

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saida



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم الكيمياء

Département de Chimie

N° d'Ordre

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master**

En Chimie

**Spécialité : Chimie organique**

Thème

**Synthèse et étude des propriétés anti oxydantes et antibactériennes des hétérocycles coumarines.**

Présenté par :

- Mr : **Abidi Kheira.**
- Mme : **Allam Fatima Zohra.**

Soutenu le : **19/06/2023.**

Devant le jury composé de :

Président	Mr. Gaoundouzi Abdelkrim	Pr Université UMTS
Examineur	Mme. Ayat Moulkheir	MCA Université UMTS
Examineur	Mme. Boutaleb Nadai	MCA Université UMTS
Rapporteur	Mr. Ouici Houari Boumediene	Pr Université UMTS
Invite	Mr. Boudou Farouk	Dr. Université UMTS

**Année universitaire 2022/2023**

## Remerciement

Nous tenons à remercier d'abord Dieu le tout puissant et miséricordieux, de nous avoir donné la force, la patience et le courage nécessaire pour mener ce travail à terme.

Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique du département de chimie de la faculté des sciences, université "Dr MOULAY TAHAR" SAIDA.

Ce mémoire n'aurait pu voir le jour sans la participation de nombreuses personnes, nous allons essayer de trouver les mots justes pour exprimer spécifiquement nos reconnaissances à tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à ce travail.

A notre encadreur le professeur **OUICI Houari Boumediene**, qui nous a fourni le sujet de ce mémoire et nous à guidés de ses précieux conseils et suggestions, et la confiance qu'il nous a témoigné tout au long de ce travail.

A Mr.**BOUDOUC Farouk** , nous remercions pour les discussions enrichissantes dans le domaine de la biologie comme vous trouvez ici toute notre gratitude pour nous avoir fournis les souches bactériennes et merci aussi, pour votre écoute et votre gentillesse.

Nous tenons à gratifier aussi les membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.

## *Dédicaces*

*A mes chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, Pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grand sacrifices.*

*A mes très chers frères : Redouane, Mohamed, Bachir, Amine et Zakaria ; pour l'intérêt qu'ils ont porté à mes études, leur encouragement, leur présence à mes côtés, que leur vie soit pleine de bonheur et de succès.*

*A mon adorable petite sœur : Maroua ; qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.*

*A mes très chers amis : Imane Assma.*

*A mon très cher binôme : Kheira.*

*A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment..... Merci !*

*Fatima Zohra*

## **Dédicace**

*A mes chers parents*

*pour tous leur sacrifices leur amour ,leurs tendresse,leur soutient et leurs prières  
tout au long de mes études.*

*A mes chères sœurs Leila,Sabah,Nadia et Chahinez ,pour leurs encouragements  
permanents, et leur soutien moral .*

*Mon chère frère Abdelkader Ayoub.*

*Mes tantes « Fatima,Kheira,Halima ,Nawal et yassema »*

*Chers oncles « Mohammed et Saïd » pour ses soutiens moral et ses aides , Merci*

*Ma chère amie « yamina »,Mercie*

*A la famille Abidi et Derkaoui entre les quelles j'ai grandi*

*A ma chère binôme Fatima Zohra et tout sa famille .*

*A tous ceux qui ont contribue a la réalisation de ce travail de près ou de loin .*

*Kheira.*

## Sommaire

Introduction générale.....	1
<b>Chapitre I. Synthèse bibliographique sur les coumarines.....</b>	<b>3</b>
I. 1. Introduction :.....	4
I.2. Historique.....	4
I. 3. Diversité structurale des coumarines .....	5
I. 4. Synthèses des coumarines .....	6
I.4.1. Synthèse de dérivés de la coumarine à partir du salicylaldéhydes .....	6
I.4.2.Synthèse de dérivés de la coumarine à partir de phénols.....	11
I.4.3.Synthèse de dérivés de la coumarine à partir de cétones .....	13
I.5.Autres méthodes de synthèse des coumarines : .....	14
I.5.1. Synthèse des coumarines par la réaction de Pechmann .....	14
I.5.2.Synthèse des coumarines par la réaction de Perkin .....	15
I.5.3.Synthèse des coumarines par la réaction de Wittig : .....	15
I.5.4.Synthèse des coumarines par la réaction de Knoevenagel.....	15
<i>I.5.5.Synthèse des coumarines par la réaction de Reformatsky.....</i>	<i>16</i>
I.5.6.Réaction de Kostanecki-Robinson .....	16
I.6.Propriétés pharmacologiques des coumarines .....	17
I.7.Applications des coumarines .....	17
I.7.1. Activité anticancéreuse des coumarines .....	17
I.7.2. Activité antimicrobienne des coumarines .....	18
I.7.3.Activité anticoagulante et cardiovasculaire des coumarines.....	18

I.7.4. Activité d'inhibition enzymatique .....	19
<b>CHAPITRE II .Etude bibliographique sur l'activité biologique.</b> .....	<b>23</b>
II.1. Introduction.....	24
II.2. Activité biologique .....	24
II.2.1. Activité anti-oxydante .....	24
II.2.1.1. Stress oxydatif .....	25
II. 2. 1. 2. Origine du stress oxydatif .....	25
II. 2. 1. 3. Mécanismes pro-oxydants .....	25
II. 2. 1. 4. Définition d'un radical libre .....	26
II. 2. 2. Les radicaux libres dans les systèmes biologiques .....	26
II. 2. 2. 1. Rôles biologique des radicaux libres .....	26
II. 2. 2. 2. Les conséquences du stress oxydant.....	26
II. 2. 3. Les antioxydantes .....	27
II. 2. 3. 1. Classification des antioxydants.....	27
II. 2. 3. 1a. Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action .....	27
II. 2. 3. 1b. Classification des antioxydants suivant la nature chimique .....	27
II. 2. 3. 2. Mécanisme d'action des antioxydantes .....	28
II. 2. 3. 3. Evaluation de l'activité antioxydante .....	28
II .2. 3. 4. Test du piégeage du radical libre DPPH.....	28
II. 2. 3. 5. Expression des résultats .....	29
II. 2. 3. 6. Calcul des concentrations inhibitrices à 50 % " IC 50" .....	29
II.2.3.7. Activité antioxydante des coumarines .....	30
II. 2. 4. Activités antibactérienne .....	30
II. 2. 4. 1. Les bactéries .....	30

II.2. 4. 2. Choix et origines des souches microbiennes testées.....	31
II. 2. 5. Lecture des résultats .....	32
II.3.Activité de la coumarine et quelques molécules hybrides.....	33
<b>CHAPITRE III</b> .Synthèse et étude de l'activité antioxydant et antibactérienne des hétérocycles coumarine. ....	38
III. 1. Introduction .....	39
III. 2. Description générale de la synthèse des coumarines.....	39
III.2.1. Synthèse du 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2one.....	39
III.2.2. O-Alkylation de 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2 one.....	40
III.2.3. Synthèse des azo coumarines .....	41
II.2.4.Copulation des sels de diazonium avec 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2 one ...	42
II.2.5.Protocoles expérimentales de la synthèse des coumarines .....	43
II. 2. 5. 1. Synthèse de la coumarine 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2 one .....	43
III. 2. 5. 2. Synthèse des coumarines O-alkylées .....	43
III. 2. 5. 3. Synthèse des azocoumarines .....	43
III.4.1. Evaluation de l'activité antioxydant.....	47
III.4.1.1. Test du piégeage du radical libre DPPH .....	47
III.4.1.2. Résultats et discussions .....	47
III. 3. 1. 2.1. Les souches testées.....	53
III. 3. 1. 2. 2. Préparation des puits .....	53
III. 3. 1. 2. 3. Préparation de l'inoculum .....	54
III.4.2.4. L'ensemencement.....	54
III.4.2.5. L'application des puits .....	55

III. 3. 1. 2. 6. Lecture des résultats .....	55
III. 4. Discussion des résultats.....	56
Conclusion générale .....	66



## Liste des figures

### Chapitre I

<b>Figure. I. 1.</b> Plante feve tonka (dipteryxodoratawilld, fabaceae). .....	4
<b>figure. I. 2.</b> Structure moleculaire de la coumarine. ....	4
<b>figure. I.3.</b> Structure chimique de la coumarine. ....	5
<b>figure. I.4.</b> Structure chimique de l'isocoumarine. ....	5
<b>figure. I.5.</b> structure chimique de furanocoumarine .....	5
<b>figure. I. 5a.</b> Structure chimique de type psoralene.....	5
<b>figure.5b.</b> Structure chimique de type angelique. ....	6
<b>figure. I.6.</b> Structure chimique de pyrancoumarine .....	6
<b>figure. I.6a.</b> Structure chimique de type de xanthyletine .....	6
<b>figure. I. 6b.</b> Structure chimique de typeseleline.....	6
<b>figure. I. 7.</b> Structure de la coumarine naturelle geiparvarin. ....	18
<b>figure.I.8.</b> Structures des antibiotiques naturels a base de coumarine. ....	18
<b>figure.I.9.</b> Structure des composes principaux warfarine et dicoumarol. ....	18

### Chapitre II

<b>figure.II.1.</b> Mecanisme de reduction du radical libre dpph par un antioxydant .....	29
<b>figure. II.2.</b> Appareil de spectrophotometrie uv-visible .....	29
<b>figure. II3 :</b> quelques coumarines simples a activite antioxydante .....	30
<b>figure.II.4.</b> vue sous le microscope electronique de bacterie escherichia coli .....	31

**figure.II.5.** Vue sous le microscope electronique de bacterie klebsiella pneumoniae..... 31

**figure.II.6.** Vue sous le microscope electronique de bacterie staphylococcus aureus ..... 32

**figure.II.7.** Vue sous le microscope electronique de bacterie bacillus cereus..... 32

### **ChapitreIII**

**figure.III.1.** Taux d'inhibition de dpph en fonction de differentes concentrations de solution, ethanolique de la coumarine..... 50

**figure.III.2.** Taux d'inhibition de dpph en fonction de differentes concentrations de solution ethanolique de coumarine et ces derives (m, o, et paminophenole). ..... 51

**figure. III.3.** Taux d'inhibition de dpph en fonction de differentes concentrations de solution ethanolique de la coumarine et ( bdc, bbc ,bdh)..... 51

**figure. III.4.** Taux d'inhibition de dpph en fonction de differentes concentrations de solution ethanolique de la coumarine et ses derives (sulf , doe,mph). ..... 51

**figure. III.5.** Taux d'inhibition de dpph en fonction de differentes concentrations de solution ethanolique de la coumarine et (ani,tol ,na ). ..... 52

**figure. III. 6.** Variation d'IC50 en fonction des derives coumarinique..... 53

**figure III.7.**representation des puits ..... 54

**figure. III.8.** Preparation de l'inoculum ..... 54

**figure. III.9.** Resultat de l'activite antibacterienn ..... 56

**figure 1 :** spectre d'absorption IR de 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2h-chromen-2 one..... 62

**figure 2 :** spectre d'absorption IR de 7-hydroxy-4,5-dimethyl-8-(phenyldiazenyl)-2h-chromen-2-one..... 63

**figure 3 :** spectre d'absorption IR de 7-(benzyloxy)-4,5-dimethyl-2h-chromen-2-one..... 64

## Liste des schémas

### CHAPITRE I

<b>Schema. I.1.</b> Synthèse des pyrazolylcoumarines à partir du salicylaldehydes.....	7
<b>schema. I. 2.</b> Synthèse de bromoacetyl-coumarines.....	7
<b>schema. I.3.</b> Synthèse des coumarines à partir des salicylaldehydes et malonitrile.....	7
<b>schema. I.4.</b> Synthèse de 3-phenylcoumarines hydroxylées salicylaldehydes et d'acide phenylacétique.....	8
<b>schema. I.5.</b> Synthèse de 3-phenylcoumarines sous irradiation ultrasonique. ....	8
<b>schema. I.6.</b> Synthèse de coumarines 3-substituées à l'aide de FeCl <sub>3</sub> .....	9
<b>schema. I.7.</b> Conditions douces conduisant aux 3-arylcoumarines.....	9
<b>schema. I.9.</b> Synthèse en une seule étape de 3-cyanocoumarines catalysée par l'iode. ....	10
<b>schema. I.10.</b> Indazolylcoumarines via la réaction tandem de <i>knoevenagel et de pinner</i> . ....	10
<b>schema. I.12.</b> Synthèse de furanocoumarins en trois étapes. ....	11
<b>schema. I.13.</b> Condensation de <i>pechmann</i> .....	12
<b>schema. I.14.</b> Synthèse des coumarines non substituées par l'hétéropolyacide de Wells-Dawson comme catalyseur.....	12
<b>schema. I.15.</b> Réaction de couplage croisé pour obtenir des coumarines substituées en position 3. ....	13
<b>schema. I.16.</b> Synthèse des acides coumarines-3-carboxyliques par condensation de <i>knoevenagel</i> dans des conditions vertes.....	13
<b>schema. I.17.</b> Synthèse de 3-acylcoumarines à partir d' $\alpha$ -cétoacides.....	13
<b>schema. I. 18.</b> Différentes voies de synthèses des coumarines. ....	14
<b>schema. I. 19.</b> Condensation de <i>pechmann</i> à partir du phénol. ....	15

<b>schema. I. 20.</b> schema de synthese des coumarines par la reaction de perkin .....	<b>15</b>
<b>schema. I. 21.</b> Synthese des coumarines par la reaction de wittig .....	<b>15</b>
<b>schema. I. 22.</b> Schema de synthese des coumarines par la reaction de <i>knoevenagel</i> .....	<b>16</b>
<b>schema. I. 23.</b> Synthese des coumarines utilisant la reaction de reformatsky .....	<b>16</b>
<b>schema. I. 24.</b> synthese des coumarines par reaction de <i>kostanecki-robinson</i> .....	<b>16</b>
<b>schema. I. 25.</b> Conversation des ortho-hydroxycetones en derives coumariniques. ....	<b>17</b>

### **Chapitre III**

<b>schema. III. 1.</b> Synthese du 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2h-chromen-2 one par reaction de pechmann. ....	<b>40</b>
<b>schema. III. 3.</b> la reaction d'alkylation de 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2h-chromen-2 one .....	<b>40</b>
<b>schema.III.4.</b> Mecanisme de n-alkylation de 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2h-chromen-2 one. ...	<b>41</b>
<b>schema. III.6.</b> Synthese des sels diazomium par diazotation des amines aromatiques.....	<b>41</b>
<b>schema. III. 7.</b> Mecanisme de formation des sels de diazonium par diazotation des amines aromatiques. ....	<b>42</b>
<b>schema. III. 8.</b> Copulation des sels de diazonium avec le 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2h-chromen-2 one(coumarine ) .....	<b>42</b>
<b>schema. III. 9.</b> Mecanisme de copulation des sels de diazonium de la coumarine .....	<b>43</b>

## Liste des tableaux

### Chapitre III

<b>tableau. III. 1.</b> coumarines et leurs derives synthetises .....	<b>44</b>
<b>tableau. III. 2.</b> le taux d'inhibition calculee pour deferentes concentrations de la coumarine.	<b>47</b>
<b>tableau. III.4.</b> Taux d'inhibition calcule pour differentes concentrations de o.....	<b>48</b>
<b>tableau. III.5.</b> Taux d'inhibition calcule pour differentes concentrations de p.....	<b>48</b>
<b>tableau. III.6.</b> Taux d'inhibition calcule pour differentes concentrations de bdc. ....	<b>48</b>
<b>tableau. III.7.</b> Taux d'inhibition calcule pour differentes concentrations de bdh.....	<b>48</b>
<b>tableau. III.8.</b> Taux d'inhibition calcule pour differentes concentrations de sulf.....	<b>49</b>
<b>tableau. III.9.</b> Taux d'inhibition calcule pour differentes concentrations de mph .....	<b>49</b>
<b>tableau. III.10 .</b> Taux d'inhibition calcule pour differentes concentrations de doe .....	<b>49</b>
<b>tableau. III.11.</b> Taux d'inhibition calcule pour differentes concentrations de ani.....	<b>49</b>
<b>tableau. III.12.</b> Taux d'inhibition calcule pour differentes concentrations de tol. ....	<b>49</b>
<b>tableau. III13.</b> Taux d'inhibition calcule pour differentes concentrations de na. ....	<b>50</b>
<b>tableau. III. 13.</b> Valeurs d'IC 50 de coumarines synthetisees .....	<b>52</b>
<b>tableau III .14.</b> les souches testees pendant l'evaluation des activites antimicrobiennes.....	<b>53</b>
<b>tableau. III. 15.</b> Diametre de la zone d'inhibition *(mm).....	<b>55</b>

## Liste des abréviations

<b>DMF</b>	<i>Diméthylformamide .</i>
<b>THF</b>	<i>Le chloroforme tétrahydrofurane.</i>
<b>IC 50</b>	<i>Concentration inhibitrice à 50%.</i>
<b>SOD</b>	<i>Superoxyde dismutase.</i>
<b>FRAP</b>	<i>Pouvoir antioxydant réducteur ferrique.</i>
<b>EFR</b>	<i>Les espèces réactives d'oxygène.</i>
<b>DPPH</b>	<i>2,2-diphényl 1-1-picrylhydrazyl.</i>
<b>CO</b>	<i>7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one.</i>
<b>BDC</b>	<i>7-(benzyloxy)-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one.</i>
<b>BDH</b>	<i>7-butoxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one.</i>
<b>DOE</b>	<i>4,5-dimethyl-7-(oxiran-2-ylmethoxy)-2H-chromen-2-one.</i>
<b>ANI</b>	<i>7-hydroxy-4,5-dimethyl-8-(phenyldiazenyl)-2H-chromen-2-one.</i>
<b>MPH</b>	<i>8,8'-((1E,1'E)-1,3-phenylenebis(diazene-2,1-diyl))bis(7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one).</i>
<b>NA</b>	<i>(E)-7-hydroxy-4,5-dimethyl-8-((4-nitrophenyl)diazenyl)-2H-chromen-2-one.</i>
<b>OA</b>	<i>7-hydroxy-8-((2-hydroxyphenyl)diazenyl)-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one.</i>
<b>PA</b>	<i>7-hydroxy-8-((4-hydroxyphenyl)diazenyl)-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one.</i>
<b>MA</b>	<i>6-amino-7-hydroxy-8-((3-hydroxyphenyl)diazenyl)-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one.</i>
<b>SULF</b>	<i>7-hydroxy-4-methyl-8-(methyleneamino)chroman-2-one 4-(11-azanyl)benzenesulfonate.</i>
<b>TOL</b>	<i>7-hydroxy-8-((4'-((7-hydroxy-4-methyl-2-oxo-2H-chromen-5-yl)diazenyl)-3,3'-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-4-yl)diazenyl)-4-methyl-2H-chromen-2-one.</i>

# **Introduction Générale**

## Introduction générale

Les hétérocycles oxygénés, soufrés et azotés occupent une place importante dans la chimie organique et constituent un champ intéressant pour la recherche de nouveaux médicaments. Un très grand nombre de substances naturelles et de médicaments sont des hétérocycles. Approximativement deux tiers des publications en chimie concernent de près ou de loin les hétérocycles. Ces molécules réunissent en effet dans une même structure les caractères remarquables des composés hétérocycliques saturés, partiellement saturés ou aromatiques, ainsi que les groupements fonctionnels construits autour des hétéroatomes. Les coumarines constituent une grande classe d'hétérocycles, très répandue dans le règne végétal ou elles sont à l'origine de divers métabolites secondaires au sein de certaines plantes : *Arabidopsis thaliana*, *Salvia officinalis*, *Marila Pluricostata*... La plupart d'entre elles sont douées d'activités biologiques dues essentiellement à la présence de l'hétérocycle pyran-2-one au sein de leurs structures. Parmi ces activités on peut citer : l'activité anticoagulante, anticancéreuse, antibiotique, antibactérienne, anti-inflammatoire, analgésique, anti-HIV et photochimique, ainsi que diverses applications en agroalimentaire, et en cosmétique.

Vu l'importance de ces dérivés, des recherches ont été effectuées afin d'élaborer des méthodes de synthèse permettant de les obtenir dans les meilleures conditions. Ces méthodes sont principalement basées sur les réactions de condensation, notamment la réaction de Pechmann. Dans ce contexte, nous portons, dans notre travail, un intérêt particulier à la préparation des dérivés coumariniques à partir de la 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2-one synthétisé par réaction de Pechmann. Ce dernier peut engendrer d'autres dérivés coumariniques par la suite par des réactions de O-alkylation et copulation avec des sels de diazonium de quelques amines aromatiques afin d'aboutir à de nouvelles molécules contenant le motif 7-hydroxycoumarine. Les molécules coumariniques ainsi obtenues sont soumises à une étude et évaluation biologiques en tant que agents antioxydants et antibactériens.

Le travail que nous présentons dans ce mémoire est réparti en trois chapitres :

**Chapitre I :** Est consacré à une synthèse bibliographique sur les dérivés de la coumarine. Un bref aperçu est donné sur les différentes classes, les différentes méthodes de synthèse des dérivés de la coumarine avec des exemples typiques montrant les voies classiques et modernes permettant l'obtention des dérivés coumariniques. Nous présentons par la suite l'importance et les propriétés biologiques des coumarines.



**Chapitre II :** Présente un aperçu général sur l'activité biologique, notamment l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne avec des exemples montrant les propriétés biologiques et pharmacologiques de quelques molécules coumariniques récemment synthétisées.

**Chapitre III :** Dans ce chapitre nous avons présenté l'étude et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des coumarines synthétisées ; à savoir ; les coumarines O-alkylées et les azocoumarines. Le chapitre présente également les différentes méthodes et procédés utilisés pour accéder aux dérivés coumariniques avec des tableaux montrant les rendements de la synthèse ainsi les propriétés physicochimiques des coumarines obtenues.

# **Chapitre I**

## **Synthèse bibliographique sur les coumarines.**

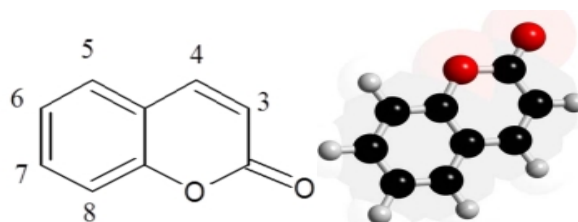
### I. 1. Introduction :

Le nom coumarine vient de « cumaru », qui représente en langue amazonienne l'arbre De « Tonka » (**Figure.I.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 [1].



**Figure. I. 1. Plante Fève tonka (Dipteryx odorata Willd., Fabaceae).**

La coumarine est un composé chimique organique aromatique de formule  $C_9H_6O_2$  (**Figure.I. 2**). Sa molécule peut être décrite comme une molécule de benzène avec deux atomes d'hydrogène adjacents remplacés par une chaîne de type lactone  $-(CH)=CH-(C=O)-O-$ , formant un deuxième hétérocycle à six chaînons qui partage deux carbones avec le cycle benzénique. Il peut être placé dans la classe chimique des benzopyrones et considéré comme une lactone [2].



**Figure. I. 2. Structure moléculaire de la coumarine.**

### I.2. Historique

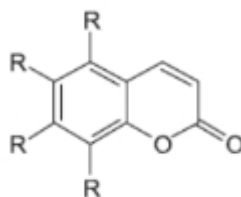
La coumarine a été isolée pour la première fois à partir de fèves tonka en 1820 par *A. Vogel de Munich*, qui l'a d'abord confondue avec de l'acide benzoïque [3, 4]. Toujours en 1820, *Nicolas Jean Baptiste Gaston Guibourt* (1790-1867) de France isola indépendamment la coumarine, mais il réalisa qu'il ne s'agissait pas d'acide benzoïque [5]. Dans un essai ultérieur qu'il a présenté à la section de pharmacie de l'Académie royale de médecine, *Guibourt* a nommé la nouvelle substance coumarine. En 1835, le pharmacien français *A. Guillemette* prouve que *Vogel et Guibourt* ont isolé la même substance [6]. La coumarine a été synthétisée pour la première fois en 1868 par le chimiste anglais *William Henry Perkin* [7]. La coumarine fait

partie intégrante du genre fougère de parfum depuis qu'elle a été utilisée pour la première fois dans la Fougère Royale de Houbigant en 1882.

### I. 3. Diversité structurale des coumarines

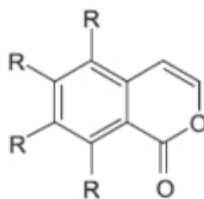
La diversité structurale des coumarines naturelles est à la base de leur classement en quatre groupes :

✓ **Coumarine simple** : composés formés de deux cycles : le benzène et le  $\alpha$ -pyron. Les substituants sont les groupes hydroxyle, méthoxy et aliphatique, aux positions C7, C6 et C3 de la benzopyrone (**Figure.I.3**)



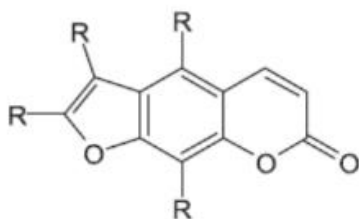
**Figure. I.3. Structure chimique de la coumarine.**

✓ **Isocoumariniques**: Formés par des cycles benzéniques et  $\alpha$ -isopirone. ils ont des substituants dans les positions C3, C6, C7 et C8 (**FigureI.4**) [8].

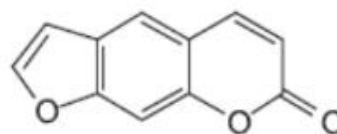


**Figure. I.4. Structure chimique de l'isocoumarine.**

✓ **Furanocoumarine**: Formée par le couplage du cycle coumarine avec le cycle furane en position C6-C7 (type psoralène, I5A) ou en position C7-C8 type angélique, (**Figure. I.5B**).



**Figure. I.5. Structure chimique de furanocoumarine**



**Figure. I. 5A. Structure chimique de Type psoralène.**

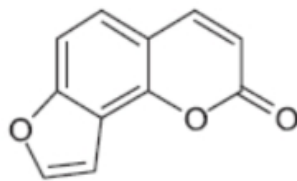


Figure.5B. Structure chimique de type angélique.

✓ **Pyrancoumarine:** Coumarine est condensé avec le cycle pyrane. La condensation annulaire en position C6-C7 est définie par le type xanthyle-étain (**Fig. 6A**), ou en position C7-C8 par le type séléline(**Figure.I. 6B**).

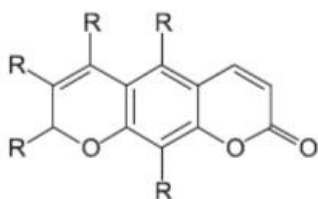


Figure. I.6. Structure chimique de pyrancoumarine

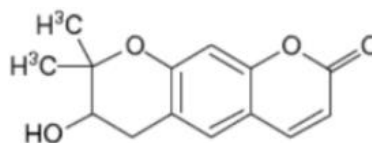


Figure. I.6A. Structure chimique de Type de xanthyléine

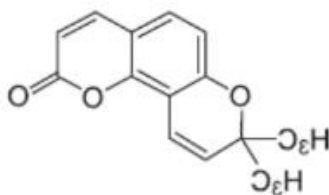


Figure. I. 6B. Structure chimique de typeséléline.

## I. 4. Synthèses des coumarines

### I.4.1. Synthèse de dérivés de la coumarine à partir du salicylaldehydes

Les pyrazolylcoumarines ont été synthétisées par l'utilisation de différents solvants tel que (EtOH, EtOH: H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O, glycérine, MeCN), en absence et en présence de catalyseurs comme (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CaCO<sub>3</sub>, pipéridine, 1,3-diméthylurée) à une température de 80°C. Le rendement le plus élevé a été obtenu avec EtOH: H<sub>2</sub>O avec de la méglumine (comme catalyseur à des conditions de reflux, (**Schéma. I. 1**)[9].



Schéma. I.1. Synthèse des pyrazolylcoumarines à partir du salicylaldéhydes

Les bromoacétylcoumarines ont été synthétisées en deux étapes sous irradiation micro-ondes, (Schéma.I.2), impliquant l'acétoacétate d'éthyle et de pipéridine dans l'EtOH dans la première étape, suivie d'une bromation électrophile dans chloroforme CHCl<sub>3</sub> comme solvant [10].

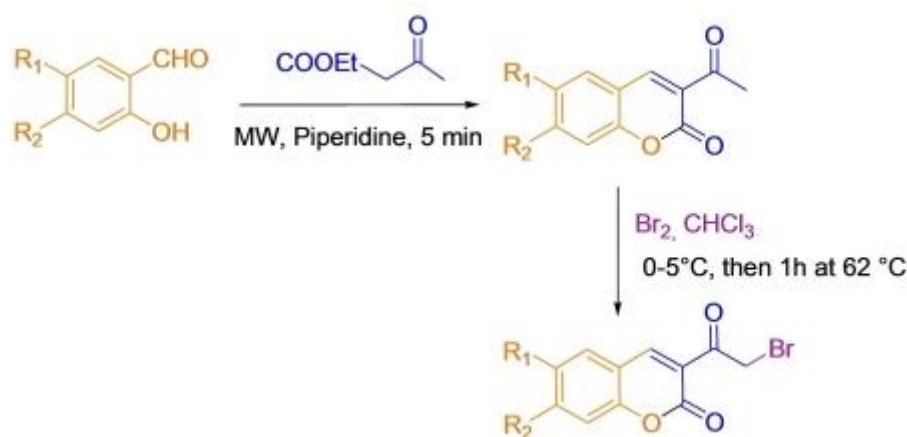


Schéma. I. 2. Synthèse de bromoacétylcoumarines.

Hamdi et al[11] ont rapporté une réaction en deux étapes à partir de salicylaldéhydes et de malononitrile pour obtenir des dérivés de coumarine. Les iminocoumarines obtenues dans un premier temps ont subi une hydrolyse acide sous irradiation micro-ondes. Bien que la synthèse des coumarines a pu être obtenue en une seule fois par la réaction de Perkin à partir du salicylaldéhyde et d'acide cyanoacétique médiée par l'anhydride propylphosphonique (T<sub>3</sub>P) (Schéma. I. 3)[12].

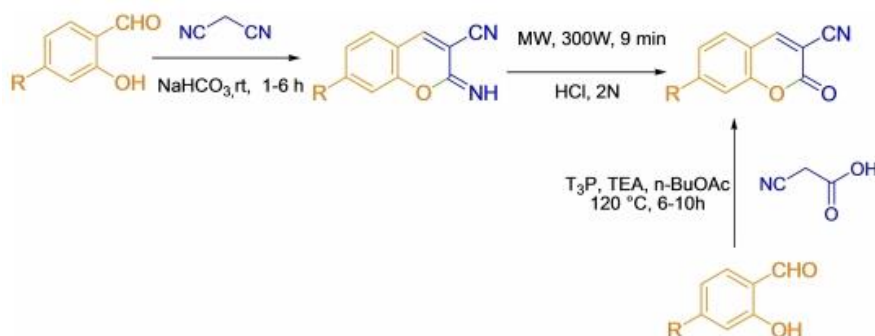
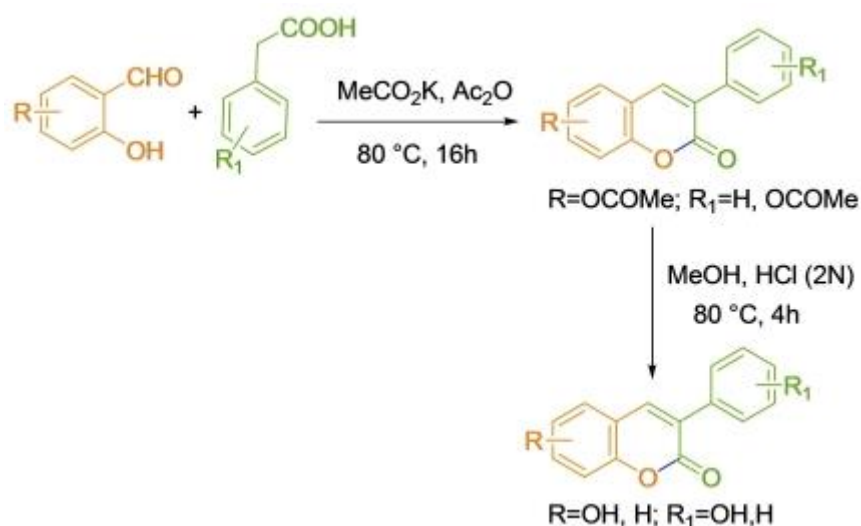


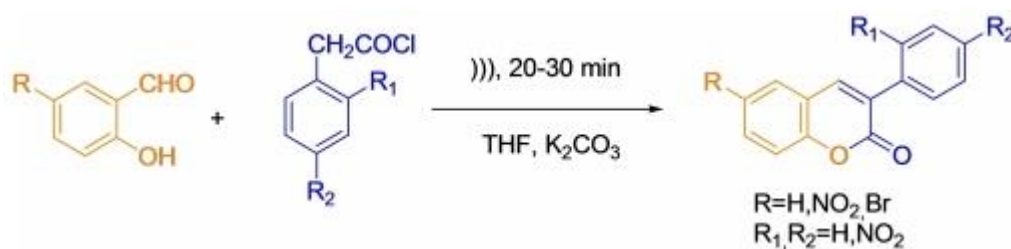
Schéma. I.3. Synthèse des coumarines à partir de salicylaldéhydes et malononitrile

Une synthèse efficace en deux étapes des 3-phénylcoumarines hydroxylées a été mise au point par *Matos et Coll* en présence d'acétate de potassium anhydre et d'anhydride acétique, acétoxy-3-phénylcoumarines ont été synthétisées à partir de salicylaldehydes et d'acide phénylacétique, puis hydrolysées sous reflux d'acide chlorhydrique aqueux et de MeOH (Schéma. I. 4).



**Schéma. I.4. Synthèse de 3-phénylcoumarines hydroxylées salicylaldehydes et d'acide phénylacétique**

Sous irradiation ultrasonique, *Sripathi et Logewari*[13] ont rapporté la synthèse de 3-phénylcoumarines à partir de salicylaldehydes et de chlorure de phénylacétyle en utilisant du K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans du THF (Schéma. I.5).



**Schéma. I.5. Synthèse de 3-phénylcoumarines sous irradiation ultrasonique.**

Cependant, les coumarines substituées en position 3 peuvent être synthétisées en utilisant le chlorure de fer(III) comme catalyseur et l'EtOH comme solvant dans les réactions de salicylaldehydes avec des dérivés méthyléniques activés à reflux (Schéma. I.6) [14].

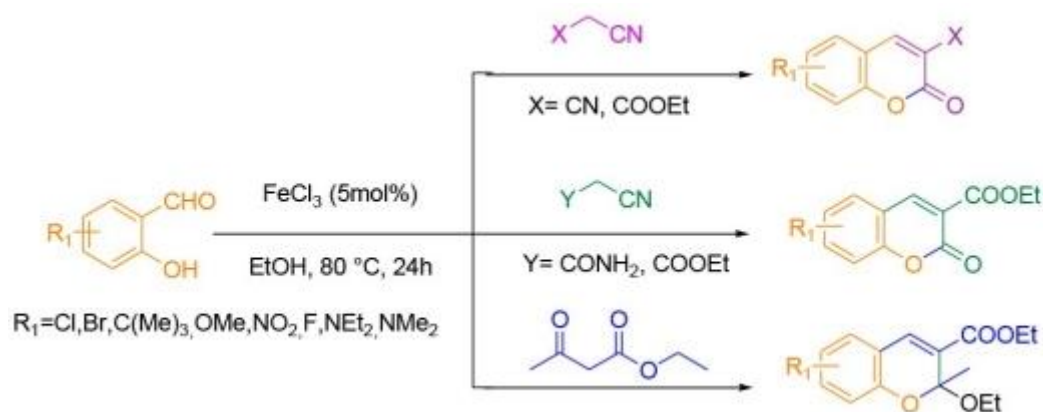


Schéma. I.6. Synthèse de coumarines 3-substituées à l'aide de FeCl<sub>3</sub>.

Jiang *et al* [15] ont décrit une réaction de condensation simple et douce, catalysée par un carbène N-hétérocyclique (NHC) et du 2-chloroéthylène et du 2-chloro-2-arylacétaldéhyde avec le salicylaldéhyde conduisant à des 3-arylcoumarines (Schéma. I.7).

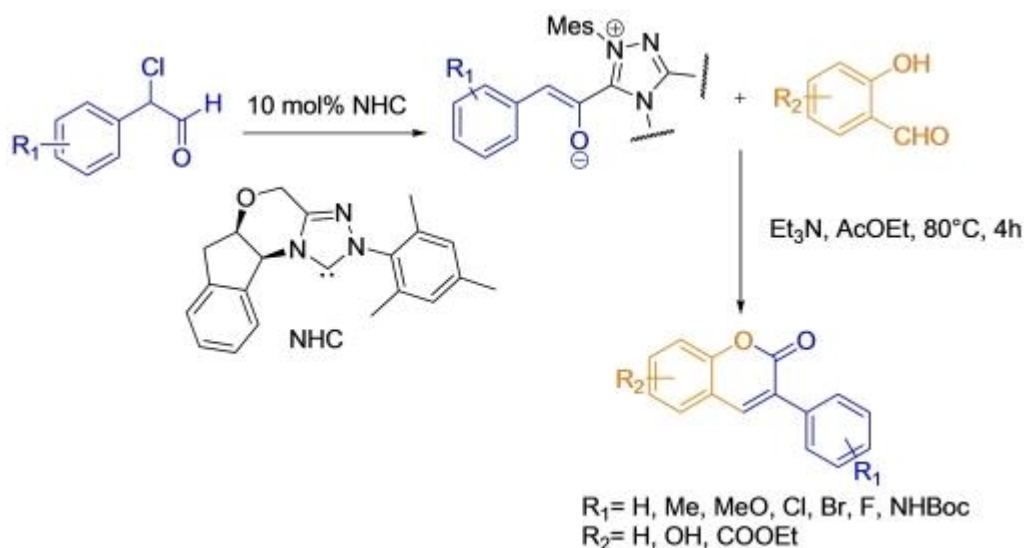


Schéma. I.7. Conditions douces conduisant aux 3-arylcoumarines.

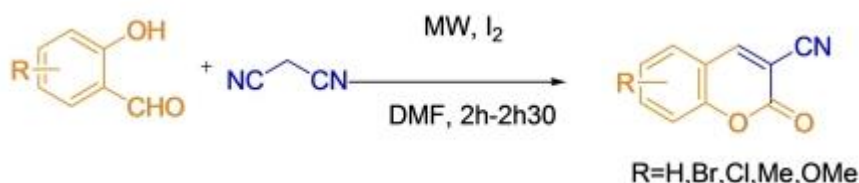
La réaction des salicylaldéhydes et du 2-cyanoacétate d'éthyle en présence de phtalimide de potassium a conduit à des coumarines substituées en position 3. Différents facteurs ont été étudiés pour optimiser les conditions de réaction (Schéma. I. 8)[16].





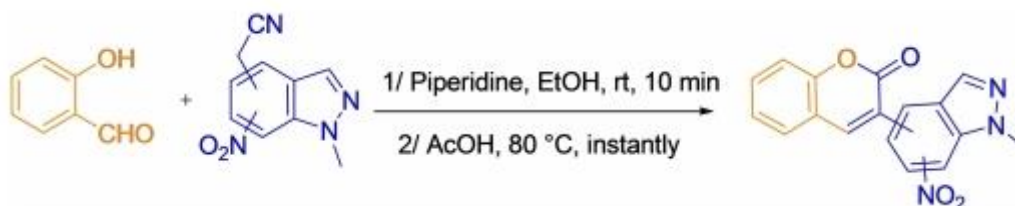
**Schéma. I.8.** Réaction de condensation de coumarines substituées en position 3 catalysée par le phtalimide de potassium PPt.

Sous irradiation micro-ondes, *Sharma et al* [17] ont mis au point la réaction des 2-hydroxybenzaldéhydes avec le malononitrile en présence d'iode comme catalyseur et de DMF comme solvant pour obtenir le produit final des 3-cyanocoumarines (**Schéma. I.9**).



**Schéma. I.9.** Synthèse en une seule étape de 3-cyanocoumarines catalysée par d'iode.

Récemment, *Bouissane et al* [18] ont décrit un accès synthétique efficace aux indazolychromène-imines via la réaction de *Knoevenagel et Pinner* du salicylaldéhyde et des nitroindazolyacétonitriles (**Schéma. I. 10**), suivie d'une hydrolyse acide pour donner les indazolycoumarines correspondantes avec d'excellents rendements.



**Schéma. I.10.** Indazolycoumarines via la réaction tandem de *Knoevenagel et de Pinner*.

La condensation de l'acides arylacétiques et de 2-hydroxybenzaldéhydes en présence de la triphénylphosphine, la diode et la triéthylamine ( $\text{Ph}_3\text{P}/\text{I}_2/\text{Et}_3\text{N}$ ) a conduit à des 3-arylcoumarines, (**Schéma. I. 11**)[19].

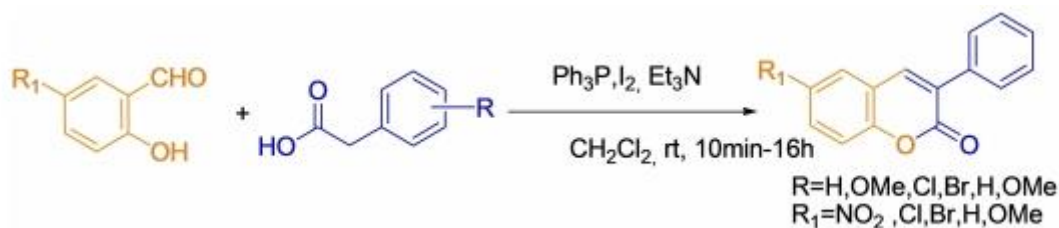


Schéma. I.11. Synthèse catalysée par Ph<sub>3</sub>P/I<sub>2</sub> de coumarines substituées par un 3-aryle.

#### I.4.2. Synthèse de dérivés de la coumarine à partir de phénols

La synthèse des furanocoumarines en trois étapes a été décrite par *Elgogary et al.* Après la condensation de *Pechmann* du résorcinol pour obtenir des hydroxycoumarines, la deuxième étape des réactions a été dans de l'acétone à reflux en présence de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, suivie de la cyclisation des cétoéthers soit avec de l'acide polyphosphorique (PPA) à 70°C, soit par chauffage dans une solution alcaline (3% de KOH) (Schéma. I. 1. 12).

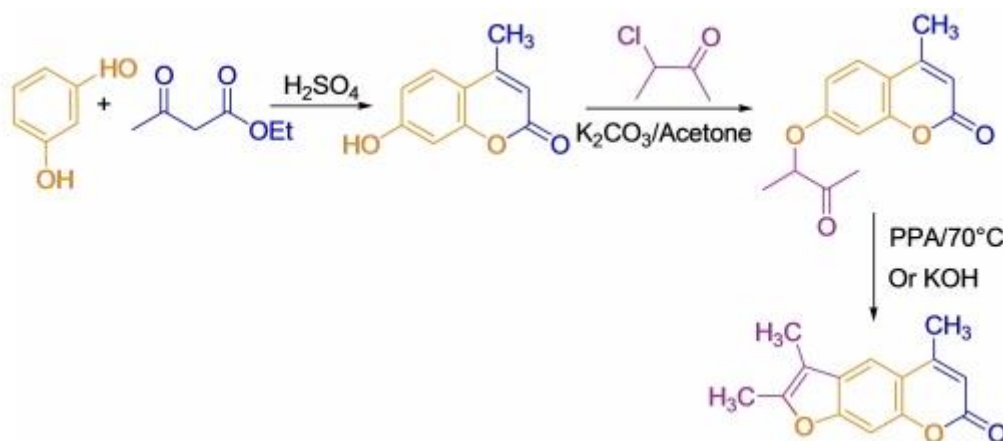


Schéma. I.12. Synthèse de furanocoumarins en trois étapes.

La méthode *Pechmann* a été principalement utilisée pour la synthèse de dérivés de la coumarine à partir des phénols substitués et d'acides gras oméga-3 et de β-cétoesters dans différentes conditions[20], conférant de bons rendements (Schéma. I.13).

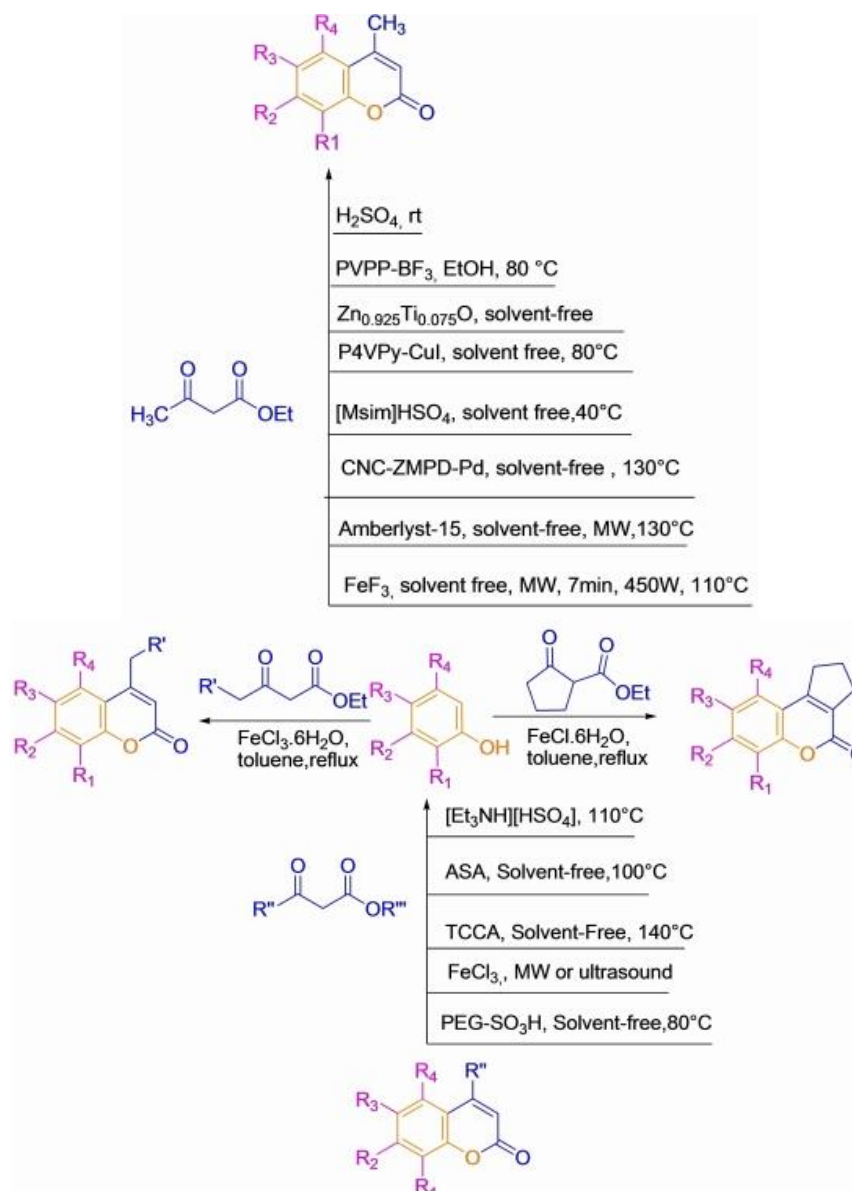


Schéma. I.13. Condensation de *Pechmann*

Coumarines non substituées au noyau pyrane, dans des conditions sans solvantsans solvant, en utilisant un hétéropolyacide de Wells-DawsonH<sub>6</sub>P<sub>2</sub>W<sub>18</sub>O<sub>62</sub> comme catalyseur, ont été préparées par *Sun et al*[21](Schéma. I.14).

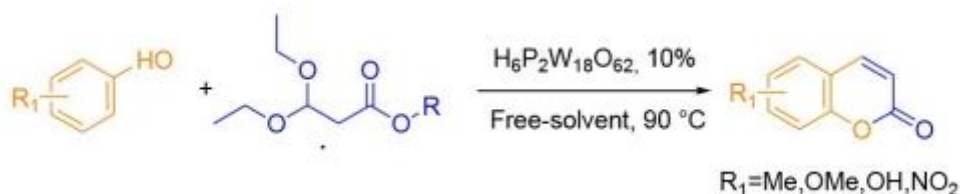


Schéma. I.14. Synthèse des coumarines non substituées par Hétéropolyacide de Wells-Dawson comme catalyseur

La réaction du 4-méthoxyphénol et du phénylacétylène catalysée par le palladium a conduit à des coumarines substituées en position 3. Différents ligands, oxydants et additifs ont été testés pour obtenir les meilleurs résultats(SchémaI.15)[20].

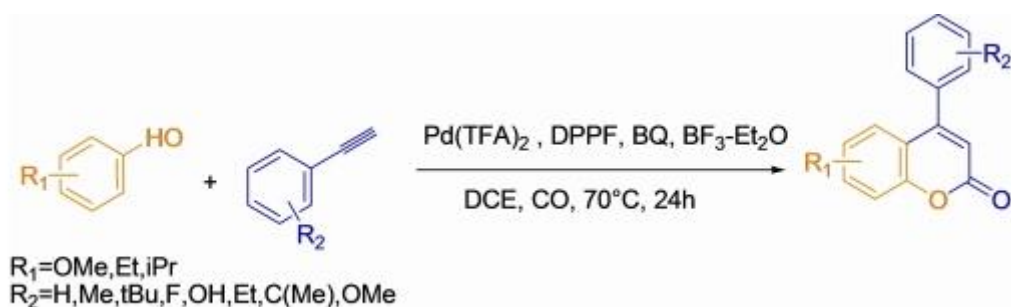


Schéma. I.15. Réaction de couplage croisé pour obtenir des coumarines substituées en position 3.

#### I.4.3. Synthèse de dérivés de la coumarine à partir de cétones

Dans des conditions écologiques, Fiorito *et al*[22] ont synthétisé des acides coumarines-3-carboxyliques par condensation de Knoevenagel de 2-hydroxyacétophénones substituées et de l'acide de Meldrum. 2-hydroxyacétophénones substituées et de l'acide de Meldrum dans deux conditions : irradiation par micro-ondes en présence de triflate d'ytterbium ( $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ ) et irradiation aux ultrasons avec des solvants verts (jus de fruits et de légumes comestibles, liqueurs et eaux usées) (Schéma. I.16).

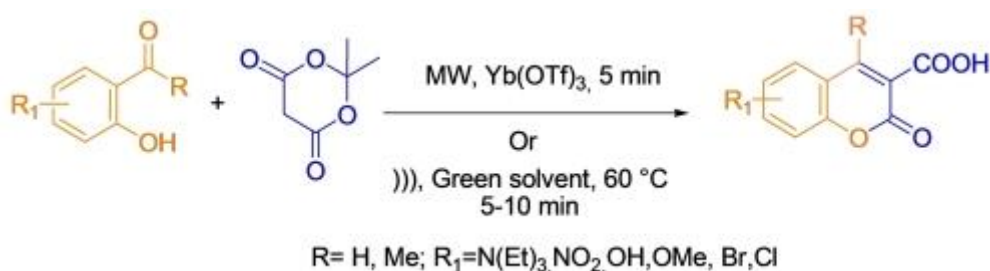


Schéma. I.16. Synthésisé des acides coumarines-3-carboxyliques par condensation de Knoevenagel dans des conditions vertes.

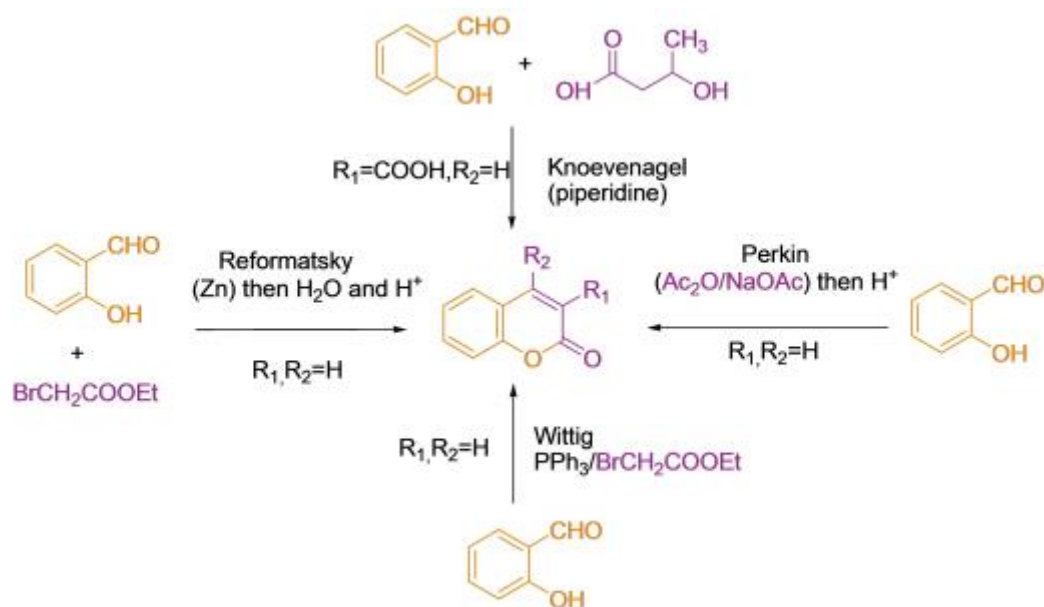
Yan *et al.* et Liu *et al*[23] ont décrit des réactions impliquant des  $\alpha$ -cétoacides et des alcynoates pour la synthèse de 3-acylcoumarines. La réaction du 3-phénylpropiolate et de l'acide 2-oxo-2-phénylacétique a été réalisée dans différentes conditions : solvants et catalyseurs. Les rendements les plus élevés ont été obtenus dans les conditions de réaction suivantes:  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  et  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$  (Schéma. I.17).



Schéma. I.17. Synthèse de 3-acylcoumarines à partir d' $\alpha$ -cétoacides.

### I.5. Autres méthodes de synthèse 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*, Réaction de *Kostanecki-Robinson*. La figure, ci-dessous, résume les principales voies de synthèse des coumarines (**Schéma. I. 18**).



**Schéma. I. 18.** Différentes voies de synthèses des coumarines.

#### I.5.1. 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 classique de *VonPechmann*., le processus consiste à la condensation d'un phénol avec un  $\beta$ -céto-ester en présence des divers réactifs et donne de bons rendements des coumarines substitués en position 4. Plusieurs catalyseurs acides ont été utilisés dans cette réaction incluant  $H_2SO_4$ ,  $HClO_4$ ,  $P_2O_5$  et  $CF_3COOH$ . 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. Récemment, un certain nombre de catalyseurs hétérogènes tels que Nafion-H, zéolite HBETA, Amberlyst15, argile montmorillonite, silice avec l'acide sulfurique, alumine, l'irradiation par ultra-sons ont été employés dans la condensation *Pechmann*. 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 des applications en catalyse [24].

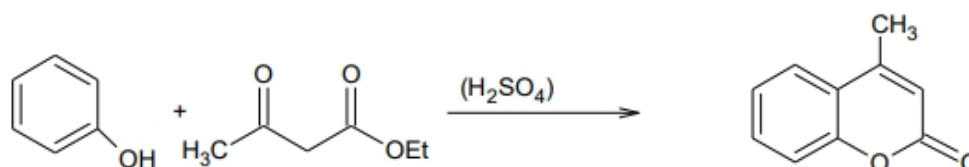


Schéma. I. 19. Condensation de Pechmann à partir du phénol.

### I.5.2. 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 [27-29].

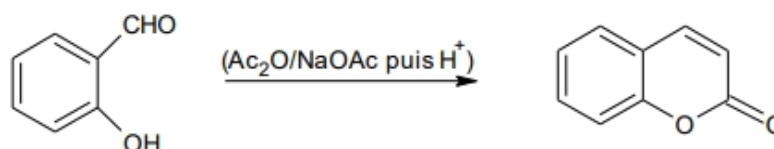


Schéma. I. 20. Schéma de synthèse des coumarines par la réaction de Perkin

### I.5.3. 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 un ylure de phosphore (appelé aussi phosphorane) qui agit par addition sur un composé carbonyle pour former des composés éthyléniques [26]. Cette réaction fut développée par Bare et ses collaborateurs, en faisant réagir l'aldéhyde salicylique avec l'éthoxycarbonyl méthylène triphénylphosphorane dans le but de synthétiser les coumarines (Schéma. I. 21).

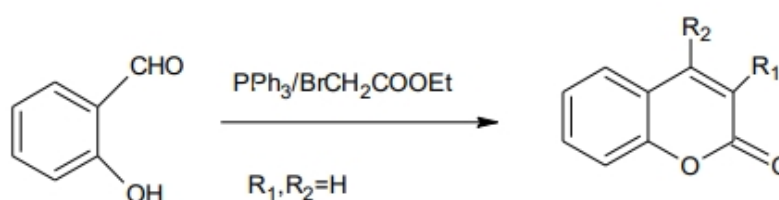


Schéma. I. 21. Synthèse des coumarines par la réaction de Wittig

### I.5.4. 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  $\alpha, \beta$  insaturés par déshydratation intramoléculaire [27]. Cette méthode a été appliquée pour la préparation des molécules coumariniques (Schéma. I. 22).



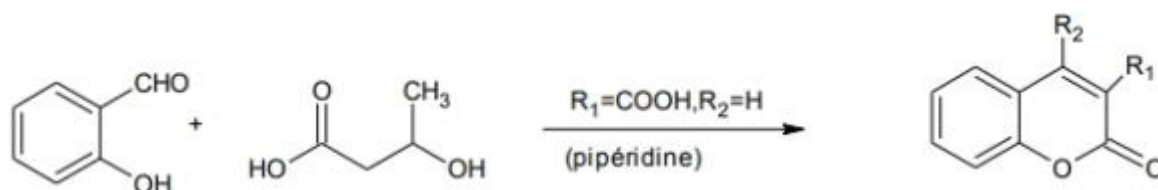


Schéma. I. 22. Schéma de synthèse des coumarines par la réaction de *Knoevenagel*

#### I.5.5. 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 alpha-halogénoïde, en présence de zinc. Cette méthode 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 une transestérification suivie d'une déshydratation par des acides dilués [28] (Schéma. I. 23).

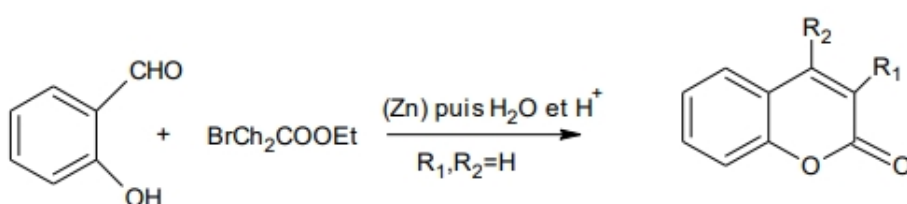


Schéma. I. 23. Synthèse des coumarines utilisant la réaction de *Reformatsky*

#### I.5.6. Réaction de *Kostanecki-Robinson*

La formation de coumarines, généralement 3- coumarines et 4-coumarines substituées, par cette réaction survenue par acylation des orthohydroxyarylcétones avec l'acide aliphatique anhydrides, suivi d'une cyclisation (Schéma. I. 23).

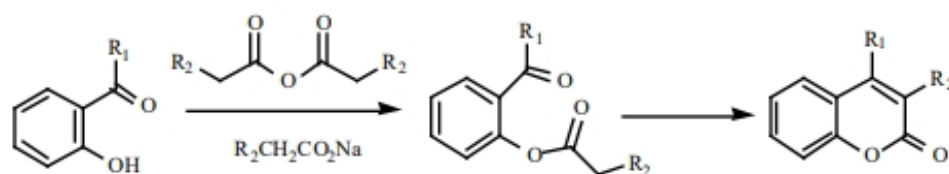


Schéma. I. 24. Synthèse des coumarines par réaction de *Kostanecki-Robinson*

Par ce procédé, les ortho-hydroxycétones ont été converties en phénylcoumarines, en 3-cyano-4-méthylcoumarines et en d'autres types de dérivés de la coumarine (Schéma. I. 25) [29]. Ces coumarines sont des matières premières appropriées pour l'obtention d'un autre type de composés tels que le styril et dérivés acétyliques, hydrazones, etc. [30].

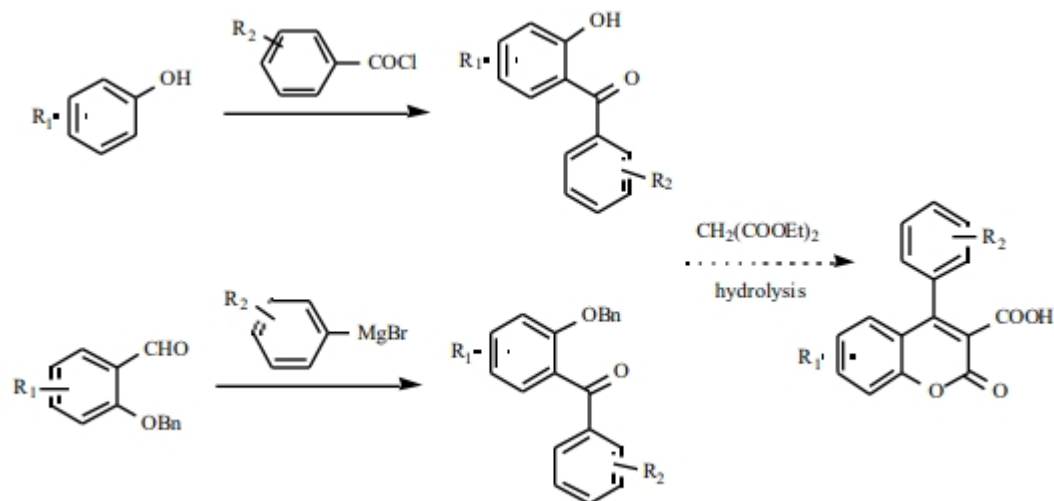


Schéma. I. 25. Conversion des ortho-hydroxycétones en dérivés coumariniques.

### I.6. Propriétés pharmacologiques des coumarines

Les coumarines ont de nombreuses propriétés biochimiques et pharmacologiques. 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 possèdent un large spectre d'activités biologiques, y compris antibactérien [31], antifongique [32], anticoagulant [33], anti inflammatoire, anti tumorale [34], anti-VIH [35], et antioxydant.

### I.7. Applications des coumarines

Les coumarines sont l'une des classes les plus importantes de molécules fluorescentes et elles possèdent des applications dans le domaine industriel, biologique et cosmétique comme des produits chimiques de parfumerie, additifs alimentaires et laser dispersés fluorescentes et colorantes. Par exemple, la 7-hydroxy-4-méthyl coumarine (méthylumbelliférone) est utilisée comme agent de blanchiment optique, colorant laser efficace, norme pour la détermination fluorométrique de l'activité enzymatique et en tant que matériau de départ pour la préparation des insecticides et furanocoumarines. De la même façon, le 7 amino-4-méthylcoumarine est principalement utilisé comme colorant laser et intermédiaire pour la synthèse de composés bioactifs. Aujourd'hui, la coumarine entre dans environ 90% des compositions et a une concentration supérieure à 1% dans 60% des compositions. Ce succès est dû à la capacité de la coumarine à s'associer avec d'autres produits [36].

#### I.7.1. Activité anticancéreuse des coumarines

Parmi les coumarines étudiées pour leur activité anticancéreuse, le géiparvarin (**Figure. I.7**) s'est avérée le plus efficace. La géiparvarine est une structure naturelle à base de coumarine, isolée des feuilles de Geijeraparviflora. coumarine naturelle, isolée des feuilles de Geijeraparviflora Lindl, connue pour son importante activité cytostatique in vitro [37].



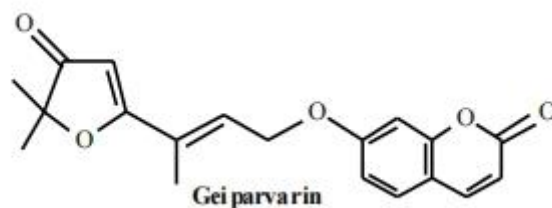


Figure. I. 7. Structure de la coumarine naturelle geiparvarin.

### I.7.2. Activité antimicrobiennes des coumarines

La novobiocine et la clorobiocine (Figure. I. 8) sont des antibiotiques coumariniques d'origine naturelle, qui sont des inhibiteurs de l'ADN girase et ont un large spectre d'action sur les bactéries Gram positif, y compris les souches de staphylocoques résistantes à la méthiciline. espèces de staphylocoques[38]

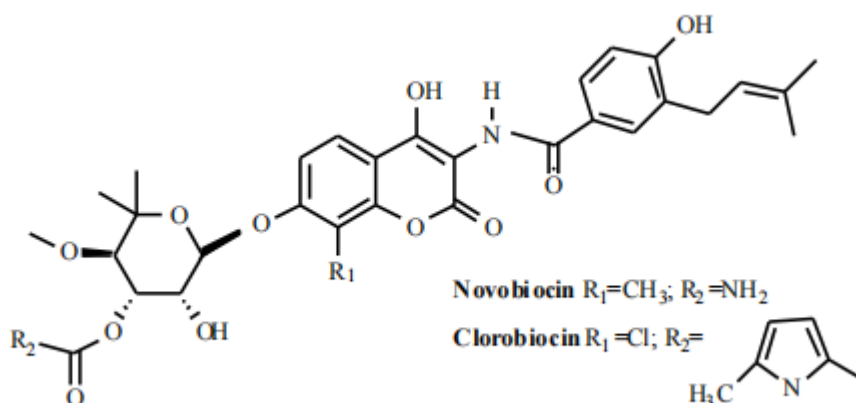


Figure. I. 8. Structures des antibiotiques naturels à base de coumarine.

### I.7.3. Activité anticoagulante et cardiovasculaire des coumarines

La warfarine (Figure. I. 9) est considérée, encore aujourd'hui, comme l'anticoagulant coumarinique dominant en raison de son excellente puissance et à son bon profil pharmacocinétique. Alors que sa forme commerciale est le sel de sodium racémique, de forme commerciale est le sel l'activité anticoagulante du (S)-(-) l'activité anticoagulante de l'énantiomère (S)-(-) est six fois plus supérieure à celle de l'énantiomère (+)[39]. Néanmoins, il a été prouvé que les dérivés de la 4-hydroxycoumarine possèdent un effet anticoagulant supérieur à celui de la warfarine[40].

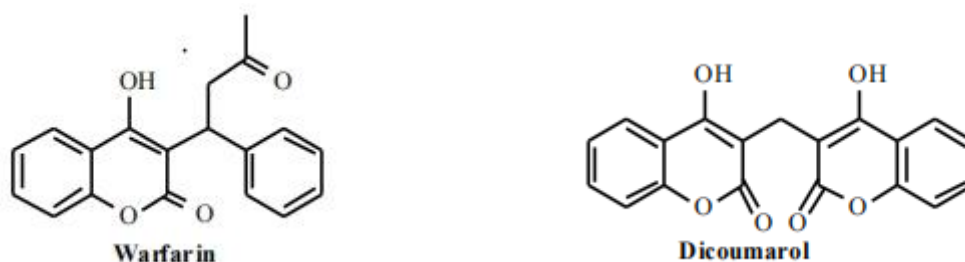


Figure. I. 9. Structure des composés principaux warfarine et dicoumarol.

### **I.7.4. Activité d'inhibition enzymatique**

Certaines coumarines naturelles et synthétiques se sont révélées être des inhibiteurs de la cholinestérase, ce qui est considéré comme une approche prometteuse pour le traitement de la maladie d'Alzheimer et pour d'éventuelles applications thérapeutiques dans le traitement de la maladie de Parkinson [41].

### Références bibliographiques

- [1] L. Santana, E. Uriarte, H. González-Díaz, G. Zagotto, R. Soto-Otero, and E. Méndez-Álvarez, “A QSAR model for in silico screening of MAO-A inhibitors. Prediction, synthesis, and biological assay of novel coumarins,” *J. Med. Chem.*, vol. 49, no. 3, pp. 1149–1156, 2006.
- [2] M. J. Landrum *et al.*, “ClinVar: improvements to accessing data,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 48, no. D1, pp. D835–D844, 2020.
- [3] A. Vogel, “Darstellung von Benzoesäure aus der Tonka-Bohne und aus den Meliloten-oder Steinklee-Blumen,” *Ann. Phys.*, vol. 64, no. 2, pp. 161–166, 1820.
- [4] A. Vogel, “De l’existence de l’acide bezoïque dans la feve de tonka et dans les fleurs de mélilot (On the existence of benzoic acid in the tonka bean and in the flowers of melilot),” *J. Pharm.*, vol. 6, pp. 305–309, 1820.
- [5] N. Guibourt, “Histoire abrégée des drogues simples (Abridged history of simple drugs),” *Paris, L. Colas*, vol. 2, pp. 160–161, 1820.
- [6] N.-B. Guibourt, *Histoire naturelle des drogues simples*. Cambridge University Press, 2014.
- [7] A. Guillemette, “Recherches sur la Matière Cristalline du Mélilot,” *J. Pharm.*, vol. 21, pp. 172–178, 1835.
- [8] A. R. Katritzky, C. A. Ramsden, E. F. V Scriven, and R. J. K. Taylor, “Comprehensive heterocyclic chemistry III,” in *VI 3-memb. Heterocycl., together with all Fused Syst. contain. a 3-memb. Heterocycl. Ring. V2 4-memb. Heterocycl. together with all Fused Syst. contain. a 4-memb. Heterocycl. Ring. V3 Five-memb. Rings with One Heteroat. together with their Benzo and other*, Elsevier, 2008, pp. 1–13718.
- [9] H. Osman, A. Arshad, C. K. Lam, and M. C. Bagley, “Microwave-assisted synthesis and antioxidant properties of hydrazinyl thiazolyl coumarin derivatives,” *Chem. Cent. J.*, vol. 6, no. 1, pp. 1–10, 2012.
- [10] A. Rabahi *et al.*, “Synthesis and optical properties of coumarins and iminocoumarins: Estimation of ground-and excited-state dipole moments from a solvatochromic shift and theoretical methods,” *J. Mol. Liq.*, vol. 195, pp. 240–247, 2014.
- [11] J. K. Augustine, A. Bombrun, B. Ramappa, and C. Boodappa, “An efficient one-pot synthesis of coumarins mediated by propylphosphonic anhydride (T3P) via the Perkin condensation,” *Tetrahedron Lett.*, vol. 53, no. 33, pp. 4422–4425, 2012.
- [12] M. J. Matos *et al.*, “Study of coumarin-resveratrol hybrids as potent antioxidant compounds,” *Molecules*, vol. 20, no. 2, pp. 3290–3308, 2015.
- [13] X. He *et al.*, “FeCl<sub>3</sub>-catalyzed cascade reaction: An efficient approach to functionalized coumarin derivatives,” *Synth. Commun.*, vol. 44, no. 10, pp. 1507–1514, 2014.
- [14] Y. Jiang, W. Chen, and W. Lu, “Synthesis of 3-arylcoumarins through N-heterocyclic carbene catalyzed condensation and annulation of 2-chloro-2-arylacetaldehydes with salicylaldehydes,” *Tetrahedron*, vol. 69, no. 18, pp. 3669–3676, 2013.
- [15] H. Kiyani and M. D. Daroonkala, “A cost-effective and green aqueous synthesis of 3-substituted coumarins catalyzed by potassium phthalimide,” *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, vol. 29, no. 3, pp. 449–456, 2015.
- [16] D. Sharma and J. K. Makrandi, “Iodine mediated one-pot synthesis of 3-cyano and 3-cyano-4-methylcoumarins,” *J. Serbian Chem. Soc.*, vol. 79, no. 5, pp. 527–531, 2014.
- [17] M. Eddahmi *et al.*, “Synthesis and biological evaluation of new functionalized nitroindazolylacetonitrile derivatives,” *ChemistrySelect*, vol. 4, no. 48, pp. 14335–14342, 2019.
- [18] W. Phakhodee, C. Duangkamol, D. Yamano, and M. Pattarawarapan, “Ph3P/I2-

- mediated synthesis of 3-aryl-substituted and 3, 4-disubstituted coumarins,” *Synlett*, vol. 28, no. 07, pp. 825–830, 2017.
- [19] S. R. Elgogary, N. M. Hashem, and M. N. Khodeir, “Synthesis and photooxygenation of linear and angular furocoumarin derivatives as a hydroxyl radical source: psoralen, pseudopsoralen, isopseudopsoralen, and allopsoralen,” *J. Heterocycl. Chem.*, vol. 52, no. 2, pp. 506–512, 2015.
- [20] M. Lončarić, D. G. Sokač, S. Jokić, and M. Molnar, “Recent advances in the synthesis of coumarin derivatives from different starting materials,” *Biomolecules*, vol. 10, no. 1. 2020. doi: 10.3390/biom10010151.
- [21] F. Zhu and X.-F. Wu, “Selectivity controlled palladium-catalyzed carbonylative synthesis of propiolates and chromenones from phenols and alkynes,” *Org. Lett.*, vol. 20, no. 11, pp. 3422–3425, 2018.
- [22] B. Yi *et al.*, “Visible Light-Mediated, Iodine-Catalyzed Radical Cascade Sulfonylation/Cyclization for the Synthesis of Sulfone-Containing Coumarin under Photocatalyst-Free Conditions,” *Asian J. Org. Chem.*, vol. 11, no. 1, p. e202100648, 2022.
- [23] F. Keshavarzipour and H. Tavakol, “The synthesis of coumarin derivatives using choline chloride/zinc chloride as a deep eutectic solvent,” *J. Iran. Chem. Soc.*, vol. 13, pp. 149–153, 2016.
- [24] Y. A. Jackson, “Improved synthesis of esculetin,” *Heterocycles-Sendai Inst. Heterocycl. Chem.*, vol. 41, no. 9, pp. 1979–1986, 1995.
- [25] R. D. H. Murray, “Coumarins,” *Nat. Prod. Rep.*, vol. 6, no. 6, pp. 591–624, 1989.
- [26] D. Ferroud *et al.*, “Synthesis and biological evaluation of coumarincarboxylic acids as inhibitors of gyrase B. L-rhamnose as an effective substitute for L-noviose,” *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 9, no. 19, pp. 2881–2886, 1999.
- [27] N. N. Saha, V. N. Desai, and D. D. Dhavale, “A synthesis of new coumarin C-glycosyl derivatives,” *J. Org. Chem.*, vol. 64, no. 5, pp. 1715–1719, 1999.
- [28] Y. Fall, C. Teran, M. Teijeira, L. Santana, and E. Uriarte, “Synthesis of new 4-cyclohexylcoumarin derivatives,” *Synthesis (Stuttg.)*, vol. 2000, no. 05, pp. 643–645, 2000.
- [29] P. Bose and J. Banerji, “Synthesis of 4-Phenylcoumarins.,” *ChemInform*, vol. 21, no. 33, p. no-no, 1990.
- [30] H. M. F. MADKOUR, “Synthesis and reactions of some 3-cyano-4-methylcoumarins,” *Heterocycles (Sendai)*, vol. 36, no. 5, pp. 947–959, 1993.
- [31] A. Khelil, “Synthèse par réaction de Biginelli d’hybrides de coumarines et du Donepezil potentiellement actifs contre la maladie d’Alzheimer.” UMMTO, 2017.
- [32] F. REZINE and M. S. FEDAOUCHE, “Coumarines à intérêt thérapeutique: Synthèse et contrôle analytique.” 2017.
- [33] A. M. El-Agrody, M. S. Abd El-Latif, N. A. El-Hady, A. H. Fakery, and A. H. Bedair, “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*, vol. 6, no. 6, pp. 519–527, 2001.
- [34] A. F. El-Faragy, “Synthesis and some reactions of 8-tert-Butyl-6-hydroxy-4-methyl coumarin,” *Egypt. J. Pharm. Sci.*, vol. 32, p. 625, 1991.
- [35] A. Kulkarni, S. A. Patil, and P. S. Badami, “Synthesis, characterization, DNA cleavage and in vitro antimicrobial studies of La (III), Th (IV) and VO (IV) complexes with Schiff bases of coumarin derivatives,” *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 44, no. 7, pp. 2904–2912, 2009.
- [36] Z. M. Nofal, M. I. El-Zahar, and S. S. Abd El-Karim, “Novel coumarin derivatives with expected biological activity,” *Molecules*, vol. 5, no. 2, pp. 99–113, 2000.

- [37] F. Borges, F. Roleira, N. Milhazes, L. Santana, and E. Uriarte, "Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity," *Curr. Med. Chem.*, vol. 12, no. 8, pp. 887–916, 2005.
- [38] L. Schio, F. Chatreaux, and M. Klich, "Tosylates in palladium-catalysed coupling reactions. Application to the synthesis of arylcoumarin inhibitors of gyrase B," *Tetrahedron Lett.*, vol. 41, no. 10, pp. 1543–1547, 2000.
- [39] G. Cravotto, G. M. Nano, G. Palmisano, and S. Tagliapietra, "An asymmetric approach to coumarin anticoagulants via hetero-Diels–Alder cycloaddition," *Tetrahedron: Asymmetry*, vol. 12, no. 5, pp. 707–709, 2001.
- [40] L. Pochet *et al.*, "Esters and amides of 6-(chloromethyl)-2-oxo-2 H-1-benzopyran-3-carboxylic acid as inhibitors of  $\alpha$ -chymotrypsin: significance of the 'aromatic' nature of the novel ester-type coumarin for strong inhibitory activity," *J. Med. Chem.*, vol. 39, no. 13, pp. 2579–2585, 1996.
- [41] S. Y. Kang, K. Y. Lee, S. H. Sung, M. J. Park, and Y. C. Kim, "Coumarins Isolated from *Angelica gigas* Inhibit Acetylcholinesterase: Structure– Activity Relationships," *J. Nat. Prod.*, vol. 64, no. 5, pp. 683–685, 2001.

## **CHAPITRE II**

**Etude bibliographique sur l'activité  
biologique.**

### II.1. Introduction

Les coumarines et leurs dérivées sont connues pour leurs nombreuses utilisations dans l'industrie des cosmétiques (comme additifs), l'industrie pharmaceutique et agro-chimique [1]. Elles possèdent diverses propriétés biologiques, elles sont utilisées comme agents anti coagulants et sont très fluorescentes, elles sont employées aussi dans la préparation des insecticides [2,3]. La majorité des coumarines et leurs dérivées ont été soumises à de profondes investigations dans le but d'évaluer leurs effets sur la santé humaine, les recherches ont montré qu'elles peuvent être des agents anti HIV, anti tumoraux [4], anticancéreux, antimicrobiens [5,6], antiinflammatoires [7,8], Antifongiques [9], anti oxydants et même vasodilatateurs. Tous les composés synthétisés ont été vérifiés pour leurs propriétés biologiques (antioxydants, antibactériennes et antifongiques).

### II.2. Activité biologique

L'activité biologique est "la capacité d'une entité moléculaire spécifique à obtenir un effet biologique défini" sur une cible donnée [10]. Elle est mesurée en termes de puissance ou de concentration de l'entité moléculaire nécessaire pour produire l'effet [11]. Une activité biologique est déterminée au moyen d'un test biologique. Un essai biologique est une expérience qui détermine l'activité biologique d'une substance en fonction de son effet sur une cible spécifique, par rapport à celui d'une préparation standard [12]. C'est également le processus par lequel la puissance d'un agent est mesurée en termes de réactions d'une cible médicament eus spécifique.

#### II.2.1. Activité anti-oxydante

De nos jours, il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires ainsi la dégénérescence du système immunitaire [13]. L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydoréduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Bien que les réactions d'oxydation soient nécessaires à la vie, elles peuvent aussi produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices. Les radicaux libres sont générés naturellement au cours du métabolisme normal de l'oxygène in vivo en très faible quantité mais peuvent être libérés suite à un stress oxydatif [14] les antioxydants font l'objet de nombreuses recherches et une nouvelle haleine vers l'exploitation des métabolites secondaires généralement et les polyphénols particulièrement tant dans la santé et vis-à-vis des maladies pernicieuses (cancer) que dans l'industrie agro-alimentaire. Ces composés qui sont représentés par la famille des Flavonoïdes, Coumarines, Xanthones et les Acides hydroxycinnamiques sont largement recherchés pour leurs propriétés biologiques: antioxydantes, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-carcinogènes. Notons que l'efficacité puissante de ces substances à stopper les réactions radicalaires en neutralisant les radicaux libres est due principalement à leurs structures phénoliques avec la présence des groupements hydroxyyles.

### II.2.1.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs. Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire. La production des ERO est normale pour tous les organismes vivants et ne constitue pas en soi une situation de stress oxydant. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense contre les radicaux libres (ERO), la cellule dispose d'un système de détoxification comprenant des enzymes comme les superoxydes dismutases, les catalases, la glutathion peroxydase, la glutathion réductase et de petites molécules telles que la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes, certains polyphénols .... Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydant ou par suite d'une surproduction des radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » [15].

### II. 2. 1. 2. Origine du stress oxydatif

Les Radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public. Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisqu'il faut rappeler que dans le milieu des années 50, Gerschman puis Hartman évoquaient déjà la toxicité de l'oxygène et la « free radical theory » pour expliquer le processus du vieillissement. En 1969, les Américains McCord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant superoxyde dismutase «SOD», démontrant ainsi pour la première fois que notre organisme produit des espèces réactives d'oxygène «ERO» dont il doit se protéger. Cette découverte sera le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants [55].

### II. 2. 1. 3. Mécanismes pro-oxydants

La production de radicaux libres est un phénomène permanent au sein de la matière vivante. La chaîne respiratoire mitochondriale, les leucocytes et la NAD(P) H oxydase, sont les principales sources biologiques de radicaux libres. Un radical libre est une espèce chimique (atomes ou molécules) possédant un électron célibataire ou plusieurs sur sa couche périphérique [16]. Dans les phénomènes de stress oxydant, les radicaux libres qui interviennent ont une propriété caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène. Parmi les radicaux libres, l'anion superoxyde, le radical hydroxyle, l'oxygène singulet, le peroxyde d'hydrogène, le monoxyde d'azote et le radical hydroxyle sont les plus connus. L'avènement de la biologie moléculaire a permis de montrer que les espèces oxygénées activées (EOA) ont un rôle physiologique important en agissant à faible concentration comme des messagers secondaires capables :

- ✚ De réguler le phénomène d'apoptose qui est un suicide programmé des cellules évoluant vers un état cancéreux [17].
- ✚ D'activer des facteurs de transcription (NFkB, p38-MAP kinase, ...) eux-mêmes responsables de l'activation de gènes impliqués dans la réponse immunitaire [18].
- ✚ De moduler l'expression de gènes de structure codant pour les enzymes antioxydantes [19].
- ✚ De détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires[20].



Par contre, si les espèces oxygénées activées sont produites en quantité trop importante, elles auront des effets néfastes en induisant un phénomène d'apoptose dans des cellules saines, ou en activant divers gènes codant pour l'expression de cytokines proinflammatoires ou de protéines d'adhésion.

### II. 2. 1. 4. Définition d'un radical libre

Un radical libre est définies comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés [21], cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre [22].

### II. 2. 2. Les radicaux libres dans les systèmes biologiques

#### II. 2. 2. 1. Rôles biologique des radicaux libres

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes, à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire [23].

#### II. 2. 2. 2. Les conséquences du stress oxydant

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information[24]. La toxicité des EOR s'exerce également sur les protéines. Les EOR sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. Les EOR sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi, es fragments protéiques. L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des EOR. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont pas « réparées » entraînent à long terme des altérations géniques [25]. Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogène,

malformation des fœtus (tératogénèse), dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions [26].

### II. 2. 3. Les antioxydants

Dans les systèmes biologiques, un antioxydant est une substance qui, en faible concentration comparativement à la quantité des substances oxydables telles les espèces oxygénées réactives (ERO), retarde significativement ou prévient l'oxydation des substrats comme les lipides, les protéines, les DNA et les carbohydrates. Son rôle est d'intercepter les radicaux libres avant qu'ils ne réagissent avec le substrat [27]

Les antioxydants incluent le système de réparation, les enzymes antioxydantes, les facteurs affectant l'homéostasie vasculaire, le signal de la transduction et l'expression des gènes. Les antioxydants empêchent globalement l'apparition du stress oxydatif. Les antioxydants les plus connus sont : l'acide ascorbique (vitamine C), la vitamine E, les polyphénols, les caroténoïdes[28].

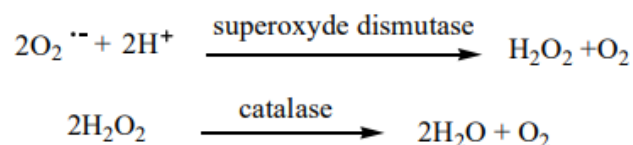
#### II. 2. 3. 1. Classification des antioxydants

##### II. 2. 3. 1a. Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action

Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés (groupe 1) ou en épurant les radicaux libres oxygénés formés (groupe 2). En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire [28].

##### ✚ Groupe I : Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydants qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de super oxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate)[29]. Ces enzymes antioxydants permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides mem. branaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique[30] .

##### ✚ Groupe II : Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydants, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes [4]. Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent: la vitamine E (tocophérols et des tocotriénols), l'acide ascorbique, le  $\beta$ -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques,...etc.[31].

#### II. 2. 3. 1b. Classification des antioxydants suivant la nature chimique

### ✚ Les antioxydants naturels

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants in vivo. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les oestrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E [64]. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres [32].

### Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont principalement représentés par trois enzymes, la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau de l'O<sub>2</sub> et du HO<sub>2</sub>, conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire [33].

### ✚ Les antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols. Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée [34]. Cependant, il a été montré que ces

antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques [35]. En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomiales du foie et des organes extra-hépatiques. Il est aussi rapporté que le BHT présenterait des effets carcinogènes chez le rat [35, 36].

### II. 2. 3. 2. Mécanisme d'action des antioxydants

Les principaux mécanismes d'activité antioxydante sont [37]:

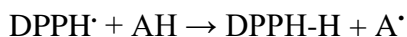
- ✚ Le piégeage direct des EOR
- ✚ L'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production des EOR ;
- ✚ Protection des systèmes de défense antioxydants
- ✚ Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action : éliminateurs de radicaux libres, chélateurs d'ions métalliques, piégeurs d'oxygène dans des systèmes fermés.

### II. 2. 3. 3. Evaluation de l'activité antioxydante

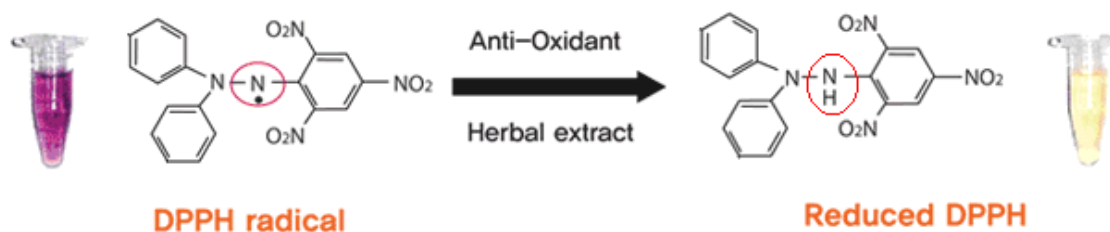
L'activité anti-radicalaire des différents composés chimiques a été évaluée in vitro, par le test du piégeage du radical DPPH\* (2,2-diphényl 1-1-picrylhydrazyl).

### II. 2. 3. 4. Test du piégeage du radical libre DPPH

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des solutions éthanoïques de l'édaravone et ses dérivés [38,39]. Le DPPH initialement violet, se décolore lorsque l'électron libre s'apparie selon la réaction suivante :



Où AH est un composé capable de donner un H<sup>+</sup> au radical DPPH (Figure II .1). Cette décoloration est représentative de la capacité des solutions à piéger ces radicaux libres. Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydante se transforme en DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm. Les réactions ont lieu en milieu éthanolique à température ambiante, cela permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé car il est rapide, facile et non coûteux[40] .



**Figure. II .1. Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant**

### II. 2. 3. 5. Expression des résultats

L'activité antioxydant, qui exprime la capacité de solutions éthanoliques de l'édaravone ou de ses dérivés à piéger le radical libre DPPH est donnée par la formule suivante [42] .

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{Abs control} - \text{Abs test}) \times 100}{\text{Abs control}}$$

Avec : Abs control : Absorbance du control négatif à longueur d'onde 515 nm ; Abs test : Absorbance de l'échantillon à la longueur d'onde 515 nm.

### II. 2. 3. 6. Calcul des concentrations inhibitrices à 50 % " IC 50"

**IC50** (Concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC50 (Concentration efficace 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de Différentes concentrations des échantillons testées [43].



**Figure. II.2. Appareil de spectrophotométrie UV-visible**

### II.2.3.7. Activité antioxydante des coumarines

Comme tout composé phénolique, les coumarines, de différents types, possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes [42]. Plusieurs coumarines simples, ou fusionnées à des chalcones ou à des benzodiazepines..., ont montré une activité antioxydante nettement supérieure ou similaire à celle de la vitamine E ou de la vitamine C [44 ,45] .

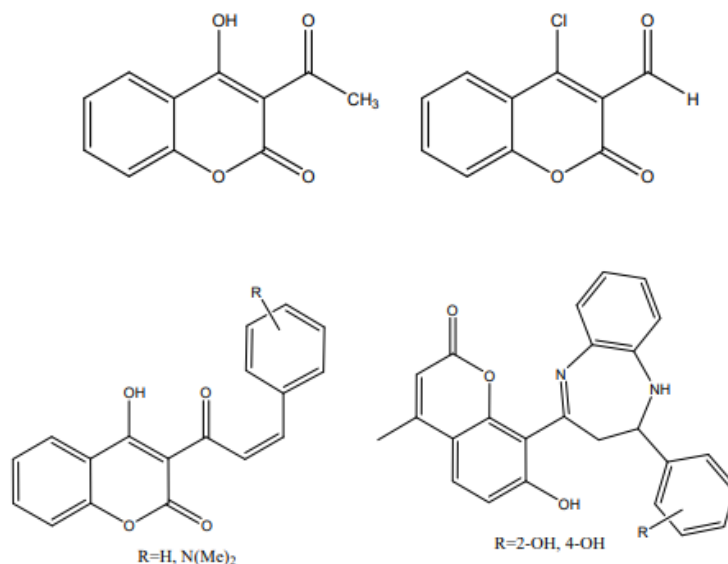


Figure II. 3 : Quelques coumarines simples à activité antioxydante.

### II. 2. 4. Activités antibactérienne

#### II. 2. 4. 1. Les bactéries

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires et procaryotes présents dans tous les milieux. La plupart des bactéries possèdent une paroi cellulaire glucidique. Les bactéries les plus grosses mesurent plus de 2  $\mu\text{m}$  et, jusqu'au début du XXI<sup>e</sup> siècle, les spécialistes considéraient que les plus petites mesuraient 0,2  $\mu\text{m}$ , mais il existe des «ultramicrobactéries», y compris en eau douce [46]. Les bactéries présentent de nombreuses formes : sphériques (coques), allongées ou en bâtonnets (bacilles), des formes plus ou moins spiralées. Pour distinguer entre les bactéries au microscope optique, une méthode importante et largement utilisée en bactériologie, c'est "la coloration de Gram". Elle consiste à traiter des bactéries fixées à la chaleur, par un colorant basique (violet de gentiane) puis une solution iodo-iodurée (mordantage), toutes les cellules se colorent en violet. Soumises ensuite à l'action de l'alcool éthylique elles se répartissent en : cellules qui conservent la coloration violette dites à gram positif et qui sont décolorées, appelées à gram négatif. Pour mieux distinguer ces deux catégories, le frottis bactérien est finalement traité par de la fuchsine basique, les bactéries à gram négatif sont roses et celles à gram positif restent violettes[47] . Après leurs réactions avec les différents colorants utilisés par cette méthode, les bactéries se divisent en deux groupes majeurs : bactéries à gram positif (colorées en violet), bactéries à gram négatif (colorées en rose). Cette distinction de réponse à la coloration de gram est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactériennes, celles des bactéries à



gram négatif laissent passer la solution alcoolique, tandis que celles des bactéries à gram positif représentent une véritable barrière que la solution alcoolique ne peut franchir.

### II.2. 4. 2. Choix et origines des souches microbiennes testées

Le choix des bactéries a été porté sur quatre souches fréquentes en pathologie humaine.

- + Bactéries à Gram positif : **Staphylococcus aureus** et **Bacillus cereus**.
- + Bactéries à Gram négatif : **Escherichia coli** et **klebsiella pneumoniae**.
- **Escherichia coli ATCC 25922** (bacille à Gram négatif)

Commensal du tube digestif, est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales [48]

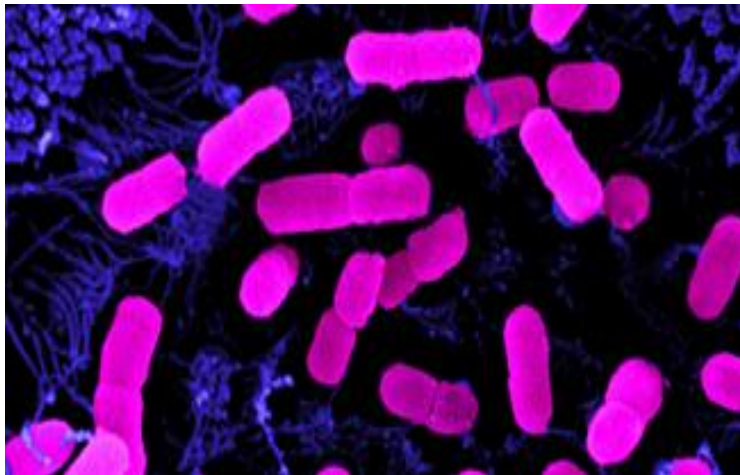


Figure. II.4. Vue sous le microscope électronique de bactérie *Escherichia coli*

- **Klebsiella pneumoniae ATCC700603**(Gram négatif)  
Commensal du tube digestif et des voies aériennes supérieures. Germe opportuniste impliqué dans des infections nosocomiales, généralement des infections urinaires, des pneumopathies, des septicémies et de la méningite[49] .

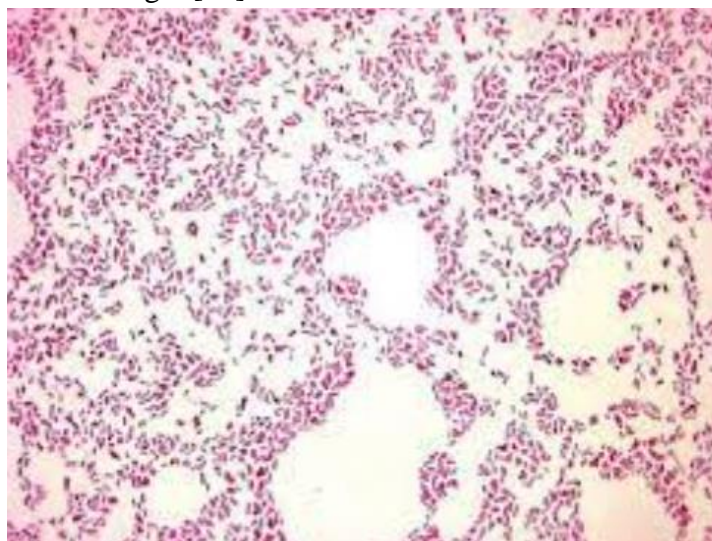
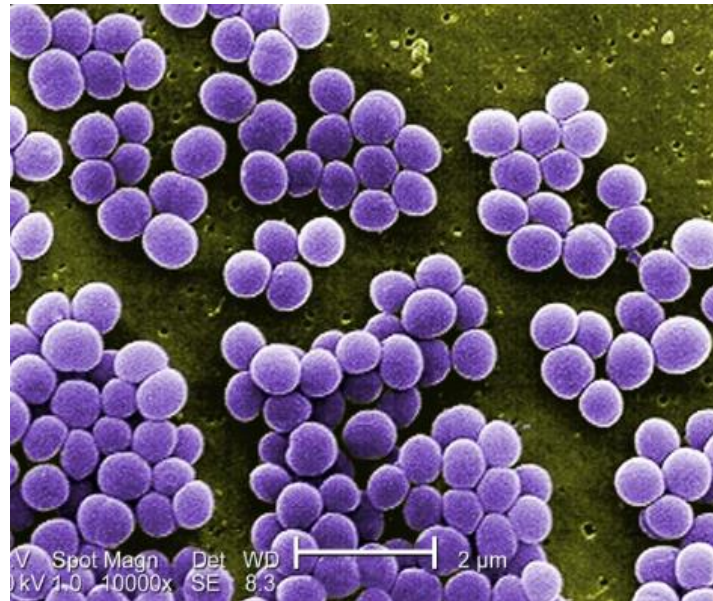


Figure. II.5. Vue sous le microscope électronique de bactérie *Klebsiella pneumoniae*

- **Staphylococcus aureus 43300** (Cocci à Gram positif)

Nommée aussi staphylocoque doré, tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales [49].



**Figure. II.6. Vue sous le microscope électronique de bactérie *Staphylococcus aureus***

- ***Bacillus cereus* ATCC 10876** (Gram positif)

Un agent pathogène humain opportuniste qui est parfois associée à des infections, provoque des maladies parodontales et d'autres infections plus graves [50]. Les souches bactériennes sélectionnées sont des souches hospitalières. Elles nous ont été fournies par le laboratoire de microbiologie UMMTO et ont été conservées à 5°C dans des boîtes de Pétri à (gélose nutritive). L'eau distillée, les milieux de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) ont été stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.



**Figure II.7. Vue sous le microscope électronique de bactérie *Bacillus cereus***

### II. 2. 5. Lecture des résultats :

L'apparition d'une zone claire autour des puits (à l'intérieur duquel aucune croissance Bactérienne n'est observée) indique l'action antibactérienne des solutions éthanoliques de

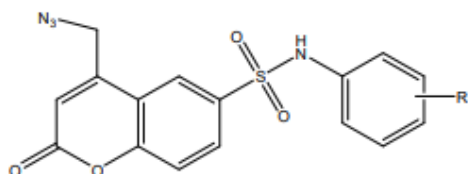
coumarine et ses dérivés vis-à-vis la souche bactérienne testée. Les diamètres de la zone claire sont mesurés à l'aide d'une règle graduée, et les résultats obtenus sont exprimés en millimètre. Les bactéries seront classées selon le diamètre d'inhibition dans l'une des catégories suivantes : résistance, sensibilité limitée, sensibilité moyenne et très sensible [51].

Tableau II.1. Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition:

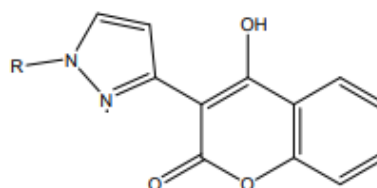
Diamètre d'inhibition(x)	Degré de sensibilité des grames	Résultat
$X \leq 8$ mm	Résistance	-
$8 \text{ mm} < X < 14$ mm	Sensibilité limité	+
$14 \text{ mm} < X < 20$ mm	Sensibilité moyenne	++
$X \geq 20$ mm	Très sensible	+++

### II.3. Activité de la coumarine et quelques molécules hybrides

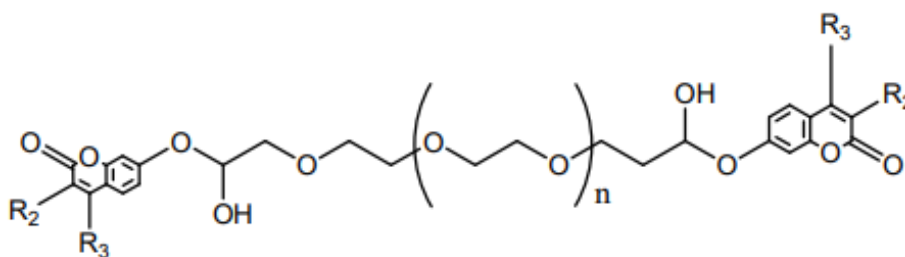
Les propriétés antibactériennes des coumarines ont été identifiées pour la première fois en 1945 par Goth et autres, ils ont fait une recherche par la méthode de diffusion de disque avec le dicoumarol et c'est avéré qu'il empêche la croissance de plusieurs bactéries [52]. Dadák et Hodak [52] ont suggéré que les coumarines ont une activité antibactérienne sélectivement contre les micro-organismes à Gram-positifs.



Hybrides de coumarine-sulfonamide



Hybride coumarine-pyrazole



Bis-coumarines lié par des éthers d'hydroxyle

Figure. III. 8. Molécules coumariniques hybrides à activité antibactérienne



### Références bibliographiques

- [1] S. Sudha, K. Venkatachalam, S. V. Priya, J. H. Mabel, M. Palanichamy, and V. Murugesan, "Single step synthesis of coumarin derivatives over Al-MCM-41 and its supported catalysts under solvent-free condition," *J. Mol. Catal. A Chem.*, vol. 291, no. 1–2, pp. 22–29, 2008.
- [2] T.-S. Li, Z.-H. Zhang, F. Yang, and C.-G. Fu, "Montmorillonite clay catalysis. Part 7. 1 an environmentally friendly procedure for the synthesis of coumarins via pechmann condensation of phenols with ethyl acetoacetate," *J. Chem. Res. Synopses*, no. 1, pp. 38–39, 1998.
- [3] V. K. Srivastav, C. Egbuna, and M. Tiwari, "Plant secondary metabolites as lead compounds for the production of potent drugs," in *Phytochemicals as lead compounds for new drug discovery*, Elsevier, 2020, pp. 3–14.
- [4] Y. Miyake, A. Murakami, Y. Sugiyama, M. Isobe, K. Koshimizu, and H. Ohigashi, "Identification of coumarins from lemon fruit (*Citrus limon*) as inhibitors of in vitro tumor promotion and superoxide and nitric oxide generation," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 47, no. 8, pp. 3151–3157, 1999.
- [5] K. V Sashidhara, A. Kumar, M. Kumar, A. Srivastava, and A. Puri, "Synthesis and antihyperlipidemic activity of novel coumarin bisindole derivatives," *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 20, no. 22, pp. 6504–6507, 2010.
- [6] K. V Sashidhara, A. Kumar, M. Kumar, J. Sarkar, and S. Sinha, "Synthesis and in vitro evaluation of novel coumarin–chalcone hybrids as potential anticancer agents," *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 20, no. 24, pp. 7205–7211, 2010.
- [7] S. Mekhalfa and F. Assala, "Evaluation de l'activité antidiabétique et inhibitrice de l'alpha amylase pancréatique et de la xanthine oxydase de la plante *Fraxinus Angustifolia* de la région de Béjaia." Université de Jijel, 2018.
- [8] M. Curini *et al.*, "Synthesis and anti-inflammatory activity of natural and semisynthetic geranyloxycoumarins," *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 14, no. 9, pp. 2241–2243, 2004.
- [9] A. M. El-Agrody, M. S. A. El-Latif, A. H. Fakery, and A. H. Bedair, "Heteroaromatization with 4-hydroxycoumarin Part I: Synthesis of some new pyranocoumarins and coumarinopyranopyrimidines," *J. Chem. Res.*, vol. 2000, no. 1, pp. 26–27, 2000.
- [10] M. Jackson, G. Stadthagen, and B. Gicquel, "Long-chain multiple methyl-branched fatty acid-containing lipids of *Mycobacterium tuberculosis*: biosynthesis, transport, regulation and biological activities," *Tuberculosis*, vol. 87, no. 2, pp. 78–86, 2007.
- [11] E. W. Pelikan, *Glossary of terms and symbols used in pharmacology*. Boston University School of Medicine, Pharmacology & Experimental Therapeutics, 1995.
- [12] A. D. McNaught and A. Wilkinson, *Compendium of chemical terminology*, vol. 1669. Blackwell Science Oxford, 1997.
- [13] E. Guinebert, P. Durand, M. Prost, R. Grinand, and R. Bernigault, "Mesure de la résistance aux radicaux libres," *Acte du 6ème Journées la Rech. Avic. S Malo, les*, vol. 30, pp. 554–558, 2005.
- [14] J. Delattre, J.-L. Beaudoux, and D. Bonnefont-Rousselot, *Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques*. Editions Tec & Doc, 2005.

- [15] M. Gardès-Albert and D. Jore, "Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène," *Radicaux Libr. Stress oxydant. Asp. Biol. Pathol. Paris Lavoisier*, pp. 1–23, 2005.
- [16] J. F. Curtin, M. Donovan, and T. G. Cotter, "Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis," *J. Immunol. Methods*, vol. 265, no. 1–2, pp. 49–72, 2002.
- [17] E. D. Owuor and A.-N. T. Kong, "Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways," *Biochem. Pharmacol.*, vol. 64, no. 5–6, pp. 765–770, 2002.
- [18] A. Holgrem, "Redox regulation of genes and cell function," *Crit. Rev. oxidative Stress aging*, vol. 2, pp. 102–111, 2002.
- [19] E. Levesque, "oligo-éléments et stress oxydant," *Aliment. Santé. Actual. IMAAGE*, pp. 1–5, 2006.
- [20] B. Jacques and R. André, "Biochimie métabolique Ed ellipses," *Paris. pp*, pp. 217–219220, 2004.
- [21] M. Martinez-Cayuela, "Oxygen free radicals and human disease," *Biochimie*, vol. 77, no. 3, pp. 147–161, 1995.
- [22] A. Ardestani and R. Yazdanparast, "Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts," *Food Chem.*, vol. 104, no. 1, pp. 21–29, 2007.
- [23] C. Koechlin-Ramonatxo, "Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires," *Nutr. Clin. métabolisme*, vol. 20, no. 4, pp. 165–177, 2006.
- [24] B. C. Behera, N. Verma, A. Sonone, and U. Makhija, "Determination of antioxidative potential of lichen *Usnea ghattensis* in vitro," *LWT-Food Sci. Technol.*, vol. 39, no. 1, pp. 80–85, 2006.
- [25] H. Aya and T. A. Hafersses Rahma, "Effet de l'environnement sur quelques paramètres biochimiques dont le stress oxydatif chez les végétaux (cas de *Vicia faba*)," 2021.
- [26] A. K. Tiwari, "Antioxidants: new-generation therapeutic base for treatment of polygenic disorders," *Curr. Sci.*, pp. 1092–1102, 2004.
- [27] M. Gardès-Albert, D. Bonnefont-Rousselot, Z. Abedinzadeh, and D. Jore, "Espèces réactives de l'oxygène," *L'actualité Chim.*, p. 91, 2003.
- [28] A. Favier, "Le stress oxydant," *L'actualité Chim.*, vol. 108, no. 10, pp. 832–863, 2003.
- [29] Y. Dacosta, *Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques*. Ed. Yves Dacosta, 2003.
- [30] R. Kohen and A. Nyska, "Invited review: oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification," *Toxicol. Pathol.*, vol. 30, no. 6, pp. 620–650, 2002.
- [31] K. SVOBODA and J. HAMPSON, "Bioactivity of Essentials oil of selected temperate aromatic plants," *Plant Biol. Dep. SAC, Auchincruive, Aur, Scotland, Uk*, 1999.
- [32] M. P. Lehucher-Michel, J. F. Lesgards, O. Delubac, P. Stocker, P. Durand, and M. Prost, "Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives," *La Press. médicale*, vol. 30, no. 21, pp. 1076–1081, 2001.
- [33] L. Wang, J.-H. Yen, H.-L. Liang, and M.-J. Wu, "Antioxidant effect of methanol extracts from lotus plumule and blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn.)," *J. food drug Anal.*, vol. 11, no. 1, p. 3, 2003.
- [34] R. Yu, S. Mandlekar, and A.-N. T. Kong, "Molecular mechanisms of butylated

- hydroxylanisole-induced toxicity: Induction of apoptosis through direct release of cytochrome c," *Mol. Pharmacol.*, vol. 58, no. 2, pp. 431–437, 2000.
- [35] S. M. Barlow, "Toxicological aspects of antioxidants used as food additives," *Food antioxidants*, pp. 253–307, 1990.
- [36] N. Ito, S. Fukushima, and H. Tsuda, "Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants," *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, vol. 15, no. 2, pp. 109–150, 1985.
- [37] R. Kebbab, "Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété Chamlal: Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation." Université Mouloud Mammeri, 2014.
- [38] M. W. Hahn *et al.*, "Isolation of novel ultramicrobacteria classified as Actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 69, no. 3, pp. 1442–1451, 2003.
- [39] C.-R. Wu, M.-Y. Huang, Y.-T. Lin, H.-Y. Ju, and H. Ching, "Antioxidant properties of Cortex Fraxini and its simple coumarins," *Food Chem.*, vol. 104, no. 4, pp. 1464–1471, 2007.
- [40] Z. Hadbaoui, "Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de sorgho et de mil locaux." Thèse de Doctorat: Université de Kasdi Merbah OUARGLA-ALGERIE, 2012.
- [41] M. Burits and F. Bucar, "Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil," *Phyther. Res.*, vol. 14, no. 5, pp. 323–328, 2000.
- [42] R. Torres, F. Faini, B. Modak, F. Urbina, C. Labbé, and J. Guerrero, "Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of Haplopappus multifolius," *Phytochemistry*, vol. 67, no. 10, pp. 984–987, 2006.
- [43] I. D. Thorat, D. D. Jagtap, D. Mohapatra, D. C. Joshi, R. F. Sutar, and S. S. Kapdi, "Antioxidants, their properties, uses in food products and their legal implications," *Int. J. Food Stud.*, vol. 2, no. 1, 2013.
- [44] A. S. Al-Ayed, "Synthesis of new substituted chromen [4, 3-c] pyrazol-4-ones and their antioxidant activities," *Molecules*, vol. 16, no. 12, pp. 10292–10302, 2011.
- [45] R. B. Patil, S. D. Sawant, K. V Reddy, and M. Shirsat, "Synthesis, docking studies and evaluation of antioxidant activity of some chromenone derivatives," *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.*, vol. 6, no. 2, pp. 381–391, 2015.
- [46] H. Leclerc, J.-L. Gaillard, and M. Simonet, *Microbiologie générale: la bactérie et le monde bactérien*. Doin, 1995.
- [47] S. L. Percival, R. Chalmers, P. R. Hunter, J. Sellwood, and P. Wyn-Jones, *Microbiology of waterborne diseases*, vol. 92101. Elsevier academic press San Diego, CA, USA:, 2004.
- [48] S.-S. Tsai *et al.*, "Characteristics of Klebsiella pneumoniae bacteremia in community-acquired and nosocomial infections in diabetic patients," *Chang Gung Med J*, vol. 33, no. 5, pp. 532–539, 2010.
- [49] L. Immounene and N. Zebiche, "Synthèse et activités biologiques de quelques molécules hétérocycliques." UMMTO, 2016.
- [50] A. R. Hoffmaster *et al.*, "Characterization of Bacillus cereus isolates associated with fatal pneumonias: strains are closely related to Bacillus anthracis and harbor B. anthracis

virulence genes," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 44, no. 9, pp. 3352–3360, 2006.

[51] Z. Benattia and A. Hellali, "Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des différents extraits de la plante *Juniperus phoenicea* L." Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, 2019.

[52] R. Khan, K. A. Bhat, A. F. Raja, A. S. Shawl, and M. S. Alam, "Isolation, characterisation and antibacterial activity studies of coumarins from *Rhododendron lepidotum* Wall. ex G. Don, Ericaceae," *Rev. Bras. Farmacogn.*, vol. 20, pp. 886–890, 2010.

## **CHAPITRE III.**

**Synthèse et étude de l'activité  
antioxydant et antibactérienne des  
hétérocycles coumarine.**

### III. 1. Introduction

Les coumarines et leurs dérivés sont caractérisés par une excellente réactivité chimique et différentes bio activités. Leur potentiel biologique remarquable est la raison qui pousse les chercheurs à synthétiser de nombreux produits coumariniques, convenables pour les applications dans la thérapie moderne. Dans ce contexte, nous portons, dans notre travail, un intérêt particulier aux hétérocycliques à base de la coumarine et leurs évaluations biologiques an tant queanti oxydantes et antibactériennes. Les molécules coumariniques utilisées dans ce travail ont été obtenues par la réaction de *Pechmann*. L'étude de l'activité antioxydant a été réalisée en fais intervenir la méthode du piégeage du radical libre DPPH. L'activité antibactérienne a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits).

### III. 2. Description générale de la synthèse des coumarines

Le plan général de synthèse des dérivés coumariniques utilisés dans ce travail comme antioxydants et antibactériens est subdivisée en trois étapes. La première étape est consacrée à la préparation d'un dérivé coumarinique selon la réaction de *Pechmann*. La synthèse des de *Pechmann* consiste à faire réagir un dérivé phénolique avec un  $\beta$ -cétoester en présence d'un catalyseur acide. La coumarine ainsi obtenu est subit dans la deuxième étape une réaction de O-alkylation en utilisant plusieurs dérivés halogénés tels que (bromure de benzyle, chlorobutane épichlorhydrine). Les réactions de O-alkylation sont effectuées dans différents solvant comme (éthanol, et acétone) eten présence de carbonate de potassium  $K_2CO_3$  comme base qui sert à arracher le proton de la fonction alcool pour fournir l'anion correspondant qui va réagir avec le dérivé halogéné pour donner des dérivés O-alkyl coumariniques . La troisième étape de cette synthèse consiste à la préparation dessel de dizonium de quelques amines aromatiques pour faire des réactions de copulation avec la coumarine préalablement préparé afin d'obtenir des dérivé azo coumarines qui vont être testés dans la suite de ce travail comme agent antioxydant et antibactérien.

#### III.2.1. Synthèse du 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2one (coumarine)

Le motif coumarinique de départ à savoir ; le 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2 one (**3**) a été préparé en faisant réagir le 3,5-dihydroxytouluene (Orcinol) (**1**) et le 3-oxobutanoate d'éthyle (acétylacétate d'éthyle) (**2**) par réaction de *Pechmann*. Ce processus nécessite un chauffage à reflux et l'utilisation d'un catalyseur acide comme l'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) pendant une durée comprise entre 6h-8h (**Schéma. III. 1**). Le mécanisme de cette réaction passe par trois étapes ;En général la synthèse des coumarines implique l'interaction d'un dérivé phénolique avec  $\beta$ -cétoester en présence d'un agent condensant acide (réaction *Pechmann*),cette réaction de type trans estérification conduit à la formation initial d'un  $\beta$ -cétoester en substituant le groupe éthylique par le motif phénolique, puis le  $\beta$ -cétoester ainsi formé se cyclise spontanément et se déshydrate ensuite pour former la coumarine souhaitée.La catalyse acide, transestéification, la tautomérisation des céto-énols et une addition de type *Michael*est la base de la formation du squelette coumarine (**Schéma. III. 2**).

*Plan générale de la synthèse des dérivé coumariniques*

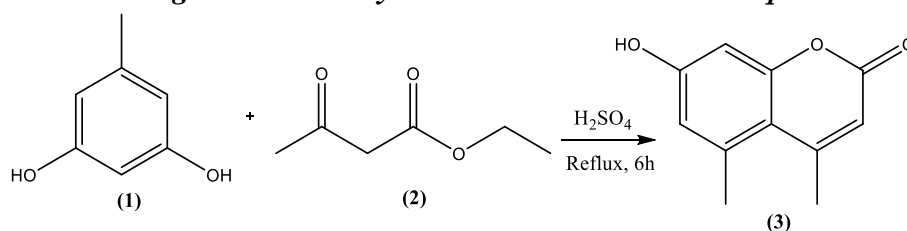


Schéma. III. 1. Synthèse du 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2 one par réaction de Pechmann.

✚ Mécanisme de synthèse du du 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2 one :

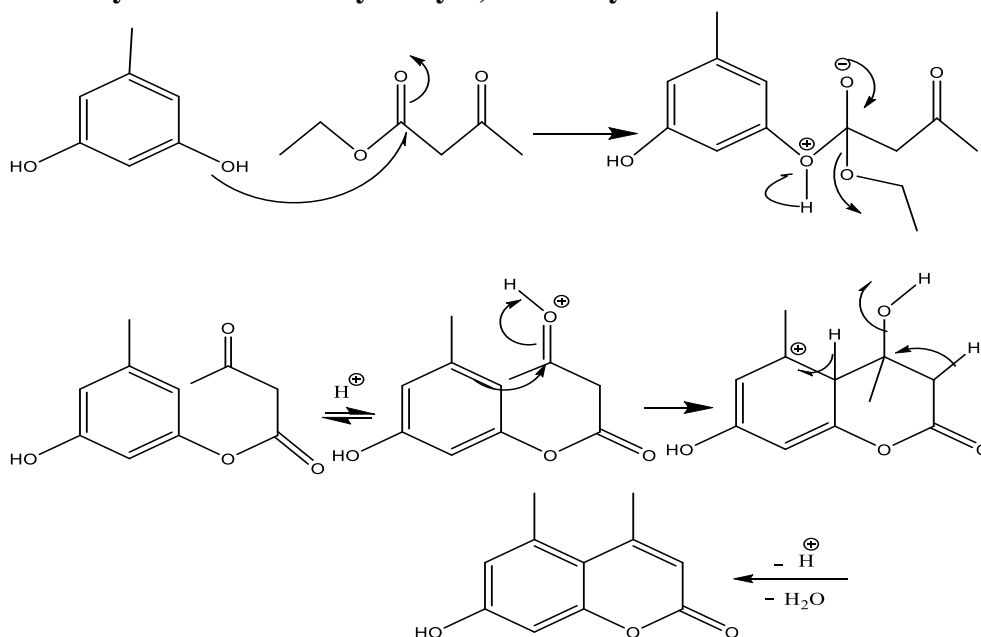


Schéma. III. 2. Mécanisme de formation de 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2 one

### III.2.2. O-Alkylation de 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2 one

Les réaction O-alkylations de la coumarine 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2 one ont été réalisées par réaction de quelques dérivés hétérogénéité plus haut avec la coumarine en présence d'une base comme  $K_2CO_3$  dans différents solvants organiques (acétone, Ethanol),(Schéma.III.3.) Le mécanisme de cette réaction est une substitution nucléophile entre la coumarine et le dérivé halogéné. La base  $K_2CO_3$  déprotonne le 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2-one pour former l'anion alcoolate qui réagit avec le dérivé halogéné comme le montre le (Schéma.III.4.).

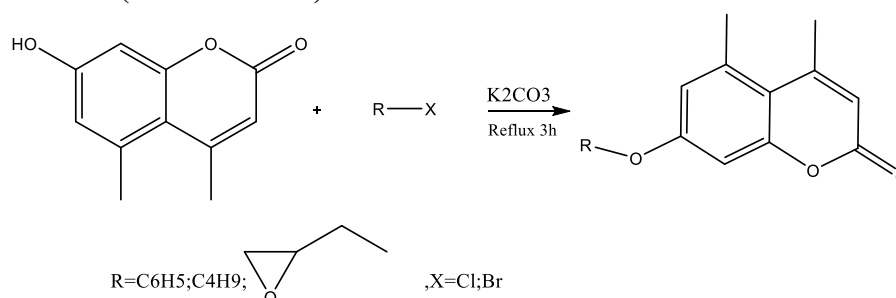


Schéma. III. 3. La réaction d'alkylation de 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2 one.

✚ Mécanisme de N-alkylation de 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2 one

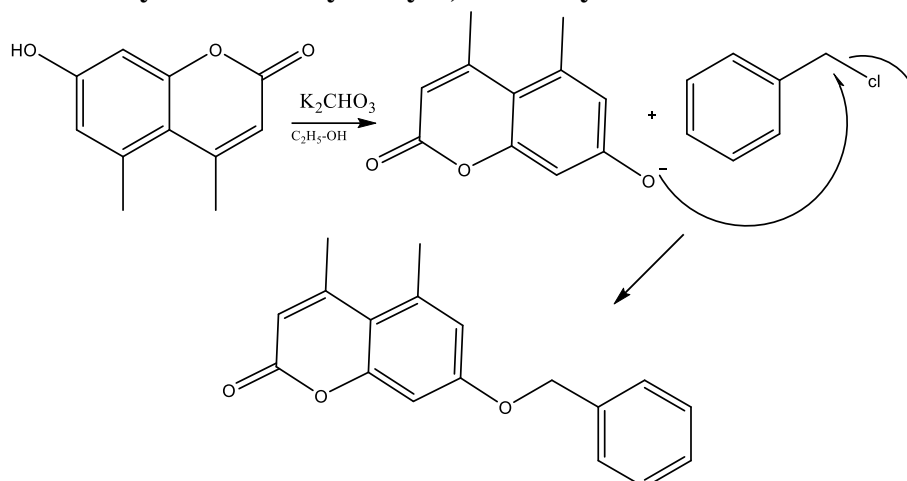


Schéma.III.4. Mécanisme de N-alkylation de 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2 one

### III.2.3. Synthèse des azo coumarines

L'obtention des azo coumarines est réalisée en deux étapes, dont la première est les préparations des sels diazomiums de quelques amines aromatiques substituées. La deuxième étape consiste à effectuer des copulations entre la coumarine et les sels de diazonium. La synthèse des sels diazonium est une réaction de diazotation des amines aromatiques par le nitrite de sodium en milieu acide à basse température (**Schéma. III.5**). La diazotation des amines aromatiques (**4**) est effectuée en présence de l'acide chlorhydrique et le nitrite de sodium en refroidissant le mélange réactionnel entre 0-5°C à l'aide d'un bain de glace et du sel du table afin d'éviter l'augmentation de la température du mélange lors l'ajoute du nitrite de sodium qui réagit rapidement avec les amines en donnant les sels de diazonium, qui sont des intermédiaires réactionnels instables et peuvent se décompose spontanément avec l'élévation de la température. Le mécanisme de diazotation débute par la formation de l'ion nitrosonium qui réagit avec les amines aromatiques primaires pour donner un dérivé azaoxime qui se transforme en sel diazonium (**5**) avec l'élimination d'une molécule d'eau comme le montre le (**Schéma. III.6**).

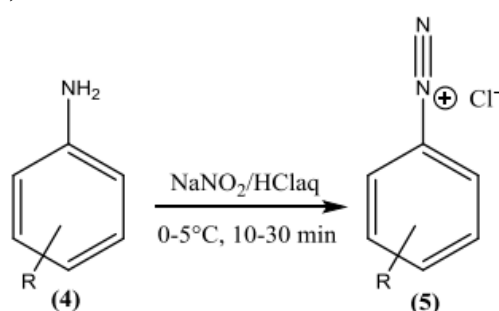


Schéma. III.6. Synthèse des sels diazomium par diazotation des amines aromatiques



✚ Mécanisme de formation des sels de diazonium par diazotation des amines aromatiques

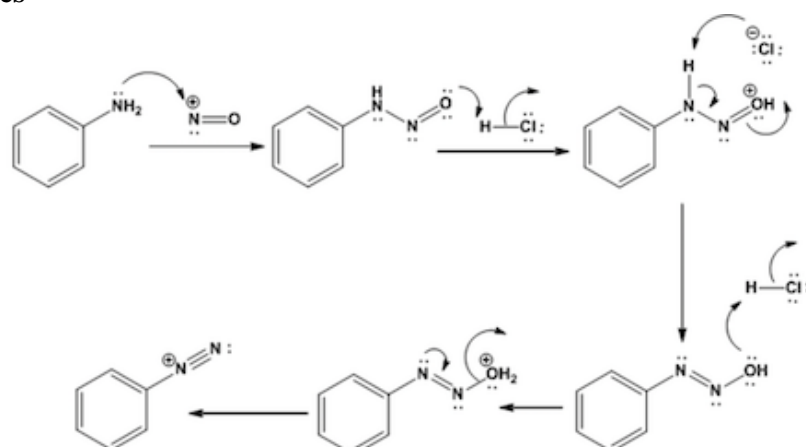


Schéma. III. 7. Mécanisme de formation des sels de diazonium par diazotation des amines aromatiques.

II.2.4. Copulation des sels de diazonium avec 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2 one

La copulation est une réaction importante en synthèse organique et très utilisée pour l'élaboration et la conception du colorant azoïques qui ont diverses applications dans la chimie. La réaction des sels de diazomium préalablement synthétisés avec le 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2 one donne des dérivés azoïques avec des couleurs caractéristiques et températures de fusion totalement différentes (Schéma. III. 8). Le 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2 one (3) dissous dans une solution éthanolique contient l'acétate de sodium a été ajoutée aux sels de diazomium (5) à 5°C, puis le mélange est porté sous agitation pendant 30min à température ambiante. Le mécanisme de cette réaction consiste à la formation de la liaison azoïque (-N=N-) établie entre la coumarine et les amines aromatiques (Schéma. III. 9).

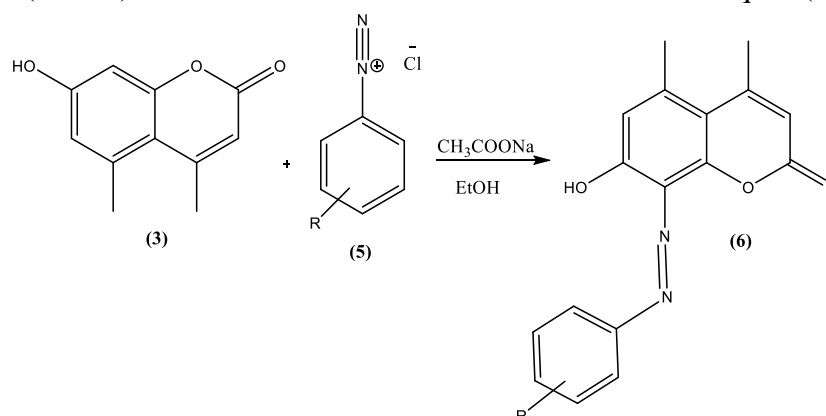


Schéma. III. 8. Copulation des sels de diazomium avec le 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2 one (coumarine)

### Mécanisme de copulation des sels de diazonium avec la coumarine

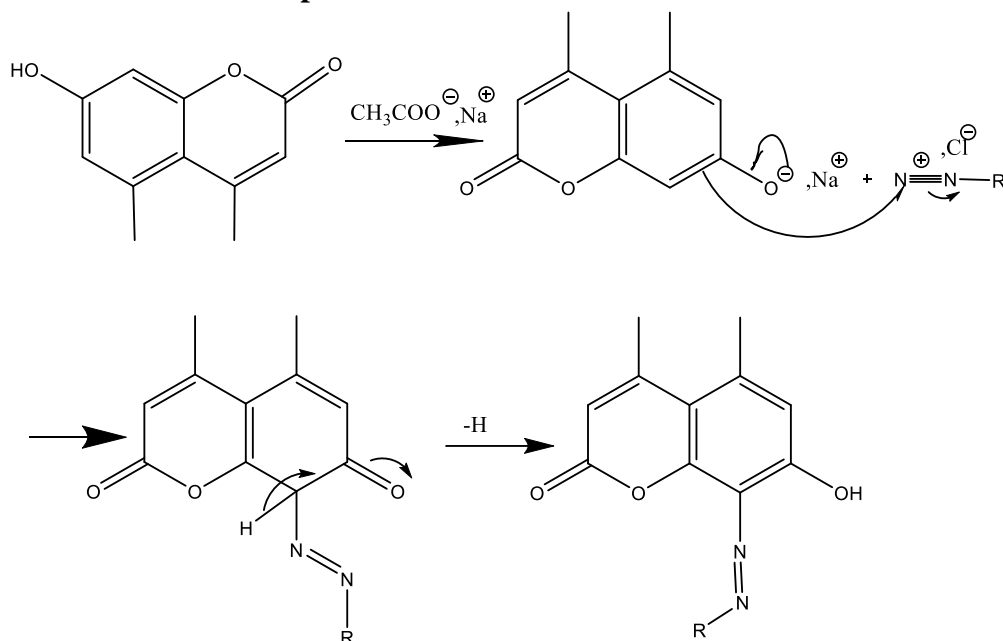


Schéma. III. 9. Mécanisme de copulation des sels de diazonium de la coumarine

#### II.2.5. Protocoles expérimentales de la synthèse des coumarines

##### II. 2. 5. 1. Synthèse de la coumarine 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromén-2 one

Dans un ballon bicol de 250ml équipé d'un montage à reflux et agitation magnétique, on introduit (16g, 0.083mol) de 3,5-dihydroxytoulène (orcinol) (1), (15g, 0.115mol) d'acétoacétate d'éthyle (2) et 40ml d'acide sulfurique concentré. Le mélange est porté à reflux pendant 6h. Le mélange réactionnel est refroidi à température ambiante puis versé dans un mélange eau/ glace. Le produit est précipité après quelques minutes et le solide obtenu est filtré, lavé avec de l'eau et l'éthanol. Le produit brut est recristallisé dans l'éthanol. Le 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromén-2 one est obtenu sous forme de poudre jaunes pâles (16.46g, Rt= 90%).

##### III. 2. 5. 2. Synthèse des coumarines O-alkylées

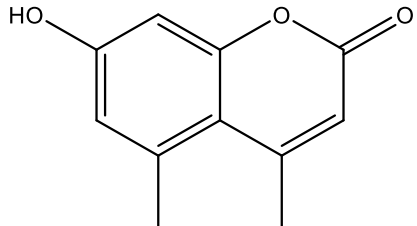

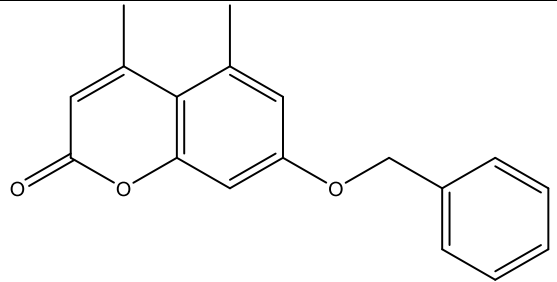
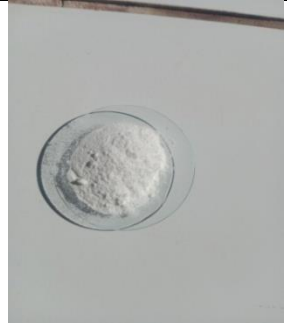
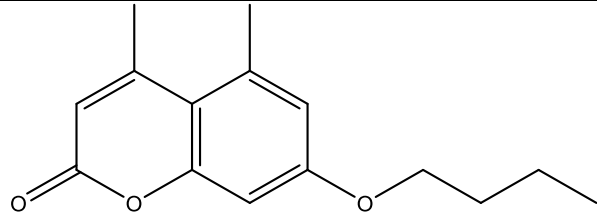

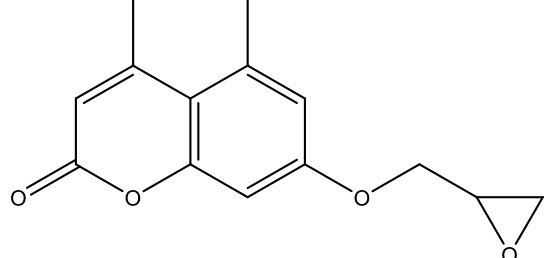

Dans un montage à reflux équipé d'un bicol de 250ml et une ampoule à brome, on introduit (2g, 0.010mol) de la coumarine 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromén-2 one, (1.3g, 0.01mol) de carbonate de sodium et 50ml d'éthanol absolu (ou acétone). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 30 mn jusqu'à la dissolution partielle de la base  $K_2CO_3$ . Après, le dérivé halogéné (bromure de benzyle...) est ajouté goutte à goutte à l'aide de l'ampoule à brome et le mélange est chauffé à 60°C durant 6h. À la fin de ce temps, le mélange réactionnel est refroidi à température ambiante puis versé dans un mélange eau/ glace. Le produit est précipité après et le solide obtenu est filtré, lavé avec de l'eau et l'éthanol. Le produit brut est recristallisé dans l'éthanol. Les résultats sont regroupés dans (Tableau. III. 1).

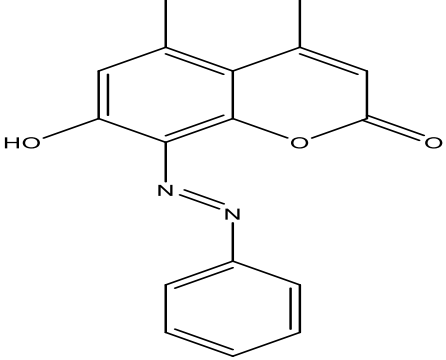

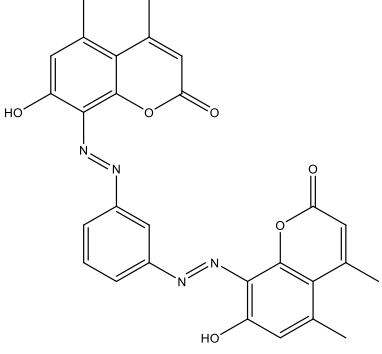

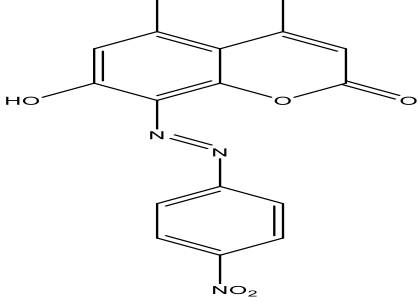

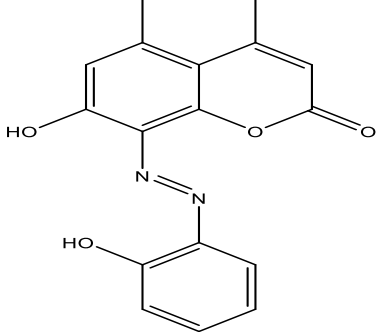

##### III. 2. 5. 3. Synthèse des azocoumarines

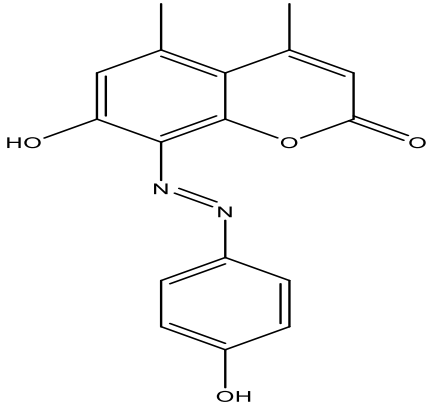

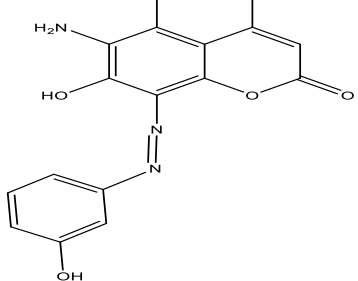

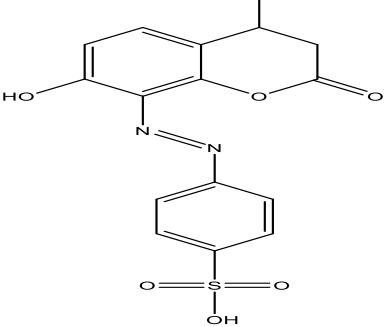

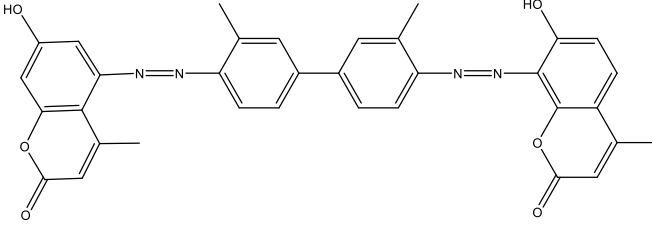

Dans un ballon bi colle de (250ml) équipé d'une ampoule d'addition et agitation magnétique, on dissout l'amine aromatique comme l'aniline par exemple dans une solution acide chlorhydrique HCl à 5%. Le mélange réactionnel est refroidi à l'aide d'un bain de

glace et de sel pour maintenir la température entre 0-5°C. Après avoir refroidir le mélange réactionnel on ajoute goutte à goutte à l'aide d'une ampoule de coulée le nitrite de sodium (0.035mol) dissous dans l'eau distillée. Lors que toute la quantité du nitrite de sodium a été ajoutée on laisse le mélange agité pendant 10 min en gardant la température entre 0-5°C. La réaction est terminée et les sels de diazonium obtenus in situ sont ensuite engagés dans les réactions de copulation avec 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2-one (coumarine), on ajoutant une solution éthanolique de la coumarine contienne une quantité d'acétate de sodium sur la solution d'acide du sel de diazonium. Les dérivés azocoumarines ainsi formés sont filtrés et lavé par l'eau puis recristallisés dans l'éthanol. La structure, l'aspect, la température de fusion (Tf) ainsi que le rendement (Rt) des azocoumarines préparés sont donnés dans le (Tableau. III. 1).

Tableau. III. 1.Coumarines et leurs dérivés Synthétisés

Structures	Aspects	Tf (°C)	Rt (%)
 <p>7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2-one</p>		240	90
 <p>7-(benzyloxy)-4,5-diméthyl-2H-chromen-2-one</p>		140	73
 <p>7-butoxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2-one</p>		230	56
 <p>4,5-diméthyl-7-(oxiran-2-ylmethoxy)-2H-chromen-2-one</p>		260	89

 <p>7-hydroxy-4,5-dimethyl-8-(phenyldiazenyl)-2H-chromen-2-one</p>		<p><b>150</b></p>	<p><b>53</b></p>
 <p>8,8'-((1E,1'E)-1,3-phenylenebis(diazene-2,1-diyl))bis(7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one)</p>		<p><b>180</b></p>	<p><b>63</b></p>
 <p>(E)-7-hydroxy-4,5-dimethyl-8-((4-nitrophenyl)diazenyl)-2H-chromen-2-one</p>		<p><b>120</b></p>	<p><b>75</b></p>
 <p>7-hydroxy-8-((2-hydroxyphenyl)diazenyl)-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one</p>		<p><b>130</b></p>	<p><b>81</b></p>

 <p>7-hydroxy-8-((4-hydroxyphenyl)diazenyl)-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one</p>		<p>190</p>	<p>62</p>
 <p>6-amino-7-hydroxy-8-((3-hydroxyphenyl)diazenyl)-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one</p>		<p>135</p>	<p>90</p>
 <p>7-hydroxy-4-methyl-8-(methyleneamino)chroman-2-one 4-(11-azanyl)benzenesulfonate</p>		<p>170</p>	<p>82</p>
 <p>7-hydroxy-8-((4'-((7-hydroxy-4-methyl-2-oxo-2H-chromen-5-yl)diazenyl)-3,3'-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-4-yl)diazenyl)-4-methyl-2H-chromen-2-one</p>		<p>189</p>	<p>44</p>

one			
-----	--	--	--

### III. 3. Évaluation de l'activité antioxydante et bactérienne des coumarines

Évaluation de l'activité biologique des molécules coumariniques synthétisées, articulée sur deux axes principaux : La première partie est consacrée à l'activité antioxydante des différentes solutions éthanoliques des dérivés azoïques des coumarines en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH. La deuxième partie. Consiste à l'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits).

#### III.4.1. Evaluation de l'activité antioxydant

L'activité anti-radicalaire des différents composés chimiques a été évaluée in vitro, par le test du piégeage du radical DPPH\*.

##### III.4.1.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

- ✚ Le DPPH est solubilisé dans le méthanol ou l'éthanol à raison de 0.025g/l ;
- ✚ Différentes concentrations des solutions de coumarine et de ses dérivés (5, 2.5, 1.25, 0.625, et 0.312 mg/ml) sont préparées dans l'éthanol ou l'acétone.
- ✚ Le mélange réactionnel est constitué de 50µl de chaque solution ou de coumarine et de ses dérivés ajoutées à 1,95ml de la solution alcoolique de DPPH ;
- ✚ Le mélange est vigoureusement agité, puis incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes ;
- ✚ Un contrôle négatif, est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'échantillon par 50µl d'éthanol ou de l'acétone.
- ✚ L'absorbance des mélanges réactionnels des échantillons et du contrôle sont lus à une longueur d'onde de 515 nm par un spectrophotomètre.
- ✚ Toutes les expériences sont répétées deux fois.

##### III.4.1.2. Résultats et discussions

**Inhibition % = (Abs control – Abs test) × 100 / Abs control**

**Tableau. III. 2. Le taux d'inhibition calculée pour différentes concentrations de la coumarine.**

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.312	59.81
0.615	60.38
1.25	61.63
2.5	62.65
5	<b>70.94</b>

**Tableau. III. 3. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de M**

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
-----------------------	-----------------------

0.312	0.11
0.615	0.56
1.25	14.30
2.5	4.31
5	<b><u>13.05</u></b>

**Tableau. III.4. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de O**

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.312	63.79
0.615	62.99
1.25	74.46
2.5	76.16
5	<b><u>77.86</u></b>

**Tableau. III.5. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de P**

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.312	5.78
0.615	21.90
1.25	32.23
2.5	50.39
5	<b><u>51.75</u></b>

**Tableau. III.6. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de BDC.**

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.312	5.67
0.615	11.69
1.25	11.23
2.5	10.78
5	<b><u>11.69</u></b>

**Tableau. III.7. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de BDH.**

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.312	27.46
0.615	27.58
1.25	53.34

2.5	51.98
5	<b><u>61.18</u></b>

**Tableau. III.8. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de SULF.**

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.312	20.43
0.615	14.75
1.25	24.63
2.5	22.02
5	<b><u>24.74</u></b>

**Tableau. III.9. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de MPH**

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.312	34.61
0.615	44.49
1.25	34.84
2.5	70.82
5	<b><u>70.71</u></b>

**Tableau. III.10 . Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de DOE .**

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.312	15.43
0.615	28.94
1.25	31.21
2.5	60.95
5	<b><u>66.85</u></b>

**Tableau. III.11. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de ANI.**

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.312	56.18
0.615	53.12
1.25	48.24
2.5	50.96
5	<b><u>21.67</u></b>

**Tableau. III.12. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de TOL.**

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.312	13.28
0.615	15.43
1.25	12.71
2.5	16.45
5	<b><u>39.38</u></b>



Tableau. III.13. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de NA.

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.312	60.15
0.615	61.06
1.25	63.11
2.5	66.51
5	<b>52.78</b>

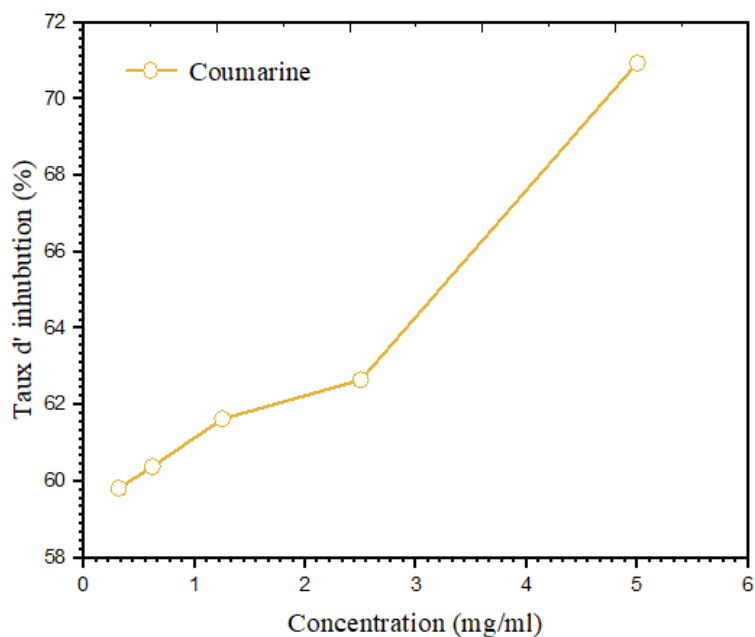


Figure. III. 1. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution, éthanolique de la coumarine

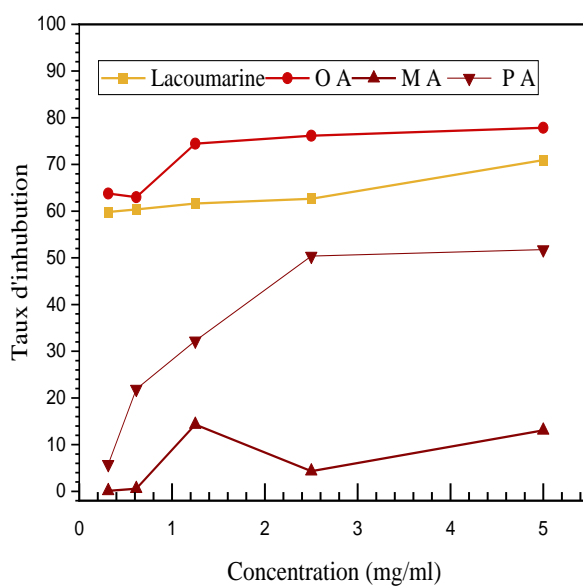


Figure. III. 2. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique de coumarine et ces dérivés (M, O, et Paminophénole).

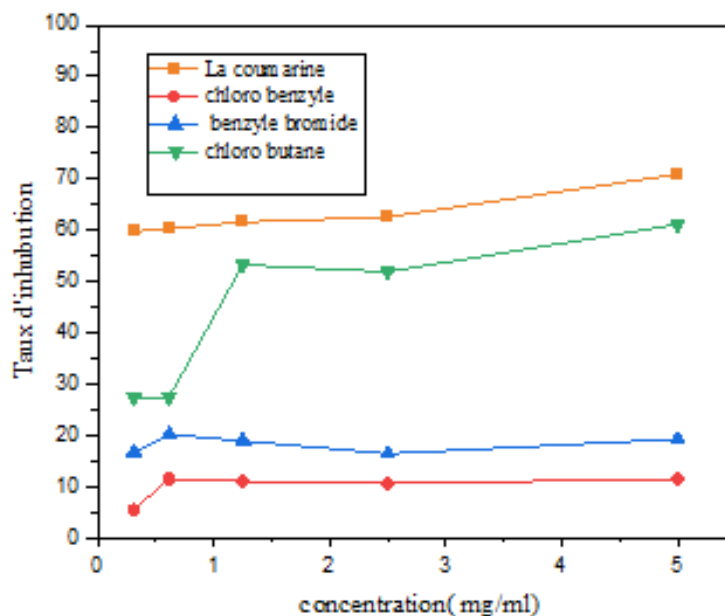


Figure. III.3. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique de la coumarine et ( BDC, BBC ,BDH).

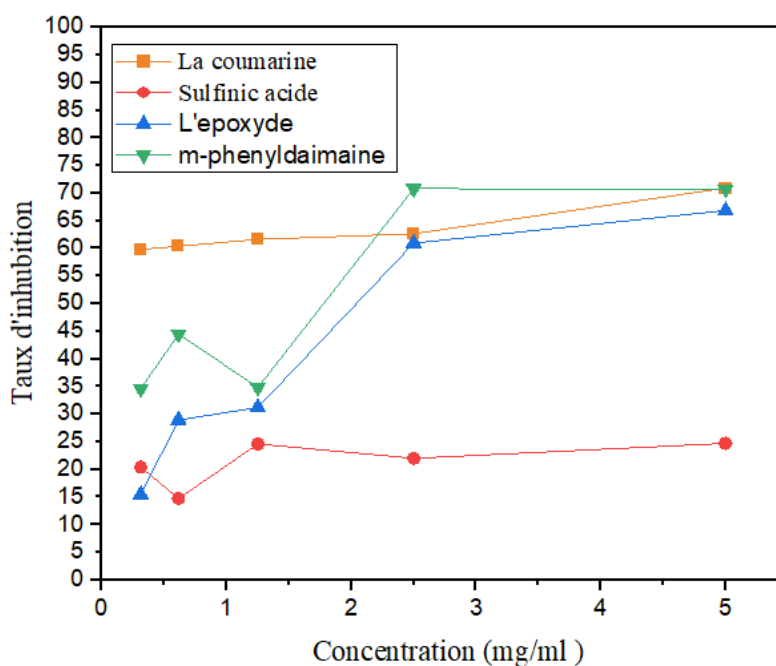


Figure. III.4. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique de la coumarine et ses dérivés (SULF , DOE,MPH).

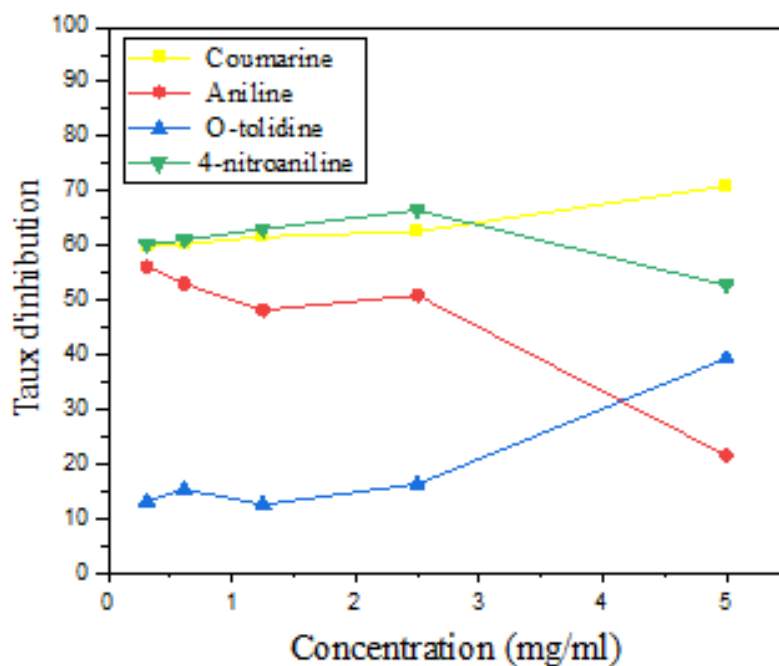


Figure. III.5. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique de la coumarine et (ANI,TOL ,NA ).

Tableau. III. 13. Valeurs d'IC 50 de coumarines synthétisées

Coumarines	Inhibition (IC50)
Coumarine	<b><u>0.030</u></b>
2-aminophenol	<b><u>0.036</u></b>
m-phenyldaimine	1.15
chlorobutane	2.70
l'époxyde	2.80
4-aminophenol	3.43
Aniline	3.87
o-tolidine	7.54
4-nitroaniline	8.95
3-aminophenol	21.93
Sulfinicacide	24.24
Chlorobenzyl	62.49

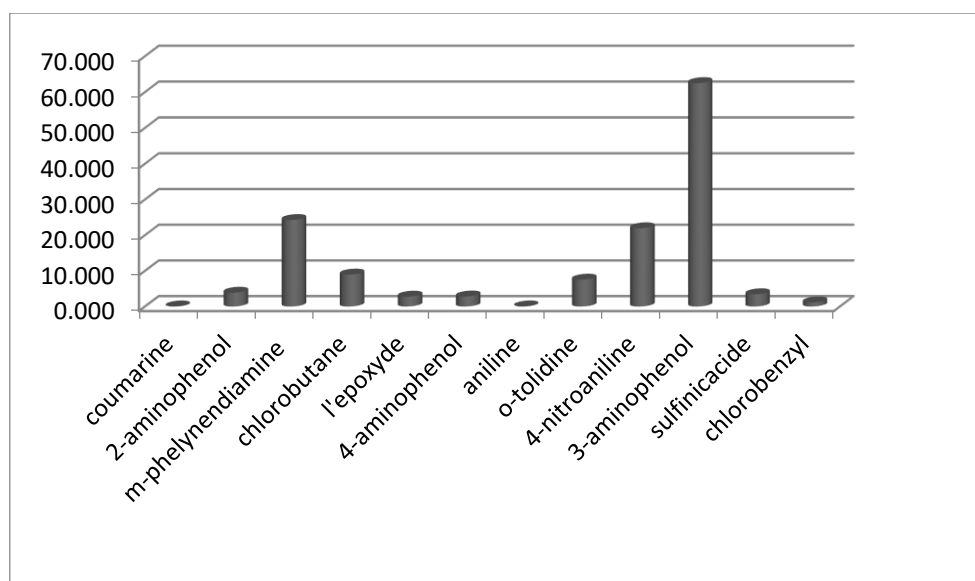


Figure. III. 6. Variation d'IC50 en fonction des dérivés coumariniques

### III. 3. 1. 2. Evaluation de l'activité antibactérienne

#### III. 3. 1. 2.1. Les souches testées

Les souches testées proviennent de laboratoire de microbiologie de l'Université de Saida elles sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau III .14. Les souches testées pendant l'évaluation des activités antimicrobiennes.

SOUCHE	CODE	GRAM
Escherichia coli	ATCC 25923	Négative
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	Positive

#### III. 3. 1. 2. 2. Préparation des puits

L'activité antibactérienne des différentes solutions éthanoïque du coumarine et ses dérivés a été étudiée pour chaque souche bactérienne. À partir d'une culture de 18 à 20 h (10<sup>5</sup> - 10<sup>6</sup> UFC/mL). L'ensemencement de l'inoculum de 1 mL est réalisé en surface du milieu Mueller Hinton préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Après 15 mn, des puits ont été découpés à l'aide de pipettes Pasteur (l'extrémité épaisse de 6 mm). Le fond des puits est obturé par une goutte de gélose Mueller Hinton pour limiter la diffusion des produits sous la gélose. Ensuite, 50 µl du produit dilué est distribué dans chaque puit. Après diffusion (20 mn), les cultures sont incubées dans des étuves à la température de 37 °C pendant 24 h, et les auréoles d'inhibition sont mesurées par un pied à coulisse. Le diamètre du puits (8 mm) est inclus dans les tableaux des résultats.

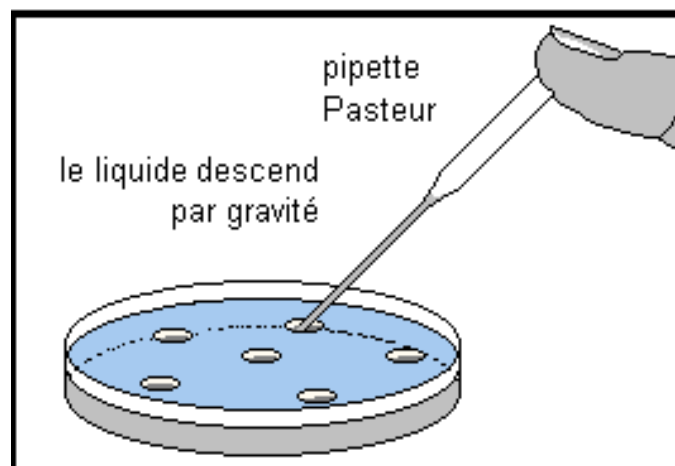


Figure III.7.Représentation des puits

### III. 3. 1. 2. 3. Préparation de l'inoculum

- ✚ L'ensemencement des souches bactériennes sur la gélose nutritive et l'incubateur à 37°C pendant 24h.
- ✚ On a prélevé à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur scellée, 3 à 5 colonies bien isolées.
- ✚ Décharger l'anse ou la pipette pasteur dans 5 ml d'eau physiologique stérile, bien homogénéiser la suspension bactérienne (la DO de suspension bactérienne entre 0.08 à 0.12 à 625 nm).

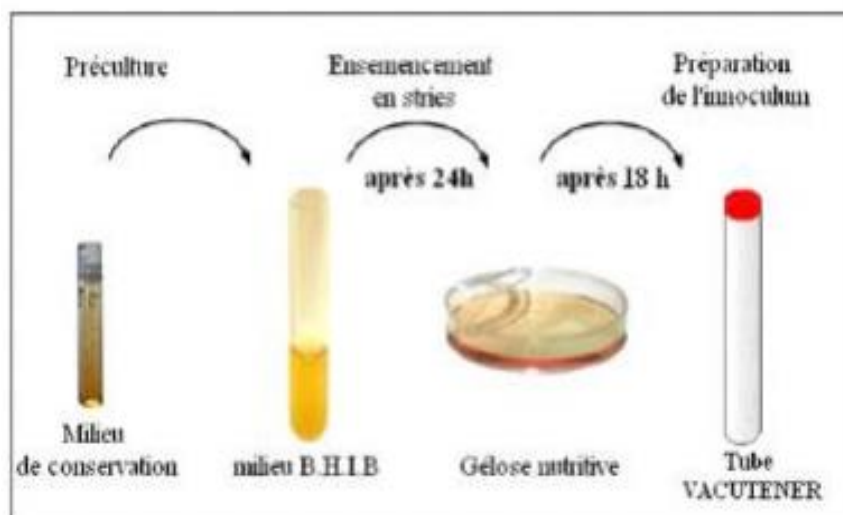


Figure. III.8. Préparation de l'inoculum

### III.4.2.4. L'ensemencement

- ✚ La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène ;
- ✚ Immerge un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- ✚ En fait Frotter l'écouvillon sur les boîtes pétries qui contient la gélose nutritif (Mueller Hinton) ;
- ✚ L'opération doit se faire deux fois en tournant la boîte de pétrie d'un angle de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

✚ Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose [38].

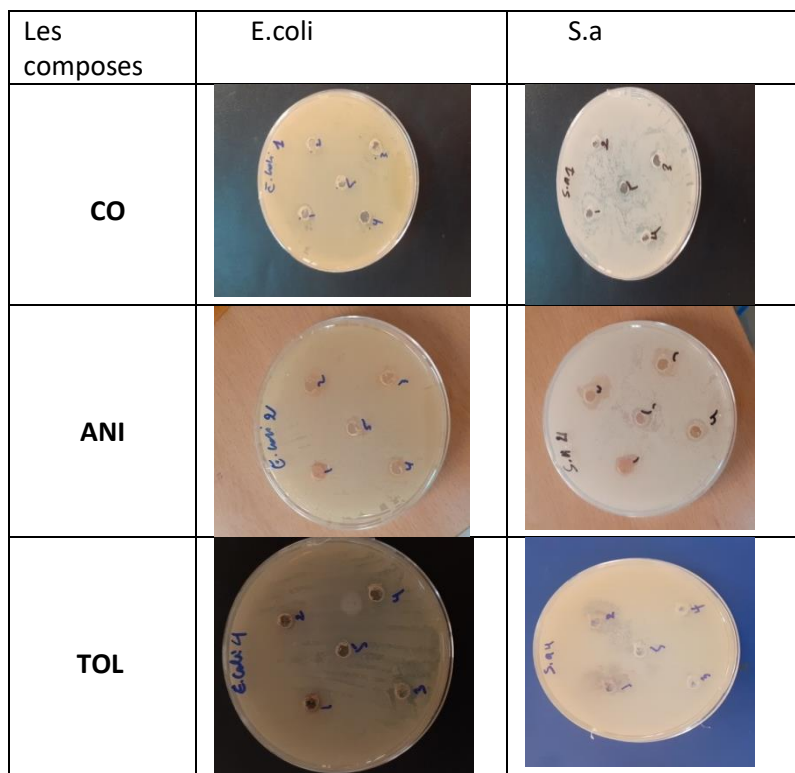
#### III.4.2.5. L'application des puits

Une fois les géloses Muller-Hinton sont ensemencées, les puits sont troués sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec benzène, en effet, on prélève 10 µl du produit et on le met dans les puits. (Dans chaque boîte quatre puits ont été réalisés à une seule concentration (C=0.05mg/ml) Pour le contrôle négatif (témoin) on le met dans à côté de la dihydropyridine dans la première boîte pétrie. En fin, les boîtes de Pétri sont laissées dans l'incubateur (37C° pour les bactéries).

#### III. 3. 1. 2. 6. Lecture des résultats

Tableau. III. 15. Diamètre de la zone d'inhibition \*(mm)

Les souches bactériennes	Escherichia coli	Staphylococcus aureus
Coumarine	27	-
Aniline	-	12.6
3-amino phénol	27	28.8
O-tolidine	-	21
4-nitro aniline	14.4	18
2-amino phénol	<b>36</b>	<b>36</b>
4-amino phénol	-	14.4
Benzylbromide	12.6	16.2
L'epoxyde	16.2	18
Chlorobenzyl	-	27
Chlorobutane	-	-
Sulfinic acide	-	-
m-phénylénédiamine	18	25.2



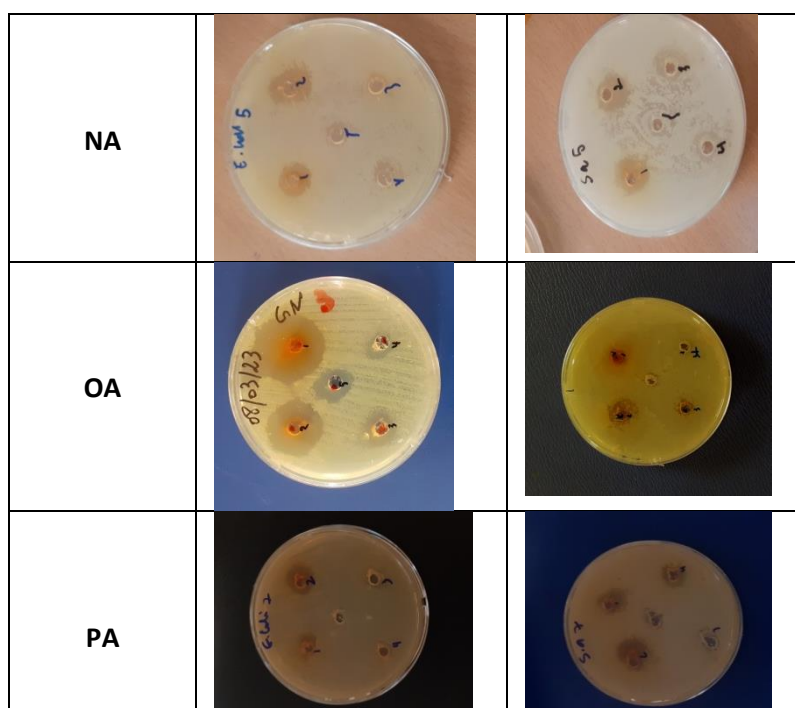


Figure. III.9. Résultat de l'activité antibactérienn

#### III. 4. Discussion des résultats

La réalisation de la réaction de *Pechmann* durant cette présente étude nous a permis d'obtenir un dérivé coumarinique à savoir ; le 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one qui est soumis à des réaction de O-alkylations et des réactions de copulation avec des sels de dizonium pour fournir douze composés ; dont quatre dérivés O-alkylé ( 1-chlorobutane ; bromure de benzyle ; chlorure de benzyle ; l'epoxyde et huit dérivés azocoumarines correspondants aux amines aromatique suivants ( aniline ; 4-nitroaniline ; 2-aminophenol ;3-aminophenol ;4-aminophenol ;o-tolidine ;sulfinic acide ; m-phenylendiaminne ). Ces molécules coumariniques ont fait l'objet d'une évaluation biologique comme antioxydants et antibactériens [1- 3] . En effet l'activité antioxydante des solutions coumarines a montré que nos molécules nouvellement synthétisées à une affinité importante pour le piégeage des radicaux libres, ce qui indique clairement que le coumarine et ces dérivés peuvent également être un potentiel agent antioxydant. Par conséquent, l'ordre de réactivité des dérives coumarine synthétisés vis-à-vis les radicaux libres de DPPH sont dans l'ordre suivant : coumarine > 2-aminophenol > m-phenylendiaminne > chlorobutane > l'epoxyde >4-aminophenol > aniline > o-tolidine > 4-nitroaniline > 3-aminophenol > sulfinic acide > chlorure de benzyl . De plus, les testes de l'activité antibactérienne effectuée sur les composés azocoumarine en utilisant deux souches de bactéries à savoir ;E.coli et staphylococcus aureus ont révelent que la plupart des dérivés des azocoumarines testés possèdent une activité forte vis-à-vis l'inhibition de la zone bactérienne, notamment, dans le cas de dérivé 2-aminophenol qui donne une activité antibactérienne importante contre les bactéries s.aureurs à Gram positives (36 mm) et les bactéries E.coli à Gramnégatives (36 mm) . Ces constatations ont été observées dans des travaux utilisent la même famille de coumarine azoïque [4] .L'ordre croissant de l'activité antibactérienne des coumarines préparée est comme suit pour :

**E.coli** :2-aminophenol coumarine >3-aminophenol>m-phenylendiaminne >L'epoxyde >4-nitroaniline >bromure de benzyl>o-tolidine .

**S.aureus** :2-aminophenol >3-aminophenol>chlorure de benzyl >m-phenylendiaminne>o->4-nitroaniline et ;l'epoxyde>bromure de benzyl >4-aminophenol >aniline >coumarine.

les résultats de l'activité antibactérienne ont permis d'obtenir d'importantes zones d'inhibition contre E.coli avec les valeurs :36 ;27 ;27 ;18 ;16.2 mm pour :2-aminophenol ;le 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2 one 3-aminophenol, m-phenylendiaminne ; l'epoxyde respectivement. Ainsi qu'une sensibilité moyenne d'E.coli et contre S.aureus avec des zones de valeurs 36, 27,18, 21,12.6 mm pour les composés de 7-hydroxycoumarine, 2-aminophenol, chlorurede benzyl, o-tolidine et aniline ; respectivement, même résultats a été observés sur des dérivés coumariniques similaires [5].



Référence bibliographique

- [1] I. Pharmacopoeia, "Microbiological assay and test, ed. Vol," II A-100-107, 1996.
- [2] J.-C. Rameau, "Contribution phytoécologique et dynamique à l'étude des écosystèmes forestiers. Applications aux forêts du Nord-Est de la France (Thèse J.-C. Rameau)," *Rev. For. française*, pp. 242–243, 1988.
- [3] S. D. Sorathiya, V. B. Patel, and A. R. Parikh, "Preparation and antimicrobial activity of 3-(p-(2', 5'-dibromobenzenesulphonamido)-phenyl)-5-aryl-1 H/acetyl/phenyl-2-pyrazolines," 1997.
- [4] A. Malani, A. Makwana, J. Monapara, I. Ahmad, H. Patel, and N. Desai, "Synthesis, molecular docking, DFT study, and in vitro antimicrobial activity of some 4-(biphenyl-4-yl)-1, 4-dihydropyridine and 4-(biphenyl-4-yl) pyridine derivatives," *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, vol. 35, no. 11, p. e22903, 2021.
- [5] F. F. Ye, J. R. Gao, W. J. Sheng, and J. H. Jia, "One-pot synthesis of coumarin derivatives," *Dye. Pigment.*, vol. 77, no. 3, pp. 556–558, 2008, doi: 10.1016/j.dyepig.2007.08.005.

# **Annexe.**

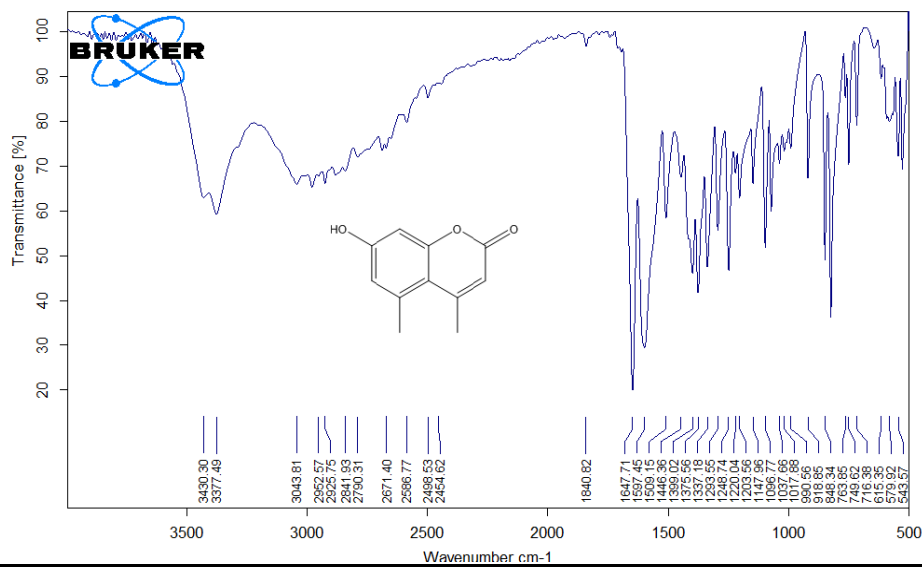


Figure 1 : Spectre d'absorption IR de 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2 one

IR (cm-1) :

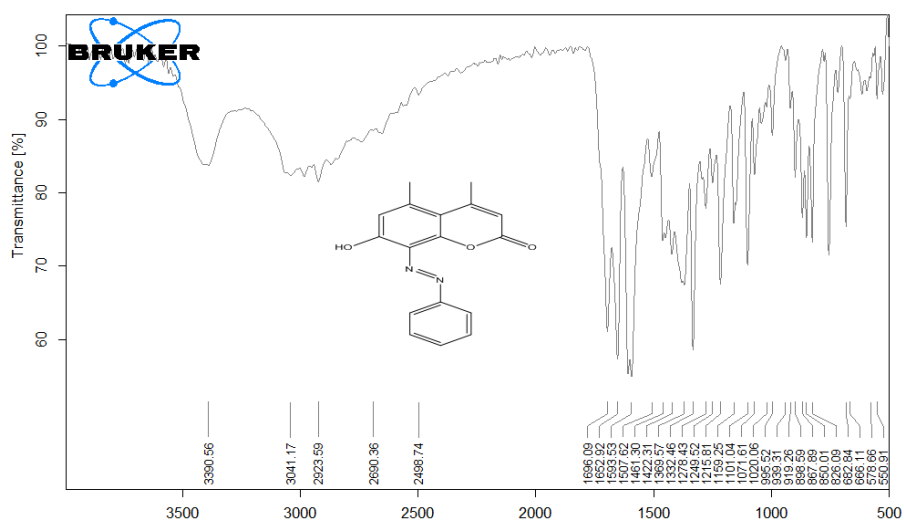
O-H (3377,49 cm<sup>-1</sup>)

C-H sp<sup>2</sup> ctri-aromatique (3043,81 cm<sup>-1</sup>) ;

CH<sub>3</sub> alcane (2952,57 cm<sup>-1</sup>) ;

C=O aromatique (1647,71 cm<sup>-1</sup>) ;

C-O (1293,55 cm<sup>-1</sup>) ;



**Figure 2 : Spectre d'absorption IR de 7-hydroxy-4,5-dimethyl-8-(phenyldiazenyl)-2H-chromen-2-one**

**IR (cm<sup>-1</sup>) :**

**OH (3390,56 cm<sup>-1</sup>);**

**C-H sp<sup>2</sup> (3041,17 cm<sup>-1</sup> );**

**C-H sp<sup>3</sup>(2923,59 cm<sup>-1</sup>);**

**C=O (1696,09 cm<sup>-1</sup>);**

**N=N (1461,30 cm<sup>-1</sup> ) ;**

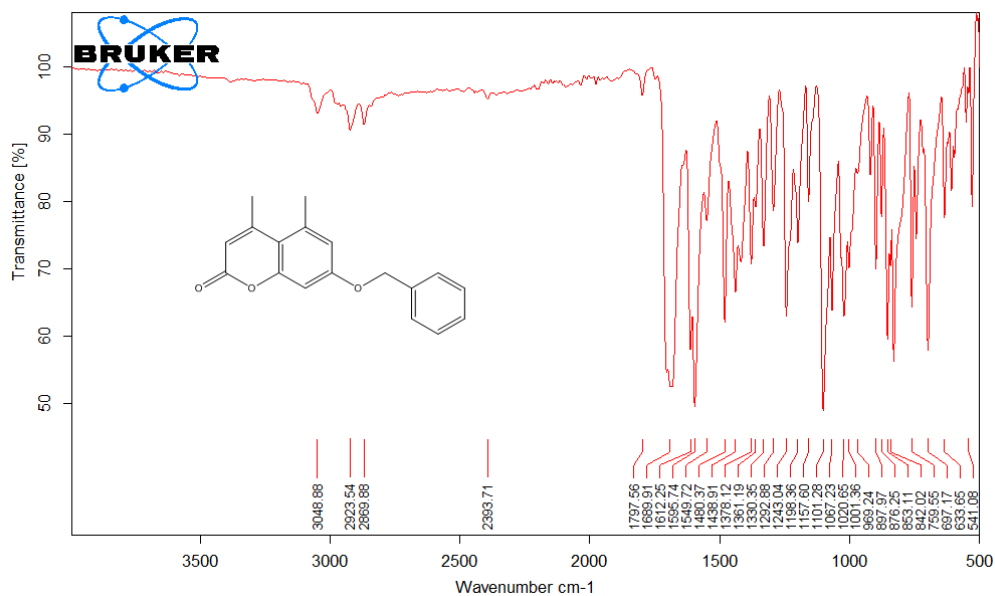


Figure 3 : Spectre d'absorption IR de 7-(benzyloxy)-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one

IR (cm-1) :

C-H  $sp^2$  (3048,88  $cm^{-1}$ );

CH<sub>3</sub> (2923,5-2869,88  $cm^{-1}$ );

C=C (1595,74  $cm^{-1}$ );

C=O (1689,91  $cm^{-1}$ );

C-O (1101,28  $cm^{-1}$ );

# **Conclusion Générale**

## Conclusion générale

Le present travail montre un aperçu sur la synthèse et l'application de quelques dérivés coumariniques en tant que agent antioxydant et antibactérien. Ces composés qui montrent une activité biologique intéressant vis-à-vis les radicaux libres et les bactéries ont été préparés avec succès en utilisant des réactions classiques et efficaces. La coumarine de base à savoir; 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one à été préparé par la méthode ancienne du Pechmun en chauffant à reflux une beta -cetoester (éthyl acetoacetate) avec un oricinol ou (3,5-dihydroxytoluène) en présence de l'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) comme catalyseur pour accéder au motif coumarine. En suite, le 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one est engagé dans des réactions de O-arylations avec quelques dérivés halogénés pour aboutir aux coumarines O-alkylés. En outre, le 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one peut donner lieu à des réactions de copulation en position (8) avec des sels de diazonium de quelques amines aromatiques pour fournir des molécules azo coumariniques. Les sels de diazonium utilisés dans les réactions de copulation avec le 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one ont été préparés par réactions de diazotation des amines aromatiques correspondantes. En effet, les résultats ainsi obtenus montrent que la réaction de Pechmun constitue une méthode simple et efficace pour accéder au 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one, aussi la réaction de O-arylation de la coumarine de départ par les dérivés halogénés donne des coumarines O-alkylés avec des rendements acceptables et pureté assez importante. La synthèse des azo coumarines par la réaction de copulation nous permettons d'obtenir des coumarines azoïques avec des couleurs caractéristiques et des rendements similaires, voir elever avec ceux que trouver dans la littérature.

L'étude de l'activité biologique des coumarines synthétisés subdivise en deux parties; la première est l'évaluation de l'activité antioxydante par l'utilisation de DPPH comme radical libre et qui peut facilement être piégé par nos composés coumariniques. La deuxième partie consiste à étudier l'activité antibactérienne sur deux genres de bactéries à savoir; **l'Escherichia Coli** à gram négatif et **staphylococcus aureus** à gram positif. Les résultats obtenus à partir de cette étude expérimentale permettent de tirer les conclusions suivantes :

- 1) La coumarine de base 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one préparé par le procédé de Pechmun à été obtenu avec un bon rendement (90%) et avec bonne pureté.
- 2) Le spectre FT-IR de coumarine montre une grande similarité avec celle trouvée dans la littérature, ce qui indique clairement la bonne déroulement de cette synthèse et la grande pureté de la coumarine obtenu.
- 3) Les sels de diazonium ont été utilisés dans les réactions de copulation avec la coumarine de départ sans aucune purification et sans caractérisation en raison de la difficulté de séparer ces sels instables, qui peuvent facilement être décomposés spontanément à une température supérieure à  $10^\circ C$ .
- 4) La préparation des azo coumarines en faisant réagir 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one avec les sels de diazonium à également été effectuée dans des conditions douces, ce qui permet de aboutir aux dérivés azo coumariniques contenant l'entité azoïques ( $-N=N-$ ).
- 5) Les tests de l'activité antioxydante effectués sur les dérivés coumariniques avec le DPPH montrent une bonne activité antioxydante. En effet, l'activité de piégeage du radical libre DPPH augmente avec la concentration des coumarines ou nous marquons que la coumarine

7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one a un potentiel antioxydant le plus élevée par rapport aux autres dérivés. D'une façon générale, l'activité antioxydante des coumarines est de l'ordre suivant:

Coumarine(0.030) >2-aminophenol(0.036) >m-phenylendiamine (1.15)>chlorobutane (2.70) >l'epoxyde(2.80) >4-aminophenol (3.43) >aniline(3.87) >o-tolidine (7.54)>4-nitroaniline (8.95)>3-aminophenol (21.93)>sulfinic acide (24.24)>chlorure de benzyl (62.49)

6) Les testes de l'activité antibactérienne des molécules ciblées en utilisant Escherichia Coli à gram négatif et staphylococcus aureus à gram positif révèlent que les coumarines ont un potentiel antibactérien intéressant, notamment dans le cas l'azo coumarine correspondent au 2-aminophenol qui montré un pouvoir antibactérien l'inhibition assez important vis-à-vis l'inhibition de l'évolution des bactéries Escherichia Coli et staphylococcus aureus. Le pouvoir antibactérien des coumarines est classée comme suit :

**Ecoli:** 2aminophenol (27)>coumarine (-)>3aminophenol (27)>mphenylendiamine (-)>L'epoxyde (27)>4nitroaniline (-)>bromure de benzyl (14.4)>o-tolidine (36)>

**S.aureus:**

2-aminophenol (-)>3-aminophenol (12.6)>chlorure de benzyl (28.8)>m-phenylendiamine (21) >o-tolidine (18)>4-nitroaniline (36)>l'epoxyde (14.4) >bromure de benzyl (16.2)>4-aminophenol (16.2)>aniline (18)>coumarine (27).

7) Les résultats de l'activité biologique révèlent que les coumarines O-alkylées ne possèdent aucune activité antibactérienne; par contre ces molécules ont, une activité antioxydante importante. Aussi, nous avons constater que les dérivés azo coumarines présentent une activité biologique très intéressante en comparaison avec celles des dérivés coumariniques O-alkylés.



## Résumé

Dans le présent travail quelques dérivés de la 7-hydroxycoumarine ont été synthétisés et évalués en tant qu'agent antioxydant et agent antibactérien contre deux différentes souches bactériennes pathogènes telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. Les composés synthétisés ; à savoir ; le 7-hydroxy-4,5-diméthyl-2H-chromen-2-one et leurs dérivés O-alkylés et azo-coumariniques ont été caractérisés par FT-IR. Ces composés testés comme agent antioxydant en utilisant le DPPH montrent une bonne activité antioxydante vis-à-vis le piégeage de radical libre DPPH, notamment dans le cas de dérivé azocoumarine (OA, IC50%=0.036). L'activité antibactérienne révèle que toutes les molécules coumariniques ont un pouvoir antibactérien important, à l'exception des dérivés coumariniques O-alkylés qu'ont une faible activité antibactérienne. La zone d'inhibition montre que les azocoumarines donnent un potentiel antibactérien assez élevé contre les deux souches bactériennes utilisées. Enfin, nous avons constaté que les dérivés azocoumarines présentent une activité biologique très intéressante en comparaison avec celles des dérivés coumariniques O-alkylés.

## Abstract

In the present work some 7-hydroxycoumarin derivatives were synthesized and evaluated as antioxidant and antibacterial agents against two different pathogenic bacterial strains such as *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. The compounds synthesized; namely; 7-hydroxy-4,5-dimethyl-2H-chromen-2-one and their O-alkylated and azo-coumarinic derivatives were characterized by FT-IR. These compounds tested as antioxidant agents using DPPH show good antioxidant activity towards DPPH free radical scavenging, particularly in the case of the azocoumarin derivative (OA, IC50%=0.036). Antibacterial activity reveals that all coumarin molecules have significant antibacterial power, with the exception of O-alkylated coumarin derivatives, which have low antibacterial activity. The zone of inhibition shows that azocoumarins give a fairly high antibacterial potential against the two bacterial strains used. Finally, we found that azocoumarin derivatives displayed a very interesting biological activity compared with that of O-alkylated coumarin derivatives.

## ملخص



في العمل الحالي تم تركيب بعض مشتقات 7-هيدروكسي كومارين وتقييمها كعامل مضاد للاكسدة وعامل مضاد للجراثيم ضد سلالتين مختلفتين من البكتيريا المسببة للأمراض مثل بكتيريا ستافيلوكوك و بكتيريا ايشريشياكولي المركبات المصنعة مثل 7-هيدروكسي كومارين ومشتقاته الالكيلية و الازوكومارين تم تعيين بنيتهم الجزيئية عن تظهر هذه المركبات التي تم اختبارها كعامل مضاد للاكسدة بواسطة نشاطا جيدا مضادا للاكسدة DPPH طريق FTIR يكشف النشاط المضاد (OA, IC50= 0.036) مقابل محاصرة الجذور الحرة ل لاسيما في حالة مشتق اوزو كومارين للبكتيريا ان جميع جزيئات الكومارين لها قوة مضادة للجراثيم باستثناء الالكيلية لها نشاط مضاد للجراثيم ضعيف. تظهر منطقة التثبيط ان الازو كومارين يعطي قدرة عالية الى حد ما على مقاومة البكتيريا ضد السلالتين البكتيريتين المستخدمتين. اخيرا وجدنا ان مشتقات الازوكومارين تقدم نشاطا بيولوجيا الكومارين مقارنة بمشتقات مثير الاهتمام