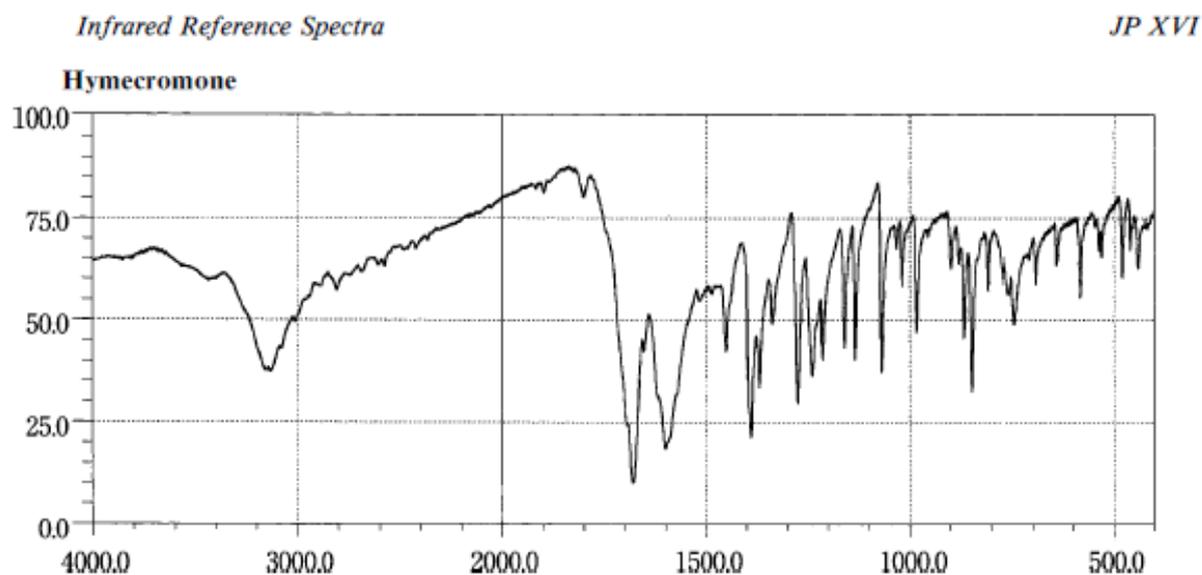


Figure 63: Spectre IR de référence de l'hymécromone selon la pharmacopée japonaise XVI^{ème} édition

Résultats et Discussions

Le tableau ci-après expose l'analyse comparative entre le spectre de référence de l'hymécromone, repris du Spectral Database for Organic Compounds, avec le spectre pratique (P1).

	<i>Spectre de référence</i> Nb d'ondes en cm^{-1}	<i>Spectre pratique (P1)</i> Nb d'ondes en cm^{-1}	<i>Attribution des pics</i>
Groupement fonctionnel	3163	3116.37	ArOH vibration d'élongation, intensité (forte-large)
	1679	1673.66	C=O aromatique vibration d'élongation, faible intensité
	1572	1584.89	C=C(aromatique) vibration d'élongation, faible intensité
Empreinte digital	1451	1449.61	C=C(aromatique) vibration d'élongation, faible intensité
	1391	1387.73	O-H phénol, vibration de déformation, faible intensité
	1275	1271.33	ester α - β insaturé vibration d'élongation
	1240	1236.69	C-O vibration d'élongation (faible)
	1215	1211.41	R-O-Ar (éther aromatique) vibration d'élongation, intensité variable
	1160	1157,52	C-H (1, 2,4 benzène tri substitué), vibration de déformation dans le plan, forte intensité
	865	863.53	C-H (1, 2,4benzène tri substitué), vibration de déformation, moyenne

Tableau XL : Analyse comparative du spectre IR du P1 avec le spectre de référence de l'hymécromone

II.5.b.2. Discussion :

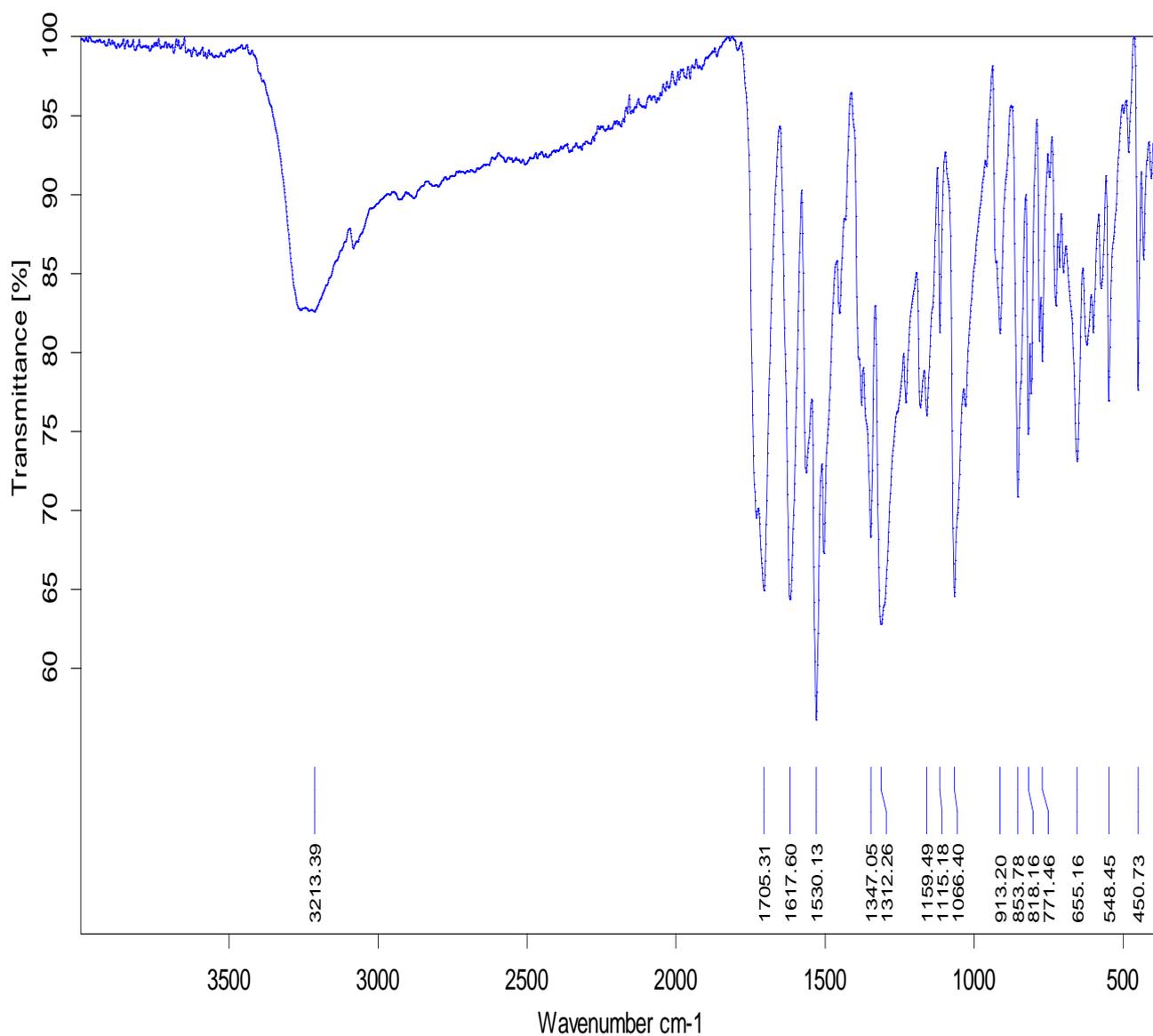
On observe l'apparition d'une bande C=O lactone (1673 .66) alors qu'elle n'existait pas dans le spectre IR du résorcinol, ceci confirme qu'un nouveau composé différent du 1^{er} s'est formé.

L'étude comparative de la position, la forme et l'intensité des bandes de vibration du spectre de P1 avec celles du spectre de référence de l'hymécromone confirme que le produit P1 s'agit de l'hymécromone.

II.5.c. Produits de nitration :

II.5.c.1. Résultats des produits P2 (P2a et P2b) :

Les spectres IR des produits P2a et P2b sont reportés, respectivement, dans les figures 64 et 65



C:\Program Files\OPUS_65\MEAS\3.8

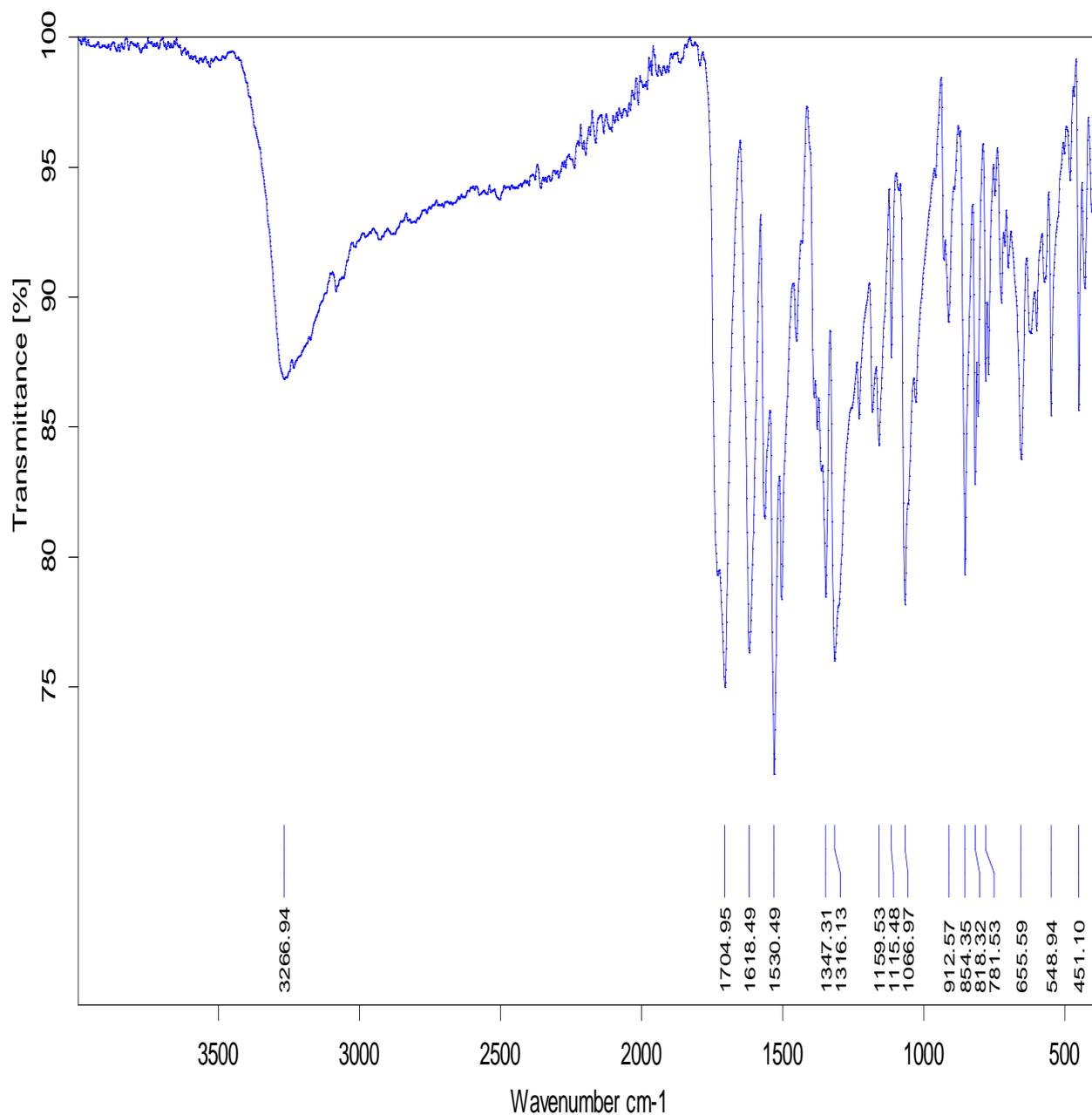
3

ATR platinum Diamond 1 Refl

17/04/2017

Seite 1 von 1

Figure 64: Spectre infrarouge du produit P2a



C:\Program Files\OPUS_65\MEAS\4.5	4	ATR platinum Diamond 1 Refl	17/04/2017
-----------------------------------	---	-----------------------------	------------

Seite 1 von 1

Figure 65: Spectre infrarouge du produit P2b

Résultats et Discussions

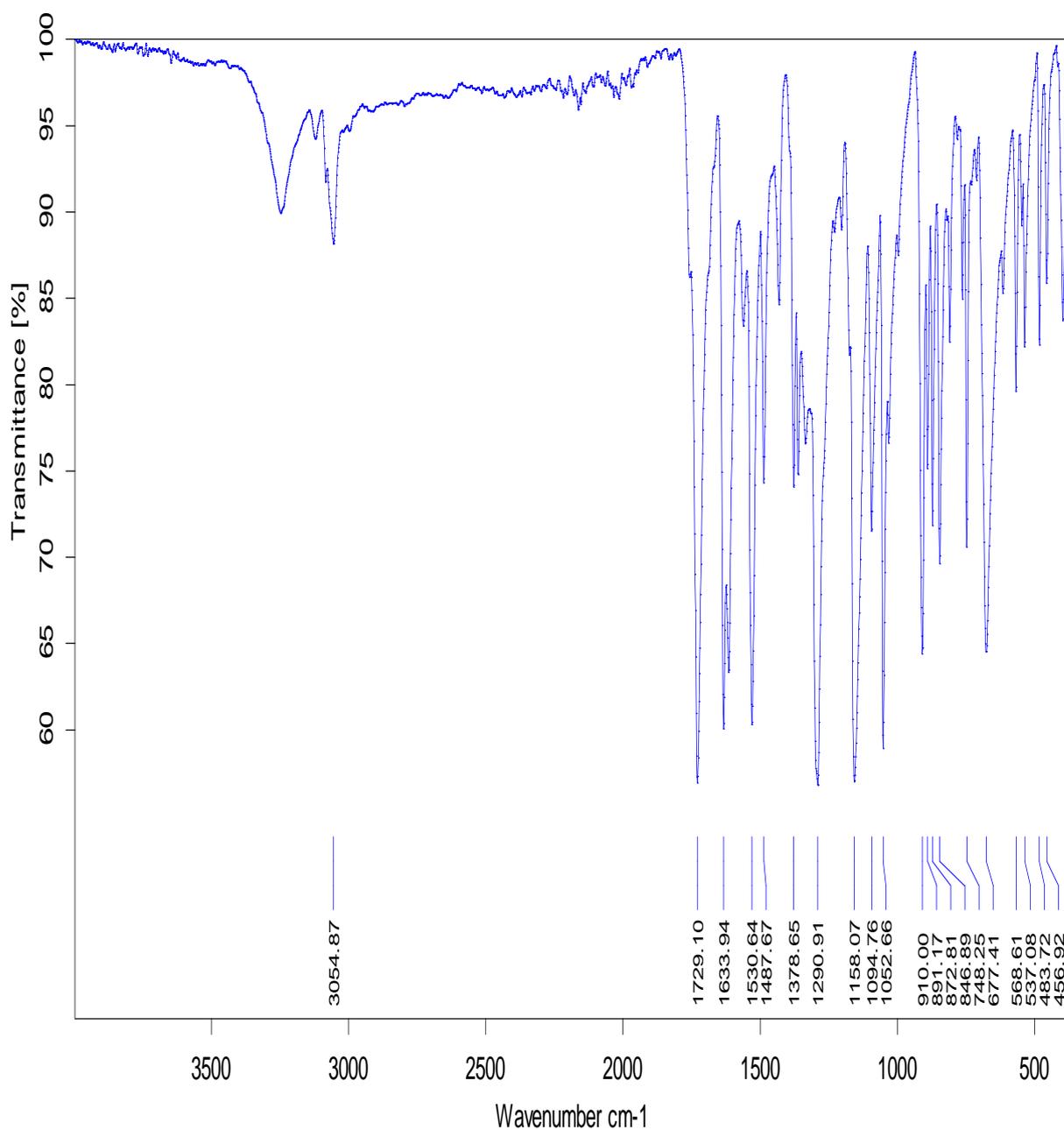
Le tableau ci-après expose l'analyse comparative des spectres IR des produits de nitration des deux essais P2a et P2b.

	<i>Spectre pratique du P2a</i> <i>Nb d'ondes du en cm^{-1}</i>	<i>Spectre pratique du P2b</i> <i>Nb d'ondes du en cm^{-1}</i>	<i>Attribution des pics</i>
Groupement fonctionnel	3213.39	3266.94	O-H ArOH/ vibration d'élongation, intensité (forte-large)
	1705.31	1704.95	C=O δ -lactone, vibration d'élongation, faible intensité
	1617.60	1618.49	C=C (aromatique) vibration d'élongation, faible intensité
	1530.13	1530.49	-NO₂ (nitro primaire ou secondaire) vibration d'élongation, faible intensité
Empreinte digitale	1347.05	1347.31	-CH₃ vibration de déformation, faible intensité
	1159.49	1159.53	C-O phénol, vibration d'élongation, faible intensité.
	1066.4	1066.97	C-O vibration d'élongation, faible intensité
	913.20	912.57	CC-NO₂ vibration, moyenne intensité
	853.78	854.35	N-O vibration d'élongation, faible intensité
	818.16	818.32	N-O vibration d'élongation, faible intensité

Tableau XLI : Analyse comparative des spectres IR des produits P2a et P2b

II.5.c.2. Résultat du P2' :

Le spectre IR du produit P2' est illustré sur la figure ci-après.



C:\Program Files\OPUS_65\MEAS\5.5	5	ATR platinum Diamond 1 Refl	17/04/2017
-----------------------------------	---	-----------------------------	------------

Figure 66: Spectre infrarouge de l'isomère structural P2'

Résultats et Discussions

Le tableau ci-dessous indique l'analyse des bandes du spectre IR de l'isomère structural du P2 : produit P2'.

	<i>Spectre pratique P2'</i> <i>Nb d'ondes en cm⁻¹</i>	<i>Attribution des pics</i>
<i>Groupe ment fonctionnel</i>	3054.87	O-H /ArOH/ vibration d'élongation, intensité (forte-large)
	1729.10	C=O δ -lactone, vibration d'élongation, faible intensité
	1633.94	C=C (aromatique) vibration d'élongation, faible intensité
	1530.64	-NO₂ vibration d'élongation, faible intensité
<i>Empreinte digitale</i>	1487.67	C-CH₃ vibration de déformation, faible intensité, asymétrique
	1378.65	C-CH₃ vibration de déformation, faible intensité
	1158.07	C-O phénol, vibration d'élongation, faible intensité.
	1052.66	C-O vibration d'élongation, faible intensité
	910.00	C=C-NO₂ vibration, moyenne intensité
	891.17	O-H vibration de déformation, intensité variable

Tableau XLII: Analyse du spectre IR de l'isomère structural P2'

II.5.c.3. Discussion:

Pour les 3 spectres IR (P2a, P2b et P2'), il y a eu conservation des pics caractéristiques de la structure coumarinique, avec apparition d'une bande de la liaison -NO₂ [(1530.13)/(1530.49)/(1530.64)], alors qu'elle n'existait pas sur le spectre du P1, ce qui confirme la production d'un nouveau composé nitré.

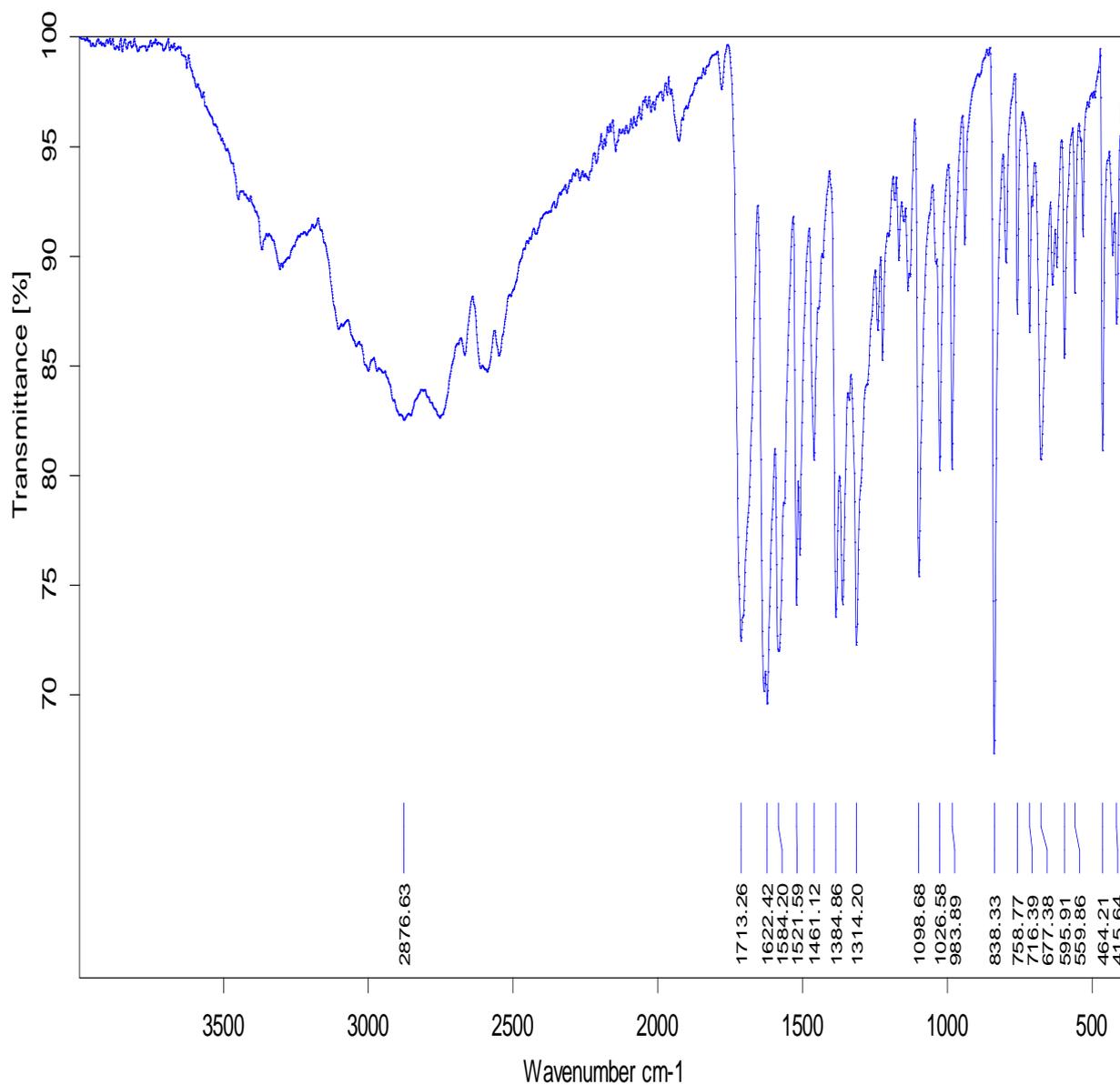
L'étude comparative de la position, la forme et l'intensité des bandes indique une superposition des spectres IR de P2a et P2b.

L'analyse des trois spectres IR a conclu que les trois produits P2a, P2b, P2' sont des dérivés nitrés du 7-hydroxy-4-méthylcoumarine, sans pour autant, pouvoir faire une distinction entre les deux isomères (6-nitré et 8-nitré).

II.5.d. Produit de réduction P3b :

II.5.d.1. Résultat :

Le spectre IR du produit P3b est reporté sur la figure ci après.



C:\Program Files\OPUS_65\MEAS\1.13	1	ATR platinum Diamond 1 Ref	25/04/2017
------------------------------------	---	----------------------------	------------

Figure 67: Spectre infrarouge du P3b

Résultats et Discussions

Le tableau suivant présente l'attribution des différents pics caractéristiques du spectre P3b.

	<i>Spectre pratique (P3b)</i> <i>Nb d'ondes en cm⁻¹</i>	<i>Attribution des pics</i>
<i>Groupement fonctionnel</i>	2876.63	O-H /Ar-OH/ vibration d'élongation, intensité (forte-large)
	1713.26	C=O δ -lactone, vibration d'élongation, faible intensité
	1622.42	C=C (aromatique) vibration d'élongation, faible intensité
	1584.20	N-H vibration de déformation, (faible-moyenne) intensité
<i>Empreinte digital</i>	1461.12	C-CH₃ vibration de déformation, faible intensité, asymétrique
	1384.20	O-H phénol, vibration de déformation, faible intensité
	838.33	C-CH₃ (noyau benzène contient deux atomes H adjacents)vibration de déformation, variable intensité

Tableau XLIII: Analyse du spectre IR du produit P3b

II.5.d.2. Discussion :

L'analyse de l'allure du spectre IR du P3 indique l'apparition d'une nouvelle bande de vibration de déformation de la liaison **N-H** en **1584.20** cm⁻¹ ce qui prouve que la réduction du groupement nitro s'est bien réalisée.

Les bandes d'absorption caractéristiques de la structure coumarinique existent aussi, ceci confirme que le produit P3 est un dérivé aminé du 7-hydroxy-4-méthylcoumarine.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

L'évolution de l'industrie pharmaceutique représente l'un des indices majeurs du développement d'un pays. Elle est en croissance accrue, dans certains d'eux, grâce aux progrès et moyens que mettent les autorités à la disposition des laboratoires de recherche.

L'objectif du présent travail est de synthétiser une coumarine, non seulement commercialisée actuellement pour son action hépatotrope, mais aussi douée, selon des recherches et études récentes, d'une excellente activité inhibitrice de l'acide hyaluronique lui permettant d'être indiquée pour le cancer de la prostate et du sein : il s'agit de l'hymecromone. Cette substance est ensuite identifiée et sa pureté est contrôlée, elle constituera un précurseur pour la synthèse d'autres molécules ayant des intérêts thérapeutiques variés tels que 6-méthyl-2-[3',4'-dichlorobenzoyl]-8H-pyrano[2,3-e]benzoxazol-8-one, le 6-méthyl-2-benzoyl-8H-[2,3-e]benzoxazol-8-one et le 3-chloro-7-méthyl-9H-pyrano [2, 3-e] benzo-1, 4-oxazine-2,9-dione. La nitration suivie de l'amination réductive de l'hymécromone sont nécessaires pour parvenir à ces molécules.

La synthèse de l'hymecromone, par la réaction de pechmann, était efficace avec un rendement de 62,11%. L'acide sulfurique utilisé s'est avéré un bon catalyseur par sa disponibilité, son efficacité et son coût. Seulement sa toxicité et les problèmes de corrosion, qu'il engendre, peuvent gêner la manipulation sans pouvoir la limiter.

L'utilisation de l'amberlyst-15 comme catalyseur aurait pu éviter ces inconvénients et améliorer encore plus le rendement, seulement son coût reste onéreux.

La nitration de l'hymecromone, par un mélange sulfo-nitrique, a abouti à un dérivé 8-nitré avec un bon rendement (83 % pour l'essai a et 63% pour l'essai b). Un isomère structural est apparu simultanément en quantité non négligeable : c'est un dérivé 6-nitré.

L'amination réductrice du dérivé 8-nitré, par l'acide chlorhydrique et la poudre de fer, était peu efficace, (2,3% pour l'essai a et 5,3% pour l'essai b). La qualité de la poudre de fer utilisée dans le second essai et la contamination, dans le premier essai, du dérivé 8-nitré (de l'essai a) pourraient en être la cause.

D'une part, le remplacement du fer par d'autres métaux (zinc, étain) ou l'amination, par transfert d'hydrogène, par un composé donneur tel que le chlorure d'ammonium, et d'autre part, une excellente pureté des réactifs de base, pourraient améliorer le rendement.

Conclusion et perspectives

Tous les produits synthétisés ont été ensuite caractérisés, identifiés et enfin, leur pureté est testée.

La caractérisation s'est réalisée par le test de solubilité, dont les résultats ont prouvé l'existence des groupements polaires caractéristiques de la structure coumarinique, et par la réaction au chlorure ferrique qui a confirmé la présence de la fonction phénol.

L'identification s'est effectuée par la mesure du point de fusion dont les résultats de l'hymecromone et des produits (nitré et aminé) de l'essai « b » étaient satisfaisants. Par contre, ceux de l'essai « a » ne l'étaient pas. L'identification s'est aussi réalisée par une étude spectrale : analyse infrarouge. Cette analyse a prouvé son importance dans l'identification des groupements fonctionnels de la structure coumarinique et ceux spécifiques pour chaque produit synthétisé.

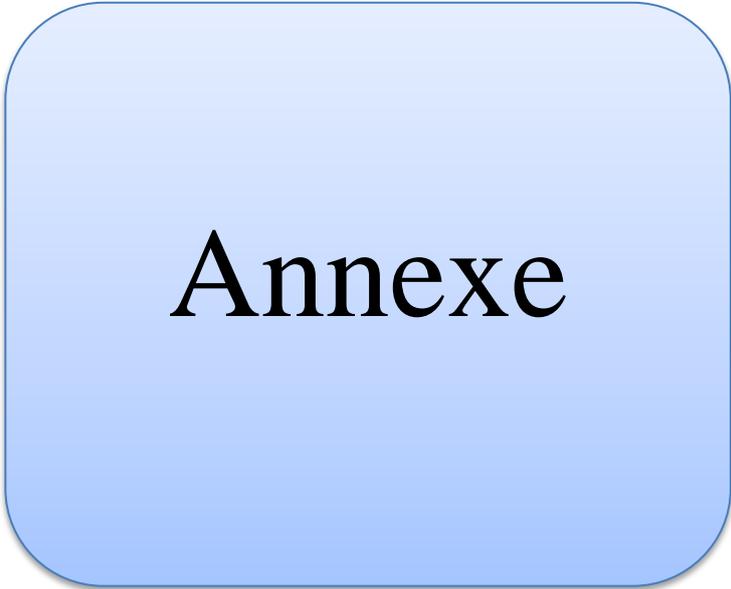
La pureté des produits est effectuée par mesure de point de fusion qui a conclu à une pureté très satisfaisante pour l'hymecromone, acceptable pour les produits (nitré et aminé) de l'essai « b », si on néglige pour le produit aminé, la présence de la poudre de fer pouvant facilement être éliminée par recristallisation et dont la quantité du produit obtenu a limité sa réalisation. Cependant la pureté des produits (nitré et aminé) de l'essai « a » était médiocre.

La pureté a été aussi déterminée par une analyse séparative : chromatographie sur couche mince, qui a confirmé les résultats précédents en détectant l'hymecromone comme seule impureté différenciant les deux essais « a » et « b ». La CCM a aussi révélé la présence de deux autres taches dans les produits de nitration des deux essais. Il s'agit probablement d'un dérivé 6-nitré et un dérivé 5-nitré (par effet électro-attracteur du groupe lactone).

La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire à proton ou la spectroscopie de masse aurait pu identifier la structure de ces deux impuretés de synthèse.

La faible quantité du produit aminé synthétisé et l'importante durée de chauffage à reflux (minimum 10 heures) ont limité la réalisation de notre objectif.

L'intérêt thérapeutique des produits synthétisés pourrait être démontré par des essais précliniques sur culture cellulaire (pour l'activité cytotoxique) ou sur animaux de laboratoire (pour l'activité anti-inflammatoire).



Annexe

– *phase stationnaire* : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie, désactivé pour les bases R (3 µm).

01/2008:1786
corrigé 6.0

Phase mobile : dissolvez 0,5 g de méthanesulfonate de sodium R dans un mélange de 14 ml de triéthylamine R, de 300 ml d'acétonitrile R et de 686 ml d'eau R, puis ajustez à pH 2,7 avec de l'acide sulfurique R.

Débit : 1 ml/min.

Détection : spectrophotomètre à 230 nm.

Injection : 20 µl.

Enregistrement : 2,5 fois le temps de rétention de l'hydroxyzine.

Conformité du système : solution témoin (a) :

– *rapport pic/vallée* : au minimum 10, avec H_p = hauteur au-dessus de la ligne de base du pic immédiatement avant le pic dû à l'hydroxyzine et H_v = hauteur au-dessus de la ligne de base du point le plus bas du tracé entre ce pic et celui dû à l'hydroxyzine.

Limites :

- *toute impureté* : pour chaque impureté, au maximum 1/3 de la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,1 pour cent),
- *total* : au maximum la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,3 pour cent),
- *limite d'exclusion* : 0,1 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,03 pour cent).

Métaux lourds (2.4.8) : au maximum 10 ppm.

12 ml de solution S satisfont à l'essai A. Préparez la solution témoin avec la solution à 1 ppm de plomb (Pb) R.

Perte à la dessiccation (2.2.32) : au maximum 5,0 pour cent, déterminé à l'étuve à 105 °C sur 1,000 g de chlorhydrate d'hydroxyzine.

Cendres sulfuriques (2.4.14) : au maximum 0,1 pour cent, déterminé sur 1,0 g de chlorhydrate d'hydroxyzine.

DOSAGE

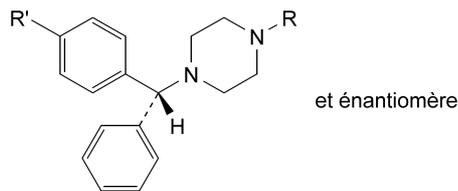
Dissolvez 0,200 g de chlorhydrate d'hydroxyzine dans 10 ml d'acide acétique anhydre R. Ajoutez 40 ml d'anhydride acétique R et titrez par l'acide perchlorique 0,1 M. Déterminez le point de fin de titrage par potentiométrie (2.2.20).

1 ml d'acide perchlorique 0,1 M correspond à 22,39 mg de $C_{21}H_{29}Cl_3N_2O_2$.

CONSERVATION

En récipient étanche, à l'abri de la lumière.

IMPURETÉS

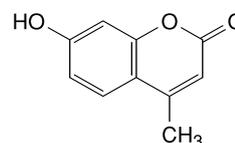


A. R = H, R' = Cl : (RS)-1-[(4-chlorophényl)phénylméthyl]-pipérazine,

B. R = $CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-OH$, R' = H : 2-[2-[4-(diphénylméthyl)pipérazin-1-yl]éthoxy]éthanol (décloxizine).

HYMÉCROMONE

Hymecromonum



$C_{10}H_8O_3$
[90-33-5]

M_r 176,2

DÉFINITION

7-Hydroxy-4-méthyl-2H-1-benzopyran-2-one.

Teneur : 99,0 pour cent à 101,0 pour cent (substance desséchée).

CARACTÈRES

Aspect : poudre cristalline sensiblement blanche.

Solubilité : très peu soluble dans l'eau, assez soluble dans le méthanol, peu soluble dans le chlorure de méthylène. L'hymécromone se dissout dans les solutions diluées d'ammoniaque.

IDENTIFICATION

Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge (2.2.24).

Comparaison : hymécromone SCR.

ESSAI

Absorbance (2.2.25). Dissolvez 50 mg d'hymécromone dans 10 ml de solution tampon chlorure d'ammonium pH 10,4 R et complétez à 100,0 ml avec de l'eau R. A 1,0 ml de solution, ajoutez 10 ml de solution tampon chlorure d'ammonium pH 10,4 R et complétez à 100,0 ml avec de l'eau R. Examinée de 200 nm à 400 nm, la solution présente 2 maximums d'absorption à 229 nm et 360 nm et un minimum d'absorption à 276 nm. L'absorbance spécifique au maximum à 360 nm est de 1020 à 1120.

Substances apparentées. Chromatographie liquide (2.2.29).

Solution tampon. A 280 ml d'une solution de phosphate monosodique R à 1,56 g/l, ajoutez 720 ml d'une solution de phosphate disodique R à 3,58 g/l. Ajustez à pH 7 avec une solution d'acide phosphorique R à 100 g/l.

Solution à examiner. Dissolvez 10 mg d'hymécromone dans la phase mobile et complétez à 10,0 ml avec la phase mobile.

Solution témoin (a). Dissolvez 20 mg d'hymécromone SCR, 10 mg d'impureté A d'hymécromone SCR et 10 mg d'impureté B d'hymécromone SCR dans la phase mobile et complétez à 100,0 ml avec la phase mobile.

Solution témoin (b). Prélevez 1,0 ml de solution témoin (a) et complétez à 200,0 ml avec la phase mobile.

Colonne :

– *dimensions* : $l = 0,25$ m, $\varnothing = 4$ mm,

– *phase stationnaire* : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (10 µm) à particules sphériques.

Phase mobile : méthanol R, solution tampon (465:535 V/V).

Débit : 1,0 ml/min.

Détection : spectrophotomètre à 270 nm.

Injection : 20 µl.

Enregistrement : 1,5 fois le temps de rétention de l'hymécromone.

absorption spectrum of the solution as directed under Ultraviolet-visible Spectrophotometry <2.24>, and compare the spectrum with the Reference Spectrum: both spectra exhibit similar intensities of absorption at the same wavelengths.

(3) Perform the test with Hydroxyzine Pamoate as directed under Flame Coloration Test <1.04> (2): a green color appears.

(4) To 1 mL of the water layer obtained in (1), add 2 mL of 1 mol/L hydrochloric acid TS: a yellow precipitate is produced. Collect the precipitate, dissolve the precipitate in 5 mL of methanol, and add 1 drop of iron (III) chloride TS: a green color is produced.

Purity (1) Clarity and color of solution—Dissolve 1.0 g of Hydroxyzine Pamoate in 10 mL of *N,N*-dimethylformamide: the solution is clear, and shows a slightly greenish, light yellow-brown color.

(2) Chloride <1.03>—To 0.3 g of Hydroxyzine Pamoate add 6 mL of dilute nitric acid and 10 mL of water, shake for 5 minutes, and filter. Wash the residue with two 10-mL portions of water, combine the washings with the filtrate, and add water to make 50 mL. Perform the test using this solution as the test solution. Prepare the control solution with 0.80 mL of 0.01 mol/L hydrochloric acid VS (not more than 0.095%).

(3) Heavy metals <1.07>—Proceed with 1.0 g of Hydroxyzine Pamoate according to Method 2, and perform the test. Prepare the control solution with 2.0 mL of Standard Lead Solution (not more than 20 ppm).

(4) Arsenic <1.11>—Prepare the test solution with 2.0 g of Hydroxyzine Pamoate according to Method 3, and perform the test (not more than 1 ppm).

(5) Related substances—Dissolve 0.40 g of Hydroxyzine Pamoate in 10 mL of a mixture of sodium hydroxide TS and acetone (1:1), and use the solution as the sample solution. Pipet 1 mL of the sample solution, add a mixture of sodium hydroxide TS and acetone (1:1) to make exactly 20 mL. Pipet 5 mL of this solution, add a mixture of sodium hydroxide TS and acetone (1:1) to make exactly 50 mL, and use the solution as the standard solution. Perform the test with these solutions as directed under Thin-layer Chromatography <2.03>. Spot 5 μ L each of the sample solution and standard solution on a plate of silica gel for thin-layer chromatography. Develop the plate with a mixture of ethyl acetate, ethanol (95) and ammonia TS (150:95:1) to a distance of about 10 cm, and air-dry the plate. Spray evenly hydrogen hexachloroplatinate (IV)-potassium iodide TS on the plate: the spots other than hydroxyzine and pamoic acid obtained from the sample solution are not more intense than the spot from the standard solution.

Water <2.48> Not more than 3.0% (1 g, volumetric titration, direct titration).

Residue on ignition <2.44> Not more than 0.5% (1 g).

Assay Weigh accurately about 0.6 g of Hydroxyzine Pamoate, add 25 mL of sodium hydroxide TS, shake well, and extract with six 25-mL portions of chloroform. Filter each extract through 5 g of anhydrous sodium sulfate on a pledget of absorbent cotton. Combine the chloroform extracts, and evaporate the combined chloroform extracts on a water bath to about 30 mL. Add 30 mL of acetic acid (100), and titrate <2.50> with 0.1 mol/L perchloric acid VS until the color of the solution changes from purple through blue to blue-green

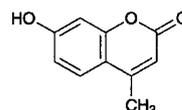
(indicator: 2 drops of crystal violet TS). Perform a blank determination.

Each mL of 0.1 mol/L perchloric acid VS
= 38.16 mg of $C_{21}H_{27}ClN_2O_2 \cdot C_{23}H_{16}O_6$

Containers and storage Containers—Tight containers.

Hymecromone

ヒメクロモン



$C_{10}H_8O_3$: 176.17

7-Hydroxy-4-methylchromen-2-one
[90-33-5]

Hymecromone, when dried, contains not less than 98.0% of $C_{10}H_8O_3$.

Description Hymecromone occurs as white crystals or crystalline powder. It is odorless and tasteless.

It is freely soluble in *N,N*-dimethylformamide, sparingly soluble in ethanol (95), in ethanol (99.5) and in acetone, slightly soluble in diethyl ether, and practically insoluble in water.

Identification (1) Dissolve 2 mg of Hymecromone in 5 mL of ammonia-ammonium chloride buffer solution, pH 11.0: the solution shows an intense blue-purple fluorescence.

(2) Dissolve 0.025 g of Hymecromone in 5 mL of diluted ethanol (95) (1 in 2), and add 1 drop of iron (III) chloride TS: initially a blackish brown color develops, and when allowed to stand the color changes to yellow-brown.

(3) Determine the absorption spectrum of a solution of Hymecromone in ethanol (99.5) (1 in 250,000) as directed under Ultraviolet-visible Spectrophotometry <2.24>, and compare the spectrum with the Reference Spectrum: both spectra exhibit similar intensities of absorption at the same wavelengths.

(4) Determine the infrared absorption spectrum of Hymecromone, previously dried, as directed in the potassium bromide disk method under Infrared Spectrophotometry <2.25>, and compare the spectrum with the Reference Spectrum: both spectra exhibit similar intensities of absorption at the same wave numbers.

Melting point <2.60> 187 – 191°C.

Purity (1) Chloride <1.03>—Dissolve 0.8 g of Hymecromone in 40 mL of a mixture of acetone and water (2:1), and add 6 mL of dilute nitric acid and a mixture of acetone and water (2:1) to make 50 mL. Perform the test using this solution as the test solution. Prepare the control solution as follows: to 0.25 mL of 0.01 mol/L hydrochloric acid VS add 6 mL of dilute nitric acid and a mixture of acetone and water (2:1) to make 50 mL (not more than 0.011%).

(2) Sulfate <1.14>—Dissolve 0.8 g of Hymecromone in 40 mL of a mixture of acetone and water (2:1), and add 1 mL of dilute hydrochloric acid and a mixture of acetone and water (2:1) to make 50 mL. Perform the test using this solu-

10. Compounds containing nitrogen-oxygen bond

Nitrates (O-NO ₂),	NO ₂ str.. asym	1590-1500	6.29-6.67	s.
nitramines.nitro	NO ₂ , str.. sym.	1390-1250	7.20-8.00	w.
(compounds CC-NO ₂)	C-N vib.	920-830	10.88-12.05	m., -s
Nitroso compounds	(R-C-N=O)			
alkyl, aromatic	N=O str.	1550-1500	6.45-6.67	s.
(α-halogeno, aliphatic	N=O str.	1620-1560	6.17-6.47	s.
Nitrites (R-O-N=O)				
trans form	N=O str.	1680-1650	5.95-6.05	v., -s,
	N-O str.	815-750	12.27-13.33	s.
	O-N=O def.	625-565	16.00-17.70	s.
Cis form	N = O str.	1625-1610	6.16-6.21	v., s.
	N-O str.	850-810	11.76-12.35	s.
	O-N=O def.	690-615	14.49-16.26	s.
	overtone	3360-3220	2.98-3.11	m.
Nitrosamines	N=O str.	1500-1480	6.67-6.76	s.Vapor
				phase
(R-N-N=O)		1460-1440	6.85-6.94	s. solution
				phase
	N-N str.	Ca. 1050	Ca. 9.52	s.
	N-N = 0 def.	Ca. 660	Ca. 15.15	s.
Azoxy comp.	N-O str.	1310-1250	7.63-8.00	m., -s.
(R-N-N-O)				

11. Sulfur compounds

	S-H str.	2600-2550	3.85-3.92	w.
	C-S str.	700-570	14.18-17.54	w.
	C= S str.	1675-1130	5.97-8.85	s.
Thioketone	C= S str.	1250-1020	8.0-9.8	s
Thioamide	C= S str.	1300-1100	7.69-9.9	s.
Covalent sylfates	S=O str., sym..	1440-1350	6.94-7.41	s.
(RO) ₂ SO ₂	S=O str., asym.	1230-1150	8.13-8.70	s.
Covalent sylfonates	S=O str. sym.	1420- 1330	7.04-7.52	s.
(R ₁ -O-SO ₂ -R ₂)	S=O str.. asym.	1200-1145	8.33-8.73	s.
Sulfonyl chlorides	S=O str., sym.	1375-1340	7.27-7.46	s.
(R-SO ₂ Cl)	S=O str.. asym.	1190-1160	8.40-8.62	s.
Sylfonamides	S=O str.. sym.	1370-1300	7.30-7.69	s.

1780-1760	5.62-5.68	s.	Ketones. 4 ring, sat. γ lactone	C=O str.
1780-1740	5.62-5.75	s.	Acyclic acid anhydrides	C=O str.
1760-1730	5.68-5.78	s.	Simple β lactams	C=O str.
1760-1720	5.68-5.81	s.	Conj. acyclic anhydrides	C=O str.
1755-1740	5.70-5.75	s.	α keto esters, α diesters	C=Ostr.
1755-1730	5.70-5.78	s.	α -amino acid hydrochloride	C=O str.
1755-1720	5.70-5.81	s.	Dicarboxylic α -amino acids	C=O str.
1750-1740	5.71-5.75	s.	Ketones. 5 ring	C=O str.
1750-1735	5.71-5.76	s.	γ -keto esters, diesters, nonenolic β -keto esters	C=O str.
1750-1735	5.71-5.76	s.	Sat. aliphatic esters, α -lactones	C=O str.
1745-1725	5.73-5.80	s.	CO-O-CH ₂ -CO-	C=O str.
1750-1700	5.71-5.88	s.	Fused ring γ lactams	C=O str.
1740-1720	5.75-5.81	s.	Sat. aliphatic aldehydes	C=O str.
1740-1715	5.75-5.83	s.	α -halogeno carboxylic acids	C=O str.
1735-1700	5.76-5.88	s.	Urethanes	C=O str.
1730-1710	5.78-5.85	s.	-CO-CO-	C=O str.
1730-1700	5.78-5.88	s.	Amino acid hydrochlorides	C=O str.
1730-1715	5.78-5.83	s.	α , β unsat., aryl esters	C=O str.
1730-1700	5.78-5.88	s.	Dicarboxylic amino acids	C=O str.
1725-1705	5.80-5.87	s.	-CO-CH ₂ -CH ₂ -CO-	C=O str.
1725-1700	5.80-5.88	s.	Sat. aliphatic acids, dimer, acyclic, CH ₂ -CO-CH ₂ -ketones	C=Ostr.
1725-1695	5.80-5.90	s.	α -amido acids	C=O str.
1720-1700	5.81-5.88	s.	Ketones. 6-ring	C=O str.
1715-1700	5.83-5.88	s.	Ketones. 7-ring	C=O str.
1715-1695	5.83-5.90	s.	Aryl aldehydes	C=O str.
1715-1680	5.83-5.95	s.	α , β unsat. acids	C=O str.
1710-1690	5.85-5.92	s.	Carbamates. amide I band	C=O str.
1710-1670	5.85-5.99	s.	-CO-NH-CO-, amide I band	C=O str.
1705-1685	5.78-5.93	s.	α , β unsat. aldehydes	C=O str.
ca. 1700	ca. 5.88	s.	Simple γ lactams, amide I band	C=O str.

ca. 1660	ca. 6.02	s.	Ureas (NH-CO-NH), amide I band	C=O str
1660-1640	6.02-6.10	v.	Alkenes ($\text{CR}_1\text{R}_2=\text{CH}_2$)	C=C Str.
1660-1610	6.02-6-21	w.	Amino acids containing NH_2 group. amino acid I band	NH_3^+ def.
1660-1580	6.02-6.33	s.	Alkenes conj. with C=O or C=C	C=C str.
1660-1480	6.02-6.76	v.	Thiazoles (cyclic α, β sat. C=N)	C=N str.
1655-1635	6.04-6.12	s.	Enolic β -keto esters, chelated	C=O str.
1655-1635	6.04-6.12	s.	Quinones, 2 CO's in 2 rings	C=O str.
1655-1610	6.04-6.21	s.	o-CO-C ₆ H ₄ -OH (or NH ₂), H-bonded	C=O str.
1655-1610	6.04-6.21	s.	Nitrates (RONO ₂), asym. vibration	NO ₂ str.
ca. 1650	ca. 6.06	s.	Primary amides, amide I band	C=O str.
1650-1590	6.06-6.31	s.	Prim. amides, amide II band, combination NH def. + CN str. NH def. + CN str.	
1650-1620	6.06-6.17	s.	Amido acids, amide I band-	C=C + C = N str.
1650-1580	6.06-6.33	m.	pyrimidines, quinolines	
1650-1580	6.06-6.33	m.-s.	Prim. amines	NH def.
1650-1550	6.06-6.45	w.	Sec. amines	NH def.
1645-1640	6.08-6.10	v.	Alkenes ($\text{CHR}=\text{CH}_2$)	C=C str.
1640-1605	6.10-6.23	s.	Alkyl nitroguanidines, asym. NO ₂ vibrations	NO ₂ str.
1640-1535	6.10-6.52	s., d.	Ketones ($-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CO}$ or $-\text{CO}-\text{C}=\text{C}-\text{OH}$)	C=O str.
1630-1575	6.14-6.35	v.	Azo compounds	N=N str.
ca. 1625	ca. 6.16	s.	Alkenes, phenyl conj. C=C	C=C str.

1625-1610	6.16-6.21	v.	Nitrites (RON=O cis form)	N=O str.
1625-1575	6.16-6.35	v.	Aromatic homocyclic comp.	C=C i-p vib.
1620-1600	6.17-6.25	s.	Tropolones	C=O str.
1620-1600	6.17-6.25	s.	Amido acids, amide I band	
1620-1590	6.17-6.31	s.	Prim. amides, amide II band, combination	NH def. + CN str.
			NH def. + CN str.	
1620-1560	6.17-6.41	s.	Nitroso compounds, α halogeno	N=N str.
1620-1560	6.17-6.41	m.-s.	Charged amine derivatives	NH ₂ ⁺ def.
1610-1590	6.21-6.29	w.	Amino acid hydrochlorides	NH ₃ ⁺ def.
1610-1550	6.21-6.45	s.	Carboxylate ion, asym. str.	
Ca. 1600	ca. 6.25	m.	Charged amine derivatives	NH ₃ ⁺ def.
1600-1575	6.25-6.35	s.	α , α -dihalogenonitro compounds	NO ₂ str.
1600-1560	6.15-6.41	s.	Amino acid salts, all amino acids with ionized carboxyl	C=O str.
1590-1575	6.29-6.36	v.	Aromatic homocyclic comp. C=C	i-p str.
1590-1575	6.29-6.36	s.	Nitroureas	NO ₂ str.
1585-1530	6.31-6.54	s.	Saturated nitramines	NO ₂ str.
1580-1570	6.33-6.37	s.	α -halogenonitro compounds	NO ₂ str.
1580-1550	6.33-6.45	w.	Nitrogen heterocycles, combination, C=C and C=N str.	C=C + C=N str.
1580-1520	6.33-6.58	m.	Pyrimidines and purines, combination, C=C and C=N str.	C=C+C=N str.
1570-1515	6.37-6.60	s.	Sec. acyclic amides, amide II band, combination NH def. and CN str.	NH def. + CN str.

885-870	11.30-11.50	m.	1,2,4-trisubstituted benzene. another peak at 852-805	C-H def.
ca. 870	11.50 (Ca.)	m.	Pentasubstituted benzene	C-H def.
870-800	11.50-12.50	v.	Benzene ring containing two adjacent H atoms	C-H def.
840-790	11.90-12.66	s.	Trisubstituted alkenes	C-H def.
810-750	12.34-13.34	v.	Benzene ring with three adjacent H atoms	C-H def.
800-600	12.50-16.67	s.	Halides	C-Cl str.
770-735	12.98-13.61	v., s.	Benzene ring with four adjacent free H atoms	C-H def.
770-730	12.98-13.70	v., s.	Benzene ring with five adjacent free H atoms, second peak at 710-690	C-H def.
ca. 690	ca. 14.50	s.	Disubstituted alkenes (R ₁ CH=CHR ₂) cis	C-H def.
ca. 650	ca. 15.40	s.	Sulfonic acids	S=O str.
ca. 630	ca. 15.90	s.	Alkynes	C-H def.
600-500	16.60-20.00	s.	Bromides	C-Br str.
ca. 500	ca. 20.00	s.	Iodides	C-I str.

s=strong absorption

v.=variable intensity

vib.=vibrating

bon.=bonded

m.=medium absorption

sh.=sharp peak

d.=doublet

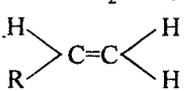
sat.=saturated

w.=weak absorption

br.=broad absorption

mlt.=multiplet

Table 2.2a: Infrared absorption frequencies of alkenes

Alkene type	Vibration mode	Frequency, cm ⁻¹	Wave length, μ	Relative intensity
RCH=CH ₂ (Vinyl)	C-H str. (CH ₂)	3095-3075	3.23-3.25	m
	C-H str. (CHR)	3040-3010	3.29-3.32	m
	Overtone	1850-1800	5.40-5.56	m
	C=C str.	1645-1640	6.08-6.10	v

Résumé

Les coumarines constituent une grande classe d'hétérocycles. La plupart d'entre elles, sont douées d'activités biologiques variées. L'objectif de notre étude est de synthétiser, par réaction de pechmann, une coumarine à action hépatotrope et cytotoxique, dérivée de l'ombélliférone : l'hyméchromone. Elle est ensuite nitrée en 8-nitro-7-hydroxy-4-méthylcoumarine puis, par réaction d'amination réductrice, réduite en dérivé 8-aminé. Deux essais différents sont effectués pour les deux dernières synthèses. Les produits ainsi obtenus, seront d'abord caractérisés par solubilité, réaction chimique au chlorure ferrique ;ensuite, identifiés par mesure du point de fusion et spectroscopie infrarouge. Enfin, leur pureté est déterminée par mesure du point de fusion et par chromatographie sur couche mince. Les résultats ont conclu à un rendement satisfaisant pour les deux premières synthèses mais médiocre pour la dernière. La pureté de l'hyméchromone était excellente, celle des produits de l'essai « b » acceptable, mais celles de l'essai « a » médiocre.

Mots clés : coumarine, hymecromone, pechmann, nitration, réduction, pureté

Abstract :

The coumarin constituted a large heterocyclic class; most of it have different biological activities .The objectif of our study is to synthesize a coumarin , wich has an hepatotropic and cytotoxic action, by pechmann condensation, it is an umbeliferon derived :hymecromone. It's than nitrated to 8-nitro-7-hydroxy-4methylcoumarin and after that, reduced to 8-amine by reductive amination reaction.Two different tests have been excuted for last two syntheses. Thus, the products obtained will firstly be characterized by solubility, chemical reaction with ferric chloride, and then identified by measurement of the melting point and infrared spectroscopy. Finally, their purity is determined by measuring the melting point and by thin-layer chromatography. The results showed a satisfactory performance for the first two syntheses but mediocre for the latter. The purity of the hymchromone was excellent, that of the products of test "b" acceptable, but those of test "a" mediocre.

Key words: coumarin, hymecromon, pechmann, nitration, reduction, purity

الملخص

تشكل الكومارينات مجموعة كبيرة من هجينة الحلقات تمتلك أغلبيتها العديد من الخصائص البيولوجية

الهدف من هذه الدراسة هو تصنيع جزيئات الكومارين مشتقة من الاومبيليفرون: (ايميكرومون). ذات خصائص طبية تفيد الام المعدة و مرض السرطان عن طريق تفاعل بيكمان , ثم نقوم بنترنة هاته الجزيئة لانتاج 8-نيترو-7-هيدروكسي-4-ميثيل كومارين التي بدورها ترجع الى 8-أمينو-7-هيدروكسي-4-ميثيل كومارين , قمنا بإجراء اختبارين في كل من التجربتين الأخيرتين , بعد ذلك يتم تحديد نوعية الجزيئات المنتجة عن طريق عملية الذوبان و التفاعلات الكيميائية مع كلوريد الحديد صف الى ذلك تحديد الهوية بواسطة قياس درجة انصهار و الاشعة تحت الحمراء, و زيادة على ذلك نقوم معرفة درجة النقاوة باختبار كروماتوغرافيا , تحصلنا على نتائج مرضية اظهرتها الاختبارات , درجة نقاوة الايميكرومون كانت جيدة , ايضا بالنسبة للاختبار (ب) ام فيما يخص الاختبار (أ) كانت غير كافية

كلمات البحث: الكومارين، ايميكرومون ، بيكمان، نترنة، ارجاع، النقاوة.

Références Bibliographiques

- [1]- Kayser O, Kolodziej H. Antibacterial Activity of Extracts and Constituents of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*. *Planta medica*.1997; 63(6): 508-510
- [2]- Kucherenko A, Flavin M T, Boulanger W A, Khilevich A, Shone R L, Rizzo J D, Sheinkman A K, Xu Z Q. *Chemical synthesis of natural products*. London: Blackwell science; 1995.
- [3]- Murray R D H, Mendez J, and Brown S A. *The Natural Coumarins: Occurrence, Chemistry and Biochemistry*. *Plant, Cell & Environment*. 1982 ; 5 : 435–436
- [4]- Lacy A, O’Kennedy R. Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *PubMed*.2004;10(30):3797-3811
- [5]- Nabila B. *Séparation et détermination de structure des métabolites secondaires de *Cachrys libanotis**.L. Constantine : faculté des Sciences exactes Département de Chimie ; 21 Avril 2013
- [6]- Bruneton J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales 4^{ème} édition*.Paris : Tec & Doc ; 2009
- [7]- Boisdé P M, Meuly W C. *Coumarin*. Kirk Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 4^{ème} édition ; 2007.
- [8]- John Roberts D, Marjorie Caserio C. *Chimie Organique Moderne*. Paris: Ediscience ;1968
- [9]- NASSIMA B. *Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de *Matricaria Chamomilla* (Asteraceae) Etude de la phase acétate d’éthyl*. Costantine : faculté des Sciences exactes Département de Chimie ; 2012
- [10]- Harbone J. B. *Chemicals from Plants: Perspectives on Plant Secondary Products*. London : Imperial ; 1999
- [11]- Merzoug B. *Contribution à l’étude phytochimique de deux plantes de la famille des apiaceae: *Carum montanum* Coss*. Constantine : faculté des Sciences exactes Département de Chimie ; 2009

- [12]- Fadia A H H, Jomaa M. Studying of Pechmann Condensation Products of Ethyl Acetoacetate with 2,7-Dihydroxynaphthalene. *Chemistry and Materials Research*. 2016 ; 8 :86-92
- [13]- Bahekar SS, Shinde DB. Samarium (III) catalyzed one-pot construction of coumarins. *Tetrahedron Letters*.2004 ;(45) : 7999–8001
- [14]- Ramin R, Mohammad H F, Maryam F. Coumarin synthesis via Pechmann condensation utilizing starch sulfuric acid as a green and efficient catalyst under solvent-free conditions. *Organic Chemistry*. 2014 ; 10(2) : 73-78
- [15]- Nowrouzi F. The synthetic utility of allylic trifluoroborate salts: reactions of ketones and indoles using montmorillonite, indium and lewis acid. Toronto :University of Toronto ;2011
- [16]- Fylaktakidou K, CHadjipavlou-Litina D J, Litinas K E, and Nicolaide DN. Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/ antioxidant activities.PubMed. 2004;10(30):3813-33.
- [17]- Min Mao PC, Mouscadet J F, Leh H, Auclair C, Yih Hsui L. Chemical Modification of Coumarin Dimer and HIV-1 Integrase Inhibitory Activity . *Chemical and pharmaceutical*. 2002 ; 50 : 1634-1637
- [18]- Miyake Y, Murakam A., Sugiyama Y, Isobe M, Koshimizu K, Ohigashi H, Agric J.. Identification of Coumarins From Lemon Fruit (Citrus Limon) as Inhibitors of in Vitro Tumor Promotion and Superoxide and Nitric Oxide Generation. *PubMed*. 1999; 47 (8) : 3151-3157
- [19]- Sashidhara KV, Kumar A, Kumar M, Sarkar J, Sinha S. Synthesis and antihyperlipidemic activity of novel coumarin bisindole derivatives. *Bioorganic et Medicinal Chemistry Letters*. 15 November 2010;20: 6504-6507
- [20]- Sashidhara K V, Kumar A, Kumar M, Sarkar J, Sinha S. Synthesis and antihyperlipidemic activity of novel coumarin bisindole derivatives. *Bioorganic et Medicinal Chemistry Letters* 2010, 20, 7205–7211.
- [21]- Massimo Curini A, Francesco Epifano C, Federica Maltese A, Maria Carla Marcotullio A, Sylvia Prieto Gonzales B and Juan Carlos Rodriguez B. Synthesis of Collinin, an Antiviral Coumarin. *CSIRO PUBLISHING*. 2003; 56: 59-60
- [22]- Dridi F. S ynthèse et caractérisation des dérivés quinoniques. Application du tannage et test biologiques. Boumerdès: Faculté des Sciences de l'Ingénieur.2015

- [23]- El-Agrody A M, Abd El-Latif MS., El-Hady N A, Fakery AH , Bedair AH. Heteroaromatization with 4-Hydroxycoumarin Part II: Synthesis of Some New Pyrano[2,3-d]pyrimidines, [1,2,4]triazolo[1,5-c]pyrimidines and Pyrimido[1,6-b]-[1,2,4]triazine Derivatives. *Molecules*. 2001; 6: 519-527.
- [24]- Yu J, Wang L, Walzem R L, Miller E G, Pike L M, Patil B, Agric J. Antioxidant Activity of Citrus Limonoids, Flavonoids, and Coumarins. *Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53: 2009-2014.
- [25]- Campos Toimil M, Orallo F, Santana L, Uriarte E. Synthesis and Vasorelaxant Activity of New Coumarin and Furocoumarin Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2002; 12:783-786.
- [26]- Zhang Q, Qin L, and He W. Coumarins from *Cnidium monnieri* and their antiosteoporotic activity. *Planta Medica*. 2007; 73:13-19
- [27]- Okamoto T , Kawasaki T, Hino O, Osthol prevents anti-fas antibody induced hepatitis in mice by affecting the caspase-3-mediated apoptotic pathway. *Biochem. Pharmacol.* 2003 ; 65 : 677-681
- [28]- Chen K S, Wu C C, Chang F R, Chiang M Y, Wang W Y, Wu Y C. Bioactive coumarins from the leaves of *Murraya omphalocarpa*. *Planta Medica*. 2003 ; 69 : 654.
- [29]- Kang S Y, Lee K Y, Sung S H, Park M J, and Kim Y C. Coumarins from *Angelica gigas* inhibit acetylcholinesterase: structure-activity relationships. *Journal of Natural Products*. , 2001 ; 64 :683-685
- [30]- Dall'Acqua S, Maggi F, Minesso P, Salvagno M, Papa F , Vittori S, and Innocenti G. Identification of non alkaloid acetylcholinesterase inhibitors from *Ferula gosseana* (Basser) Grecescu (Apiaceae). *Fitoterapia*. 2010 ; 81(8) :1208-1212
- [31]- Kaneko T, Baba N, and Matsuo M, Protection of coumarins against linoleic acid hydroperoxide-induced cytotoxicity. *Chemico-Biological Interactions*. 2003 ;142 :239-254
- [32]- Masuda T, Takasugi M, and Anetai V. Psoralen and other linear furanocoumarins as phytoalexins in *Glehnialittoralis*. *Phytochemistry*. 1998 ; 47 : 13-16

- [33]- Zhang H Y, and Wang L F. Theoretical elucidation of structure-activityrelationship for coumarins to scavengeperoxyl radical Journal of Molecular Structure Theochem. 2004 ; 673 :199-202
- [34]- Pereira L, Villinger F, Wulff H, Sankaranarayanan A, and Raman G. Pharmacokinetics, toxicity, and functionalstudies of the selective kv1.3 channelblocker 5-(4-Phenoxybutoxy) Psoralen in rhesus Macaques. Experimental Biology and Medicine. 2007 ; 232 : 1338-1354
- [35]- Plumas J, Drillat P , Jacob M, and Richard M J. Extra corporeal photo chemo therapy for treatment of clonal T cellproliferations. Bulletin Du Cancer . 2003 ; 90 : 763-770
- [36]- Kawase M, Sakagami H, Motohashi N, Hauer H, Chatterjee SS , and Spengler G. Coumarinderivativeswithtumor-specificcytotoxicity and multidrugresistance reversal activity. In Vivo. 2005.19 : 705-716
- [37]- Rosenthal G A, Barenbaum M R. Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites, 2nd edition,: New York : AcademicPress ; 1992.
- [38]- Hadacek, F, Müller C, Werner A, Greger H. and Proksch P, , Analysis, isolation and insecticidalactivity of linearfuranocoumarins and othercoumarinderivativesfrom Peucedanum ostruthium (Apiaceae: Apioideae). Journal of Chemical Ecology. 1994 ; 20 : 2035-2054
- [39]- Ojala T, Remes S, Haansuu P , Vuorela H, Hiltunen R, Haahtela K and Vuorela P., Antimicrobialactivity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. Journal of Ethnopharmacology. 2000 73 (1-2) :299-305
- [40]-Kostova I. Anticancer Agents, Synthetic and natural coumarins as cytotoxic agents. Current Medicinal Chemistry. 2005 ; 5 : 29-46
- [41]-Reddy N.S, Gumireddy K et Mallireddigari M.R. Novel coumarin-3-(N-aryl) carboxamides arrest breast cancer cell growth by inhibiting ErbB-2 and ERK1. Bioorganic and Medicinalchemistryletters. 2005 ; 13 :3141-3174
- [42]- Chimichi S M, Boccalini B, Cosimelli G, Viola D, Vedaldi D A, Francesco D. New geiparvarin analogues from 7-(2-oxoethoxy)coumarins as efficient in vitro antitumoral agents Tetrahedron Letters . 2002; 43:7473-7476.
- [43]- Han S, Zhou V.; Pan S, Liu Y, Haugen J, Lesley S A, Gray N, Caldwell J, Gu X J. Bioorganic and Medicinal ChemistryLetters. Pharmaceutical jobs. 2005 ; 15 : 5467-5473.

- [44]- Ghate M, Kusanur R A, Kulkarni M V. Synthesis and in vivo analgesic and anti-inflammatory activity of some bi heterocyclic coumarin derivatives *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2005 ; 40 : 882-887.
- [45]- coumarines-et-coumarine-en-phytothrapie,2016[consulté le 5 mars 2017]
<http://dietons.com/coumarines-et-coumarine-en-phytothrapie.html>.
- [46]- Vilar S, Quezada E, Santana L, Uriarte E, Yanez M, Fraiz N, Alcaide C, Cano E, Orallo F. Synthesis and Study of a Series of 3-Arylcoumarins as Potent and Selective Monoamine Oxidase B Inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 2006 ; 16 : 257-261.
- [47]- Abo-el-Maali Voltammetric analysis of drugs. *PubMed*. 2004 ; 64 : 99-107
- [48]- Chen Y L, Lu C M, Lee S J, Kuo D H, Chen I Li, Wang T C, Tzeng C C. synthesis, antiproliferative, and vasorelaxing evaluations of coumarin alpha-methylene-gamma-butyrolactones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2005 ; 13 : 5710-5716.
- [49]- Tamotsu S, Sayaka T, Iwao Y, Yoshiaki K, Kazue Y, and Noritaka C. Total Synthesis of Spicamycin Amino Nucleoside. *Organic letters*. 2000 ; 2 (8) : 1137-1140
- [50]- Gammon D W, Hunter R, Wilson S A. Novobiocin biosynthesis. *Tetrahedron Letters*. 2002 ; 4 : 3141-3144.
- [51]- Denis Giguère. Synthèse de 4-désoxy hexopyrannoses, C-disaccharides et C-glycosides biologiquement actifs. Montréal. Université de Montréal. 2009
- [52]- Periers A M, Laurin P, Benedetti Y, Lachaud S, Ferroud D, Iltis A, Haesslein J L, Klich M, L'Hermite G, Musicki B. Stereoselective synthesis of 5-monoalkyl and 5,5-dialkylsubstituted noviose derivatives. *Tetrahedron Letters*. 2000 ; 41 : 867-871.
- [53]- David W G, Roger H, Seanette A W. *Tetrahedron Letters*. 2005 ; 61 : 10683-10688.
- [54]- Redoyal L M, Beltran M, Sancho R. et Olmedo D A. *Bioorganic and Medicinal chemistry Letters*. 2005 ; 15 : 4447-4450.
- [55]- Feuer G, Kellen J A, Kovacs K. Mechanisms of Cancer Metastasis: Potential Therapeutic Implications. *Oncology*. 1976; 33:35.

- [56]- Kashman Y, Gustafson K R, Fuller R W, Cardellina J H, McMahon J B, Currens MJ, et al. J MedChem 1993; 36:1110.
- [57]- Shikishima Y, Takaishi Y, Honda G, Ito M, Takfda Y, Kodzhimatov O K, et al. ChemPharm Bull. 2001;49:877.
- [58]- Gage BF. Pharmacogenetics-based coumarin therapy. PubMed. 2006;467-473
- [59]-Ostrov D A, Hernandez Prada JA, Corsino PE, Finton KA, Le N, Rowe TC. Discovery of novel DNA gyrase inhibitors by high-throughput virtual screening. Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51:3688-3698
- [60]-Gormley NA, Orphanides G, Meyer A, Cullis PM, Maxwell A. The Interaction of Coumarin Antibiotics with Fragments of the DNA Gyrase B Protein. Biochemistry 1996;35:5083-5092
- [61]-Fylaktakidou KC, Hadjipavlou-Litina DJ, Litinas KE, Nicolaides DN. Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/ antioxidant activities. PubMed ;2004;10:3813-3833
- [62]-Jing S, Li CJ, Yang JZ, Jie M, Wang C, Jia T, et al. Fitoterapia. 2014; 96:13845.
- [63]-Koeni VS, Gopal RP, Srinivasa RA, Singh S, Manish J, Madhu D. Novel Long-Circulating Liposomes Consisting of PEG Modified β -Sitosterol for Gambogic Acid Delivery. Bioorg Med Chem Lett. 2012;22(9):3115-21.
- [64]- Mark WI, Blaise MC, Arturas V, Guangyu F, Laura C, Graham LC, et al. Neurochem Int. 2012;61:593-600.
- [65]-Clark G S. Perfumer and Flavorist. 20, nov-dec1995, 23-34.
- [66]-Egan D. A, Cox D, O'Kennedy R, Moran E, Prosser E and Thornes R D. The pharmacology Metabolism, Analysis, and Applications of Coumarin and Coumarin-Related compounds. Drug Metabolism Reviews. 1990 ; 22 :503-529
- [67]-Bruneton J . Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 4ième édition. Paris Lavoisier : Tec & Doc ; 2009.
- [68]-Mead J A R, SMITH J N AND R T William S. Metabolism Of Hydroxycoumarins. 1957 ; 68

- [69]- Roberta G C, Leônia M B, Lourdes C d S, Alba R M d S B, Wagner V
Phytochemical study and antiulcerogenic activity of *Syngonanthus
bisulcatus* (Eriocaulaceae) SciELO Analytics.2006 ;42
- [70]- Kurt H. 57th International Congress and Annual Meeting of the Society for
Medicinal Plant and Natural Product Research *Planta Medica* 2009 ; 75 : 877 – 1094
- [71]-Bruneton J. Anti-proliferative, Cytotoxicity and Anti-oxidant Activity of *Juglans
regia* Extract. *Science and education*.1999 ; 418-419.
- [72]- Mythili T, Ravindhran r. Phytochemical Screening and antimicrobial activity of *sesbania
sesban* (L.) Merr. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*.2012 ;5
- [73]- Pechmann v, *Berichte der H. Deutschenchemischen Gesells chaft*.1884 ;17 :929
- [74]- Joshi R, Chudasama U J.synthesis of coumarin via pechmann condensation using
inorganic ion exchangers as solid acid catalysts.*Journal of Scientific & Industrial Research*.
Sci. Ind. Res. 2008; 67:1092–1097.
- [75]- Srinivasan P, Rao V J, Chandrasekaran S, Rampally C. Process for preparing
substituted coumarins. 2004; US Patent No. 6716996 B1,
- [76]- Flavin M T, Xu Z Q, Khilevich A, Zembower J D, Liao S, Mar A, Lin V, Brankovic
D, Dzekhster S , Liu J. Method for the preparation of (+)-calanolide A and analogues
thereof. 1998; US Patent No. 5,977,385,.
- [77]- Fadia Al Haj Hussein, Mohammed Keshe, Khaled Alzobar,Joumaa Merz,Ayman
Karam, Synthesis and nitration of 7-hydroxy-4-methylcoumarin via Pechmann condensation
using eco-freidly media. *International Letters of Chemistry, Physics and
Astronomy*.2016;69:66-73
- [78]- Rilla K, Pasonen-Seppänen S, Rieppo J, Tammi M, Tammi R. The hyaluronan
synthesis inhibitor 4-methylumbelliferone prevents keratinocyte activation and epidermal
hyperproliferation induced by epidermal growth factor. *J Invest Dermatol* .2004;123:708–
714.
- [79]- Bollyky PL, Evanko SP, Wu RP, Potter-Perigo S, Long SA, Kinsella B, et al. Th1
cytokines promote T-cell binding to antigen-presenting cells via enhanced hyaluronan
production and accumulation at the immune synapse. *Cell MolImmunol*.2010; 7:211–220

- [80]- Kakizaki I, Kojima K, Takagaki K, Endo M, Kannagi R, Ito M, et al. A novel mechanism for the inhibition of hyaluronan biosynthesis by 4-methylumbelliferone. *J BiolChem* .2004; 279:33281–33289
- [81]- Vigetti D, Ori M, Viola M, Genasetti A, Karousou E, Rizzi M, et al. Molecularcloning and characterization of UDP-glucose dehydrogenasefrom the amphibian *Xenopus laevis* and itsinvolvement in hyaluronansynthesis. *J BiolChem* .2006 ; 281:8254–8263
- [82]- Rajesh NG, Sharad GJ. *J Exp Clin Med* 2012;4(3):165-169.
- [83]- Alfonso M, Claudiu TS. *Bioorg Med Chem Letters* 2010;20:451114.
- [84]- Nadia T, Alfonso M, Paul CM, Yuanmei L, Andrea S, Shoukat D, et al. Glycosyl Coumarin Carbonic Anhydrase IX and XII Inhibitors Strongly Attenuate the Growth of Primary Breast Tumors. *Medicinal Chemistry*. 2011;54:8271-8277.
- [85]-René M,Chimie organique, Stéréochimie, entités réactives et reactions; EDP Sciences, 2003
- [86]-Swayam S S , Smita S , Subhangankar N and Himanshu B S .Synthesis of novel coumarin derivatives and its biological evaluationsEuropean Journal of Experimental Biology.2012 ; 2(4) :899-908
- [87]-Prasanna B, Sandeep A,Revathi T. Green approach to synthetis of novelsubstituted 8H-pyrano[2,3-e]benzoxazol-8-ones. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 2013 ;3 :404-411.
- [88]-Indian Pharmacopoeia, Microbiological assay and tests, Ministry of Health and Familywelfare: The Controller of Publications, New Delhi., Vol. II, A-100, 1996.
- [89]- sheeley HW, Dermark P J, *Microbes in Action. A Laboratory Manual of Microbiology*, D. B. Taraporewala Sons and Co, Mumbai, 1975.
- [90]-Barrey A L, in Illus (Ed.). *The antimicrobial susceptibility test: Principle and Practice*, Lea and Febiger, Philadelphia, PA, USA, 180, 1976
- [91]-Winter C A, Risley EA, Nuss G W , *Pharmacolo J. Anti-inflammatory and anti pyretic activities of indomycin, 1-(p-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindol-3-acetic acid*. *PubMed*, 1963 ; 141:369-376.
- [92]- Winter C A, Risley EA, Nuss G W, *Pharmacolo J. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs*.*PubMed*. 1963 ; 111:544-547
- [93]- Duwiejua M, Zeitlini J, Waterman P G, Gray A I, *Pharmacol J*.1994 ; 46:286.