

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

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

En Sciences chimiques

**Spécialité : Chimie organique**

Thème

## **Synthèse et caractérisation des composés organiques à base de 1,4 dihydropyridine :évaluation biologique**

Présenté par :

- Mlle : BESSADET Fatima Zohra Bouchra
- Mlle : BENZAOUZ Wiam Nour Elhouda

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Président	Mr. GUENDOZI Abdelkarim	MCA Université SAIDA
Examineur	Mme. BOUTALEB Nadia	MCB Université SAIDA
Examineur	Mlle. AYAT Moulkheir	MCA Université SAIDA
Rapporteur	Mr. OUICI Houari Boumediene	Pr Université SAIDA

**Année universitaire 2021/2022**

*Dédicace*

*A ma Mère*

*Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.*

*Tous les mots du monde ne sauront exprimer l'immense amour et la reconnaissance que je te porte.*

*En témoignage, je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée*

*Mon très cher père pour tous ce qu'il a fait pour moi durant toutes mes années d'étude*

*Ma grande mère aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, QU'ALLAH te préserve et te procure santé et longue vie.*

*Mes chers frères Larbi et Mohamed, je vous souhaite tout le bonheur du monde et la réussite dans vos vies personnelles et professionnelles, merci d'être là pour moi*

*Mes tantes « Fatiha, Zineb et kheira ». Ma cousine Ibtissem*

*Chers oncles Slimane et Djilali pour ses soutiens moral et ses aides, merci*

*Ma chère amie Sirine, Mercie*

*A ma chère binôme Wiam et toute sa famille*

*A tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin*

*Bouchra*

*Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*La mémoire de ma grande mère*

*Mon très cher père pour tous ce qu'il a fait pour moi durant toutes mes années d'étude, pour ses encouragements et ses orientations.*

*Ma très chère mère pour son sacrifice, son aide, ses conseils et sa patience.*

*Mon cher oncle TOUFIK pour son soutien moral et son aide, merci d'être là pour moi*

*Mes chers amis « sarah, fadila et zahoume » en témoignage de toute mon affection.*

*Mes chers frères SIDAHMED et KHALIL.*

*A la famille BENAZZOUZ et DOUMI entre lesquelles j'ai grandi*

*A ma chère BOUCHRA et sa famille.*

*A tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin*

*Wiam*

## **Remerciements**

*Même si parfois les mots perdent son éclat à côté de la profondeur des sentiments, il faut pourtant les concrétiser en remerciements pour honorer tous ceux qui ont aidé ce travail.*

*Au terme de ce travail, nous tenons à remercier en premier ALLAH, DIEU le Tout Puissant qui m'a donné la patience et le courage pour accomplir ce travail.*

*Nos sincères remerciements s'adressent à notre encadreur OUICI HOUARI Boumediene, professeur à l'Université Moulay Tahar Saïda, et le remercier d'avoir encadré ce travail.*

*Nous tenons également à lui exprimer notre profonde reconnaissance pour tous les précieux conseils qu'il nous a donnés et pour le temps qu'il a consacré pour finir ce travail dans des bonnes conditions.*

*Nous voudrions aussi remercier les membres de notre jury : Mme BOUTALEB Nadia et madame AYAT Moulkheir d'avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Nous adressons de chaleureux remerciements à Mr GUENDOZI Abdelkarim Le président du jury qui nous a honorés en acceptant de présider le jury et d'évaluer ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos reconnaissances au Professeur BOUTALEB MILOUD, de son grand soutien moral et ses précieux conseils*

*Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé au laboratoire de Chimie à l'université de Saïda, dirigé par Monsieur le Professeur BOUDOUFAROUK que nous voudrions remercier sincèrement pour sa contribution, ses conseils, son aide et sa bienveillance dans la réalisation de ce travail*

## Sommaire

Introduction générale.....	1
<b><u>CHAPITRE I.</u></b> Etude bibliographique de la réaction de Hantzsch	
I.1 Introduction.....	4
I-2. Historique de la réaction de Hantzsch.....	4
I. 3. Méthodes de synthèses des dérivés pyridiniques.....	5
I. 3. 1. Synthèses industrielle de pyridine.....	5
I. 3. 1. 1. Synthèse industrielle à partir des cétones et des aldéhydes.....	5
I. 3. 1. 2. Synthèse utilisant des nitriles et l'acétylène.....	5
I. 3. 2. Synthèse de la pyridine au laboratoire.....	6
I. 3. 2. 1. Synthèse a partir des cétones $\alpha,\beta$ -insaturées.....	6
I. 3. 2. 2. Synthèse a partir des $\gamma,\delta$ -alkynyl oximes.....	6
I. 3. 2. 3. Synthèse à partir des N-propargyl énamines.....	6
I. 3. 2. 3. Synthèse à partir des vinylcarbénoides.....	7
I. 3. 2. 4. Synthèse de dérivés dihydropyridines par réaction de Hantzsch.....	7
I. 3. 2. 5. Historique de la réaction de Hantzsch .....	8
I. 3. 2. 6. Mécanisme de la réaction de Hantzsch .....	9
I. 4. Réactivité des dihydropyridines (DHPs) .....	10
I. 5. Méthodes de synthèse des dérivés de la 1,4-dihydropyridine DHP.....	11
I. 5. 1. Synthèse à partir de pyridine et le sel pyridinium .....	11
I. 5. 2. Synthèse à partir de l'iodure de 3,5-Bis (triméthylsilyl)-1-méthyl-4-thiophénylpyridinium.....	12
I. 5. 3. Synthèse à partir de sel pyridinium et un organométallique.....	12
I. 5. 4. Synthèse à partir de sel 3-éthylindole pyridinium.....	13
I. 6. Intérêts biologiques des dihydropyridines (DHPs) .....	13
I. 7. Propriétés pharmacologiques .....	15
I. 7. 1. Inhibiteurs des canaux calciques (ICA++) .....	15
I. 7. 2. Activités antituberculeuses .....	15
I. 7. 3. Activités anticancéreuses .....	15
I. 7. 4. Activités antioxydantes .....	16

I. 7. 5. Activités antidyslipidémiques.....	16
I. 7. 6. Activités analgésiques et anti-inflammatoires.....	17
I. 7. 7. Activité anti-ulcère.....	17
Références bibliographiques.....	18
<b>CHAPITRE II.</b> Etude bibliographique sur l'activité biologique	
II. 1. Introduction.....	22
II. 2. Activité biologique.....	22
II. 2. 1. Activité anti-oxydante.....	22
II. 2.1. 1. Définition de stress oxydant.....	22
II. 2. 1. 2. Origine du stress oxydatif .....	22
II. 2. 1. 3. Mécanismes pro-oxydants.....	23
II. 2. 1. 4. Définition d'un radical libre .....	23
II. 2. 2. Les radicaux libres dans les systèmes biologiques.....	24
II. 2. 2. 1. Rôles biologiques des radicaux libres .....	24
II.2.2.2. Les conséquences du stress oxydant .....	24
II. 2. 3. Les antioxydants .....	25
II. 2. 3. 1. Classification des antioxydants .....	25
II. 2. 3. 1a. Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme.....	25
II. 2. 3. 1b. Classification des antioxydants suivant la nature chimique .....	26
II. 2. 3. 2. Mécanisme d'action des antioxydants .....	26
II. 2. 3. 3. Evaluation de l'activité antioxydante .....	27
II .2.3.4. Test du piégeage du radical libre DPPH .....	27
II .2.3.5. Expression des résultats .....	28
II .2 .3.6 Calculs des concentrations inhibitrices à 50% "IC50" .....	28
II. 2. 4. Activités antibactérienne .....	29
II. 2. 4. 1. Les bactéries .....	29
II. 2. 4. 1a. Bactéries à gram négatif .....	30
II. 2. 4. 1b. Bactéries à gram positif .....	31
II.2.5. Lecture des résultats .....	32
II. 3. Activités antioxydant et antibactérien des dérivés dihydropyridine.....	33
Référence bibliographique .....	34

### **CHAPITRE III.** synthèse et évaluation biologique des dihydropyridines

III. 1. Introduction.....	39
III. 2. Description générale de synthèse des dihydropyridines (DHPs).....	39
III. 2. 1. Mécanisme de formation 4-R-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle.....	40
III. 2. 2. Alkylation de 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle .....	42
III. 3. Protocoles expérimentales de la synthèse des DHPs et ses drivés.....	44
III. 3. 1. Synthèse du 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle.....	44
III. 3. 2. N-alkylation du 4-R-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle.....	47
III. 4. Evaluation de l'activité biologique des DHPs.....	49
III. 4. 1. Evaluation de l'activité antioxydant.....	49
III. 4. 1. 1. Test du piégeage du radical libre DPPH.....	49
III. 4. 1. 2. Résultats et discussions.....	50
III.4. 2. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	55
III. 4. 2. 1. Les souches testées.....	55
III. 4. 2. 2. Préparation de l'inoculum.....	56
III. 4. 2. 3. Préparation des puits.....	56
III. 4. 2. 4. L'ensemencement.....	56
III. 4. 2. 5. L'application des puits.....	57
III. 4. 2. 6. Lecture des résultats.....	58
III. 5. Discussion des résultats.....	59
Références bibliographiques.....	61
Annexe.....	63
Conclusion.....	69

## Liste des schémas

### CHAPITRE I. Etude bibliographique de la réaction de Hantzsch

Schéma. I. 1. Synthèse de 2-amino-4,6-diarylpyridine à partir des cétones $\alpha,\beta$ -insaturées	6
Schéma. I.2 Synthèse de 2,6-aryl-3-hydroxy pyridine à partir des $\gamma,\delta$ -alkynyl oximes	6
Schéma. I. 3. Synthèse de 2,4-aryl-5-méthyl-6-Roxy pyridine à partir des N-propargyl énamines	7
Schéma. I. 4. Synthèse de 2-carboxylate de méthyl-4-aryl-5-alkylonyl-6-alkyl pyridine à partir des vinylcarbénoides	7
Schéma. I. 5. La synthèse de 1,4-dihydropyridine 3,5-dicarboxylate de diethyl	8
Schéma. I.6. Mécanisme de formation de dihydropyridines substituées par réaction de Hantzsch	10
Schéma. I. 7. Réduction des oléfines par dérivés de la 1,4-dihydropyridine	10
Schéma. I. 8. Réduction des quinoléines en polyhydroquinoléines par DHPs	11
Schéma. I. 9. Synthèse de 5-(4,4-diméthyl-4,5-dihydrooxazol-2-yl)-2,6-diméthyl-phénylnicotinate de tertio-butyle	12
Schéma. I. 10. Synthèse de N-méthyl-4-hydropyridin-4-méthylmalononitryl	12
Schéma. I. 11. Synthèse 4-aryl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diméthyle	12
Schéma. I. 12. Synthèse de 4-dihydropyridine à base d'indole	13

### CHAPITRE III. synthèse et évaluation biologique des dihydropyridines

Schéma. III. 1. La réaction de Hantzsch de synthèse de DHPs	40
Schéma. III. 2. Mécanisme de synthèse de dihydropyridines	42
Schéma. III.3. La réaction d'alkylation DHP	43
Schéma. III. 4. Mécanisme de synthèse de N-alkyl dihydropyridines	44

## Liste des figures

### Chapitre I. Etude bibliographique sur la réaction de Hantzsch

Figure. I. 1. Structure moléculaire de la Pyridine	4
Figure. I. 2. Structure moléculaire d'acide 3-pyridine carboxylique, niacinamide et isoniazide	5
Figure. I. 3. Structure moléculaire dedihydropyridine substituée	8
Figure. I. 4. Structure moléculaire de 2,4,6- triméthyl-1,4-dihydropyridine-3,5 dicarboxylate de diéthyle	9
Figure. I. 5. Structure moléculaire de 2,4,6-triméthyl-5,6-dihydropyridine-3,5- dicarboxylate de diéthyle	9
Figure. I. 6. Structure moléculaire de La Diludine	13
Figure. I. 7. Structure moléculaire de Foridone	14
Figure. I. 8. Structure moléculaire de Cérébrocrast	14
Figure. I. 9. Structure de Glutapyrone	14
Figure. I. 10. Structure moléculaire de Félodipine	15
Figure. I. 11. Structure moléculaire depyrazinamide	15
Figure I. 12. Structure de 2,6-diméthyl-3,5-bis-N-(heteroaryl) -carbamoyle-1,4- dihydropyridine	16
Figure. I. 13. Structure de 2,6-diméthyl-3, 5-dibutyloxy-carbonyl-1, 4-dihydropyridines	16
Figure I. 14. Structure de 2,6-diméthyl-3,5-dicarboxylate diethyl -1,4-dihydropyridines	16
Figure. 15. Structure de quelques dihydropyridineantidyslipidémiques	17
Figure. I. 16. Structure moléculaire de piroxicam	17

## **Chapitre II.** Etude bibliographique sur l'activité biologique

Figure. II. 1. Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant	28
Figure. II. 2. Appareil de spectrophotométrie UV-visible	28
Figure. II. 3. Les différentes bactéries	30
Figure. II. 4. Vue sous le microscope électronique de bactérie Escherichia coli	30
Figure. II. 5. Vue sous le microscope électronique de bactérie Bacillus cereus	31
Figure. II. 6. Image en microscopie électronique montre des cellules d'une souche de Staphylococcus aureus	32
Figure. II. 7. Quelques molécules dihydropyridines biologiquement actives.	33

## **Chapitre III.** Synthèse et évaluation biologique des dihydropyridine

Figure. III. 1. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution acétonique des DHPs.	53
Figure. III. 2. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution acétonique des DHPs	54
Figure. III. 3. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique des DHPs N-alkylés	54
Figure. III. 4. Variation d'IC50 en fonction des dérivés DHPs	55
Figure. III. 5. Protocole expérimentale de l'activité antibactérienne	57
Figure. III. 6. Résultat de l'activité antibactérienne	59

## Liste des tableaux

### Chapitre II Etude bibliographique sur l'activité biologique

Tableau. II. 1. Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition	32
--	----

### Chapitre III Synthèse et évaluation biologique des dihydropyridine

Tableau. III. 1. Dérivés de dihydropyridines DHPs synthétisés par réaction de Hantzsch	45
Tableau. III. 2. Optimisation des conditions opératoires de la réaction de N-alkylation	48
Tableau. III. 3. Dérivés de dihydropyridines DHPs N-alkylés	48
Tableau. III. 4. Le taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de (DHPE) de l'éthanal	50
Tableau. III. 5. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de (DHPV) de la vanilline	50
Tableau. III. 6. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de (DHPB) benzaldéhyde	50
Tableau. III. 7. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de (DHPF) de formaldéhyde	51
Tableau. III.8. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de (DHPBu) de butanal	51
Tableau. III. 9. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations (DHPN) de N,N-diméthylaminobenzaldéhyde	51
Tableau. III. 10. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations (DHPC) de cinnamaldéhyde	52
Tableau. III. 11. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de (DHPE) epichlorophyrine	52
Tableau. III. 12. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de (DHPCBu) de chlorobutane	52
Tableau. III. 13. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de (DHPCB) chlorure de benzyle	53
Tableau. III. 14. Valeurs d'IC <sub>50</sub> des différents DHPs synthétisés	55
Tableau. III.15. les souches testées pendant l'évaluation des activités antimicrobiennes	56
Tableau. III. 16. Diamètre de la zone d'inhibition en *(mm)	58

## Liste des abréviations

IC 50	Concentration inhibitrice à 50%
SOD	Superoxyde dismutase
FRAP	Pouvoir antioxydant réducteur ferrique
ERO	Les espèces réactives d'oxygène
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DHPs	Dihydropyridines
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DMF	N,N-Diméthylméthanamide
DDPH	2,2-diphényl 1-1-picrylhydrazyl
DHPE	2,4,6- triméthyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle
DHPB	2,6-diméthyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle
DHPF	2,6-diméthyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle
DHPBu	2,6-diméthyl-4-propyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle
DHPN	Diethyl 4-(4-(diméthylamino)phenyl)-2,6-diméthyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate
DHPC	(E)-diethyl 2,6-diméthyl-4-styryl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate
DHPV	Diethyl 4-(4-hydroxy-3-méthoxyphenyl)-2,6-diméthyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate
DHPCBu	Diéthyle 1-butyl-2,6-diméthyl-4-phenyl-1-hydropyridine-3,5-dicarboxylate

DHPCB

Diéthyle 1-benzyl-2,6-diméthyle-4-phenyl-1-hydropyridine-3,5-dicarboxylate

DHPEp

Diéthyle 2,6-diméthyl-1-(oxiran-2-ylmethyl)-4-phenyl-1-hydropyridine-3,5-dicarboxylate

# *Introduction Générale*

---

Les composés organiques hétérocycliques sont très présents dans les produits naturels en particulier dans les alcaloïdes. Ils occupent une place importante en chimie organique. Ils sont utilisés dans différents domaines particulièrement dans l'industrie pharmaceutique où ils ont trouvé des applications dans le traitement de nombreuses maladies. En effet, on les trouve comme antibactériens, anticancéreux, antipaludéens et antioxydants.

L'intérêt porté aux antioxydants naturels ou synthétiques, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement car ils forment, pour notre corps, un système de défense contre les substances réactives oxygénées, ils inhibent la formation des radicaux libres et s'opposent à l'oxydation de macromolécules. Chaque molécule d'antioxydant ne peut réagir qu'avec un seul radical libre et par conséquent, il faut constamment refaire le plein de ressources en antioxydants et évaluer leur potentiel antioxydant utilisant des méthodes regroupées selon leurs principes (DPPH•, ...).

La demande de l'industrie chimique et pharmaceutique de nouvelles molécules hétérocycliques, aux propriétés thérapeutiques antioxydantes intéressantes et aux modes de préparation de plus en plus respectueux de l'environnement parmi lesquelles la pyridine et ses dérivés, ne cesse de croître. Compte tenu de l'importance de ce sujet, nous nous sommes intéressés à cette famille de molécules, et en particulier les dérivés de 1,4-dihydropyridine en raison de leurs potentielles propriétés biologiques et pharmacologiques remarquables. En effet, Les dérivés dihydropyridine ont été découvertes comme agents antihypertenseurs et antagoniste calcique qui peuvent bloquer les canaux calciques en diminuant les problèmes cardiaques et artériels. En outre, de nombreuses molécules de dihydropyridines ont également été classées comme importantes classe de molécules agissant au niveau des canaux calciques en freinant l'entrée de calcium dans les cellules musculaires lisses vasculaires et les cardiomyocytes. D'autres dérivés de 1,4-dihydropyridine ont été identifiés comme un puissant bloqueur de l'influx des ions calcium dans les cellules musculaires, et sont considérés comme une substance précieuse pour le traitement de l'hypertension artérielle et de l'angine de poitrine.

Vue l'importance biologique et pharmacologique de ces dérivés à base 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle, la chimie des dihydropyridine a évolué d'une manière intensive dans les dernières années. En effet, L'attention particulière dans ce travail est centrée sur la synthèse et l'élaboration de nouveaux dérivés dihydropyridiniques, afin d'étudier l'évolution de leur activité biologique, notamment l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne. La synthèse de composés contenant le motif 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle a été réalisée par l'application de la réaction de Hantzsch comme

procédé simple et efficace pour accéder aux dérivés 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate substitués en position 4, ce qui nous permet d'étudier l'activité biologiques en fonction de la structure moléculaire de ces composés.

Ce travail est réparti en trois chapitres :

**Chapitre I.** Présente une recherche bibliographique sur les propriétés chimiques ainsi que les différentes méthodes de synthèse des dérivés de la pyridine avec des exemples typiques montrant les voies classiques et modernes permettant l'obtention des dérivés pyridiniques.

**Chapitre II.** Est consacré aux notions générales sur l'activité biologique des composés chimiques, en particulier l'activité antioxydante et antibactérienne. Le chapitre présente également quelques exemples illustratifs des dérivés dihydropyridines utilisés comme agents antioxydant et antibactérien.

**Chapitre III.** Montre les résultats expérimentaux obtenus de la synthèse et l'évaluation des dérivés 1,4-dihydropyridine comme agent antioxydant et antibactérien. La discussions des résultats est donner à la fin de ce chapitre.

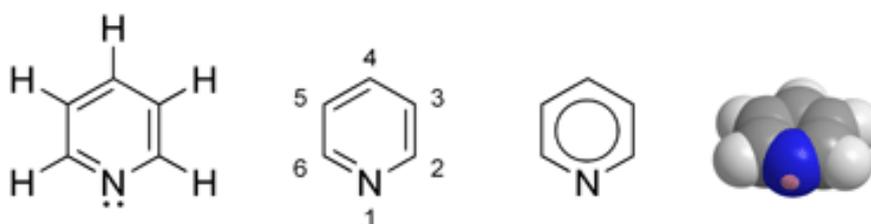
# CHAPITRE I

---

*Etude bibliographique sur la synthèse,  
réactivité et application des  
dihydropyridines*

## I. 1. Introduction

La pyridine ou azine, de formule brute  $C_5H_5N$  est un composé hétérocyclique simple et fondamental qui se rapproche de la structure du benzène où un des groupes CH est remplacé par un atome d'azote (**Figure. I. 1**). Elle existe sous la forme d'un liquide limpide, légèrement jaunâtre ayant une odeur désagréable et pénétrante, Elle est très utilisée en chimie de coordination comme ligand et en chimie organique comme réactif et solvant. Les dérivés de la pyridine sont très nombreux dans la pharmacie et dans l'agrochimie. La pyridine est utilisée comme précurseur dans la fabrication d'insecticides, d'herbicides, de médicaments, d'arômes alimentaires, de colorants, d'adhésifs, de peintures, d'explosifs et de désinfectants[1].

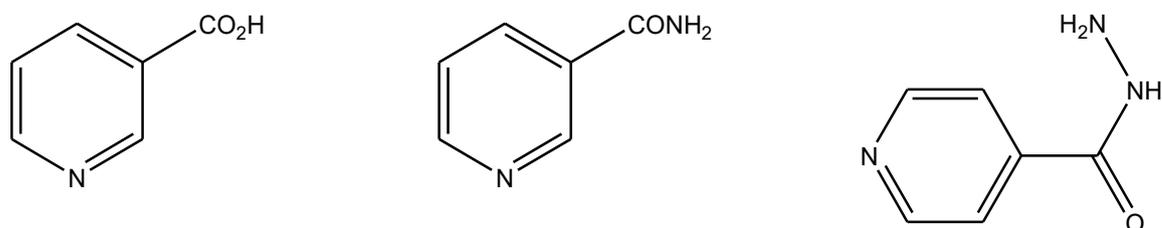


**Figure. I.1. Structure moléculaire de la Pyridine**

## I.2. Historique

La pyridine a été découverte en 1851 par le chimiste Thomas Anderson grâce à des études sur la distillation de l'huile d'os et de matières animales. Le mot pyridine provient du grec « pyr » le feu et « idine » est le suffixe utilisé pour les bases aromatiques[2]. Un radical de la molécule est appelé pyridyle. La pyridine ainsi que plusieurs pyridines alkylées ont ainsi été obtenues au début par la pyrolyse des os grâce à une condensation entre l'ammoniac et les aldéhydes ou les cétones, produits par la décomposition du glycérol et des dérivés azotés contenus dans les ossements. La pyridine peut aussi être obtenue par distillation du charbon, du goudron de charbon d'os, le goudron de houille et le goudron à distillation lente, dans les huiles pyrogénées d'origines diverses, (les huiles des schistes bitumineux ainsi que l'huile de café contiennent de la pyridine). La pyridine est ensuite récupérée par lavage de goudron de houille au moyen d'acide sulfurique dilué, la séparation étant ensuite effectuée à l'aide d'alcalins[3]. La structure de la pyridine a été établie en 1869-1870 par Wilhelm Körner et James Dewar[4]. La découverte de la structure de la pyridine a permis le développement de plusieurs voies de synthèse[2] : en 1877, William Ramsay réalise la synthèse de la pyridine à partir d'acétylène et d'acide cyanhydrique. Puis en 1882, Arthur Hantzsch réalise lui aussi une synthèse de la pyridine. Cependant, la pyridine est restée très peu utilisée pendant des décennies et les petites quantités de pyridine utilisées étaient obtenues par distillation du charbon. La pyridine est devenue importante dans les années 1930 avec la découverte de

la niacine (vitamine B<sub>3</sub>), qui prévient les démences. Depuis les années 1940, la 2-vinylpyridine est utilisé dans la synthèse de latex[2]. La demande en pyridine n'a cessé d'augmenter jusqu'à nos jours grâce à la découverte de nombreuses biomolécules pyridiniques de sources naturelles[2]. La demande était motivée par le besoin d'acide 3-pyridine carboxylique (niacine), de son amide (niacinamide)(**Figure. I.2**) et du médicament antituberculeux Isoniazide(**Figure. I. 2**)[5].



**Figure. I.2.** Structure moléculaire d'acide 3-pyridine carboxylique, niacinamide et isoniazide

### I. 3. Méthodes de synthèses des dérivés pyridiniques

#### I. 3.1. Synthèse industrielle de pyridine

La découverte de la structure de la pyridine a permis le développement de plusieurs voies de synthèse: en 1877, William Ramsay réalise la synthèse de la pyridine à partir d'acétylène et d'acide cyanhydrique. Puis en 1882, Arthur Hantzsch réalise lui aussi une synthèse de la pyridine.

##### I.3.1. 1. Synthèse industrielle à partir des cétones et des aldéhydes

La synthèse à partir d'aldéhydes et/ou de cétones et d'ammoniac est le mode de production de la pyridine le plus courant, La réaction la plus utilisée est la condensation entre l'acétaldéhyde et le formaldéhyde en présence d'ammoniac[6], cette réaction se déroule dans 2 étapes :

##### **Etape. 1 : Formation de l'acroléine**



##### **Etape. 2 : Réaction de l'acroléine avec l'acétaldéhyde en présence d'ammoniac**



##### I. 3. 1. 2. Synthèse utilisant des nitriles et l'acétylène

Une autre voie de synthèse est la réaction entre un nitrile et l'acétylène en phase liquide avec un catalyseur au cobalt [1]. La température de réaction se situe entre 120°C et 180 °C à une pression comprise entre 0.8 et 2.5 MPa. Cette voie de synthèse est toute fois utilisée pour la production sélective de pyridines ortho-substituées. Ainsi l'acétonitrile et l'acétylène réagissent en présence de cobaltocène pour donner la 2-méthylpyridine avec un rendement de 76%. L'acrylonitrile réagit avec l'acétylène en présence de cyclopentadiényl)cobalt-1,5-cyclooctadiène pour donner la 2-vinylpyridine avec un rendement de 93% [7].

### I. 3.2. Synthèse de la pyridine au laboratoire

#### I. 3.2. 1. Synthèse à partir des cétones $\alpha,\beta$ -insaturées

Une méthode générale a été développée pour la synthèse de dérivés de 2-amino-4,6-diarylpyridine par l'addition de Michael, la cyclisation intramoléculaire, l'aromatisation et/ou la perte de  $\text{HNO}_2$ , en utilisant différents types de cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées 1 et de 1,1-enediamines 2 dans le 1,4-dioxane comme solvant, en présence des bases comme carbonate de  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  ou la piperidine. Cette méthode est adaptée à la synthèse parallèle efficace des dérivés 2-aminopyridines. Un nombre important de dérivés de 2-amino-4,6-diarylpyridine hautement fonctionnels a été facilement préparés en utilisant la réaction décrite dans cette étude (schéma. I.1)[8].

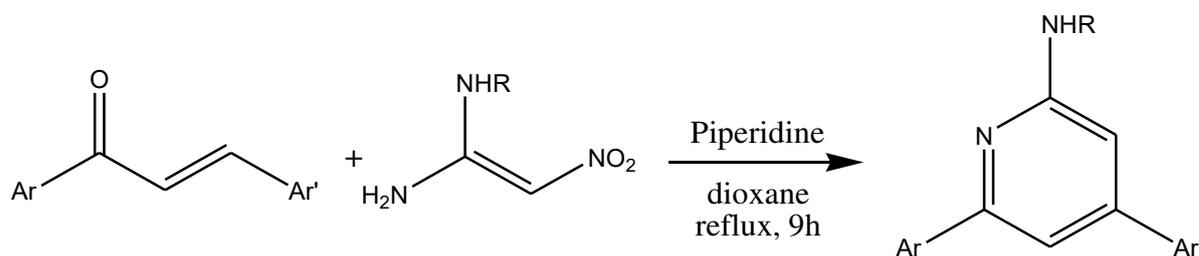


Schéma. I.1. Synthèse de 2-amino-4,6-diarylpyridine à partir des cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées

#### I. 3. 2. 2. Synthèse à partir des $\gamma,\delta$ -alkynyl oximes

Un nouveau procédé de cyclisation et de réarrangement des  $\gamma,\delta$ -alkynyl oximes substitués par l'utilisation de carbonate de potassium  $\text{K}_2\text{CO}_3$  pour la synthèse des pyridols est décrit dans le (Schéma. I. 2). Le procédé accomplit un réarrangement (1,3) efficace de l'intermédiaire O-vinyl-oxime qui est généré in situ par l'addition nucléophile intramoléculaire de  $\gamma,\delta$ -alkynyl-oxime. La réaction utilise des produits de départ facilement accessibles pour fournir une large gamme de pyridols substitués et fonctionnels et donne une avec de bons rendements[9].

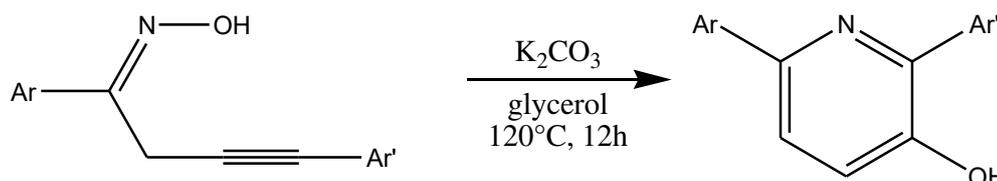


Schéma. I.2 Synthèse de 2,6-aryl-3-hydroxy pyridine à partir des  $\gamma,\delta$ -alkynyl oximes

#### I. 3. 2. 3. Synthèse à partir des N-propargyléminones

Le piégeage des 1,4-oxazépines intermédiaires actives générées in situ, formées à partir d'une réaction de cyclisation 7-exo-dig en présence d'une base, de N-propargyléminones, avec des alcools/thiols et des aldéhydes, fournit des 2-alkoxy/2-sulfénylpyridines et des dihydrofuro [2,3-b]pyridines avec de bons rendements en 30 minutes à température ambiante. Cette réaction génère une molécule d'eau  $\text{H}_2\text{O}$  comme seul sous-produit (Schéma. I. 2)[10].

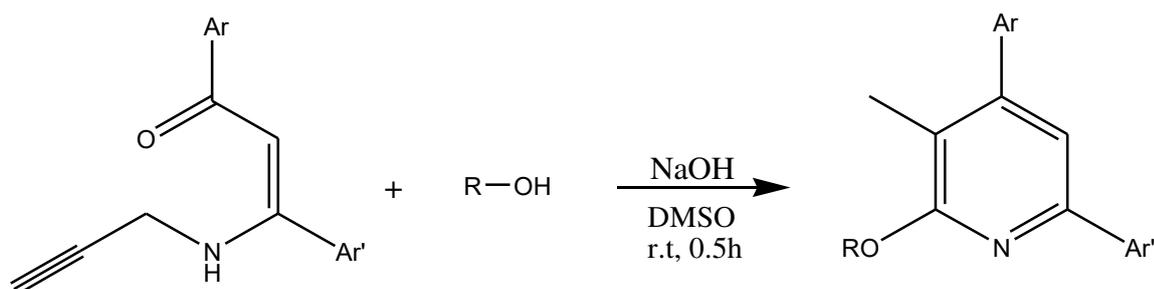


Schéma. I. 3. Synthèse de 2,4-aryl-5-méthyl-6-Roxy pyridine à partir des N-propargylénaminones

### I. 3. 2. 3. Synthèse à partir des vinylcarbénoides

Une synthèse de pyridines hautement fonctionnalisées implique une insertion formelle de vinylcarbénoides de rhodium dérivés de composés diazoïques à travers la liaison N-O d'isoxazoles (schéma I.4). Après chauffage, les produits d'insertion subissent un réarrangement pour donner des 1,4-dihydropyridines. L'oxydation par la DDQ (2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone) permet ensuite d'obtenir les pyridines correspondantes avec un bon rendement [11].

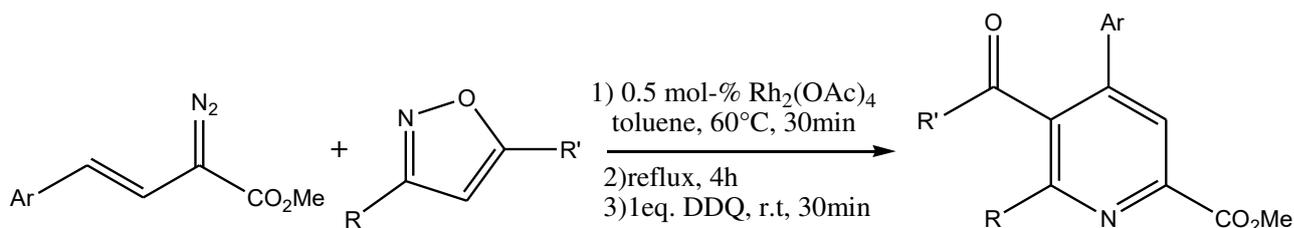


Schéma. I. 4. Synthèse de 2-carboxylate de méthyl-4-aryl-5-alkylonyl-6-alkyl pyridine à partir des vinylcarbénoides

### I. 3. 2. 4. Synthèse de dérivés dihydropyridines par réaction de Hantzsch

Dihydropyridine est un motif structural appartenant aux hétérocycles à six chaînons dont l'atome d'azote occupe l'un des sommets (Figure. I. 3). C'est une substance synthétique qui a trouvé son application dans divers domaines tels la biologie et la médecine [12]. Depuis plus d'un siècle Arthur Hantzsch a décrit la préparation des dihydropyridines. La synthèse originale rapportée par Hantzsch consiste en la condensation de trois composants et qui sont l'acétoacétate d'éthyle, le benzaldéhyde et ses dérivés et l'ammoniaque ou sels d'ammonium, sous reflux dans l'éthanol (Schéma. I. 5).

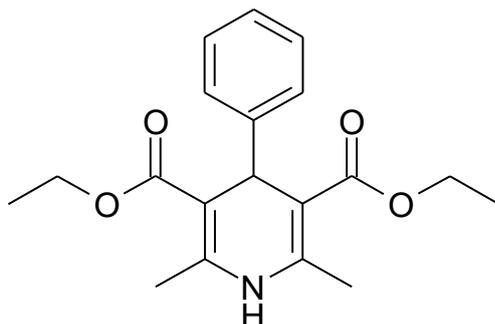


Figure. I. 3. Structure moléculaire de dihydropyridine substituée

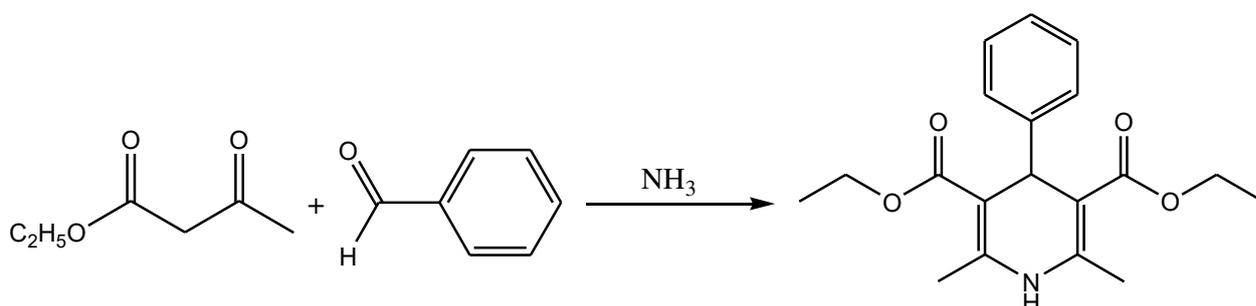


Schéma. I.5. La synthèse de 1,4-dihydropyridine 3,5-dicarboxylate de diéthyl.

Après la synthèse d'A. Hantzsch[13], la dihydropyridine et ses dérivés peuvent être oxydés facilement par des oxydants classiques ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{CrO}_3$ ) pour récupérer le noyau pyridinique aromatique. Les études pharmacologiques ont montré que les dérivés dihydropyridine possèdent le pouvoir de contrôler l'influx de calcium aux cellules, ce qui a amené à les utiliser dans le traitement de l'hypertension artérielle et les angines de poitrine[14]. Récemment, d'autres activités pharmacologiques, qui n'ont pas un rapport avec les canaux calciques, ont été prouvées : il s'agit de propriétés anti-amnésiques, anti-convulsant, antidiabétique, anti-inflammatoire[15]. En plus de leur importance biologique, ils sont également des partenaires clés largement utilisés en synthèse organique comme intermédiaires dans plusieurs réactions d'oxydation, de réduction et d'alkylation [16].

### I. 3. 2. 5. Historique de la réaction de Hantzsch

La formation des dihydropyridines de Hantzsch en 1882 est la première synthèse hétérocyclique multi-composant par condensation d'un aldéhyde avec deux équivalents d'un  $\beta$ -cétoester en présence d'ammoniaque[17]. La structure originale des dihydropyridines a été attribuée par Hantzsch dont le nom est 2,4,6-triméthyl-2,3-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle (Figure. I.4) puis elle a été remplacée par nommée 2,4,6-triméthyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle (Figure. I.5)[16-18]. Des études ont révélé que la structure des pyridines est

celle que montre la structure qui est le 3-(2-éthoxy-2-oxoéthyl-4-phénylpyridine-1(4H)-carboxylate de phényle dont le nom est (S)-3-(1-éthoxy-1-oxopropan-2-yl)-4-phénylpyridine-1(4H)-carboxylate de phényle donc on peut dire que les variantes particulières et les constituants structurels dans la synthèse originale de Hantzsch sont les aldéhydes, l'acétoacétate d'éthyle et l'ammoniac[19].

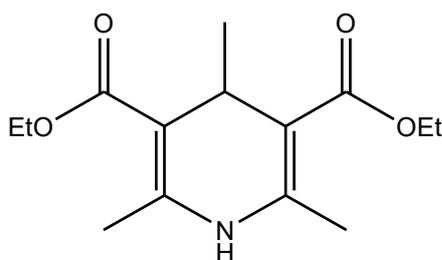


Figure. I.4. Structure moléculaire de 2,4,6-triméthyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle

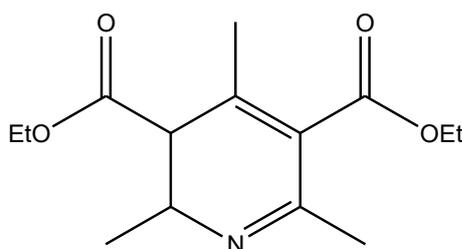
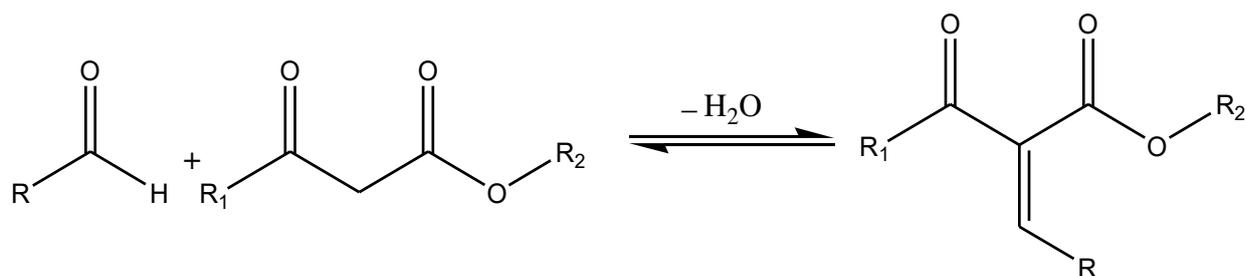


Figure. I.5. Structure moléculaire de 2,4,6-triméthyl-5,6-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle

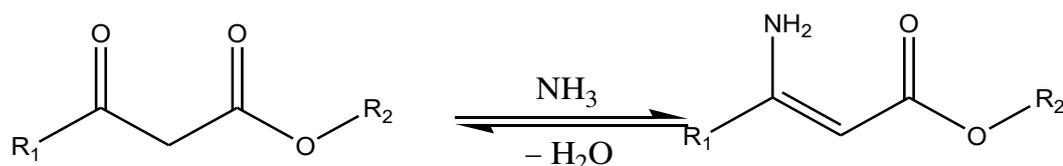
### I. 3. 2. 6. Mécanisme de la réaction de Hantzsch

La synthèse de Hantzsch utilise des réactifs typiques de la réaction de Knoevenagel et ses catalyseurs classiques[19]. l'ammoniac et ses dérivés et sels d'ammonium Knoevenagel peut montrer qu'avec le changement de catalyseurs utilisés deux types de produits sont obtenus[20]. La réaction de Hantzsch a été étudiée par Beyer puis par Knoevenagel, en employant les composés d'arylidène/alkylidène, le 1,3-dicarbonylé et l'aminocarbonylé pour obtenir les dihydropyridines (DHP) de Hantzsch. Evidemment, les conditions employées dans la synthèse classique de Hantzsch peuvent donner le composé arylidène, qui subit une cyclisation pour donner enfin les (DHP) comme le montre le (Schéma. I.6).

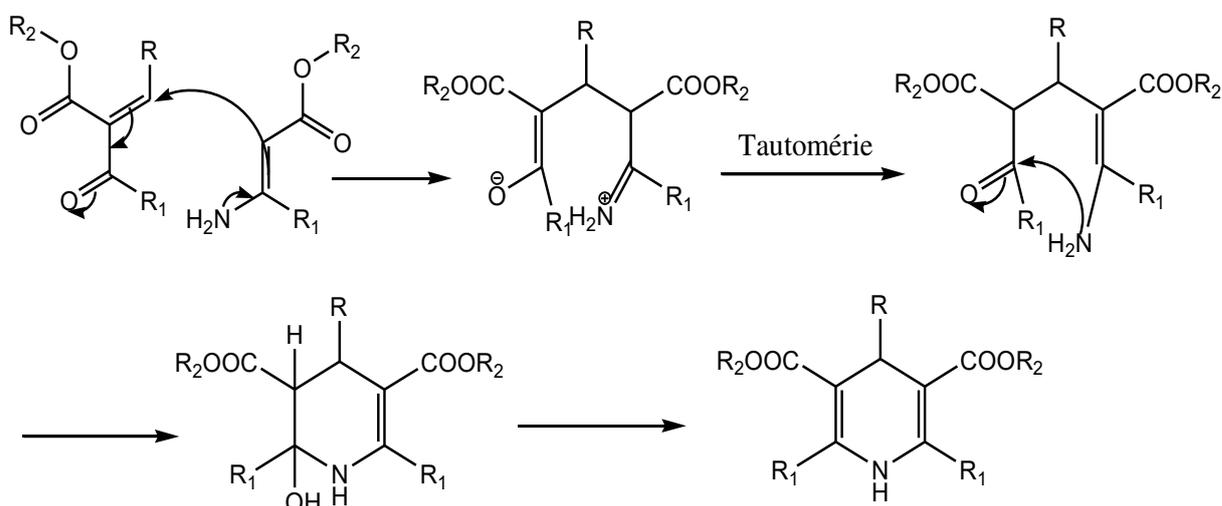
✓ **Etape 1 :** La réaction peut être visualisée comme passant par une condensation de Knoevenagel comme produit intermédiaire  $\alpha$ -arylidène  $\beta$ -cétoester.



✓ **Étape 2** : transformation emine / enamine



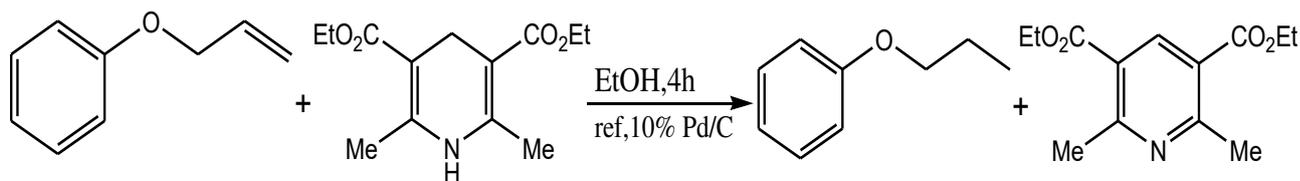
✓ **Étape 3** : La condensation entre les deux fragments donne le dérivé de dihydropyridine.



**Schéma. I.6.** Mécanisme de formation de dihydropyridines substituées par réaction de Hantzsch

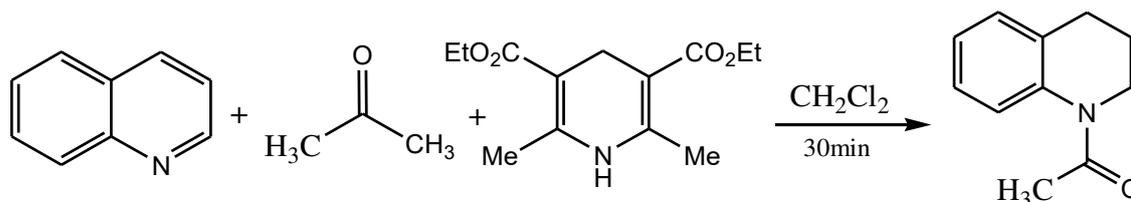
#### I. 4. Réactivité des dihydropyridines (DHPs)

Les dérivés de la 1,4-dihydropyridine présentent une unité hétérocyclique qui fait partie de nombreuses réactions en synthèse organique [21]. Ces dihydropyridines (DHPs), qui sont des analogues du coenzyme NAD(P)H, ont été établies comme des agents de réduction efficaces des oléfines non activées selon une procédure catalysée par le couple Pd/C [22]. Les cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées ont aussi subi l'hydrogénation en donnant sélectivement les cétones saturées correspondantes. La réaction décrite présente l'application des DHPs comme des agents réducteurs biomimétiques de plusieurs transformations organiques et fournit ainsi un accès simple et facile pour l'hydrogénation des oléfines sans l'utilisation des réactifs coûteux et des conditions pressurisées (Schéma. I.7) [23].



**Schéma. I.7. Réduction des oléfines par dérivés de la 1,4-dihydropyridine**

Les 1,4-dihydropyridines ont été aussi employées dans la réaction (Schéma. I.8) de réduction des quinoléines en polyhydroquinoléines (Schéma. I. 8) [24].



**Schéma. I.8. Réduction des quinoléines en polyhydroquinoléines par DHPs**

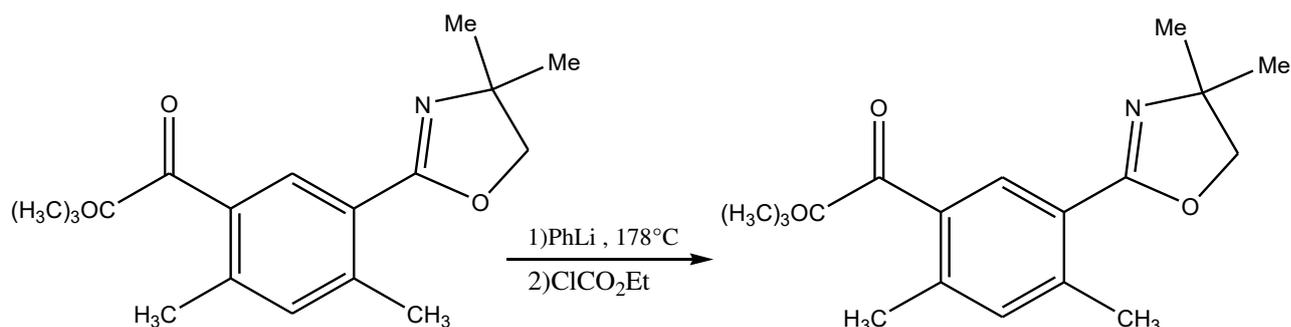
Pour généraliser le domaine de cette méthodologie, plusieurs halogénures d'acyle, benzyle, allyle et d'alkyle ont été employés. Il a été observé que sous les conditions optimisées de la réaction, plusieurs halogénures ont réagi avec la quinoléine en formant le sel de quinolinium, qui subit la réduction avec les dihydropyridines de Hantzsch pour fournir une série de tétrahydroquinoléines N-substituées avec de bons rendements selon P.T. Perumal et Coll [25].

## I. 5. Méthodes de synthèse des dérivés de la 1,4-dihydropyridine DHP

On relève dans la littérature plusieurs articles qui traitent des méthodes de synthèse et les propriétés chimiques des dérivés de la dihydropyridine depuis 1881 [21-26]. Nous décrirons dans ce qui suit les méthodes de synthèse les plus significatives.

### I. 5. 1. Synthèse à partir de pyridine et le sel pyridinium

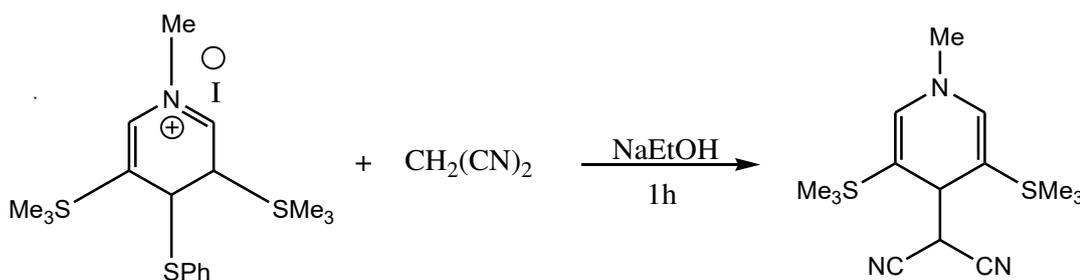
L'accès aux dérivés 1,4-dihydropyridiniques, partant du noyau pyridinique, ou du sel pyridinium est une autre voie qui a été suivie dans plusieurs procédures. L'attaque nucléophile du phényllithium en position quatre de la pyridine, suivie d'une acylation donne le 5-(4,4-diméthyl-4,5-dihydrooxazol-2-yl)-2,6-diméthylphénylnicotinate de tert-butyle, avec un rendement de 67% [27].



**Schéma. I.9. Synthèse de 5-(4,4-diméthyl-4,5-dihydrooxazol-2-yl)-2,6-diméthylphénylnicotinate de tertio-butyle**

### I. 5.2. Synthèse à partir de l'iodure de 3,5-Bis (triméthylsilyl)-1-méthyl-4-thiophénylpyridinium

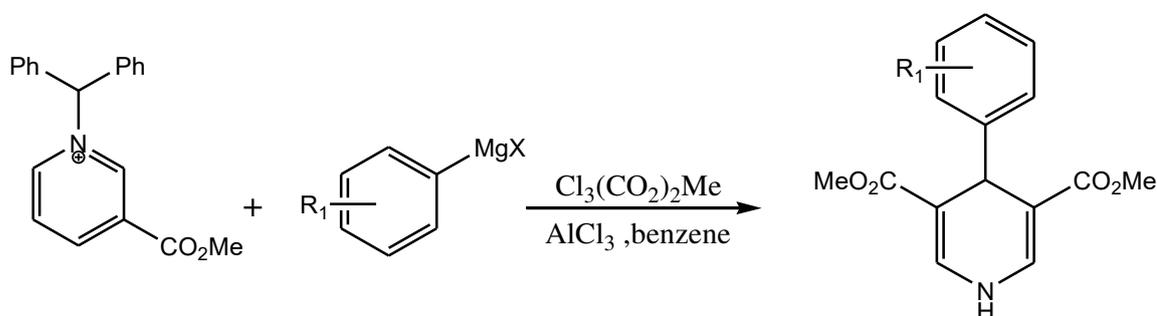
L'iodure de 3,5-Bis(triméthylsilyl)-1-méthyl-4-thiophénylpyridinium est additionné à un mélange de malonitrile et l'éthanolate de sodium dans l'éthanol, donne le N-méthyl-4-hydropyridine-4-methylmalononitryl correspondant[28].



**Schéma. I.10. Synthèse de N-méthyl-4-hydropyridin-4-methylmalononitryl**

### I. 5.3. Synthèse à partir de sel pyridinium et un organométallique

La réaction d'un organométallique (réactif de Grignard) sur le sel pyridinium, suivie d'une acylation par l'anhydride de trichloroacétyle, donnent après déprotonation le 4-aryl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diméthyle correspondant[29].



**Schéma. I.11. Synthèse de 4-aryl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diméthyle**

#### I. 5. 4. Synthèse à partir desel 3-éthylindole pyridinium

La réduction du sel de pyridinium a été aussi employée pour obtenir la 1,4-dihydropyridine : l'utilisation de dithionite de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) sur le sel 3-éthylindole pyridinium conduit à la 1,4-dihydropyridine correspondante[30].

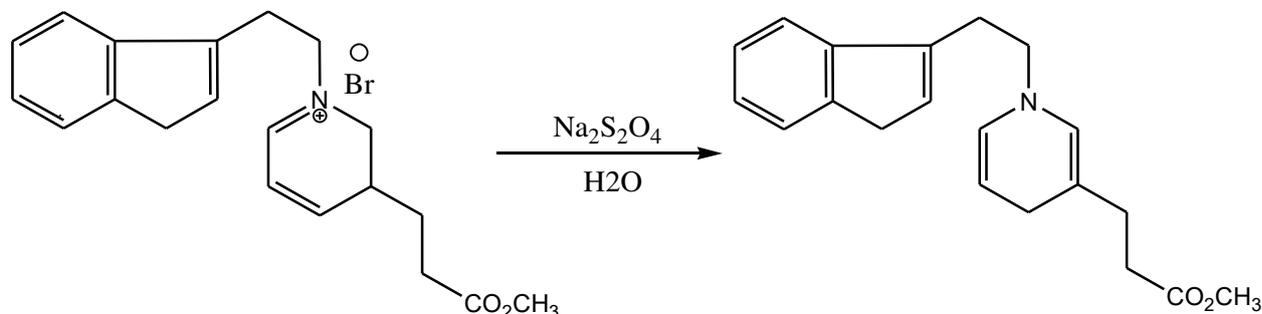


Schéma. I.12. Synthèse de 4-dihydropyridine à base d'indole

#### I. 6. Intérêts biologiques des dihydropyridines (DHPs)

Parmi les différents isomères de la dihydropyridine, les dérivés 1,4-dihydropyridines méritent une attention spéciale, non seulement pour leurs propriétés chimiques mais particulièrement pour leur importance pharmacologique croissante[31]. La Diludine, le Foridone, le Cérébrocrast et la Glutapirone sont des substances représentatives de l'utilisation des dérivés du 1,4-dihydro-2,6-diméthylpyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle dans le domaine médical [32]. La Diludine est un antioxydant[33]. Vu sa propriété radio-protective, il est couramment utilisé pour diminuer les effets secondaires de la radiothérapie dans le traitement des maladies cancéreuses[24,26].

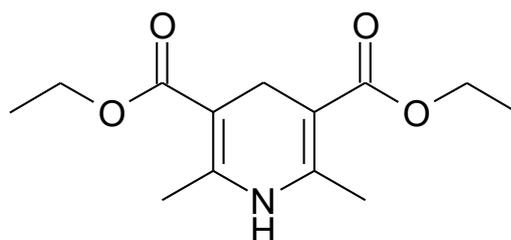


Figure I.6. Structure moléculaire de La Diludine

Le Foridone (riodipine) est un anti-hypertensif, anti-anginal, utilisé plus particulièrement quand les maladies cardiovasculaires s'accompagnent d'asthme et d'hypertension pulmonaire[27].

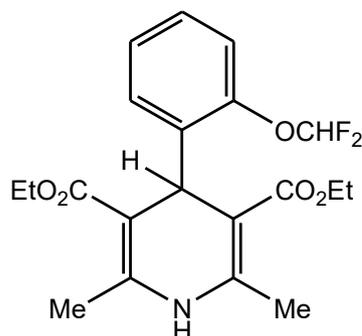


Figure.I.7. Structure moléculaire de Foridone

Le Cérébrocrast est un nouveau composé très actif. Il a un effet neurotropic (anti-amnésique), anti-hypoxique, antidiabétique, et anti-inflammatoire[28].

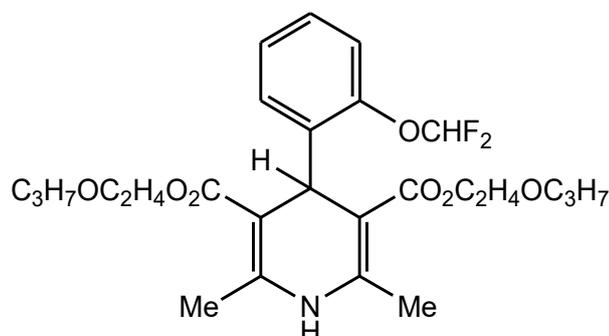


Figure. I. 8. Structure moléculaire de Cérébrocrast

La Glutapyronesel de sodium de l'acide 2-(2,6-diméthyl-3,5-diéthoxycarbonyl-1,4-dihydropyridine-4-carboxamide glutamique, possède une large variété d'activités biologiques: neuromodulateur, neurorégulateur, anti-convulsant et anti-arythmique[28].

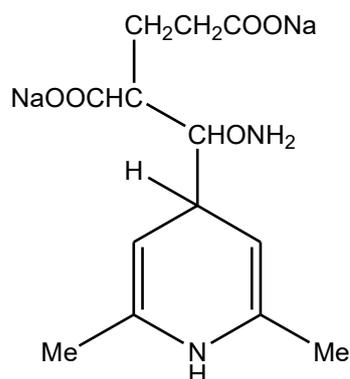


Figure.I.9. Structure de Glutapyrone

Guidé par l'intérêt thérapeutique de cette nouvelle classe de molécules (DHPs), les chercheurs ont synthétisé de nouvelles structures qui ont été utilisées comme médicaments vitaux dans le traitement des maladies cardiovasculaires[34].

## I. 7. Propriétés pharmacologiques

### I. 7. 1. Inhibiteurs des canaux calciques (ICA++)

Les 1,4-dihydropyridines sont des inhibiteurs calciques ou antagonistes du calcium, des médicaments qui permettent d'inhiber le transfert membranaire du calcium dans les cellules musculaires cardiaques et les cellules musculaires vasculaires. Ils diminuent les résistances périphériques vasculaires et la consommation en oxygène du myocarde[35].

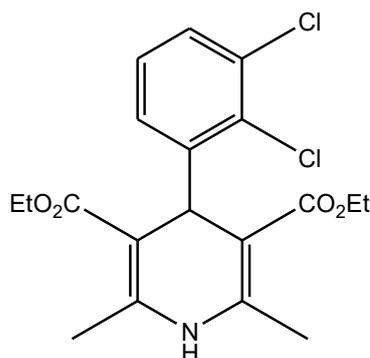


Figure. I.10. Structure moléculaire de Félodipine

### I. 7.2. Activités antituberculeuses

Des séries des 1, 4-dihydropyridines non substituées symétriques et asymétriques ont été étudiées pour une activité antituberculeuse comme le pyrazinamide[37].

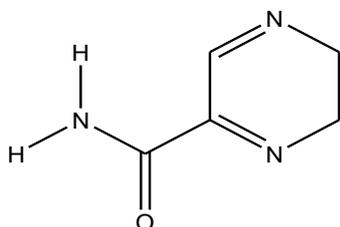


Figure. I.11. Structure moléculaire de pyrazinamide

### I.7. 3. Activités anticancéreuses

L'activité anticancéreuse du 2,6-diméthyl-3,5-bis-N-(heteroaryl)-carbamoyl-1,4 dihydropyridine substitué en position 4 a été étudiée et les composés substitués par un groupement 4-chlorophényl en C4 et le 2-méthyl-4-oxo-3H-quinazolin-3-yl substitué en position C3 et C5 du noyau 1,4-dihydropyridine ont montré une activité puissante par rapport au médicament de méthotrexate contre des lignées de cellules[37-38].

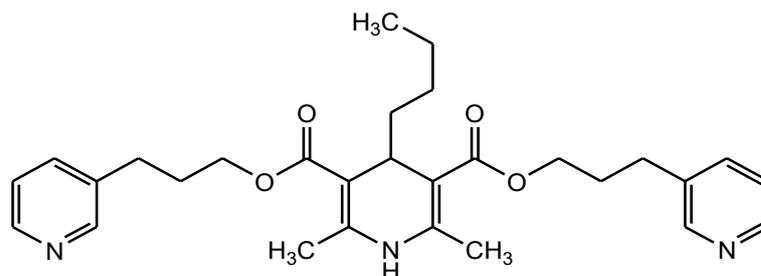


Figure I.12. Structure de 2,6-diméthyl-3,5-bis-N-(heteroaryl)-carbamoyl-1,4-dihydropyridine

#### I. 7. 4. Activités antioxydantes

L'activité antioxydante d'une série de 2,6-diméthyl-3,5-dialkoxycarbonyl-1,4-dihydropyridines (**Figure I-13**) possédant divers alkyles de longues chaînes latérales ( $\text{CH}_3\text{C}_{16}\text{H}_{33}$ ) au niveau du groupement ester ont été évalués dans la peroxydation de transition des ions métalliques catalysée par un liposome. Les composés 2,6-diméthyl-3,5 diéthylloxycarbonyl-1,4-dihydropyridine et 2,6-diméthyl-3,5-dibutyloxycarbonyl-1,4 dihydropyridines ont montré une forte activité comparée avec l'activité antioxydante de Trolox et Probuco[29].

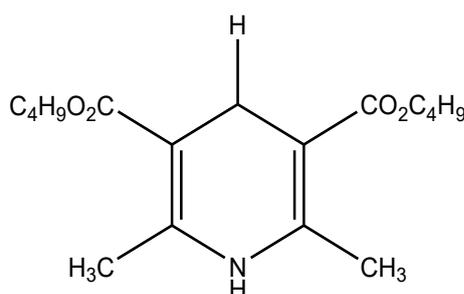


Figure. I.13. Structure de 2,6-diméthyl-3,5-dibutyloxycarbonyl-1,4-dihydropyridines

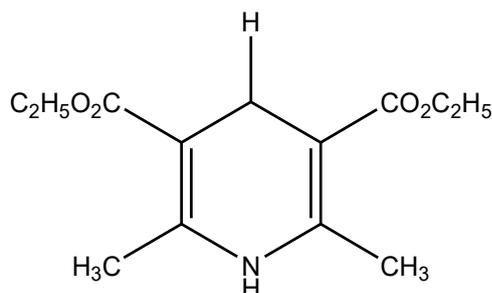


Figure I.14. Structure de 2,6-diméthyl-3,5-dicarboxylate diethyl-1,4-dihydropyridines

#### I.7. 5. Activités Antidyslipidémiques

L'activité antidyslipidémique des N-aryl-1,4-dihydropyridines a été étudiée et les composés 2-méthyl-1,4-diphényl-1,4-dihydro-pyridine-3-acide carboxylique ester éthylique (**Figure I-15**), le 2-méthyl-1,4-diphényl-1,4-dihydro-pyridine-3-carboxylique acide de méthyle ester (**Figure I-15**), et le 1-(2,3-diméthyl-phényl)-2,5-diméthyl-4-phényl-1,4-dihydro-pyridine-3-carboxylique acide de méthyle ester (**Figure I-15**) présentent le bon lipide et un abaissement de l'activité [39].

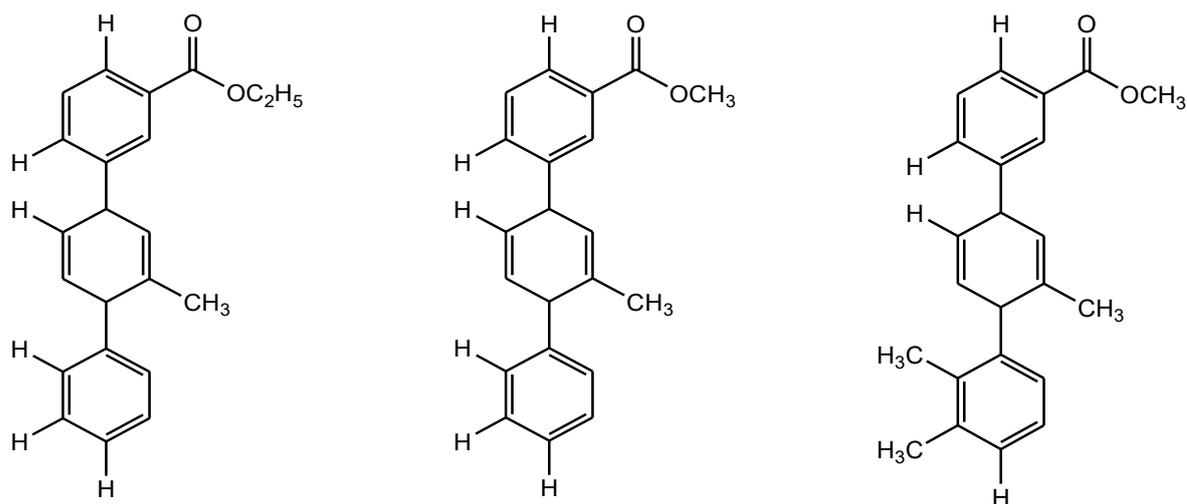


Figure. 15. Structure de quelques dihydropyridineantidyslipidémiques

### I.7. 6. Activités analgésiques et anti-inflammatoires

Des dérivés de 1,4-dihydropyridine se sont avérés possédant une activité anti-inflammatoire et analgésique puissante par rapport au Piroxicam[40].

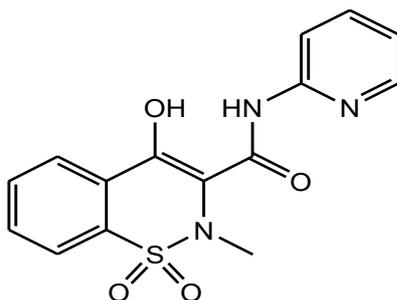


Figure. I.16. Structure moléculaire de piroxicam

### I. 7. 7. Activité anti-ulcère

Les nouvelles 1, 4-dihydropyridines et leurs bases de mannich avec sulfanilamidesont étudiées pour l'activité anti-ulcère et les composés contenant un groupementméthoxy en position C4 montre une bonne activité anti-ulcère[40, 42].

**Références Bibliographiques**

- [1] Hantzsch, A. Justus Liebigs Ann. Chem. 1882, 215, 1. (b) Hantzsch, A. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 1890, 23, 1474.
- [2] Gavin D. Henry, « De novo synthesis of substituted pyridines », Tetrahedron, vol. 60: 6043–6061, no 29, 12 juillet 2004
- [3] Catalogue des normes antipollution, sur gtz.de, Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Brunswick, 1995 (consulté le 14 juillet 2008).
- [4] Alan J. Roche, « Koerner, Dewar, and the Structure of Pyridine », B. Hist. Chem., no 2, 1988, p. 4-6
- [5] R. Murugan, Eric F.V. Scriven, in Pyridines: from lab to production, 2013.
- [6] S. Shimizu, N. Watanabe et al., Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, vol. 30, New York, Wiley-VCH, 2000.
- [7] D.L. Comins, R.S. Al-awar, in Comprehensive Heterocyclic Chemistry III, 2008.
- [8] Shuang Wang, Jun-Jie Lin, Xin Cui, Jing-Peng Li, Chao Huang. Synthèse contrôlable de deux isomères de dérivés de 4H-Chromène et de 2,8-Dioxabicyclo[3.3.1]nonane dans des conditions sans catalyseur. The Journal of Organic Chemistry 2021, 86 (23), 16396-16408.
- [9] S. Wang, Y.-Q. Guo, Z.-H. Ren, Y.-Y. Wang, Z.-H. Guan, *Org. Lett.*, **2017**, 19, 1574-1577.
- [10] Z. Shi, D. C. Koester, M. Boultadakis-Arapinis, F. Glorius, *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135, 12204-12205.
- [11] J. R. Manning, H. M. L. Davies, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 8602-8603.
- [12] Hantzsch, A. Ber 1881, 14, 1637
- [13] Hantzsch, A. Ann Chem. 1892, 215, 1.
- [14] Wachter, G.A.; Davis, M.C.; Martin, A.R. & Franzblau, S.G. *J. Med. Chem.* 1998, 41, 2436;  
(b) Desai, B.; Sureja, D.; Naliapara, Y.; Shah, A. & Saxena, A.K. *Bioorg. Med. Chem.* 2001, 9, 1993.
- [15] Saini, A.; Kumar, S. & Sandhu, J.S. *Synth. Commun.* 2007, 37, 2317. (b) NasrEsfahani, M.; Moghadam, M.; Tangestaninejad, S.; Mirkhani, V. & Momeni, A.R. *Bioorg. Med. Chem.* 200
- [16] Mahmoud, S.; Ali, A.; Hosny, E.; Hassan, F. *Bioorg. Med. Chem.* 1. Ranu, B. C.; Jana, R.; Sowmiah, S. *J. Org. Chem.* 2007, 72, 3152.
- [17] Aouam, K.; Berdeaux, A. *Thérapie* 2003, 58, 333.
- [18] Berkels, R.; Taubert, D.; Rosenkranz, A.; Rösen, R. *Pharmacology* 2003, 69, 171.
- [19] Kappe, C.O. *Eur. J. Med. Chem.* 2000, 35, 1043.

- [20]T. Josephrajan, V. T. Ramakrishnan, G. Kathiravan, and J. Muthumary, ARKIVOC 2005,xi, 124.
- [21]Fassihi, A.; Azadpour, Z.; Delbari, N.; Saghaie, L.; Memarian, H. R.; Sabet, R; Alborzi, A.; Miri, R.; Pourabbas, B.; Mardaneh, J.; Mousavi, P.; Moeinifard, B.; Sadeghi-aliabadi, H.; Eur. J. Med. Chem. 2009, 44, 3253.
- [22]Hemmateenejad, B.; Miri, R.; Safarpour, M. A. Khoshneviszadeh, M.; Edraki N. J. Molec. Struct. (THEOCHEM), 2005, 717, 139.
- [23]Wu, B-N.; Chen M-L.; Dai, Z-K.; Lin, Y-L.; Yeh, J-L.; Wu, J-R.; Chen, I-J.;Vasc. Pharm. 2009, 59, 879.
- [24]Yeh, J.L., Liang, J.C., Liou, S.F., Lin, Y.T., Sheu, S.H., Lai, W.T., Shin, S.J., Chen,I.J. Drug Dev. Res. 2003, 59, 309
- [25] Drug development research ISSN. 2000, 49, 94.
- [26]Quellet, S.G.; Tuttle, J.B.; MacMillan, D.W.C. J. Am. Chem. Soc. 2005,127, 32.
- [27]Hilgeroth, A., Billich, A., Lilie, H. Eu. J. Med. Chem., 2001, 36 (4), 367.
- [28]Bhavik, B., Dinesh, D., Yogesh, Y., Anamik, A., Anil A. K., Bioorg .Med .Chem., 2001,9(8), 1993.
- [29]Yamada, S., Misono, T, Ichikawa, M., Morita, C. Tetrahedron lett. 2001, 57 (43), 8939.
- [30]Jhy-Chong, J.C.; Jwu-Lai, J.L.; Chia-Sui, C.S.; Shwu-Fen, S. F.; Chie-Ho, C.H.; Ing
- [31]Jun, I.J. Bioorg. Med. Chem., 2002, 10 (23), 719.22. Kikuchi, S.; Iwai, M.; Murayama, H.
- [32]Fukuzawa, S. Tetrahedron Lett. 2008, 49, 114.23. Heydari, A.; Khaksar, S.; Tajbakhsh, M.; Bijanzadeh, H. R. J. Fluorine Chem.2009, 130,609.
- [33]Sapkal, S. B.; Shelke, K. F.; Shingate, B. B.; Shingare, M. S.; Tetrahedron Lett. 2009, 50,1754.
- [34]Sabitha, G.; Kumar Reddy, G. S. K.; Srinivas Reddy, Ch.; Yadav, J. S. Tetrahedron Lett.2003, 44, 4129.
- [35]Bülbü, B.; Öztürk, G.S.; Vural, M.; Şimşek, R.; Sarioğlu, Y.; Linden, A.; Ü lgen, M.;Şafak, C.; Eur. J. Med. Chem. 2009, 44, 2052.
- [36]Budriessi, R.; Bisi, A.; Ioan, P.; Rampa, A.; Gobbi, S.; Belluti, F.; Piazzzi, L.; Valenti, P.; Chiarini, A.; Bioorg. Med. Chem. 2005, 13, 3423.
- [37]Şimşek, R.; Şafak, C.; Erol, K.; Ataman, Ş.; Ü lgen, M.; Linden, A.; Forsch , A. Drug Res.2003, 53, 159.
- [38]Sridharan, V.; Perumal, P. T.; Avendañ o, C.; Menéndez, J. C. Tetrahedronlett. 2007, 63,4407.

- [39]Bandgar, B. P.; More, P. E.; Kamble, V. T.; Totre, J. V. ARKIVOC 2008, xv, 1.
- [40]Akbari, J. D.; Tala, S. D.; Dhaduk, M. F.; Joshi, H. S. ARKIVOC. 2008, xii, 126.
- [41] Liu, Y; Fu, Q.; Stephanopoulos, M.F.; Catal. Today. 2004, 93, 241.
- [42]Kantam, M. L.; Ramani, T.; Chakrapani, L.; Choudary, B.M. Catal. Comun. 2009,10,3.

## CHAPITRE II

---

*Etude bibliographique sur l'activité  
biologique*

## **II. 1. Introduction**

L'activité biologique est "la capacité d'une entité moléculaire spécifique à obtenir un effet biologique défini" sur une cible donnée [1]. Elle est mesurée en termes de puissance ou de concentration de l'entité moléculaire nécessaire pour produire l'effet [2]. 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 [3]. C'est également le processus par lequel la puissance d'un agent est mesurée en termes de réactions d'une cible médicamenteuse spécifique [2].

## **II. 2. Activité biologique**

### **II. 2. 1. Activité anti-oxydante**

#### **II. 2.1. 1. Définition de stress oxydant**

Le stress oxydant se définit par le déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants endogènes ayant pour conséquence des dommages intracellulaires. Il est impliqué dans de nombreuses pathologies allant de la simple infection aux maladies neurodégénératives comme l'Alzheimer. L'évolution de la médecine avec la compréhension de l'apparition des pathologies a permis de mieux cibler des thérapeutiques et c'est ainsi que les antioxydants ont trouvé leur intérêt dans le traitement ou la prévention de plusieurs maladies. Une source majeure d'antioxydants est notamment la Nature. Elle est d'autant plus importante à l'homme qu'elle lui en fournit une quantité significative via l'alimentation. Les domaines d'application des antioxydants sont multiples. Ils sont largement utilisés pour leurs capacités à empêcher l'oxydation dans l'industrie agroalimentaire mais également en cosmétologie où ils jouent un rôle marketing du fait de leur origine naturelle. Ce chapitre abordera d'une manière chronologique, la description et les définitions du stress oxydant endogène et exogène, pour traiter par la suite, les méthodes communes d'analyse du pouvoir antioxydant. Avant d'aborder vers la fin, la partie consacrée aux diverses applications des antioxydants et plus particulièrement en médecine humaine [4].

#### **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

vieillessement. En 1969, les Américains Mc. Cord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant superoxydedismutase «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[5].

### **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 [6]. Un radical libre est une espèce chimique (atomes ou molécules) possédant un électron célibataire ou plusieurs sur sa couche périphérique. 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 [7]. 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[8].
- ✓ D'activer des facteurs de transcription (NFkB, p38-MAP kinase, ...) eux-mêmes responsables de l'activation de gènes impliqués dans la réponse immunitaire [9].
- ✓ De moduler l'expression de gènes de structure codant pour les enzymes antioxydantes[10].
- ✓ De détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires [11]. 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 pro-inflammatoires ou de protéines d'adhésion.

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

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques, nommés radicaux libres [12]. Selon la définition proposée par Halliwell et Gutteridge (1997), les radicaux libres sont des

espèces chimiques contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires. Ces radicaux peuvent se former par transferts mono-électroniques ou par scission homolytique de liaison covalente: Après une rupture homolytique, chacun des deux électrons intervenant dans la liaison entre les atomes A et B gagne l'orbitale externe de ces atomes, qui deviennent alors des radicaux libres [13].

## **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 [14].

### **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 [15]. 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 des 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 [16]. 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, carcinogénèse, malformation des fœtus (tératogénèse), dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions [17].

### **II. 2. 3. Les antioxydants**

Les antioxydants sont des molécules ayant la capacité de neutraliser des radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des pour prévenir de nombreuses maladies (cardiovasculaires et neurodégénératives, inflammation, et le diabète...), et le vieillissement, dus à la formation exagérée des radicaux libres. Les antioxydants sont également utilisés dans les aliments pour retarder la détérioration, le rancissement ou la décoloration qui est souvent due à l'oxydation causée par la lumière, la chaleur et certains métaux [18].

#### **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 [19].

##### **✓ Groupe I : *Les antioxydants primaires***

Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire. Les antioxydants de ce groupe réagissent de façon prédominante avec les radicaux peroxy, pour deux raisons : la concentration élevée de ces radicaux et la faible énergie du groupement (ROO·). Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles, pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déprotonation [20].

##### **✓ Groupe II : *Les antioxydants secondaires***

Les antioxydants secondaires englobent une large gamme de différentes substances chimiques chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs de l'oxygène singulet, des piègeurs de molécules d'oxygène, d'inhibiteurs des enzymes pro-oxydatives, enzymes

antioxydants et destructeurs des hydroperoxydes. Parfois, quelques antioxydants peuvent exercer plusieurs fonctions anti-oxydatives, par exemple, l'acide ascorbique peut être un piègeur du radical libre, désactivateur des oxygènes singulets dans une solution aqueuse. Plusieurs flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et chélateurs de métaux [21].

### ***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 [22]. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres [23]

#### ***✓ 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><sup>•</sup> et du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire [23].

#### ***✓ 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 [24]. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques [25]. En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomales du foie et des organes extra-hépatiques. Il est aussi rapporté que le BHT présenterait des effets carcinogènes chez le rat [26, 27].

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

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition. D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-

même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur [28].

### **II. 2. 3. 3. 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\* (2,2-diphényle 1-1-picrylhydrazyl).

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

#### **✓ Principe**

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 1,4-dihydropyridine et ses dérivés [29, 30]. 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 éthanoïque 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 couteux [31].

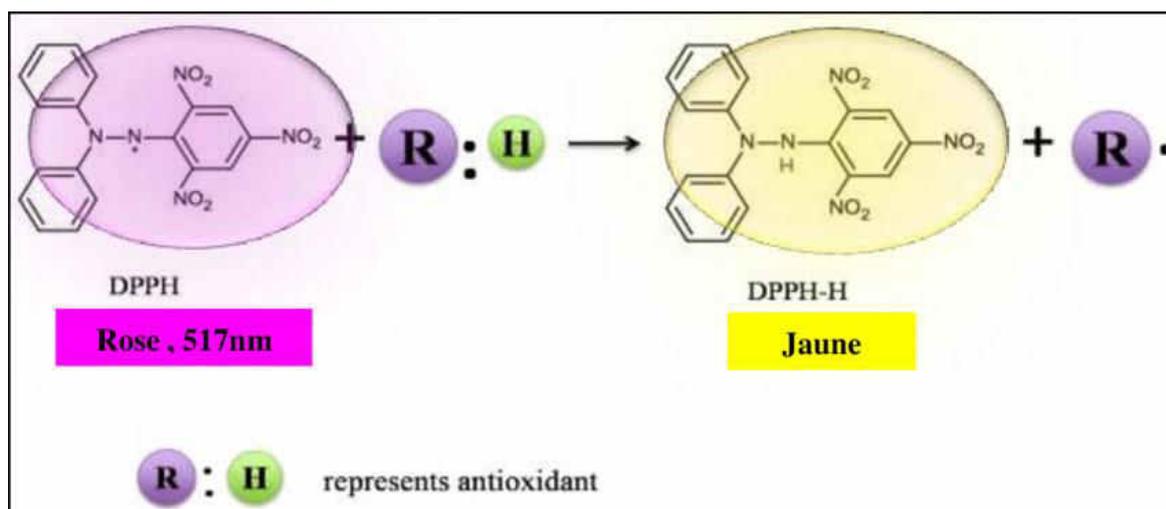


Figure.II.1. Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant

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

L'activité antioxydant, qui exprime la capacité de solutions éthanoliques de la pyridine ou de ses dérivés à piéger le radical libre DPPH est donnée par la formule suivante [32].

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

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 testée.



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

## **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 [33]. 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 (mordançage), 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 [34]. 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.



Figure. II.3. Les différentes bactéries

#### II. 2. 4. 1a Bactéries à gram négatif

✓ *Escherichia coli* : Le genre *Escherichia* fait partie de la famille des entérobactéries et comprend cinq espèces dont une seule, l'*Escherichia coli*, est utilisée à titre d'indicateur de la qualité des eaux. La presque totalité des souches d'*Escherichia coli* ne sont pas pathogènes puisque cette bactérie est un hôte normal de l'intestin des mammifères. L'*Escherichia coli* est le seul qui soit sans équivoque toujours d'origine fécale et, à ce titre, il est de plus en plus considéré comme l'organisme indicateur spécifique de pollution fécale.

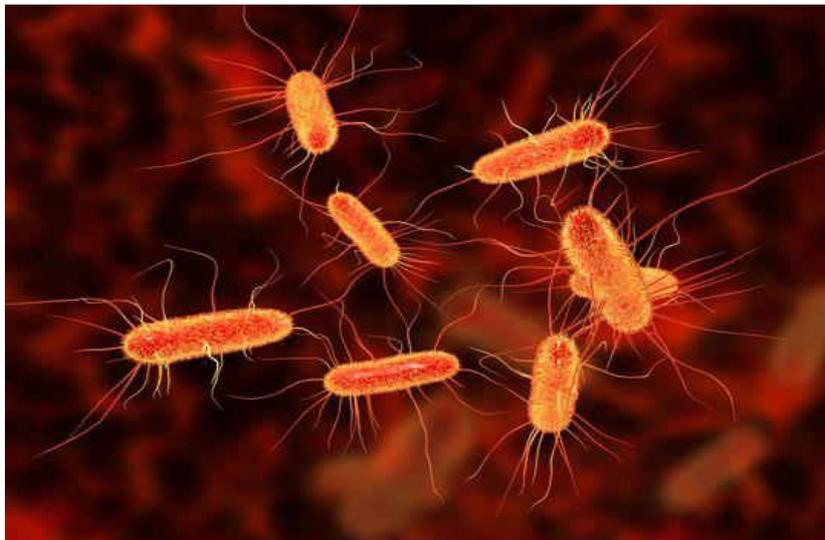


Figure. II.4. Vue sous le microscope électronique de bactérie *Escherichia coli*

#### II. 2. 4. 1b. Bactéries à gram positif

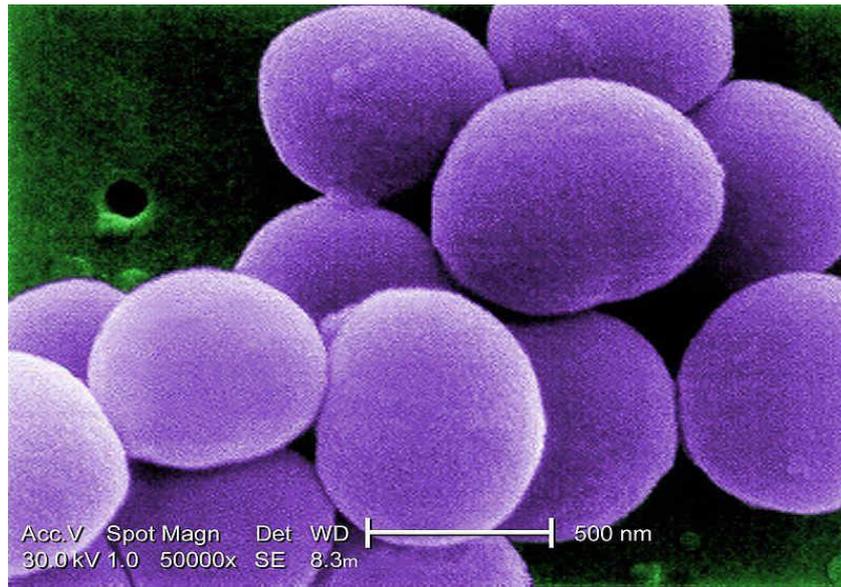
✓ *Bacillus cereus* : *Bacillus cereus* est responsable de toxi-infections caractérisées par des symptômes diarrhéiques, ainsi que d'intoxications. se traduisant par des symptômes

émétiques. Il s'agit d'un bacille à coloration de Gram positive, sporulant et aéro-anaérobie facultatif. Il fait partie d'un groupe de bactéries qui ont été longtemps considérées comme des espèces différentes mais qui, d'après des expérimentations d'hybridation ADN/ADN, appartiennent à la même espèce. Pour simplifier la description de ce groupe, les noms des anciennes espèces seront ici conservés. Elles sont souvent regroupées dans la littérature sous le terme « *Bacillus cereus sensu lato* »[35].



*Figure. II.5. Vue sous le microscope électronique de bactérie Bacillus cereus*

✓ *Staphylococcus aureus* : Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et cultivent sur des milieux contenant du NaCl à 5% et pour certains jusqu'à 10% à 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs. Le staphylococcus est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, de septicémies physiques (greffe, prothèses cardiaques). *Staphylococcus aureus* se présente comme une coque en amas (grappes de raisin), Gram positif et catalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom.



**Figure. II.6.** *Image en microscopie électronique montre des cellules d'une souche de Staphylococcus aureus*

### **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 1,4-dihydropyridine 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 [36].

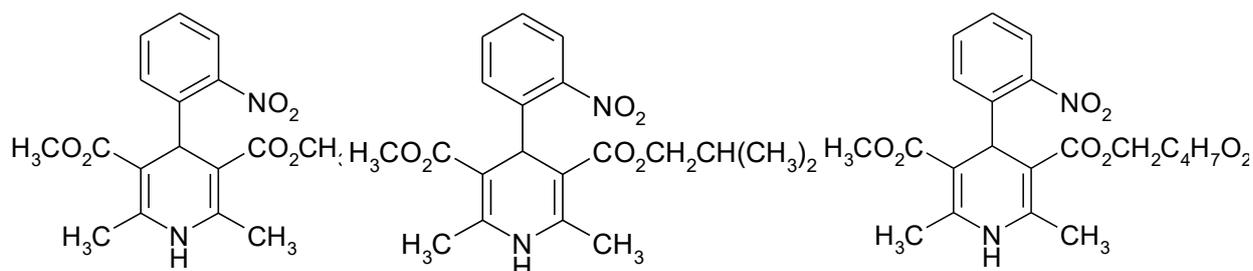
**Tableau. II.1.Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition**

Diamètre d'inhibition(x)	Degré de sensibilité des germes	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 antioxydante et antibactérienne des dérivés dihydropyridine (DHPs)**

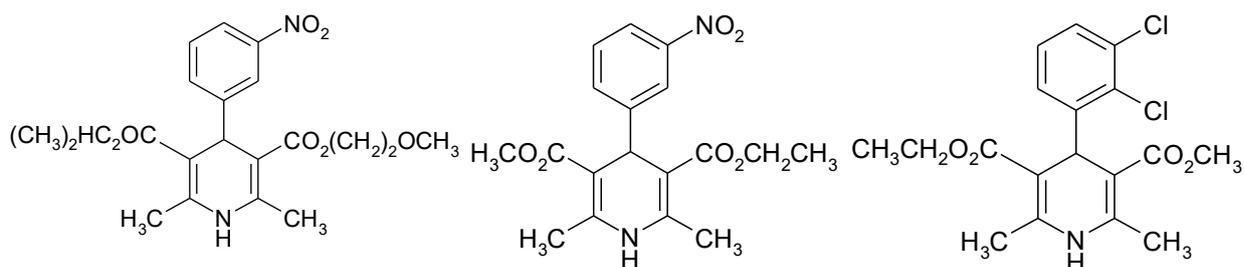
La pyridine est un motif de base de nombreuses molécules organiques importantes et précieuses possédant des activités biologiques et pharmacologiques diversifiées. Ces composés présentent un large spectre d'activités comme: antimicrobien [37], antioxydant [38], inhibiteurs du VIH [39], antipaludique [40], anticancéreux [41], et bien d'autres [42]. Par exemple la molécule Nifédipine est une dihydropyridine antagoniste du calcium (inhibiteur calcique). Ces indications principales sont l'angine de poitrine et l'hypertension artérielle, bien que de nombreuses autres indications y aient été rajoutées récemment, telle la maladie de Raynaud, etc[43]. Le dihydropyridine Nisoldipine a aussi un effet antagoniste de calcium. Elle est principalement utilisée comme médicament antihypertenseur[44]. Les autres dihydropyridines donnés dans la (Figure. II. 7) ont une action antagoniste de calcium et peuvent être agir comme médicament antihypertenseurs. Dans ce travail nous allons présenter une approche expérimentale sur la synthèse de quelques molécules dihydropyridines en faisant appel à la réaction classique de Hantzsch pour préparer des quantités suffisantes de dihydropyridines et qui vont être utilisées dans la suite de ce travail comme agent antioxydant et agent antibactérien.



*Nifedipine*

*Nisoldipine*

*Furnidipine*



*Nimodipine*

*Nitrendipine*

*Felodipine*

*Figure. II. 7. Quelques molécules dihydropyridines biologiquement actives.*

**Références Bibliographies**

- [1] Jackson, M., Stadthagen, G., & Gicquel, B. (2007). Lipides contenant de multiples acides gras ramifiés méthyle à longue chaîne de *Mycobacterium tuberculosis* : biosynthèse, transport, régulation et activités biologiques. *Tuberculose*, 87(2), 78-86.
- [2] Pelikan, E. W. (1995). *Glossaire des termes et symboles utilisés en pharmacologie*. École de médecine, de pharmacologie et de thérapeutique expérimentale de l'Université de Boston.
- [3] McNaught, A. D. (1997). (Vol. 1669). *Recueil de terminologie chimique* Oxford: Blackwell Science.
- [4] Thomas, D. (2016). *Les antioxydants de nos jours : définition et applications*. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Limoges, p29-174.
- [5] Favier, A. (2003). *Le stress oxydant. L'actualité chimique*, p.108
- [6] Souchard, J., Arnal, J., Rochette, L. Les radicaux libres et le stress oxydatif radicalaire. *Techniques en biologie*, 2002, vol. 23, pp. 245 - 257. Ventura, R., Lombes, A. *Mitochondrie et pathologies*. Médecine-Sciences Flammarion Edition, 2002, Chapitre 26, pp. 290.
- [7] Gardès-Albert, M., Jore, D. Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène. *Radicaux libres et stress oxydant*. Paris, Lavoisier, 2005, pp. 1-23.
- [8] Curtin, F., Donovan, M., Cotter, T. Régulation et mesure du stress oxydatif dans l'apoptose. *Journal des méthodes immunologiques.*, 2002, vol. 265, pp. 49 – 72
- [9] Owuor, E., Kong, A. Les antioxydants et les oxydants régulent les voies de transduction du signal. *Biochimie et Pharmacologie*, 2002, vol. 64, pp. 765 - 770.
- [10] Holgrem, A. Régulation redox des gènes et de la fonction cellulaire. Dans : *Revue critique du stress oxydatif et du vieillissement*. Tome II. RG Cutler et H Rodriguez Eds. Scientifique mondial 2003, pp. 102 - 111.
- [11] Levesque, E. Oligo-elements et stress oxydant. *Revue de presse Source : Favier lab Bioch Grenoble*, 2006, pp. 10 - 15.
- [12] Meziti .A (2007). *Activité antioxydante des extraits des graines de Nigella sativa L Etude in vitro et in vivo*. Mémoire de Magister Université de Batna. p 30-35-49-67.
- [13] Bonnefont-Rousselot, D., Raji, B., Walrand, S., Gardes-Albert, M., Jore, D., Legrand, A., et Vasson, M. P. (2003). Une modulation intracellulaire de la production de radicaux libres

pourrait contribuer aux effets bénéfiques de la metformine vis-à-vis du stress oxydatif.

Métabolisme, 52(5), 586-589.

[14]Ardestani, A., et Yazdanparast, R. (2007).Potentiel antioxydant et anti-radicaux libres des extraits d'Achilleasantolina. chimie alimentaire, 104(1), 21-29 .Touafek, K. (2010). Contribution à l'étude et à la conception d'un système énergétique utilisant des capteurs hybrides photovoltaïques thermiques (Doctoral dissertation, Ecole nationale supérieure polytechnique). Marfak, A., Trouillas, P., Allais, D. P., Calliste, C. A., et Duroux, J. L. (2003).

[15]Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme, 20(4), 165-177.

[16]Behera, B. C., Verma, N., Sonone, A., &Makhija, U. (2006).Détermination du potentiel antioxydant du lichen Usneaghattensis in vitro. LWT-Science et technologie alimentaires, 39(1), 80- 85.

[17]Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., et Nacoulma, O. G. (2005).Détermination des teneurs totales en phénols, flavonoïdes et prolines du miel du Burkina Faso, ainsi que leur activité anti-radicalaire. Chimie alimentaire ,91(3), 571-577.

[18]Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., et Jore, D. (2003).Espèces réactives de l'oxygène. L'actualité chimique, 91.

[19]Frankel, E. N., et Meyer, A. S. (2000).Les problèmes de l'utilisation de méthodes unidimensionnelles pour évaluer les aliments multifonctionnels et les antioxydants biologiques. Journal de la science de l'alimentation et de l'agriculture, 80(13), 1925-1941. En ligne Han, Y. (2007). Effet synergique de l'extrait de pépins de raisin avec l'amphotéricine B contre la candidose disséminée due à Candida albicans. Phytomédecine,14(11), 733-738.

[20]Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., et Rice-Evans, C. A. (1996).Activités antioxydantes des carotènes et des xanthophylles. Lettres FEBS,384(3), 240-242.

[21]Svoboda, K. P., &Hampson, J. B. (1999) Bioactivité des huiles essentielles de plantes aromatiques tempérées sélectionnées : activités antibactériennes, antioxydantes, anti-inflammatoires et autres activités pharmacologiques apparentées. Département de biologie végétale, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW, 1-17.

[22]Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., et Prost, M. (2001).Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives. La Presse médicale, 30(21), 1076-1081

[23]Lisu W., Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L., Ming-Jiuan W. (2003).Effet antioxydant des extraits de méthanol de Lotus Plumuleet Blossom (NelumbonucifecaGertn), Journal of food and drug analysis, 11(1): 60-66.

- [24] Yu R., Mandlekar S., Tony Kong A.N. (2000). "Mécanismes moléculaires de la toxicité induite par l'hydroxylanisolebutylé : induction de l'apoptose par libération directe de cytochrome c". *Pharmacologie moléculaire*, 58: 431- 437.
- [25] Barlow S M. (1990). Aspects toxicologiques des antioxydants utilisés comme additifs alimentaires. Éd. Hudson. B.J.F. *Antioxydants alimentaires* pp 253-307.
- [26] Ito N., Fukushima S., Tsuda H. (1985). « Cancérogénicité et modification des réponses cancérogènes par le BHA, le BHT et d'autres antioxydants ». *Examens critiques du CRC en toxicologie*, 15: 109-150.
- [27] Yaacoub R. (2009). Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux. Intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés.
- [28] Hahn M. W., Lunsdorf H., Schauer M., Hofle M. G., Boenigk J., and Stadtler P., Isolement de nouvelles ultra-micro-bactéries classées comme actinobactéries de cinq habitats d'eau douce en Europe et en Asie. *Applied Environmental Microbiology*, 2003, 69:1442-1451.
- [29] Leclerc H., Gaillard J-L, Simonet M., *Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien*, Doin Editeur, Paris, 1995, p.506.
- [30] Wu, C., Huang, M., Lin, Y., Ju, H., Ching, H. (2007). Propriétés antioxydantes du Cortex fraxini et de ses coumarines simples. *Chimie alimentaire*, 104: 1464–1471.
- [31] Hadbaoui, Z. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de sorgho et de mil locaux. Thèse de Doctorat, Université de KasdiMerbah Ouargla Algérie.
- [32] Burits, M., Bucar, F. (2000). Activité antioxydante de *Nigella sativa* essentielle ou. *Phytother. Res* : 14, 323-328.
- [33] Torres, R., Faini, F., Modak, B., Urbina, F., Labbe, C., Guerrero, J. (2006). Activité antioxydante des coumarines et des flavonols de l'exsudat résineux d'*Haplopus*
- [34] Kayser, M.D. F. H., Bienz, K. A., Eckert, Ph.D. J. et Zinkernagel, M.D. M. R. (2005). *Medical Microbiology*. Edition Thieme. 698.
- [35] Irving, W., Ala'Aldeen, D. et Boswell, T. (2005) *Microbiologie médicale*. Notes instantanées de collection. Taylor et Francis.. 350.
- [36] R.W. Friesen, C. Brideau, C.C. Chan, S. Charleson, D.Deschênes, D. Dubé, D.Ethier, R.Fortin, J.Y.Gauthier, Y.Girard, et al. 2-Pyridinyl-3-(4-methylsulfonyl)phenylpyridines: Selective and orally active cyclooxygenase-2 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998, 8, 2777–2782.

[37] <https://microbiologie-clinique.com>.2021

[38]. M. Vieira De Almeida, M. Vinicius de Nora Souza, N. RezendeBarbosa, F. Pittella Silva, G.WilsonAmarante, S. Helena Cardoso, Synthèse et activité antimicrobienne des dérivés de la pyridine substitués aux positions C-2 et C-6. Lett. Drogues Dés. Découvert. 2007, 4, 149–153.

[39]M. Stevens, C. Pannecouque, E. De Clercq, J. Balzarini, Inhibition du virus de l'immunodéficience humaine par une nouvelle classe de dérivés d'oxyde de pyridine. Antimicrobien. Agents Chemother. 2003, 47, 2951–2957

[40] J. Xue, J.Diao, G.Cai, L.Deng, B.Zheng, Y.Yao, Y. Song, Études antipaludiques et structurales des inhibiteurs contenant de la pyridine de la 1-désoxyxylulose-5-phosphate réductoisomérase. ACS Méd. Chim. Lett.2013, 4, 278–282.

[41]J. Easmon, G. Pürstinger, K.-S.Thies, G. Heinisch, J. Hofmann, Synthèse, relations structure-activité et études antitumorales des 2-benzoxazolyl hydrazones dérivées d'alpha-(N)-acylhétéroaromatiques. J. Med. Chim. 2006, 49, 6343–6350

[42] A.A Altaf, A.Shahzad, Z.Gul, N.Rasool, A. Badshah, B.Lal, Khan, E. Un examen de l'importance médicinale des dérivés de la pyridine. J. Drug Des. Méd. Chim. 2015, 1, 1–11

[43]. voir Chem. Ing. News 2001, 79, 10 (6 août 2001) ; 2002, 80, 12 (22 juillet 2002); Phys. Rév. Lett. 2002, 89, 039901]

[44]Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis, 8600 Rockville Pike, Bethesda, MD 20894, Première publication : 17 mai 2005

## CHAPITRE III

---

*Synthèse et évaluation biologique des  
dihydropyridines substitué  
(Résultats et Discussion)*

### **III.1. Introduction**

La présence du noyau pyridinique dans de nombreuses molécules hétérocycliques d'origine naturels ou synthétiques peut être à l'origine de ses propriétés biologiques et pharmaceutiques variées, par conséquent, l'étude des composés organiques hétérocyclique à base de pyridine est considérées comme l'un des axes de recherches les plus importantes qui a été menées puis développées au laboratoire de chimie organique et thérapeutique durant les dernières années pour collecter et développer de nouveaux composés hétérocycliques qui possèdent un ou plusieurs noyau pyridinique et évaluer ainsi leurs propriétés biologiques. Les composés hétérocycliques aux quels nous nous sommes intéressés sont des dérivés dihydropyridines substitué qu'ont été synthétisés et étudiés comme agents antioxydants et antibactériens. Les molécules dihydropyridines utilisés dans ce travail ont été obtenues par réaction multicomposant de Hantzsch. L'étude de l'activité antioxydante des composés dihydropyridines 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).

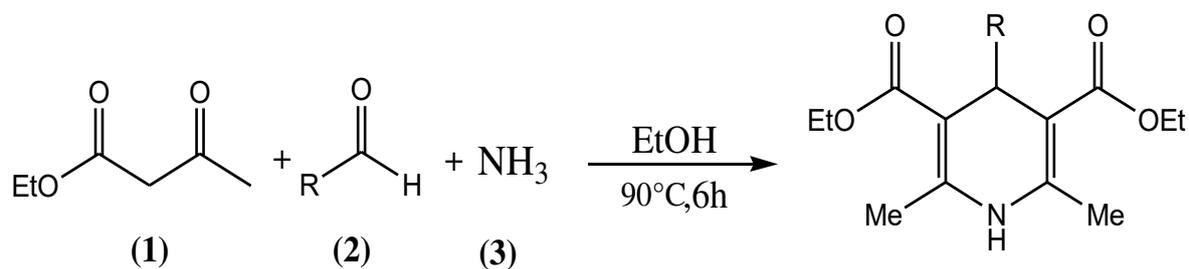
### **III. 2. Description générale de synthèse des dihydropyridines (DHPs)**

Le plan générale de synthèse des dérivés dihydropyridines utilisés dans cette partie comme antioxydants et antibactériens est subdivisée en deux étapes, dont la première étape est consacrée a la préparation des dérivés dihydropyridine (DHPs) selon la réaction de Hantzsch. La synthèse des dérivés dihydropyridines est basée sur l'utilisation de la réaction de Hantzsch qui consiste à faire réagir un dérivé  $\beta$ -cetoester avec l'ammoniac dans l'éthanol comme solvant à PH égale 8,5 (imposé par l'ammoniac). La synthèse de Hantzsch est une réaction entre un aldéhyde avec deux équivalents de  $\beta$ -cetoester comme l'acetoacetate d'éthyle et un donneur d'azote comme l'ammoniac ou l'acétate d'ammonium et permet d'obtenir un dérivé dihydropyridine avec un bon rendement en mélangeant dans l'éthanol les trois réactifs à une température de 90°C. Les dihydropyridines ainsi obtenus peuvent être N-alkyles par quelques dérivés halogénés comme (chlorure de benzyle, chlorobutane, épichlorhydrine, bromure de benzyle). Les réactions de N-alkylation sont effectuées dans différents solvant comme (éthanol, DMSO, DMF et acétone) en utilisant le carbonate de potassium  $K_2CO_3$  comme base qui sert à arracher le proton de la fonction amine pour fournir l'anion correspondant qui va réagir avec le dérivé halogéné pour donner des dérivés N-alkyl dihydropyridines. La réaction de N-alkylation de dihydropyridine à été optimisée dans des

conditions expérimentale différentes à fin d'obtenir un rendement similaire voir élevé avec celles donner dans la littérature.

### III. 2.1.Mécanisme de formation 4-R-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle

La synthèse des dérivé 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle a été réalisée en faisant réagir deux équivalents de l'acétoacétate d'éthyle(1)avec un aldéhyde(2) dans l'éthanol comme un solvant et en présence de l'ammoniac (3) comme base et réactif, La réaction nécessite un chauffage à reflux a un température 90 C°(Schéma III. 1). Le mécanisme de cette réaction passe par trois étapes ; la première est conduit à la formation de l'imine par action de l'ammoniac sur la fonction cétone de l'acétoacétate d'éthyle, qui par effet de tautomérisation l'imine se transforme en un enamine, en suite la deuxième étape consiste à la formation de l'énolate par l'arrachement du proton labile en ( $\alpha$ ) de la fonction ester de l'acétoacétate par la base  $\text{NH}_3$ , puis l'anion énolate se condense avec l'aldéhyde pour fournir le dérivé arylidène correspondant qui est appelé aussi le produit de Knoevenagel. La dernière étape consiste à la réaction entre l'enamine et le produit de Knoevenagel pour aboutir à un dérivé 4-aryl (ou 4-alkyl) 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle comme le montre le (Schéma.III.3).

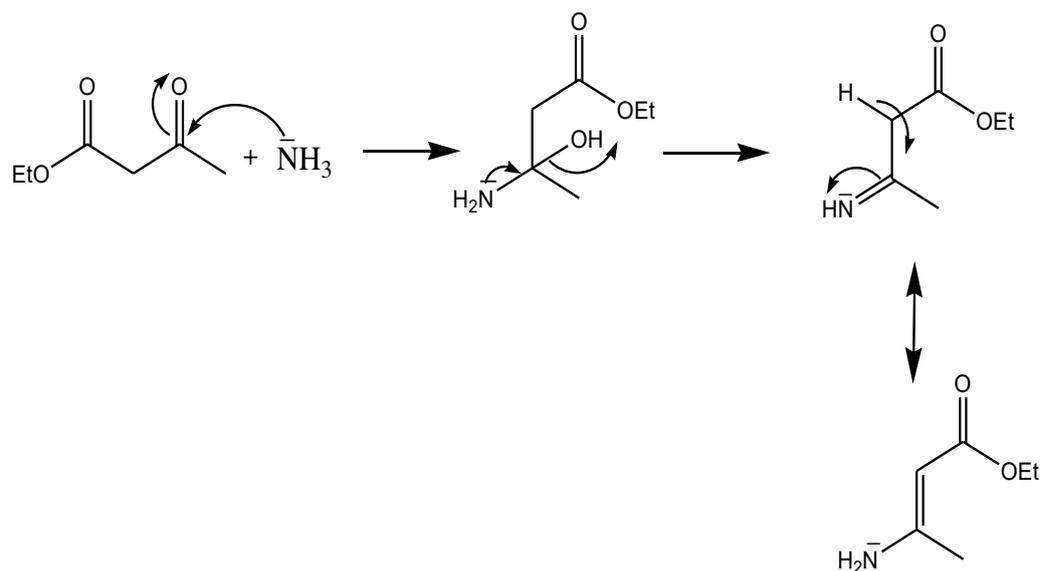


R=H ; C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> ; C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH=CH- ; N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> ; C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>- ; Vanili- ; CH<sub>3</sub>- .

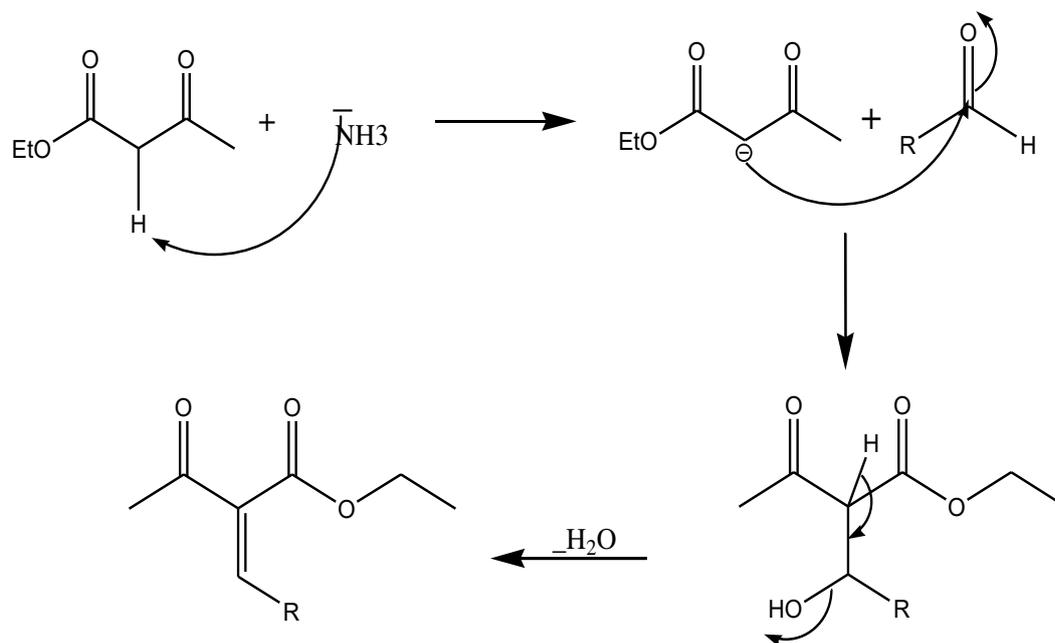
*Schéma. III.1. La réaction de Hantzsch de synthèse de DHPs*

✓ Mécanisme de synthèse du DHPs :

1-Mécanisme de formation de l'imine



2-formation du produit de Knoevenagel



### 3-Réaction produit Knoevenagel et enamine

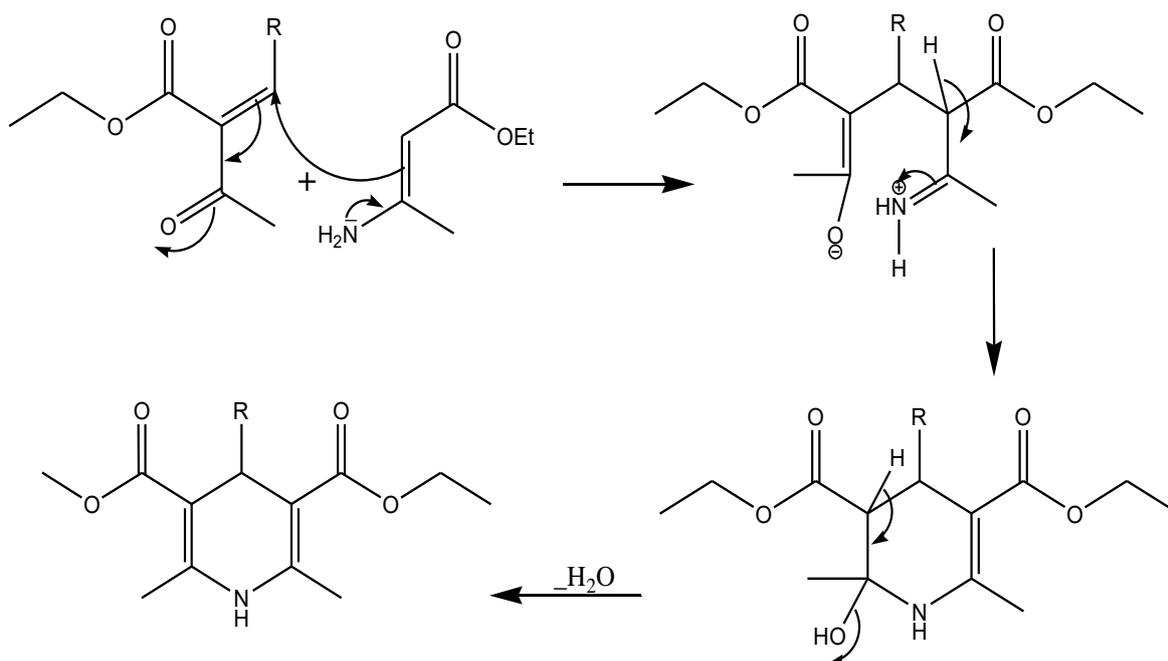


Schéma. III. 2. Mécanisme de synthèse de dihydropyridines

#### III.2.2. Alkylation de 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle

La N-alkylation de dihydropyridine comme le 4-phényl 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle consiste à faire réagir ce composé préalablement préparé avec un dérivé halogéné comme le chlorure de benzyle en présence d'une base comme  $K_2CO_3$  dans différents solvants organiques (DMF, DMSO, Ethanol,...). Le mécanisme de cette réaction est une substitution nucléophile entre le dihydropyridine et le dérivé halogéné. Toute d'abord la base  $K_2CO_3$  sert à arracher le proton de la fonction amine de dihydropyridine pour donner l'anion correspondant qui va réagir avec le dérivés halogéné comme (chlorure de benzyle), dans un solvant tels que le DMF pour obtenir le N-benzyl 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle. Comme le montre le schéma.III.4.

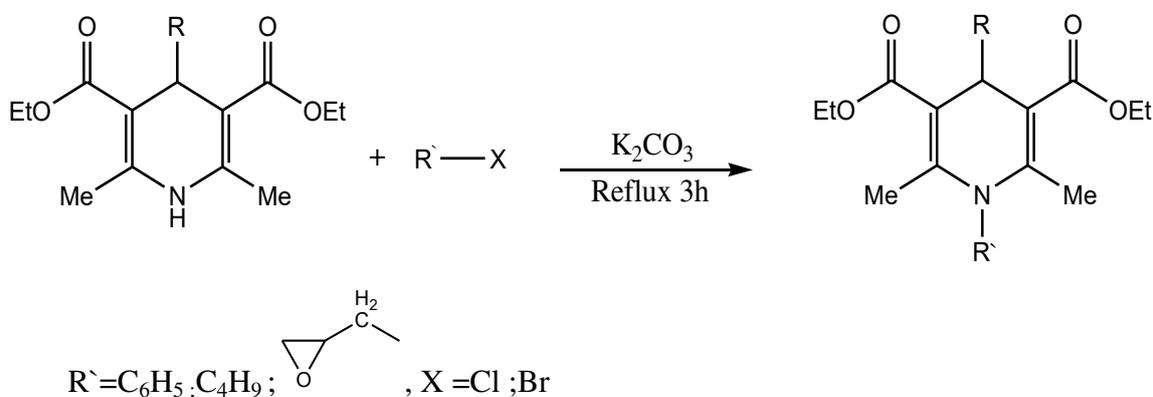


Schéma.III. 3. La réaction d'alkylation de DHPs

✓ Mécanisme de N-alkylation de DHPs :

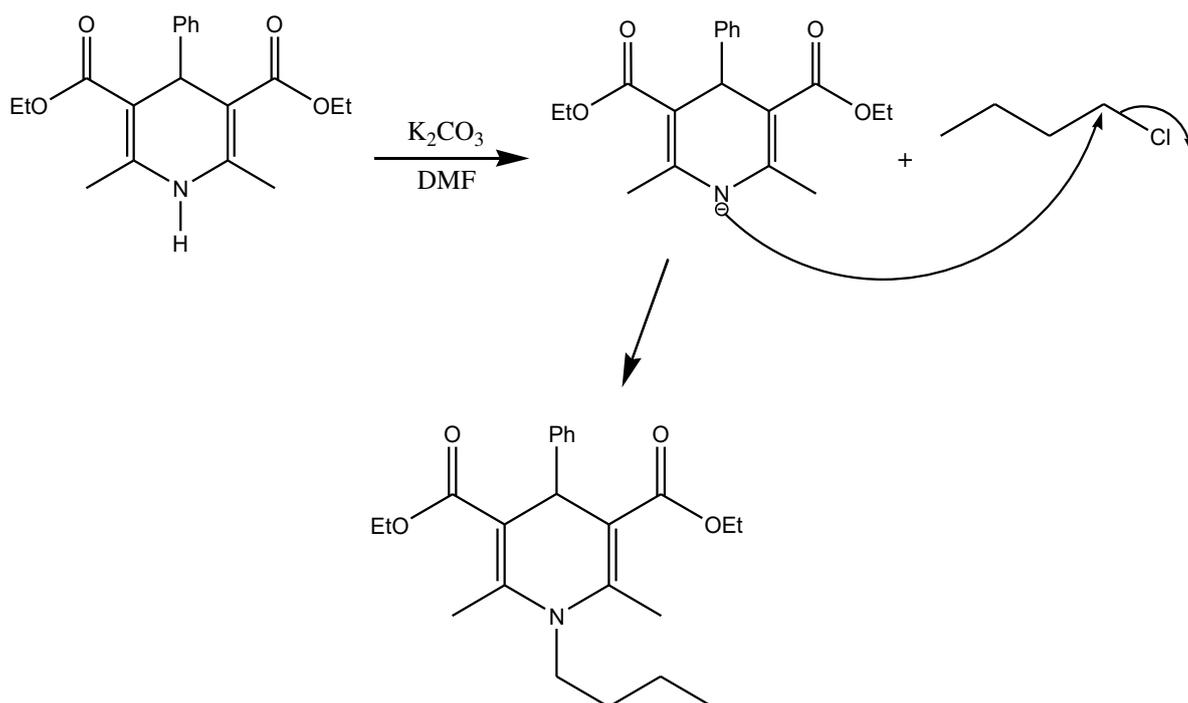


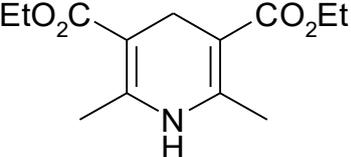
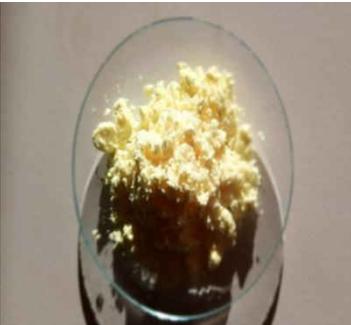
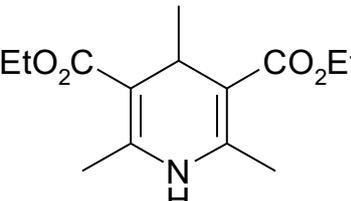
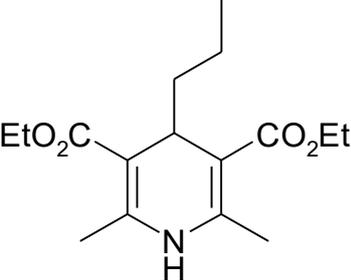
Schéma.III.4. Mécanisme de synthèse de N-alkyl dihydropyridines

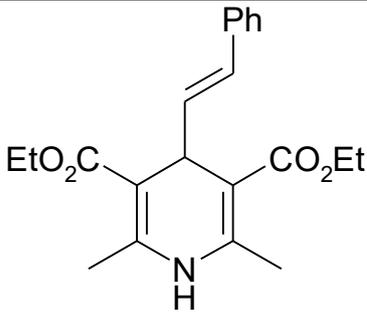
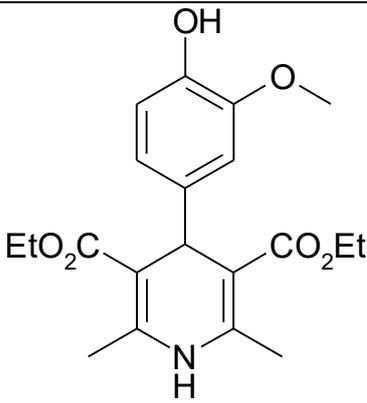
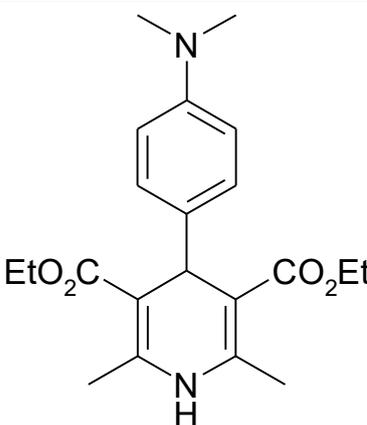
### III. 3.Protocoles expérimentales de la synthèse des DHPs et ses dérivés

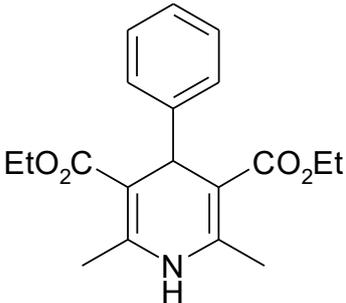
#### III.3.1.Synthèse du 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle

Dans un ballon bi colle de 250ml équipé d'un montage à reflux et agitation magnétique, on introduit (20g, 0.156mol) d'acétoacétate d'éthyle (1) avec (8g, 0.074mol) de benzaldéhyde(2) d'ammoniac (3) concentré (10ml, 0.13mol) et 60 ml d'éthanol absolu. Le mélange est porté à reflux 90°C pendant 5 à 6h. Le mélange réactionnel est refroidit à température ambiante et 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 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle est obtenu sous forme de poudre jaunes pâles (12,10g .47%). Le (Tableau. III. 1) présente les structures moléculaires de différents dérivés DHPs obtenus avec leurs apparences, ainsi qu'avec leurs rendements.

Tableau.III.1.Dérivés de dihydropyridines DHPs synthétisés par réaction de Hantzsch

Structure	Apparence	Tf(°C)	Rt%
 <p>2,6-diméthyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle(<b>DHPF</b>)</p>		158	30
 <p>2,4,6- triméthyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle(<b>DHPE</b>)</p>		95	37
 <p>2,6-diméthyl-4-propyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle(<b>DHPBu</b>)</p>		98	15

 <p>(E)-diethyl 2,6-dimethyl-4-styryl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate (<b>DHPC</b>)</p>		<p>36</p>	<p>60</p>
 <p>Diethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate (<b>DHPV</b>)</p>		<p>36</p>	<p>37</p>
 <p>Diethyl 4-(4-(dimethylamino)phenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate (<b>DHPN</b>)</p>		<p>70</p>	<p>10</p>

 <p>2,6-diméthyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle(DHPB)</p>		<p>135</p>	<p>49</p>
--	--	------------	-----------

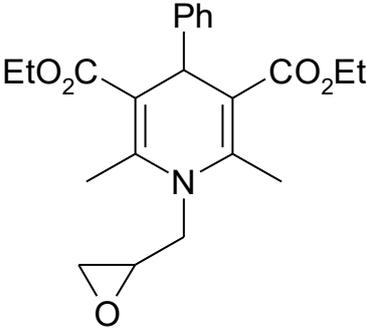
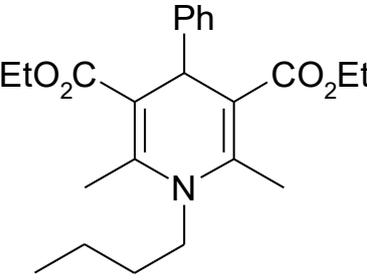
### III.3.2. N-alkylation du 4-R-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle

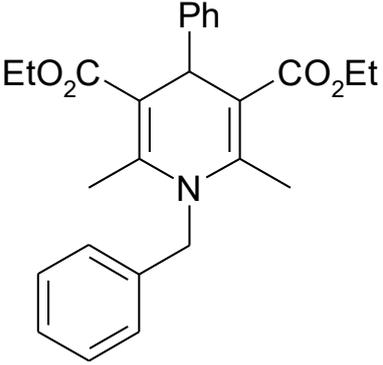
Dans un ballon bicolle de 250ml équipé d'un montage à reflux et agitation magnétique, on met tout d'abord (0.7g) de  $K_2CO_3$  dans (30ml) de DMF(diméthyle formamide), on laisse le mélange agité pendant 20 min à température ambiante, lors que la quantité du  $K_2CO_3$  est totalement dissoudre on ajoute (1.5g) du 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle puis (0.6ml) de chlorure de benzyle goutte a goutte, le tout est maintenu sous agitation à une température de  $70^\circ C$  durant 3h. Le montage est refroidit à l'aire libre, on verse dans le mélange environ 60 ml d'eau froide, le précipité qui se forme est filtré. pour obtenir le N-benzyl-4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle sous forme de cristaux d'une couleur jaunes (1.43g, 84%). Le (Tableau. III. 2) donne les résultats de la réaction de N-alkylation de 2,6-diméthyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle par quelques dérivés halogénés. Le (Tableau. III. 3) présente les structures moléculaires de différents DHPs N-alkylés obtenus avec leurs apparences, ainsi qu'avec leurs rendements.

Tableau.III.2. Optimisation des conditions opératoires de la réaction de N-alkylation

Drivés halogénés	Solvant	Rt (%)	T (°C)
Chlorure de benzyle	DMF	71	65
Chlorobutane	DMF	84	70
Epichlorohydrine	DMF/DMSO/acétone	81 /80 /87	70 /68 /50
Bromure de benzyle	DMSO/éthanol	89/95	70 /60

Tableau. III. 3. Dérivés de dihydropyridines DHPs N-alkylés

Structures	Apparence	Tf (°C)	Rt(%)
 <p>Diethyl 2,6-diméthyl-1-(oxiran-2-ylmethyl)-4-phényl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate(<b>DHPEp</b>)</p>		130	81
 <p>Diethyl 1-butyl-2,6-diméthyl-4-phényl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate(<b>DHPCBu</b>)</p>		132	84

 <p>Diethyl 1-benzyl-2,6-dimethyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate(<b>DHPCB</b>)</p>		<p><b>130</b></p>	<p><b>71</b></p>
---	---	-------------------	------------------

### III.4. Evaluation de l'activité biologique des DHPs

Evaluation de l'activité biologique des molécules dihydropyridine synthétisés est s'articules sur deux axes principaux : La première partie est consacrée à l'activité antioxydant des différentes solutions éthanolique des dérivés azoïques des DHPs 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 ;
- ✓ Différents concentration des solutions de DHP et de ses dérivés (5, 2.5, 1.25, 0.625, et 0.312 mg/ml) sont préparés dans l'éthanol ou l'acétone;
- ✓ Le mélange réactionnel est constitué de 50µl de chaque solution ou de DHP et de ses dérivés ajouté 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.4. Le taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de(DHPE)de l'éthanal*

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.31	4.28
0.62	6.56
1.25	9.77
2.5	11.45
<u>5</u>	<u>14.06</u>

*Tableau. III.5. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de (DHPV)de la vanilline*

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.31	56.98
0.62	62.22
1.25	82.5
2.5	71.76
<u>5</u>	<u>94.66</u>

*Tableau. III.6. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de(DHPB) benzaldéhyde*

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.31	5.79
0.62	6.56
1.25	8.15
2.5	8.95
<u>5</u>	<u>11.45</u>

*Tableau. III.7. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de(DHPF)de formaldéhyde*

<b>Concentration (mg/ml)</b>	<b>Taux d'inhibition (%)</b>
0.31	4.28
0.62	16.8
1.25	21.66
2.5	45.90
<b><u>5</u></b>	<b><u>62.22</u></b>

*Tableau. III.8.Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de (DHPBu) de butanal*

<b>Concentration (mg/ml)</b>	<b>Taux d'inhibition (%)</b>
0.31	75.47
0.62	93.75
1.25	75.46
2.5	93.76
<b><u>5</u></b>	<b><u>97.87</u></b>

*Tableau. III.9. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations(DHPN) de N,N-diméthylaminobenzaldéhyde*

<b>Concentration (mg/ml)</b>	<b>Taux d'inhibition (%)</b>
0.31	57.62
0.62	40.90
1.25	57.62
2.5	57.62
<b><u>5</u></b>	<b><u>57.62</u></b>

*Tableau. III.10. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations (DHPC) de cinnamaldéhyde*

<b>Concentration (mg/ml)</b>	<b>Taux d'inhibition (%)</b>
0.31	38.80
0.62	40.90
1.25	45.31
2.5	55
<b><u>5</u></b>	<b><u>63.15</u></b>

*Tableau. III.11. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de(DHPE)epichlorophyrine*

<b>Concentration (mg/ml)</b>	<b>Taux d'inhibition (%)</b>
0.31	92
0.62	79.31
1.25	73.33
2.5	73.33
<b><u>5</u></b>	<b><u>64.74</u></b>

*Tableau.III.12. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de (DHPCBu) de chlorobutane*

<b>Concentration (mg/ml)</b>	<b>Taux d'inhibition (%)</b>
0.31	73.33
0.62	73.33
1.25	79.31
2.5	79.33
<b><u>5</u></b>	-

Tableau.III.13. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de (DHPCB) chlorure de benzyle

Concentration (mg/ml)	Taux d'inhibition (%)
0.31	73.33
0.62	97.31
1.25	85.71
2.5	79.31
<u>5</u>	<u>100</u>

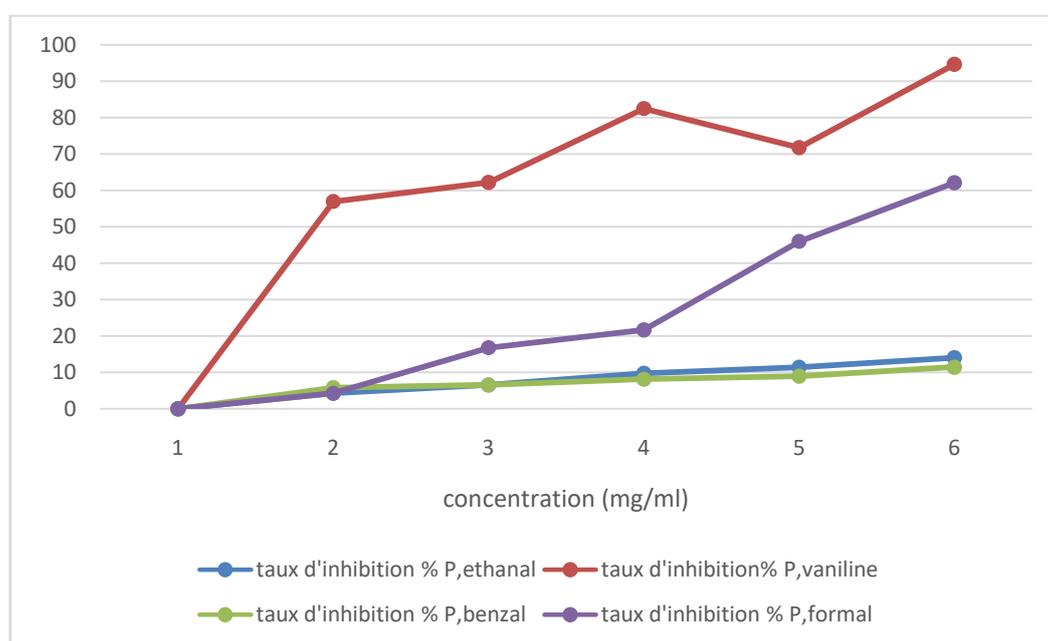


Figure.III.1. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution acétonique des DHPs.

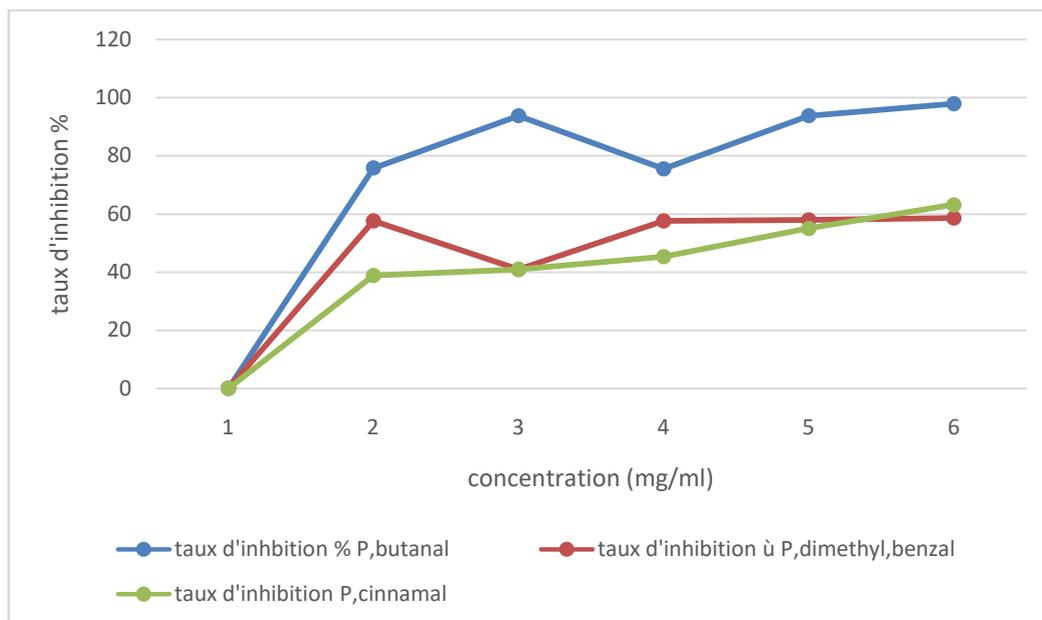


Figure.III. 2. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution acétonique des DHPs

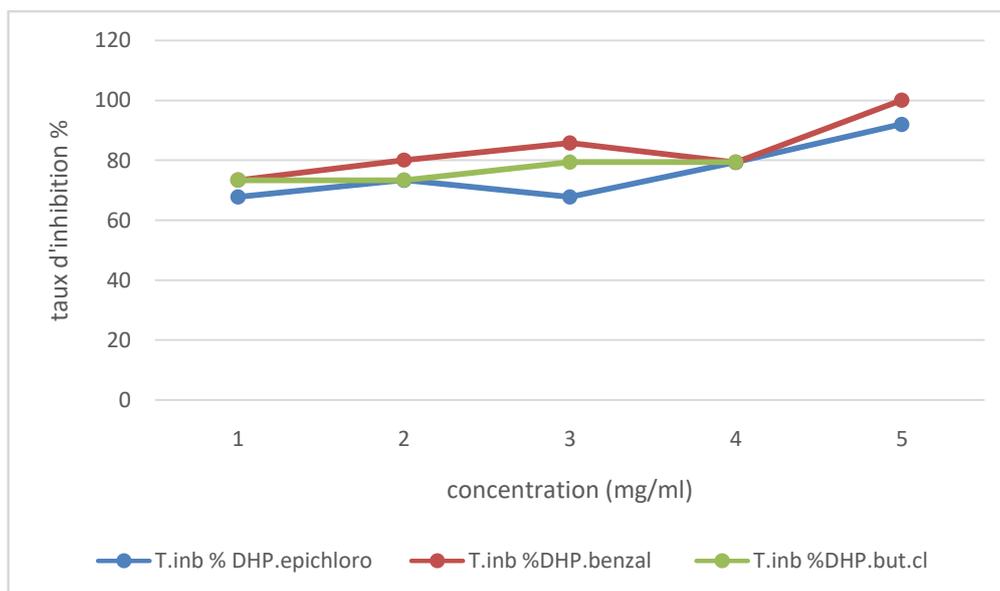


Figure.III.3. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique des DHPs N-alkylés

Tableau.III.14. Valeurs d'IC50 des différents DHPs synthétisés

DHPs	IC50
DHPV(vaniline)	1.4
DHPN(N,N-diméthylamino benzaldéhyde)	3.6
DHPC(cinnamaldéhyde)	4.5
DHPB(butanal)	1.7
DHPF(formaldéhyde)	5.3
DHPB(benzaldéhyde)	-
DHPE(éthanal)	-
DHPE(epichlorophyridrine)	-
DHPCB(chlorure de benzyle)	-
DHPCBu(chlorobutane)	-

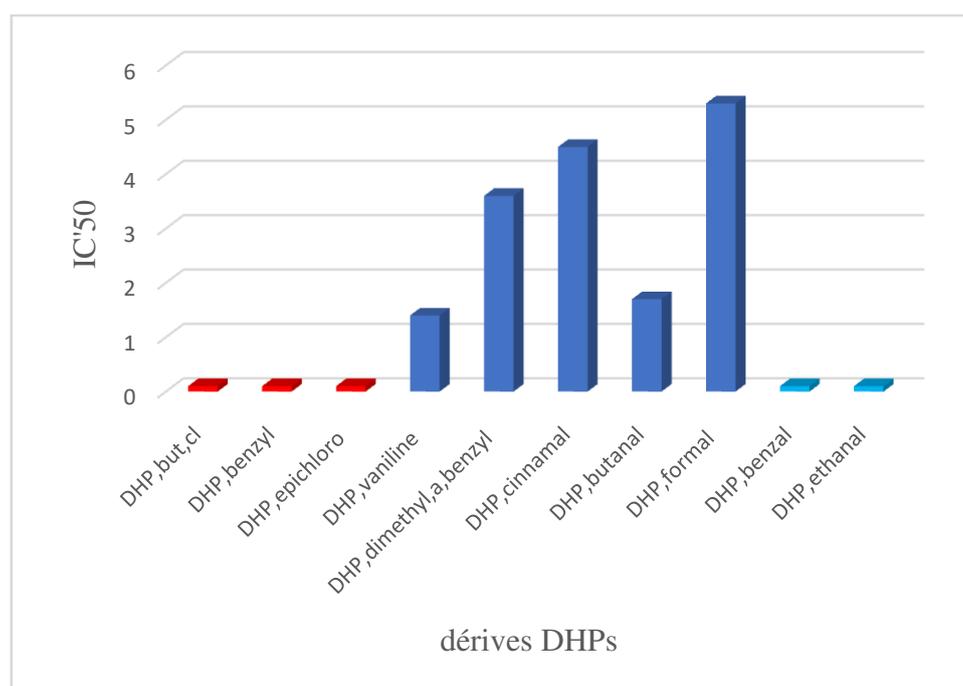


Figure.III.4. Variation d'IC50 en fonction des dérivés DHPs

### III.4.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

#### III.4.2.1. 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.15. les souches testées pendant l'évaluation des activités antimicrobiennes**

<b>SOUCHE</b>	<b>CODE</b>	<b>GRAM</b>
<i>Escherichia coli</i>	<b>ATCC 25922</b>	<i>Négative</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>ATCC 25923</b>	<i>Positive</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<b>ATCC11778</b>	<i>positive</i>

#### **III.4.2.2. 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 densité optique de suspension bactérienne entre 0.08 à 0.12 à 625 nm)

#### **III.4.2.3. Préparation des puits**

L'activité antibactérienne des différentes solutions éthanolique et acétonique de dihydropyridines et ses dérivés a été étudiée pour chaque souche bactérienne. À partir d'une culture de 18 à 20 h (105-106 UFC/ml). L'ensemencement de l'inoculum de 1ml 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 puits. 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.

#### **III.4.2.4. L'ensemencement**

- La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène ;
- Immerger un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- En fait frotter l'écouvillon sur les boîtes pétrie qui contiennent la gélose nutritive (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  $\mu$ l du produit et on le met dans les puits. (Dans chaque boîte quatre trois puits ont été réalisée à une seule concentration( $C=0.05$ mg/ml) Pour le contrôle négatif (témoin) on le met dans à coté de la dihydropyridine dans le première boîte pétrie. En fin, les boîtes de Pétri sont laissées dans l'incubateur ( $37^{\circ}C$  pour les bactéries).



**1. Préparation de l'inoculum**



**2. Ensemencement en surface**



**3. Carottage (création des puits)**



**4. Dépôt des matériaux**

**Figure.III.5. Protocole expérimentale de l'activité antibactérienne**

**III.4.2.6. Lecture des résultats**

**Tableau.III.16.Diamètre de la zone d'inhibition en \*(mm)**

<b>Les souches bactériennes</b>	<b>Escherichia coli</b>	<b>Bacillus cereus</b>
DHP de vanilline	-	11, 61
DHP d'éthanal	09,70	11,61
DHP de butanal	11,07	21,77
DHP de diméthyle amino benzène	-	08,70
DHP de benzaldéhyde	-	-
DHP de formaldéhyde	-	-

---

<b>Les souches bactériennes</b>	<b>Escherichia coli</b>	<b>Staphylococcus aureus</b>
DHP de cinnamaldehyde	15	13,5
N-butyle DHP	-	10,5
N-benzyle DHP	10,5	12
N-(oxiran-2-ylmethyl) DHP	10,5	12

---

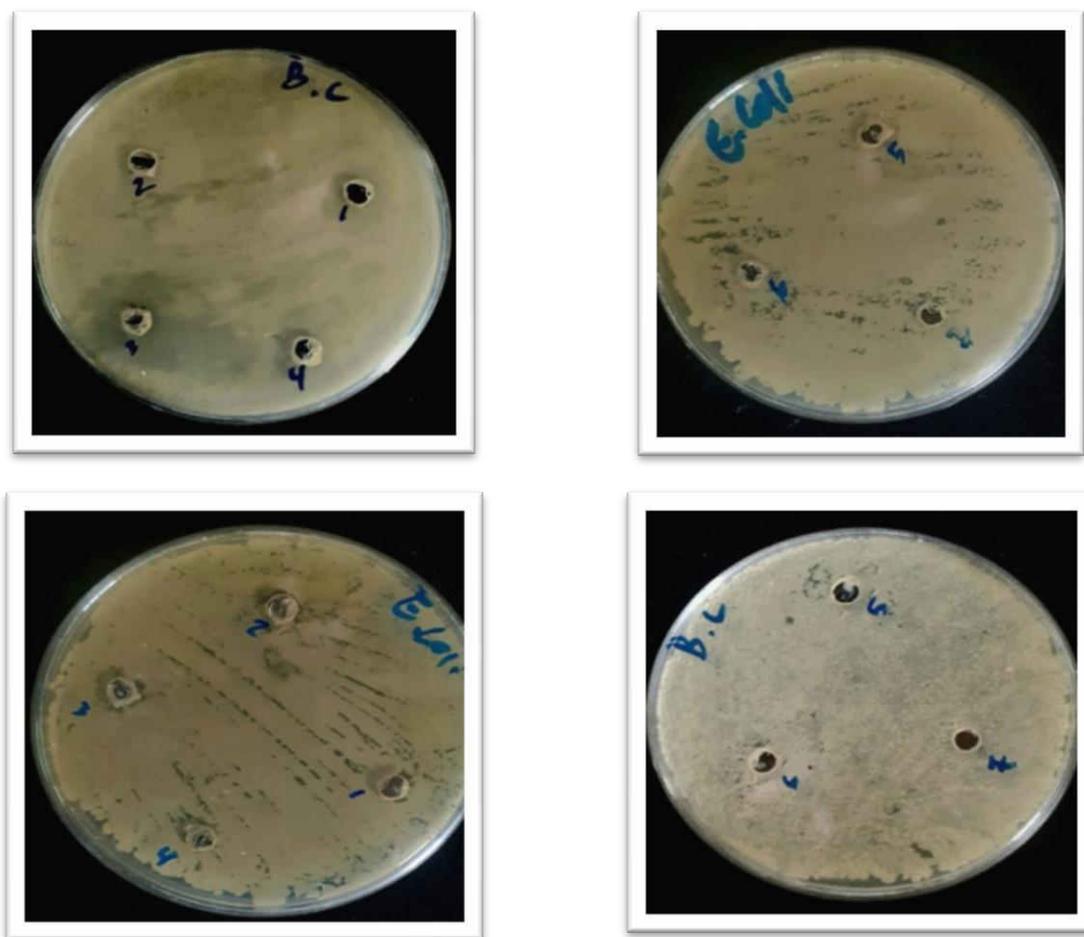


Figure.III.6. Résultat de l'activité antibactérienne

### III.5. Discussion des résultats

La réalisation de la réaction de Hantzsch durant cette présente étude nous a permis d'obtenir sept composés de DHPs correspondant aux aldéhydes suivants ( benzalaldéhyde, formaldéhyde, butanal ,éthanal , vaniline , cinnamalaldéhyde , N,N-diméthylaminobenzalaldéhyde ) , ces derniers ont fait l'objet de teste biologique à savoir les testes d'activité antioxydant par réduction de radical DPPH et des testes antibactériennes par la méthode de diffusion on puits ,contre deux souches bactériennes de références E.coli (ATCC 25922) S.aureus (ATCC 25923) B.cereus (ATCC11778). En effet , les résultats de l'activité antibactérienne ont permis d'obtenu d'importantes zones d'inhibition contre E.coli avec des valeurs de 15 , 9.70 ,11.07 mm pour les composes de DHPs respectivement cinnamal , éthanal , butanal et contre B.cereus avec des zones de 11.61 , 11.60 , 21.77, 8.70 pour les composes de DHPs respectivement vaniline , ethanal ,butanal , dimethyl amino benzene.On outre , ces résultats confirment ceux de Stefan MARCHALIN et al (2016)[1]qui ont testant les effets antibactériennes des dérivés6-méthyl-4-nitro-phényl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de 3-méthyl-5-isopropyle sur E.coli et S.aureusont montré

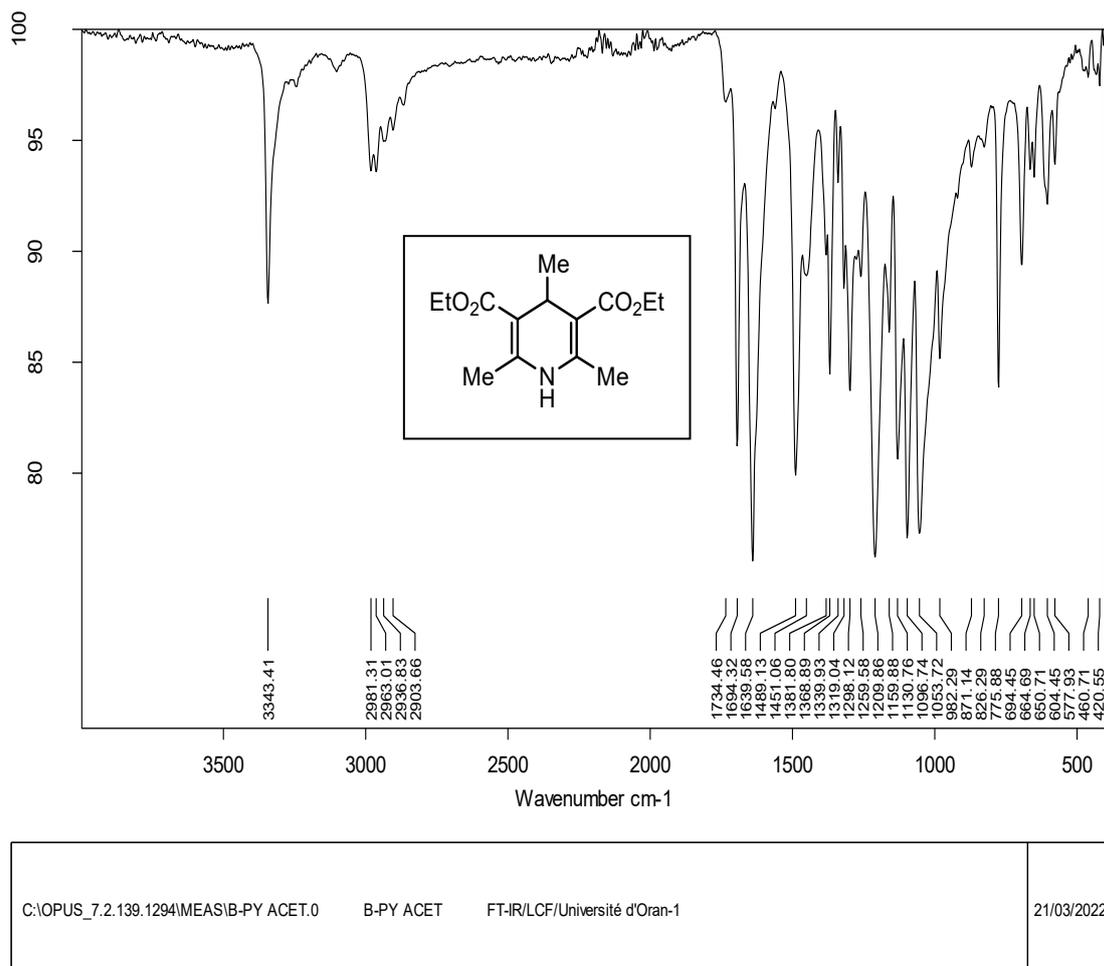
des activités d'inhibition significativement plus élevées sur tous les micro-organismes testés par rapport au reste des dérivés. Dans le même propos Alimamad MALANI et al(2021)[2] a révélé une bonne activitéantibactérienne des composes titrés contre différentes bactéries (Gram négative)concentration minimale inhibitrice = 50 µg/ml) et champignons.De plus, l'activité antioxydante des solutions DHPs contre le radical DPPH a été mesurée en suivant la réduction de ce radical, qui est accompagnée par le passage de la couleur violette (DPPH<sup>•</sup>) à la couleur jaune (DPPH-H) à 515 nm. Ainsi, la solution hydroéthanolique de la DHP a une capacité significative à piéger le radical DPPH, comme le montre la **figure.III.4**, avec une concentration inhibitrice<sup>•</sup>IC=5mg/ml. Ont révélé que les composés synthétisés possèdent une moyenne activité antioxydante avec des valeurs de IC50 1, 3, 4, 1.2, 4.9 pour les composes de DHPs respectivement (vaniline, dimetyl amino benzyl, cinammal, butanal, formal), on outre ces résultat sont bon accord avec ceux trouvée par Panek, J.; et al (2000) [3]ont démontré également que la diludine était le dérivé le plus actif, suivie de plusieurs dérivés structurellement apparenté. Par contre Manuela G.Lopez et al (2020) [4] qui ont montré une nouvelle famille de 4,7-dihydro-2 H -pyrazolo[3- b ]pyridines en tant que ligands multicibles montrant de puissantes propriétés antioxydantes et capables de piéger à la fois les radicaux oxygène et azote. Cette différence due au changement des substituants et les conditions opératoire.

**Références Bibliographiques**

- [1] Petra OLEJNÍKOVÁ ,Lubomír ŠVORC ,Denisa OLŠOVSKÁ ,Anna PANÁKOVÁ Zuzana VIHONSKÁ ,Katarína KOVARYOVÁ et Štefan MARCHALÍN.
- [2] Alimamad Malani,Atul Makwana,Jahnvi Monapara,Iqrar Ahmad,Harun Patel,Nisheeth Desai, First published: 30 August 2021.
- [3] Panek, J.; Reblova, Z.; Kocirkova, L.; Trojakova, L.; et al.2000.Journal of Food Sciences, 1212-1800.
- [4] Michalska, Patrycja, Paloma Mayo, Cristina Fernández-Mendívil, Giammarco Tenti, Pablo Duarte, Izaskun Buendia, María T. Ramos, Manuela G. López, J. C. Menéndez et Rafael León. López, J. C. Menéndez, et Rafael León. 2020. "Profils antioxydants, anti-inflammatoires et neuroprotecteurs de nouveaux dérivés de la 1,4-dihydropyridine pour le traitement de la maladie d'Alzheimer" Antioxidants 9, no 8 : 650.

# *Annexe*

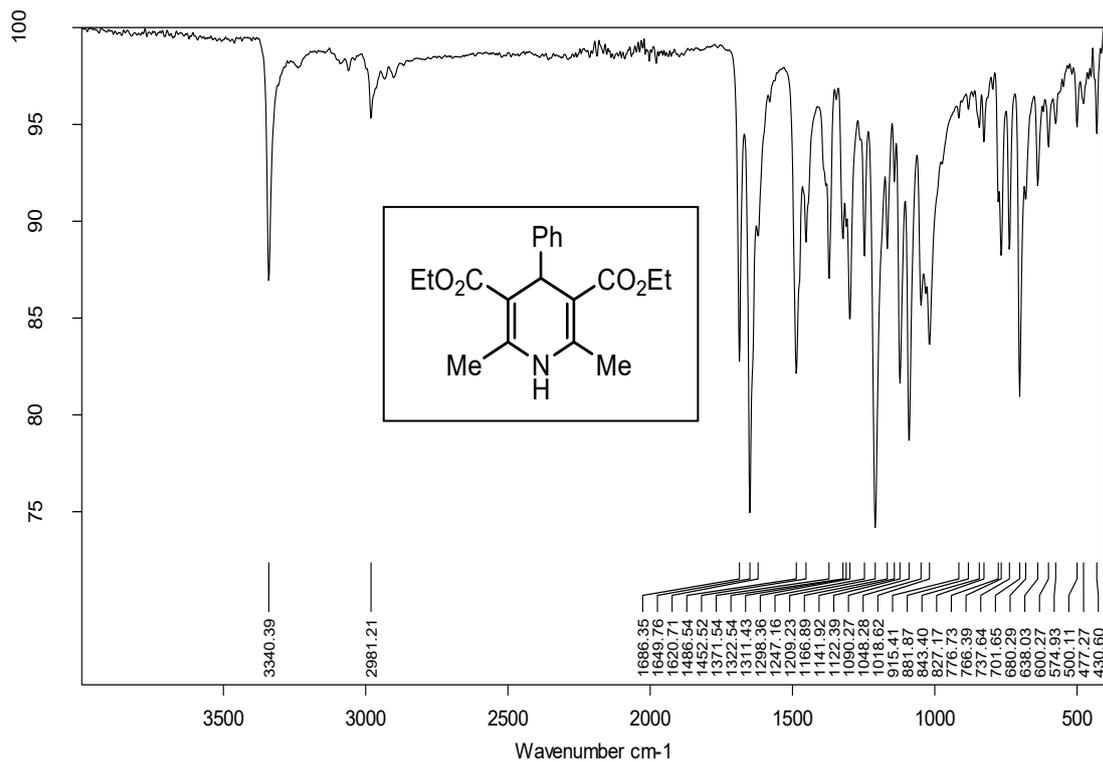
---



**Figure 1** : Spectre d'absorption IR de 1,4-dihydropyridine-2,4,6-diméthyl-3,5-dicarboxylate de diéthyle

**IR (cm<sup>-1</sup>): N-H (3343,41) ,C=O (1743,46), C-O (1209,86)**

**C=C, Ar (1639,58), C-C, Ar (1639,58), C-H<sub>sp3</sub> (2961), C-H<sub>sp2</sub> (2963,01), CH<sub>3</sub> (1259,58)**



C:\OPUS\_7.2.139.1294\MEAS\B-PY BN.0

B-PY BN

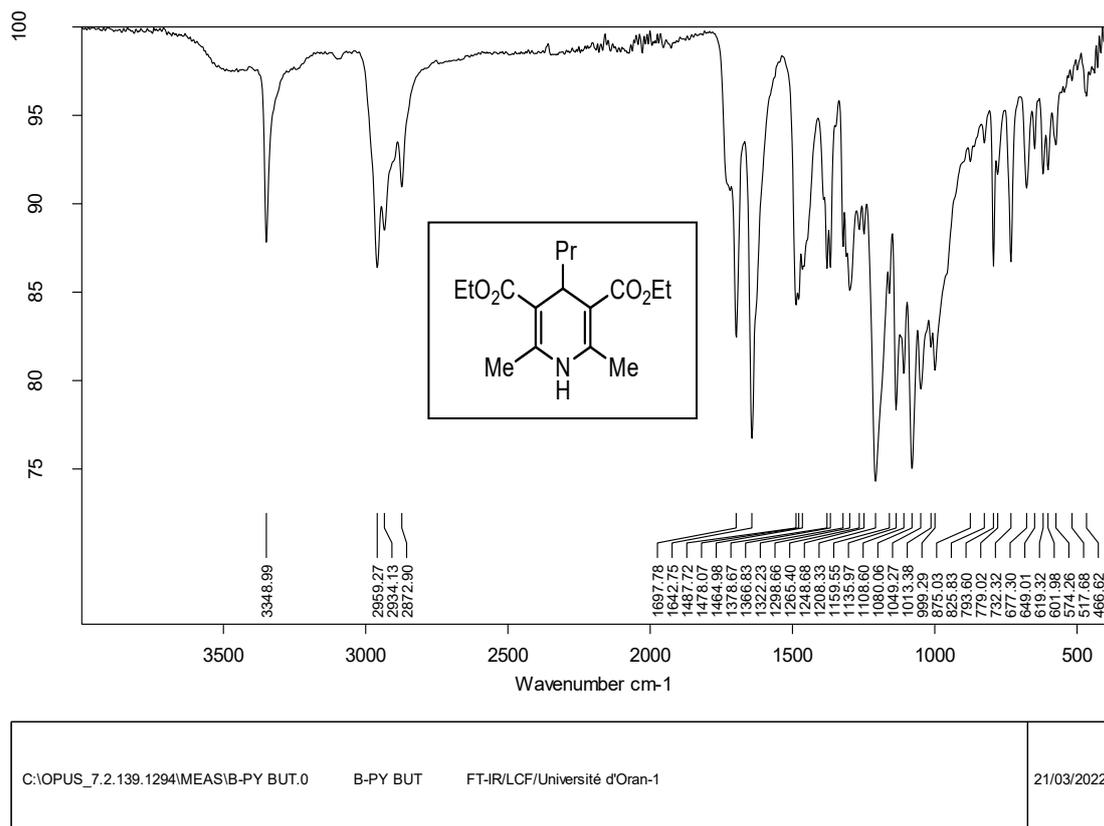
FT-IR/LCF/Université d'Oran-1

21/03/2022

**Figure 2 :** Spectre d'absorption IR de 1,4-dihydropyridine-2,6-diméthyl-4-phényl-3,5-dicarboxylate de diéthyle

**IR (cm<sup>-1</sup>):** N-H (3340,39), C-O (1202,23), C=C, Ar (1486,54)

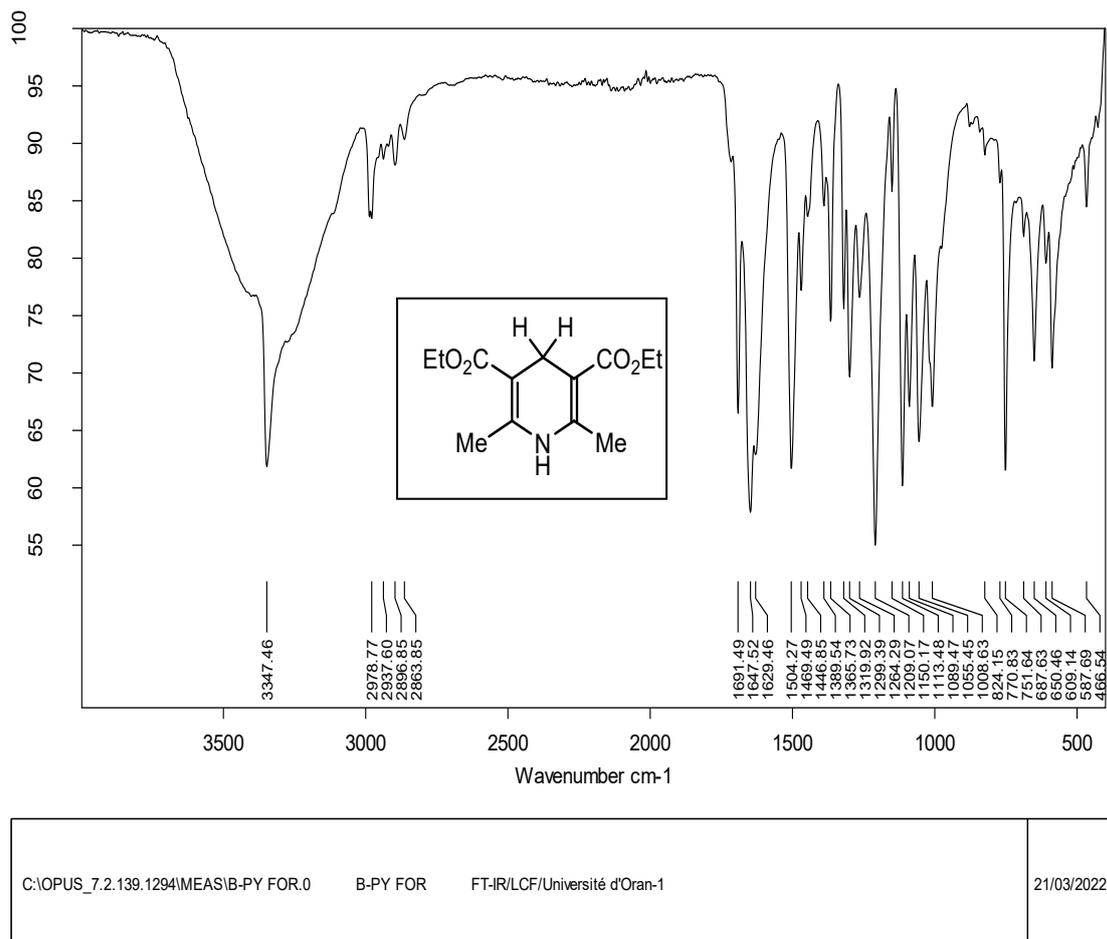
**C=O, Ar (1649,76), C-H<sub>sp3</sub> (2812)**



**Figure 3 :** Spectre d'absorption IR de 1,4-dihydropyridine-2,6-diméthyl-4-propyl-3,5-dicarboxylate de diéthyle

**IR (cm<sup>-1</sup>): N-H (3348,99), C=O (1697,78), C-O (1108,60)**

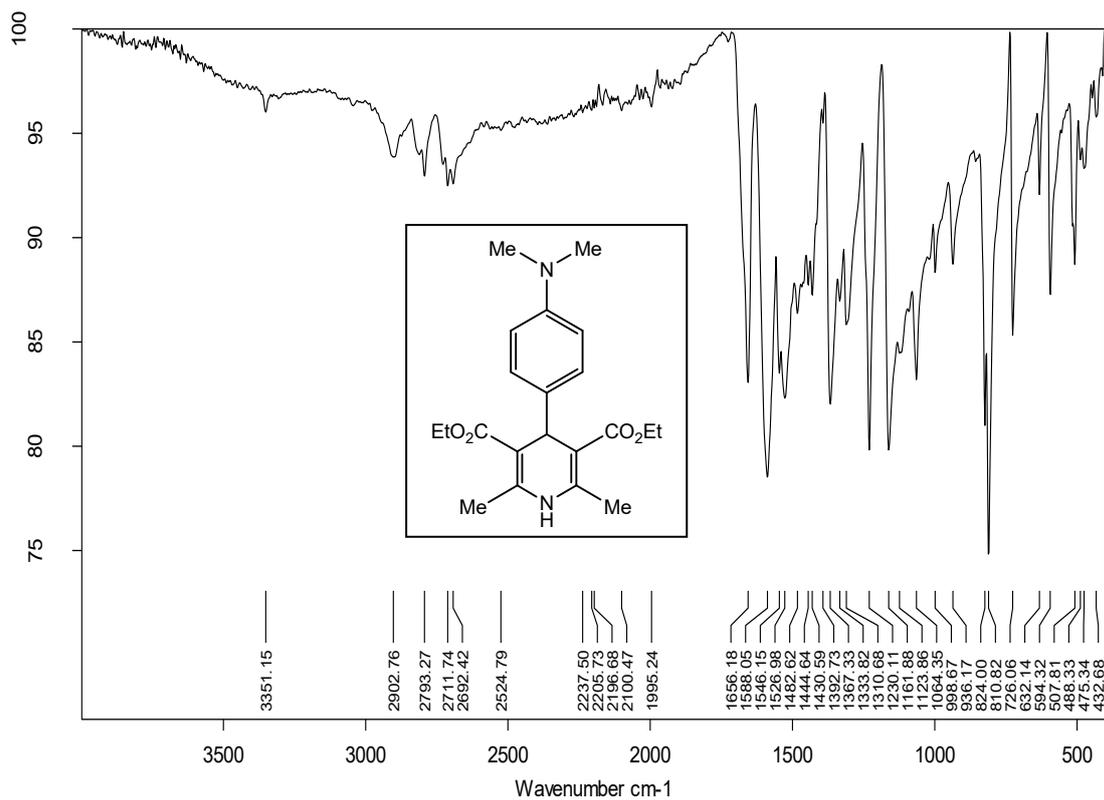
**C=C, Ar (1487,72), C-C, Ar (1642,75), C-H<sub>sp3</sub> (2868), C-H<sub>sp2</sub> (2959,27)**



**Figure 4 :** Spectre d'absorption IR de 1,4-dihydropyridine-2,6-diméthyl-3,5-dicarboxylate de diéthyle

**IR (cm<sup>-1</sup>):** N-H (3347,46), CH<sub>3</sub> (1264,29), C-O (1113,48)

**C=C, Ar (1469,49), C=O, Ar (1647,52), C-H<sub>sp3</sub> (2900), C-H<sub>sp2</sub> (2978,77)**



C:\OPUS\_7.2.139.1294\MEASIB-PY ME.0

B-PY ME

FT-IR/LCF/Université d'Oran-1

21/03/2022

**Figure 5** : Spectre d'absorption IR de 1,4-dihydropyridine-2,6-diméthyl-3,5-dicarboxylate de diéthyle

**IR (cm<sup>-1</sup>): C-O (1161,33) ,C=C<sub>Ar</sub> (1588,05) ,C=O Ar (1656,18)**

**C-H<sub>sp3</sub> (2902) ,CH<sub>3</sub> (1392,73)**

## *Conclusion Générale*

---

## Conclusion Générale

---

Au cours de ce travail nous avons présenté quelques résultats sur la synthèse et l'évaluation biologique des dérivés dihydropyridiniques qui contiennent un motif de dihydropyridine ou 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle. Ces composés qui montrent une activité biologique intéressante vis-à-vis des radicaux libres et des bactéries ont été préparés avec succès en utilisant des réactions classiques et efficaces. Les dérivés dihydropyridiniques sont préparés par la méthode de **Hantzchen** chauffant à reflux deux molécules de β-cétoester (acétoacétate d'éthyle) avec un aldéhyde comme le benzaldéhyde dans l'éthanol comme un solvant et en présence de l'ammoniac comme donneur d'azote pour accéder au motif pyridinique. L'étude des propriétés antioxydantes a été effectuée par la méthode de piégeage du DPPH, utilisé comme un radical libre qui peut facilement être piégé par les composés 1,4-dihydropyridiniques synthétisés.

L'activité antibactérienne a également été réalisée en utilisant deux genres de bactérie *Escherichia coli* à gram négatif et *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* à gram positif. Les résultats obtenus à partir de cette étude expérimentale nous permettent de tirer les conclusions suivantes :

1- Les dérivés 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de diéthyle préparés par le procédé de Hantzsch sont obtenus avec un bon rendement similaire, voire élevé avec ceux trouvés dans la littérature.

2- Le spectre IR des DHPs synthétisés est en bon accord avec les structures de DHPs proposées, ce qui indique clairement le bon déroulement de cette synthèse et la pureté des DHPs obtenus.

3- Les tests de l'activité antioxydante montrent que la plupart des dérivés dihydropyridiniques synthétisés possèdent une activité antioxydante. En effet, l'activité de piégeage du radical libre DPPH varie avec la concentration des dihydropyridines ou nous avons remarqué que les DHPs de vanilline ont un potentiel antioxydant le plus élevé. D'une façon générale, l'activité antioxydante des dihydropyridines est de l'ordre suivant :

DHPV > DHPN > DHPC > DHPBu > DHPF

4- Les tests de l'activité antibactérienne des molécules ciblées en utilisant *Escherichia coli* à gram négatif et *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* à gram positif révèlent que les dihydropyridines ont une moyenne activité antibactérienne, sauf dans le cas de DHPC qui montre un pouvoir antibactérien avec inhibition assez importante vis-à-vis l'évolution de la bactérie *Escherichia coli*, et aussi le DHPV montre un pouvoir antibactérien assez élevé vis-à-

## ***Conclusion Générale***

---

vis l'évolution de la bactérie ***Bacillus cereus***. Par conséquence, L'activité antibactérienne des dihydropyridines est classée suit :

✓ E. coli : DHPC >DHPE>DHPBu

✓ B.cereus : DHPV >DHPE>DHPBu>DHPN

5-les résultats de l'activité biologique révèlent que les dihydropyridines N-alkylées ne possèdent aucune activité antioxydante ; par contre ces molécules ont une activité antibactérienne importante

## Résumé

Les dérivés dihydropyridines sont des syntones et réactifs importants en synthèse organique, ils ont trouvé des applications avec de nombreuses activités pharmacologiques, comme analgésique, anti-amnésique, anti-convulsant, antidiabétique, anti-inflammatoire. De plus les dérivés hydropyridines ont été avérées utiles dans les produits agrochimique et biologique et avec d'autres applications diversifiées. L'objectif de ce travail est la synthèse et l'évaluation antioxydante et antibactérienne de quelques dérivés dihydropyridines. Les résultats obtenus montrent clairement que la plus part des dihydropyridines testés ont une activité antioxydante, notamment, DHPV qui possède un potentiel antioxydant très important, Les résultats des testes antibactériens révèlent que seulement le DHPV et DHPC ont une forte activité antibactérienne.

## Abstract

Dihydropyridine derivatives are important syntones and reagents in organic synthesis; they have found applications with many pharmacological activities, such as analgesic, anti-amnesic, anti-convulsant, anti-diabetic, and anti-inflammatory. Additionally, dihydropyridines derivatives have been proven useful in agrochemical and biological products and with other diverse applications. The objective of this work is the synthesis and the antioxidant and antibacterial evaluation of some dihydropyridine derivatives. The results obtained clearly show that most of the hydropyridines tested have antioxidant activity, in particular, DHPV which has a very significant antioxidant potential. , The results of antibacterial tests reveal that only DHPV and DHPC which have strong antibacterial activity.

## ملخص

مشتقات ديهيدروبيردين هي مواد تركيبية وكواشف مهمة في التركيب العضوي ، وقد وجدت تطبيقات لها العديد من الأنشطة الدوائية ، مثل المسكنات ، ومضادات فقدان الذاكرة ، ومضادات الاختلاج ، ومضادة للسكري ، ومضادة للالتهابات. بالإضافة إلى ذلك ، فقد ثبت أن ثنائي هيدروبيردين مفيد في المنتجات الكيماوية الزراعية والبيولوجية ومع تطبيقات متنوعة أخرى. الهدف من هذا العمل هو تخليق وتقييم مضادات الأكسدة والبكتيريا لبعض مشتقات الديهيدروبيردين. النتائج التي تم الحصول عليها تظهر بوضوح أن معظم الهيدروبيردين المختبرة لها نشاط مضاد للأكسدة ، على وجه الخصوص ، DHPV الذي يحتوي على إمكانات كبيرة جدا كمضاد للأكسدة. ، النتائج التي تم الحصول عليها من الاختبارات المضادة للبكتيريا تكشف أن DHPV DHPC فقط لهما نشاط قوي مضاد للجراثيم .