

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTER DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE A. MIRA Bejaia**



**FACULTE de TECHNOLOGIE**  
**DEPARTEMENT de GENIE des PROCÉDES**

**MEMOIRE**  
**PRESENTE POUR OBTENIR LE DIPLOME DE MASTER EN GENIE DES PROCÉDES**

**Spécialité**  
**GENIE DES PROCÉDES**

**Option**  
**SCIENCES ET TECHNOLOGIE DES MEDICAMENTS**

**THEME**

---

**Synthèse de 3,4 Dihydropyrimidinone via la réaction de Biginelli**  
**en présence du catalyseur  $Zn(NO_3)_2$**

---

**Présenté Par :**

**SAKER Yanis**

**ADJOUT Aghilas**

**Devant le Jury :**

**Président M. Hamachi**

**Univ. A- MIRA Béjaia**

**Promoteur K. Kouachi**

**Univ. A- MIRA Béjaia**

**Co-Promoteur A. Soualah**

**Univ. A- MIRA Béjaia**

**Examineur S. Ramdani**

**Univ. A- MIRA Béjaia**

**Examineur H. Belkacemi**

**Univ. A- MIRA Béjaia**

**JUIN 2014.**

## **REMERCIEMENTS**

---

Ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de Chimie du département de tronc commun, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, en collaboration avec le laboratoire de physico-chimie des matériaux et catalyse, Faculté des Sciences exacts; Université de Béjaia.

On remercie vivement Madame K. Kouachi, Maitre de Conférences à la Faculté SNV, son encadrement, sa disponibilité, les discussions constructives et pour ses encouragements durant la réalisation de ce mémoire.

Nos remerciements vont également à Monsieur A. Soualah, Professeur à la Faculté de Technologie, pour la qualité de sa collaboration et de ses encouragements pour le bon déroulement de ce travail.

On tient également à remercier Madame S. Bouderies, Maitre assistante à la Faculté SNV, de nous avoir aidé et guidé pour mener à bien la partie Microbiologie.

Un grand merci à Monsieur M. Hamachi, Maitre de Conférences à la Faculté de Technologie, pour l'honneur qu'il nous fait en présidant ce jury.

Nous sommes très honorés de la participation de Madame H. Belkacemi, Maitre de Conférences à la Faculté de Technologie, à notre jury de mémoire et on l'en remercie vivement.

On souhaite également remercier Monsieur N. Ramdani, Maitre assistant à la Faculté SNV, pour avoir accepté de juger ce travail.

On tient aussi à exprimé nos sincères remerciements aux techniciens des (*laboratoires (01 bloc 9 de Biologie) et (06 et 07 bloc 11 de chimie industrielle)*) pour leur disponibilités.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail et qui nous ont témoigné leur soutien.

## **DÉDICACE**

---

*A nos parents si chers et précieux, qui ont toujours été là pour nous, et qui nous ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.*

*A nos très chères mamies,*

*Et toute la famille,*

*A toutes nos amis.*

*A tous ceux qui nous sont chers au monde...*

***Yanis et Aghilas***

## *LISTE DES ABRÉVIATIONS*

<b>RMCs</b>	Réactions multicomposants
<b>EtOH</b>	Ethanol
<b>DHP</b>	Dihydroryridine
<b>DHPM</b>	Dihydropyrimidinone
<b>CCM</b>	Chromatographie sur Couche Mince
<b>R<sub>f</sub></b>	Rapport frontal
<b>T<sub>f</sub></b>	Température de fusion
<b>IR</b>	Infra-Rouge
<b>RMN</b>	Résonance Magnétique Nucléaire
<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde
<b>DMSO-d<sub>6</sub></b>	Diméthylsulfoxyde deutéré
<b>ppm</b>	partie par million
<b><i>E. coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b><i>L. innocua</i></b>	<i>Listeria innocua</i>
<b><i>C. albicans</i></b>	<i>Candida albicans</i>
<b>SARM</b>	<i>Staphylococcus aureus résistant à la Méthicilline.</i>
<b>ECEH</b>	Entérohémorragique
<b>SHU</b>	Syndrome Hémolytique et Urémique

## *LISTE DES SCHÉMAS*

### *Chapitre I*

<b>Schéma I-1</b> : Réaction de Strecker	2
<b>Schéma I-2</b> : Réaction de Hantzsch	2
<b>Schéma I-3</b> : Réaction de Passerini	2
<b>Schéma I-4</b> : Réaction d'Ugi	3
<b>Schéma I-5</b> : La synthèse classique du produit de Biginelli	3
<b>Schéma I-6</b> : Synthèse de l'éthyle benzuramido-crotonate	4
<b>Schéma I-7</b> : Mécanisme de la réaction de Biginelli	15

### *Chapitre III*

<b>Schéma III-1</b> : Réaction de Biginelli	36
<b>Schéma III-2</b> : Proposition du mécanisme de la réaction de Biginelli catalysée par $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ en l'absence de solvant	27

## *LISTE DES FIGURES*

### *Chapitre II*

<b>Figure II-1</b> : Dispositif utilisé pour déterminer la température de fusion	22
<b>Figure II-2</b> : Montage de la réaction multicomposant de Biginelli	23
<b>Figure II-3</b> : Réalisation des puits sur le milieuensemencé	25
<b>Figure II-4</b> : Ensemencement des souches cibles sur milieu Muller-Hinton	26
<b>Figure II-5</b> : Identification de l'activité antibactérienne	27

### *Chapitre III*

<b>Figure III-1</b> : Rendement en DHPM en fonction de la quantité en urée en présence du catalyseur $Zn(NO_3)_2$ (0,2 g).	32
<b>Figure III-2</b> : Rendement en DHPM en fonction de la masse du catalyseur $Zn(NO_3)_2$ . Quantité en urée = 3 mmol	32
<b>Figure III-3</b> : Rendement en DHPM en fonction de la température de réaction en présence du catalyseur $Zn(NO_3)_2$ .	33
<b>Figure III-4</b> : Rendement en DHPM après 1 heure de réaction en fonction des différents précurseurs de zinc	35
<b>Figure III-5</b> : Rendement en DHPM en présence de différents métaux (M) sous forme de catalyseur $M(NO_3)_2$	37
<b>Figure III-6</b> : Activité de la DHPM-Ur via-à-vis des bactéries (A), (B), (C) et de <i>C. albicans</i>	43
<b>Figure III-7</b> : Activité de la DHPM-Th via-à-vis des bactéries (A), (B), (C) et de <i>C. albicans</i>	44

## *LISTE DES TABLEAUX*

### *Chapitre III*

<b>Tableau III-1</b> : Effet de la quantité de l'urée et du catalyseur $Zn(NO_3)_2$ sur le rendement en DHPM synthétisé via la réaction de Biginelli <sup>a</sup> .	31
<b>Tableau III-2</b> : Effet du solvant sur le rendement en DHPM synthétisé par la réaction de Biginelli <sup>a</sup> .	34
<b>Tableau III-3</b> : Synthèse de la DHPM via la réaction de Biginelli <sup>a</sup> en présence de différents catalyseurs $M(NO_3)_2$ ( $M = Zn, Ca, Mg, Zr, \dots$ ).	36
<b>Tableau III-4</b> : Synthèse de la 3,4-dihydropyrimidinone/thione catalysé par $Zn(NO_3)_2$	38
<b>Tableau III-5</b> : Activité antibactérienne des différentes solutions ( $1 \text{ mg.L}^{-1}$ ) par la méthode des puits ( $50 \mu\text{L}$ ).	42
<b>Tableau III-6</b> : Activité antibactérienne des solutions à différentes concentrations ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) par la méthode des puits ( $50 \mu\text{L}$ ).	43

### **Annexe**

<b>Tableau</b> : Caractérisation des produits	53
---	----

# **Table des Matières**



# TABLE DES MATIÈRES

<b>Introduction Générale .....</b>	<b>1</b>
 <b>Chapitre I : Etude Bibliographique</b>	
<b>I. Introduction .....</b>	<b>3</b>
<b>II. Intérêt biologique des DHPMs .....</b>	<b>5</b>
<b>II-1 Les DHPMs antihypertensives .....</b>	<b>5</b>
<b>II-2 Les DHPMs antagonistes de canal de potassium .....</b>	<b>6</b>
<b>II-3 Les DHPMs anti-HIV .....</b>	<b>6</b>
<b>II-4 Agent antitumoral .....</b>	<b>6</b>
<b>II-5 Les DHPMs antiépileptiques .....</b>	<b>7</b>
<b>II-6 Activité anti-malaria .....</b>	<b>7</b>
<b>II-7 Activité anti-microbienne .....</b>	<b>8</b>
<b>II-8 Activité anti-inflammatoire .....</b>	<b>8</b>
<b>II-9 Activité anti-tuberculose .....</b>	<b>8</b>
<b>II-10 Les DHPMs agents antibactériens .....</b>	<b>9</b>
<b>III. Méthodes de synthèse des DHPMs .....</b>	<b>9</b>
<b>III-1 Synthèse classique (originale) .....</b>	<b>9</b>
<b>III-2 Synthèse améliorée .....</b>	<b>10</b>
<b>III-2-1 Synthèse sous irradiation micro-ondes .....</b>	<b>10</b>
<b>III-2-2 Utilisation des acides de Lewis .....</b>	<b>10</b>
<b>III-2-3 Utilisation des acides de Brønsted .....</b>	<b>11</b>
<b>III-2-4 Utilisation des liquides ioniques .....</b>	<b>12</b>
<b>III-2-5 Utilisation des hétéropolyacides .....</b>	<b>12</b>
<b>III-2-6 Utilisation des supports solides .....</b>	<b>13</b>
<b>III-2-7 Utilisation des polymères .....</b>	<b>14</b>
<b>IV. Etude du mécanisme réactionnel .....</b>	<b>14</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>17</b>

## Chapitre II : Techniques expérimentales

<b>I.</b>	<b>TECHNIQUES DE CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE</b>	<b>21</b>
I-1	Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	21
I-2	Température de fusion ( $T_f$ )	21
I-3	Spectroscopie Infra-Rouge (IR)	22
I-4	Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	22
<b>II.</b>	<b>TESTE CATALYTIQUE : REACTION DE BIGINELLI</b>	<b>23</b>
II-1	Description du montage	23
II-2	Mode opératoire	24
II-3	Exploitation des résultats	24
II-4	Produits chimiques	24
<b>III.</b>	<b>ACTIVITE ANTIBACTERIENNE</b>	<b>25</b>
III-1	Technique et application	25
a-	Préparation de la suspension bactérienne	25
b-	Technique des puits	25
c-	Ensemencement des souches	26
d-	Identification de l'activité antibactérienne	26

## Chapitre III : Résultats et Discussions

<b>Partie A :</b>	<b>Synthèse de la DHPM via la réaction de Biginelli</b>	<b>29</b>
1-	Introduction	29
2-	Optimisation des conditions opératoires	30
2-1	Choix du temps de la réaction	30
2-2	Effet de la quantité en urée et de la masse du catalyseur	30
2-3	Effet de la température de réaction	32
2-4	Effet du solvant	33
3-	Influence du précurseur	34
4-	Influence du métal	35

<b>5- Influence de la thiourée .....</b>	<b>37</b>
<b>6- Mécanisme réactionnel .....</b>	<b>38</b>
<b>Partie B : Evaluation de l'activité antibactérienne de la DHPM synthétisée .</b>	<b>40</b>
<b>1- Généralité sur les bactéries utilisées .....</b>	<b>40</b>
<b>2- Mise en évidence de l'activité antibactérienne.....</b>	<b>41</b>
<b>Conclusions générale .....</b>	<b>46</b>
<b>Perspectives .....</b>	<b>47</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>48</b>

# **Introduction générale**

## Introduction Générale

Pour faire face aux exigences d'une demande croissante en nouveaux médicaments, les sociétés pharmaceutiques se doivent de produire de manière rapide et efficace des chimiothèques variées de molécules ayant des structures apparentées, afin d'évaluer leur potentiel thérapeutique. Dans ce contexte, la chimie combinatoire s'est imposée comme fer de lance de la fonction recherche et développement dans l'industrie pharmaceutique.

De par leur capacité intrinsèque à créer plusieurs liaisons en une seule étape, les réactions multicomposant (RMC) occupent une place de choix dans cette réflexion, car elles remplissent les critères suivants : elles sont faciles à mettre en œuvre et économes en atomes. En outre, de nombreuses liaisons sont créées pour former avec de bons rendements des composés polyfonctionnalisés à partir de trois réactifs ou plus, en incorporant la majeure partie des squelettes carbonés des molécules mises en jeu. En outre, ces réactions sont en règle générale faciles à mettre en œuvre et donc potentiellement automatisables, tout en étant respectueuses de l'environnement. Dès lors, on comprend que les réactions multicomposant aient attiré l'attention de nombreux groupes de recherche, que ce soit dans l'académique ou dans l'industrie.

Les travaux menés au cours de notre étude s'articulent autour de la réaction multicomposant de Biginelli en mettant en jeu des catalyseurs de type acide de Lewis pour accéder à la dihydropyrimidinone (DHPM). Ce noyau DHPM décore une large famille de composés biologiquement actifs et représente l'une des chemotypes les plus prolifiques dans la découverte moderne des médicaments.

Le premier chapitre de ce mémoire concerne des rappels bibliographiques sur les réactions à composants multiples où nous nous attarderons plus sur la réaction de Biginelli.

Le deuxième chapitre est consacré aux méthodes expérimentales de caractérisations et de test catalytique et antibactériens utilisés.

Enfin, les résultats obtenus sont regroupés dans le chapitre trois, subdivisé en deux parties suivantes :

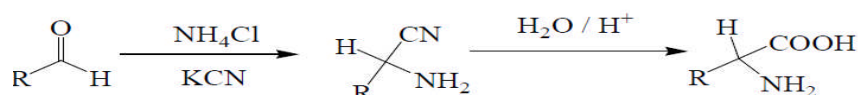
- Partie A : Synthèse de la DHPM via la réaction de Biginelli, regroupant, l'optimisation des conditions expérimentales ainsi que l'effet du précurseur et du métal dans la réaction one-pot de Biginelli.
- Partie B : Application dans le domaine de la microbiologie, qui traite l'évaluation de l'activité antibactérienne des DHPMs synthétisées sur trois souches bactériennes et une levure.

**Chapitre I**  
**Etude Bibliographique**

## I. Introduction

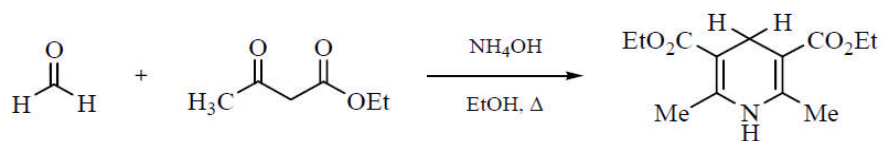
L'apparition de réactions à composants multiples remonte au milieu du 19<sup>ème</sup> siècle. Un premier exemple a été rapporté, pour la première fois en 1838, par Laurent et Gerhardt [1]. Dans cette réaction multicomposant, le benzoylazotide a été formé par réaction à quatre composants : condensation du benzaldéhyde avec l'ammoniaque et le cyanure d'hydrogène pour former un intermédiaire  $\alpha$ -aminocyanide, qui subi une condensation consécutive avec une autre molécule de benzaldéhyde formant ainsi une base de Schiff. De telles réactions ont été par la suite développées et adoptées par de nombreux chimistes :

En 1850, Strecker [2] réalisa la réaction multi-composants pour la première fois via la condensation d'un aldéyde, du chlorure d'ammonium et du cyanure de potassium qui conduit à un  $\alpha$ -aminonitrile qui par hydrolyse abouti à l' $\alpha$ -aminoacide (Schéma 1).



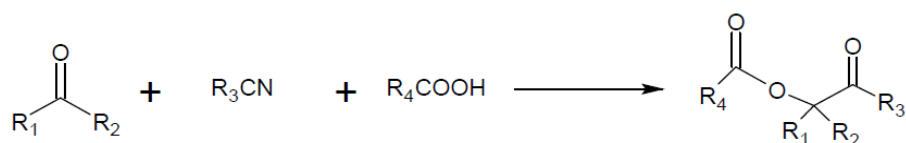
**Schéma I-1 : Réaction de Strecker**

En 1882, Hantzsch [3] décrit la synthèse des 1,4-dihydropyridines (1,4-DHPs) suivant une réaction de cyclocondensation d'un aldéhyde (1 molécule) avec un dérivé 1,3 dicarboxylé (2 molécules) en présence de l'ammoniac (1 molécule) et de l'acide acétique (ou de l'éthanol) (Schéma 2).



**Schéma I-2 : Réaction de Hantzsch**

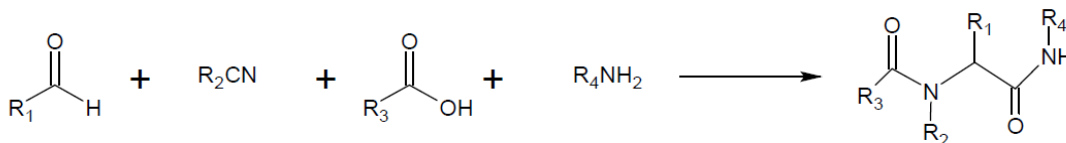
En 1921, Mario Passerini [4] décrit la réaction entre un acide carboxylique, un composé carbonylé et un iso-nitrile. Cette réaction qui se déroule à de forte concentration (1M) et à température ambiante conduit à la formation d'amides  $\alpha$ -hydroxylés (Schéma 3).



**Schéma I-3 : Réaction de Passerini**

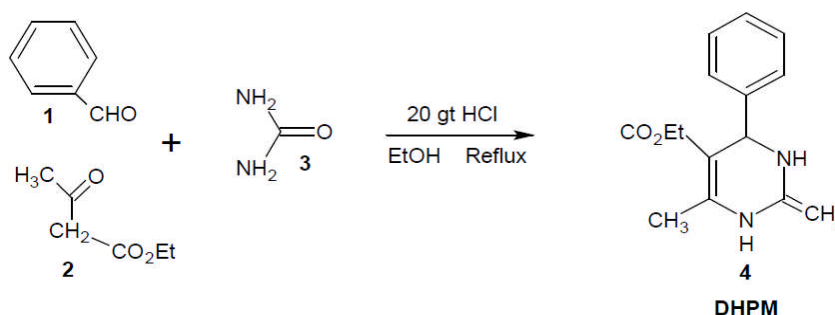


En 1959, par addition d'un réactif supplémentaire (une amine) sur la réaction de Passérini, Ugi [4] élaborata une nouvelle réaction qui aujourd'hui porte son nom (Schéma 4).



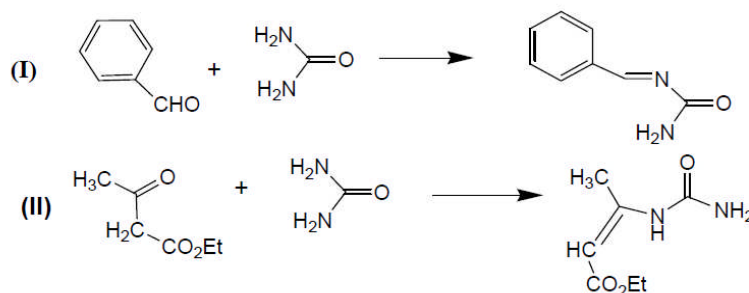
**Schéma I-4 : Réaction d'Ugi**

En 1893, le chimiste italien Piétro Biginelli [6], de l'Université de Florence, rapporta pour la première fois la préparation d'une nouvelle molécule, la 3,4-dihydropyrimidine-2(1*H*)-one (**4**) (DHPM) par cyclocondensation de trois réactifs : le benzaldéhyde (**1**), l'acéto-acétate d'éthyle (**2**) et l'urée (**3**), dans l'éthanol comme solvant et l'acide chlorhydrique comme catalyseur (Schéma 5).



**Schéma I-5 : Réaction de Biginelli**

Lorsque Biginelli a commenté ses recherches dans une publication d'une cinquantaine de pages parue dans la revue Gazz. Chim. Ital en 1893, il énonça que l'idée lui a été inspirée d'un premier travail sur la condensation bimoléculaire de deux réactions indépendantes : urée-aldéhyde (**I**) et urée- $\beta$ -cétostère (**II**).



La combinaison des deux réactions donna une réaction à trois réactifs (benzaldéhyde, urée et acétoacétate d'éthyle) qui se résume à une double condensation de produits carbonylés. A retenir, que dans un premier temps Biginelli présenta le produit original comme étant une structure acyclique de l'éthyle benzuramido-crotonate (Schéma 6) et que des investigations plus poussées lui ont permis d'aboutir au produit DHPM.

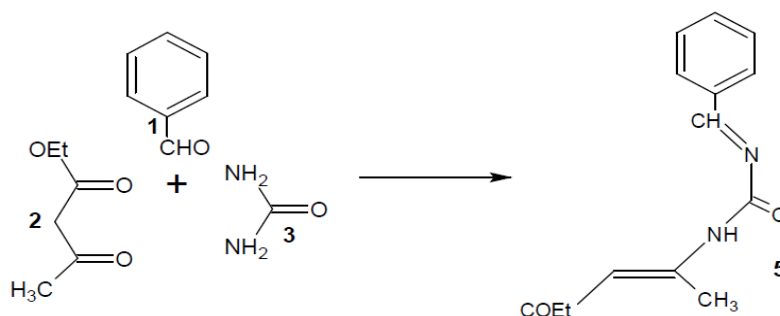
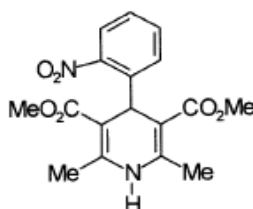


Schéma I-6 : Synthèse de l'éthyle benzuramido-crotonate

## II. Intérêt biologique des DHPMs

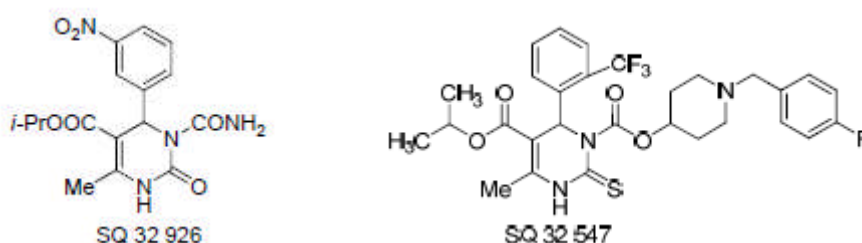
Les biologistes ont constaté des ressemblances entre le produit de Biginelli (3,4-dihydropyrimidinone) à ce lui de Hantzsch (1,4-dihydropyridine) en tant qu'analogues de la Nifedipine et d'autres molécules relatives qui ont montré depuis longtemps une diverse gamme d'activités biologiques [7].



Nifedipine

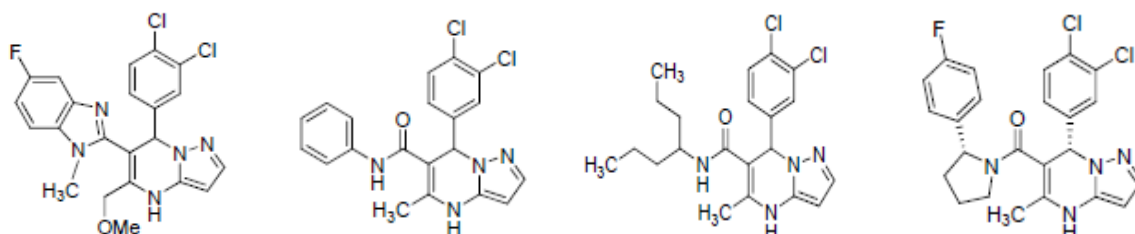
### II-1 Les DHPMs antihypertensives

Parmi les différents composés de Biginelli on trouve la SQ 32 926 et la SQ 32 547 qui manifestent des propriétés pharmacologiques importantes, comme des agents anti hypertensifs actifs oralement [8].



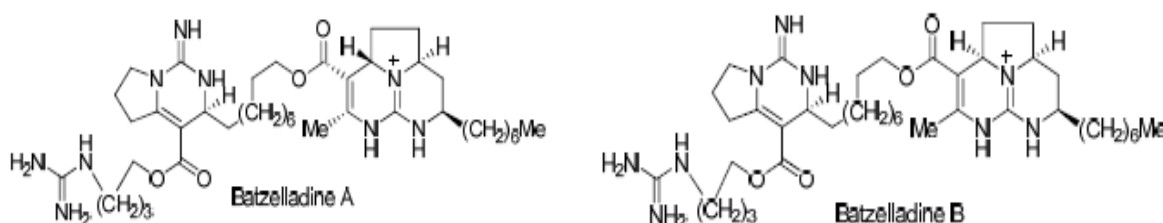
## II-2 Les DHPMs antagonistes de canal de potassium

Annulation d'anneaux de benzimidazole a montré des activités antagonistes de canal de potassium. Les molécules représentées ci-dessous sont en phase de développement préclinique [9].



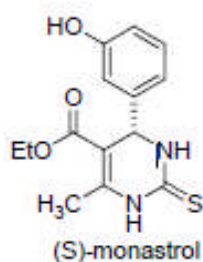
## II-3 Les DHPMs anti-HIV

Les dérivés de DHPMs, Batzelladine A et B ont été isolés de l'éponge marine rouge des Caraïbes de l'espèce de Batzella, et avait l'action d'inhiber la liaison de la protéine de l'enveloppe gp-120 du virus du SIDA (HIV) avec les cellules humaines CD4 et CD8 responsables de la défense dans l'organisme, et donc de nouvelles pistes thérapeutiques pour cette maladie [10].



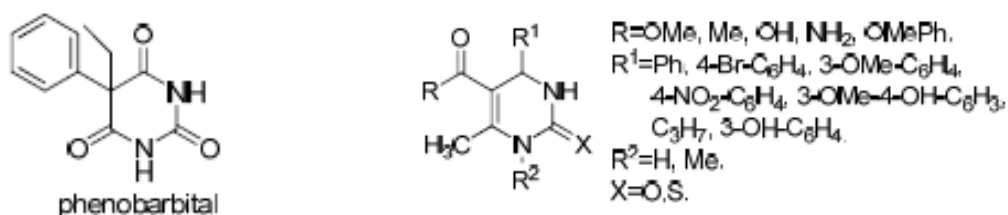
## II-4 Agent antitumoral

Le Monastrol est une molécule qui a conduit au développement de nouveaux médicaments anticancéreux. L'activité de cette molécule consiste en l'inhibition spécifique et réversible de la motilité de la Kinésie mitotique Eg5 [11, 12].



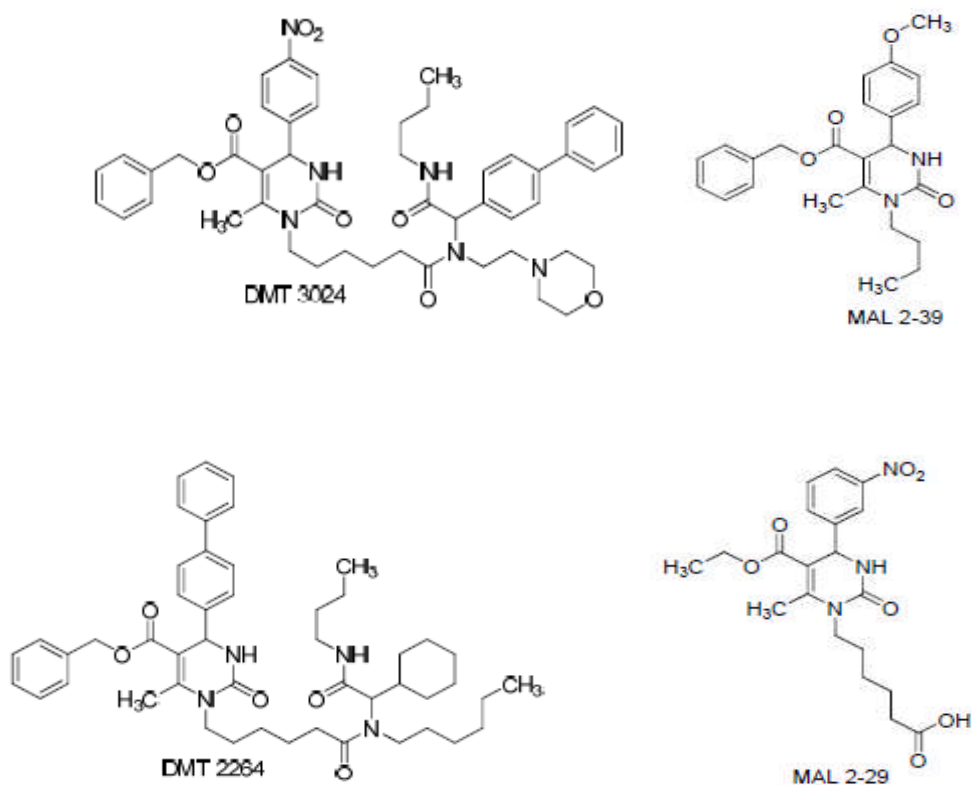
## II-5 Les DHPMs antiépileptiques

Le phénobarbital est une drogue bien connue pour l'épilepsie. Il à été remarqué que cette molécule possède la même structure que les composés de Biginelli. Ainsi, quand les composés donnés ci-dessous ont étaient examiné contre l'épilepsie, ils ont montré une activité prometteuse [13].



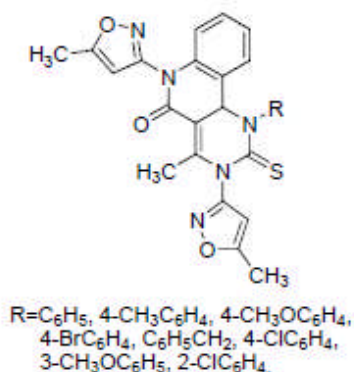
## II-6 Activité anti-malaria :

Les Pyrimidinone-amides dérivés de DHPMs (DMT 3024 et 2264 ; MAL 2-39 et 2-29) sont une nouvelle classe des modulateurs Hsp70, qui pourraient éventuellement empêcher la réplication de la pathogénie *P. falciparum* dans les globules rouges humaines. Ces composés ont été choisis comme étant des agents anti-malariaques [14].



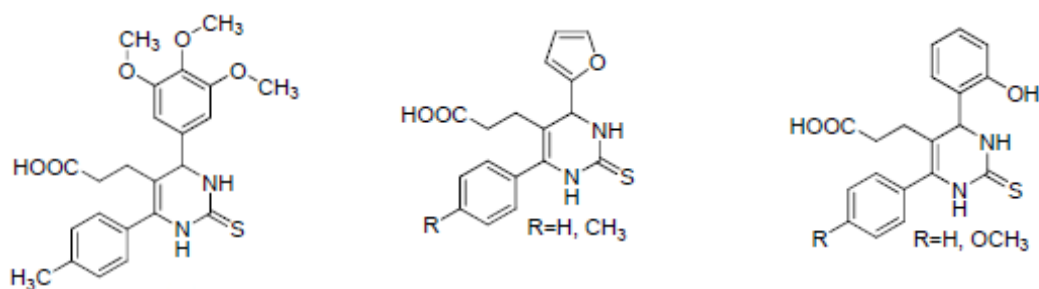
## II-7 Activité anti-microbienne

Les composés de Biginelli multi-fonctionnalisés avec des amines isoxazole sont des anti-microbiens indépendamment de leurs activités antibactériennes, antifongiques, et anti-malariques [15].



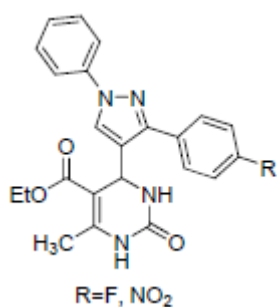
## II-8 Activité anti-inflammatoire

Une série de composés 3-(4,6-disubstitué-2-thio-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-yl) des dérivés d'acides propanoïques (indiqué ci-dessous) ont été examinés pour leur activité anti-inflammatoire en utilisant la méthode d'œdème de patte de rat. La plupart des composés de la série ont montré une activité anti-inflammatoire significative [16].

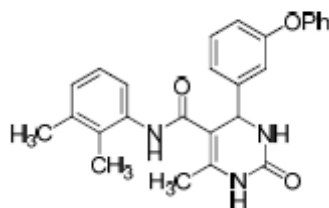


## II-9 Activité anti-tuberculose

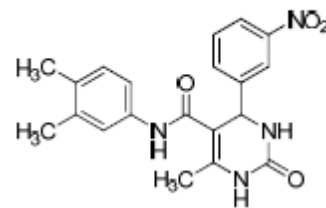
30 exemples de dihydropyrimidines ont également été évalués pour leur activité anti-tuberculose contre la mycobactérie (Tuberculose H37Rv). Cette étude était in vitro et seulement deux composés ont été sélectionnés pour être les composés les plus actifs. Pour plus d'efficacité que l'isoniazide, les composés (A) et (B) ont montré l'inhibition de 65% et 63% contre la Mycobacterium tuberculosis H37Rv.



Isoniazide



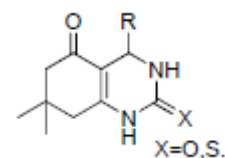
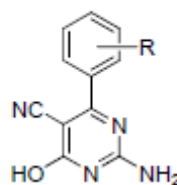
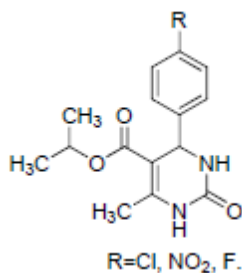
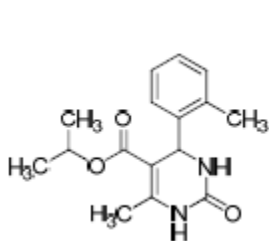
(A)



(B)

## II-10 Les DHPMs agents antibactériens

Il a été rapporté que l'ester, le cyanure et quelques autres dérivés de Biginelli sont les agents antibactériens prometteurs [17].



D'autres composés de Biginelli ont montré une gamme variée d'activités biologiques : anti-inflammatoires, analgésiques, inhibitrices de l'agrégation des plaquettes de sang, antiprolifériques. Un bon nombre de dérivés de la DHPM sont considérés comme une classe importante dans le traitement de diverses maladies.

## III. Méthodes de synthèse des DHPMs

### III-1 Synthèse classique (originale)

La synthèse classique de Biginelli repose sur une simple réaction de cycloaddition à trois composants et en une seule étape en faisant réagir le benzaldéhyde, l'acétoacétate d'éthyle et l'urée à reflux de l'éthanol et sous l'action de l'acide chlorhydrique concentré. L'adduit de cette nouvelle approche qui précipite après refroidissement du mélange réactionnel a été identifié comme la 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-one (DHPM) connu aussi sous le nom de produit de Biginelli (Schéma 5).

## III-2 Synthèse améliorée

### III-2-1 Synthèse sous irradiation micro-ondes

Le chauffage par micro-ondes est devenu une technique puissante pour promouvoir une variété de réactions chimiques [18]. Les réactions sous irradiations micro-ondes, sans solvant et/ou en utilisant un support solide tel que l'argile, l'alumine, la silice ou le graphite en des temps de réaction court produisent des rendements en DHPMs plus élevées que ceux obtenus par chauffage conventionnel. Elles offrent également à faible coût, la simplicité de manipulation et de traitement et la réduction de pollution.

Palani et coll. [19] ont réalisé la réaction de Biginelli sous irradiations micro-ondes, sans solvant et sans catalyseur en des temps de réaction courts (5-10 minutes). Les rendements en produits désirés sont plus élevés que ceux obtenus par l'utilisation de chauffage conventionnel. Elles offrent également un faible coût pour une simplicité de manipulation et réduit la pollution.

Kumar et coll. [20] ont réalisé la synthèse des DHPMs via la cyclocondensation des trois composants (aldéhyde, urée ou thio-urée et acétoacétate d'éthyle) sous irradiation micro-ondes en présence d' $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (10 % mol) pour un temps de réaction allant de 1,5 à 3 minutes. Les produits DHPMs ont été obtenus avec d'excellents rendements (83 à 96 %).

A coté des micro-ondes, il est aussi pratique et faisable d'accomplir les réactions de Biginelli par activation sous ultra-son [21], par irradiation IR [22] ou par les méthodes photochimiques [22].

### III-2-2 Utilisation des acides de Lewis

Parmi les variantes de la réaction de Biginelli les plus courantes et les plus efficaces reste l'utilisation des acides de Lewis comme catalyseurs. Ce qui permet d'appliquer cette réaction avec augmentation considérable des rendements, sur un grand nombre d'aldéhydes non seulement aromatiques mais aussi aliphatiques et divers dérivés 1,3-dicarbonylés. La thiourée, moins réactive sous les conditions classiques de la réaction de Biginelli originale, réagit convenablement sous l'action d'acides de Lewis et donne des rendements comparables à ceux de l'urée. A l'heure actuelle, plus de 50 acides de Lewis ont été employés avec succès, parmi lesquels on peut citer :  $\text{BF}_3\text{OEt}_2$  [23],  $\text{LaCl}_3$  [24, 25],

FeCl<sub>3</sub> [26-28], NiCl<sub>2</sub> [29, 30], Yb(OTf)<sub>3</sub> [31-33], La(OTf)<sub>3</sub> [34], InCl<sub>3</sub> [35], In(OTf)<sub>3</sub> [36], LiBr [37], M(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (M = Ca, Mg, Pb) [38].

Généralement, les acides de Lewis engagés dans la réaction de Biginelli sont le plus souvent en quantités catalytiques allant de 1 à 20 mol%, mais certains donnent de meilleurs résultats en quantités stœchiométriques tels que : BF<sub>3</sub>OEt<sub>2</sub>/CuCl [23], Mn(OAc) et Mn(OAc)<sub>3</sub>.2H<sub>2</sub>O [39]. Par ailleurs, avec quelques acides de Lewis comme : (BF<sub>3</sub>OEt<sub>2</sub>/CuCl [23] et FeCl<sub>3</sub> [40], l'ajout de quelques gouttes d'un acide de Brønsted HCl ou CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H comme solvant est nécessaire afin d'effectuer la condensation de Biginelli.

Les réactions de Biginelli catalysées par les acides de Lewis, hormis de SbCl<sub>3</sub> [41], se déroulent selon le mécanisme de Kappe et l'amélioration réalisée peut être expliquée par la stabilisation de N-acylimine et de l'ion énolate par la coordination avec l'acide de Lewis [42].

### III-2-3 Utilisation des acides de Brønsted

La cyclocondensation des dérivés du benzaldéhyde avec des β-cétoesters et l'urée ou la thiourée peut être catalysée efficacement par un acide de Brønsted type H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub> [43]. Cette réaction qui procéda simplement à reflux de l'éthanol pendant 6 heures, a permis une synthèse one-pot des 3,4 dihydropyrimidin-2(1*H*)-ones et thiones avec des rendements supérieurs à 84 % [44].

De façon similaire et même en l'absence de SiO<sub>2</sub>, l'action de l'acide sulfurique seul sur la réaction de condensation de Biginelli, s'est avéré très efficace et ce dans la synthèse des dérivés d'octahydroquinazolines. A titre d'exemple, la condensation cyclique du benzaldéhyde avec le 5,5-diméthyl-1,3-cyclohexanedione et la thiourée en présence de deux gouttes d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> s'est achevée à reflux dans l'eau en 3 heures pour donner 98 % en produit.

C. Jiang et coll. [45] ont décrit une synthèse des dihydropyrimidinones assistée par les irradiations micro-ondes en une seule étape en utilisant l'acide formique comme catalyseur sans l'emploi d'aucun solvant organique. Les conditions réactionnelles ont été optimisées par l'utilisation du benzaldéhyde, acétylacétate d'éthyle et l'urée comme réactifs sous irradiations micro-ondes à 120 W pendant 4 minutes.

Dans tous les cas étudiés, cette réaction a procédé aisément pour donner les DHPMs attendues avec des rendements satisfaisants et ce avec une gamme variée



d'aldéhydes aromatiques, hétéroaromatiques et même avec les aldéhydes aliphatiques qui donnent les produits correspondants avec des rendements assez acceptables [46].

### III-2-4 Utilisation des liquides ioniques

Les liquides ioniques ont attirés l'attention des chimistes grâce à leurs propriétés physicochimiques uniques [47]. A cause de leur pression de vapeur très basse, les espèces ioniques ont l'avantage de ne pas contribuer à l'émission provoquée par les composés organiques volatiles. Ils ont été référés comme des solvants de choix pour plusieurs transformations y compris les réactions de Biginelli, Diels–Alder, Wittig, Pechman, et dans la réaction de benzoination, l'hydrogénation catalytique ou dans quelques réactions catalysées par les enzymes [48].

Lors de la synthèse de Biginelli en présence des liquides ioniques type chloroaluminates, il a été montré que l'utilisation de ses derniers en tant que solvants et catalyseurs acides de Lewis influent sur le rendement en produits DHPMs [49]. De sorte, que la préparation des DHPMs en présence de [bmim]Cl<sub>2</sub>.AlCl<sub>3</sub> (bmim : butylmethyimidazolium) dépend de la composition exprimée en fonction de la fraction molaire d'AlCl<sub>3</sub>. Ainsi, si cette fraction est de l'ordre de 0-0,5 ; 0,5 ou 0,5-0,67, les liquides ioniques correspondants sont classés comme basiques, neutre ou acide respectivement. La réaction des (thio)urées avec les aldéhydes et les β-cétoesters avec différents liquides ioniques différents montre des résultats positifs dans le cas des liquides ioniques acides.

R. Atul et coll. [50] ont utilisé une série de liquide ionique (1,3-di-*n*-butylimidazolium [bbim] et 1-*n*-butylimidazolium [Hbim]) dans la catalyse de la réaction de Biginelli sous irradiation micro-ondes. La réaction effectuée sans solvant donne les dihydropyrimidinones correspondantes avec des rendements élevés.

### III-2-5 Utilisation des hétéropolyacides

Les hétéropolyacides sont utilisées dans divers processus de la synthèse organique fine et autres transformations chimiques [51] ainsi que dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique [52] et employés comme catalyseurs dans quelques réactions en phase liquide y compris la déshydratation [53], l'alkylation [54] et l'estérification [55]. Ils sont très réactifs par rapport aux catalyseurs acides conventionnels

organiques ou inorganiques, non toxique, simple à manipuler et récupérable des milieux réactionnels par une simple filtration et réutilisables sans activation.

Parmi les hétéropolyacides, on trouve les acides du tungstène qui sont largement utilisés à cause de leur forte acidité et leur stabilité thermique. L'acide 12-tungstophosphorique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) a été employé par Heravi et coll. [56] comme catalyseur recyclable de la réaction de cyclocondensation de Biginelli. Ils ont obtenu les dihydropyrimidinones correspondantes avec de très bons rendements

Le même groupe a employé des hétéropolyacides autres que l'acide  $H_3PW_{12}O_{40}$  (PW) pour vérifier leur activité catalytique vis-à-vis de cette réaction. En effet, ils ont utilisé le  $H_4SiW_{12}O_{40}$  (SiW) et  $H_3PMo_{12}O_{40}$  (PMo) avec 0,05 et 0,08 équiv. et ont trouvé qu'ils donnent des résultats similaires.

L'acide 11-molybdo-1-vanadophosphorique  $H_4PMo_{11}VO_{40}$ , a également été employé avec succès et donne les DHPMs attendues avec de bons rendements [57].

### III-2-6 Utilisation des supports solides

Tallarico et coll. [58] ont étudié la condensation de Biginelli sur un catalyseur LiOTf. Ils ont montré que cette réaction prend place via une condensation initiale de l'urée-support avec un aldéhyde aromatique pour former un acylimine stable, suivie séparément par une condensation avec un  $\beta$ -cétoster. Cette réaction offre exclusivement les produits 3,4-dihydropyrimidones attendus.

Roosbeh et coll. [59] ont rapporté une méthode d'obtention des 3,4-dihydropyrimidinone/thiones en présence d'une quantité catalytique de Bentonite/PS- $HSO_3$  dans des conditions exemptes de solvant à 120°C pendant 30 minutes.

De même Souman et coll. [60] ont rapporté une méthode efficace qui permet la synthèse rapide des DHPMs sans l'usage de solvant ni de catalyseurs complexes. La procédure suivie implique le chauffage à 80°C, d'un aldéhyde, d'une acétoacétate d'éthyle et d'urée en présence d'une quantité de catalyseur  $MoO_3/Al_2O_3$  qui peut être récupéré aisément à la fin de la réaction par une simple filtration. L'application du protocole a permis d'avoir d'excellents rendements en DHPMs (98 %).

### III-2-7 Utilisation des polymères

Kappe et coll. [61] ont trouvé que l'ester polyphosphate (PPE) est un promoteur efficace pour la réaction de Biginelli. La préparation des DHPMs par cette méthode a été faite selon des conditions opératoires et un workup très simples, et dans la plupart des cas, les produits de cette réaction ont été obtenus avec des rendements quasi-quantitatifs (61-95 %). De plus, les variations des trois composants de la réaction sont tolérées. Les DHPMs issues de cette synthèse ne sont pas contaminées par des résidus de métaux lourds, ceci est extrêmement important dans la mesure où on a pensé à synthétiser des ingrédients pharmacologiquement actifs. Kappe a raisonné que le succès de sa méthode est due probablement aux interactions spécifiques entre le PPE et l'ion N-acyliminium intermédiaire, et aux propriétés déshydratantes conduisant la réaction le long du chemin désiré. Malheureusement, l'ester polyphosphate ne peut pas être éliminé et doit être fraîchement préparé avant son utilisation.

De même, Wang et coll. [62] ont pu préparer des dérivés de 3,4-dihydropyrimidones avec de bons rendements sous catalyse du poly(éthylène glycol)-lié à l'acide sulfurique sous l'irradiation micro-ondes.

Récemment, Verma et coll. [63] ont décrit une autre méthode efficace pour la synthèse de Biginelli. Il s'agit d'utiliser le complexe Polyéthylène glycol (PEG.TUD II) qui est considéré comme un catalyseur très actif et recyclable. La réaction effectuée à reflux à 50°C offre d'excellents rendements (92 et 98 %).

## IV. Etude du mécanisme réactionnel

Le mécanisme de la réaction de Biginelli a été le sujet à de nombreuses discussions :

- *Folkers et Johnson (1933)* ont proposé un mécanisme où ils suggèrent que le premier intermédiaire est la diamine provenant de la condensation de l'aldéhyde avec deux molécules d'urée [64].
- *Sweet et Fissekis (1973)* ont proposé un autre mécanisme qui commence par la condensation aldolique de l'acétoacétate d'éthyle sur l'aldéhyde dont l'intermédiaire réagit avec l'urée [65].

- **Atwal (1987)** a donné une proposition pour surmonter les problèmes liés aux faibles rendements du produit de Biginelli, principalement dans le cas des aldéhydes aliphatiques et les aldéhydes substitués en position *ortho* par des fonctions carbonyle. Cette approche implique deux étapes : la première concerne la synthèse séparée du composé carbonyle insaturé par l'intermédiaire de Knoevenagel et la seconde repose sur l'addition catalysée par une urée substituée [66].
- **Kappe (1997)** a étudié le mécanisme en utilisant les spectroscopies RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  et les réactions de piégeage. Il a établi que l'étape clé repose sur l'addition de l'urée sur l'aldéhyde qui permet d'accéder à la formation de l'ion intermédiaire N-acyliminium. Celle-ci est suivie par une condensation de l'intermédiaire avec l'acétoacétate d'éthyle conduisant à la formation d'un second intermédiaire. La cyclisation de l'intermédiaire résultant donne l'hexahydropyrimidine, lequel subit une déshydratation pour former au final le produit DHPM [67].
- **Ivecea Capanec (2007)** a démontré que la réaction de Biginelli passe par l'intermédiaire L'ureidocrotonate formé par la réaction bimoléculaire de l'acétoacétate d'éthyle et l'urée [68].

De nos jours, les méthodes de chimie quantique sont de plus en plus utilisées pour l'élucidation des mécanismes. Une étude utilisant une méthode théorique de densité fonctionnelle a permis de confirmer le mécanisme de Kappe [69].

Nous rappelons à travers le schéma suivant les différents mécanismes illustrés ci-dessous.

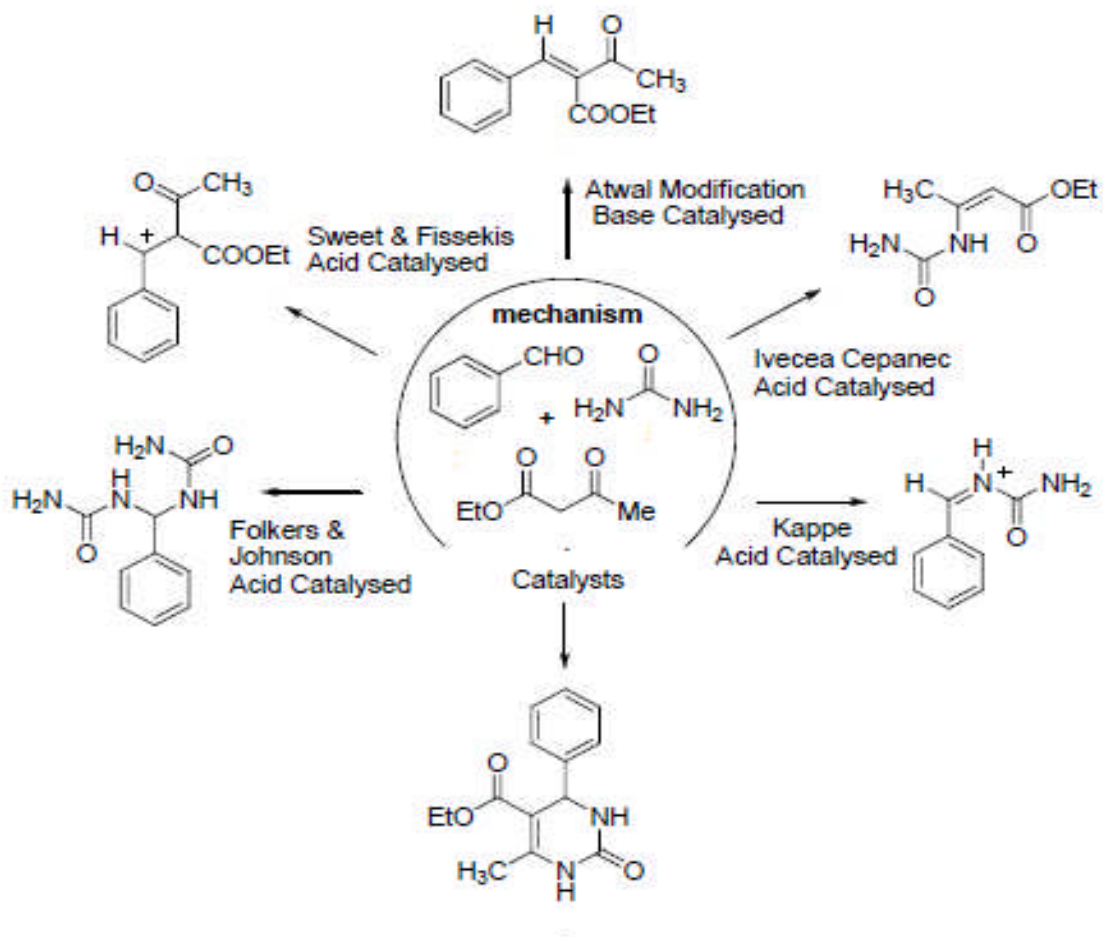


Schéma I-7 : Mécanismes de la réaction de Biginelli

**Références bibliographiques**

- [1] A. Laurent, C.F. Gerhardt, *Annal. Chim. Phys.* 66, (1838), 181.
- [2] A. Strecker, *Liebigs Ann. Chem.* 75, (1850), 27.
- [3] A. Hantzsch, *Justus, Liebigs Ann. Chem.* 215, (1882), 1.
- [4] M. Passerini, *Gazz. Chim. Ital.* 51, (1921), 126.
- [5] I. Ugi, C. Steinbrückner, *DE-B 1. 103*, (1959), 337.
- [6] (a) P. Biginelli, *Gazz. Chim. Ital.* 23 (1893) 360. (b) Biginelli réaction *Ber.* 24, (1891), 1317. (c) P. Biginelli, *Gazz. Chim. Ital.* 19, (1889), 212.
- [7] C.O. Kappe, *Eur. J. Med. Chem.* 35, (2000), 1043.
- [8] S.S. Bahekar, B. Devanand, Shinde, *Tetrahedron Letters.* 45, (2004), 7999.
- [9] J. Lloyd, H.J. Finlay, K. Atwal, A. Kover, J. Prol, L. Yan, R. Bhandaru, W. Vaccaro, T. Huynh, C.S. Huang, M. Conder, T. Jenkins-West, H. Sun, D. Li, P. Levesque, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19, (2009), 5469.
- [10] L.S. Daniel, S.R. Fabiano, R.M. Dandara, T.G.R. Ana Lúcia, E.C. João, A.S. Adão, V.M. Luzia, D.F. Ângelo, *Bioorganic Medicinal Chemistry.* 20, (2012), 2645.
- [11] D.B. Subhas, S. Madapa, W.C. Sanjay, *ARKIVOC.* 3, (2005), 228.
- [12] R. Dennis, F.S.C. Romulo, A.A. Sergio, G.M.D. Marcelo, D.F. Angelo, A.P. Ronaldo, K.K. luciana, A.A. Marcia, D.C. Joao Ernesto, *Bioorganic Chemistry.* 34, (2006), 173.
- [13] P. Masnou, L. Nahum-Moscovici, *Encyclopédie Médico-Chirurgicale.* (1999), 1.
- [14] A.N. Chiang, J.C. Valderramos, R. Balachandran, R.J. Chovatiya, B.P. Mead, C. Schneider, S.L. Bell, M.G. Klein, D.M. Huryn, X.S. Chen, B.W. Day, D.A. Fidock, P. Wipf, J.L. Brodsky, *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 17, (2009), 1527.
- [15] E. Rajanarendar, M.N. Reddy, K.R. Murthy, K.G. Reddy, S. Raju, M. Srinivas, B. Praveen, M.S. Rao, *Bioorganic & Medicinal Chemistr Letters.* 20, (2010), 6052.
- [16] S.N. Mokale, S.S. Shinde, R.D. Elgire, J.N. Sangshetti, D.B. Shinde, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 20, (2010), 4424.
- [17] S. Chitra, D. Devanathan, K. Pandiarajan, *European Journal of Medicinal Chemistry.* 45, (2010), 367.
- [18] A.R. Katritzky, S.K. Singh, *ARKIVOC.* 13, (2003), 68.
- [19] S. Palani, M. Stephen, P. Subbu, I. Abdulrahman, *Tetrahedron Letters.* 54, (2013), 1076.

- [20] K. Dhruva, S. Suresh, S. Jabir, Indian Journal of Chemistry. 49B, (2010), 360.
- [21] J.T. Li, J.F. Han, J.H. Yang, T.S. Li, Ultrasonics Sonochem. 10, (2003), 119.
- [22] M. Salomom, R. Osanaya, L. Gomez, G. Arroyo, F. Delgado, R. Miranda, Rev. Socied. Quim. Mexico. 45, (2001), 206.
- [23] E.H. Hu, D.R. Sidler, U.H. Dolling, J. Org. Chem. 63, (1998), 3454.
- [24] J. Lu, Y.J. Bai, Z.H. Wang, B. Yang, H.R. Ma, Tetrahedron Lett. 41, (2000), 9075.
- [25] J. Lu, H.R. Bai, Y.H. Guo, Z.H. Wang, H.R. Ma, Chin. J. Chem. 20, (2002), 681.
- [26] J. Lu, H.R. Ma, W.H. Li, Chin. J. Org. Chem. 20, (2000), 815.
- [27] K. Banerjee, A.K. Mitra, J. Ind. Chem. Soc. 80, (2003), 51.
- [28] S. Xue, Y.C. Shen, Y.L. li, X.M. Shen, Q.X. Guo, Chin, J. Org. Chem. 20, (2002), 385.
- [29] J. Lu, Y. Bai, synthesis. 1, (2002), 466.
- [30] J. Lu, F.L. Wang, Y.J. Bai, W.H. Li, Youji Huaxue. 22, (2002), 788.
- [31] Y. Ma, C. Qian, L.M. Wang, M. Yang, J. Org. Chem. 65, (2000), 3864.
- [32] L.C. Wang, H.T. Qian, Y. Ma, Synth. Commun. 33, (2003), 1459.
- [33] A. Dondoni, A. Massi, S. Sabbatini, Tetrahedron Lett. 43, (2002), 5913.
- [34] R.R. Chen, C.T. Qian, Chin, J. Chem. 20, (2002), 427.
- [35] B.C. Ranu, A. Hajra, U. Jana, J. Org. Chem. 65, (2000), 627.
- [36] P. Shanmugam, G. Annie, P.T. Perumal, J. Heterocycl. Chem. 40, (2003), 879.
- [37] G. Maiti, P. Kundu, C. Guin, Tetrahedron Lett. 44, (2003), 2557.
- [38] (a) A. Debache, R. Boulcina, R. Tafer, A. Belfaitah, S. Rhouati, B. Carboni, Chinese J. Chem. 26, (2008), 2112. (b) T. Boumoud, A. Belfaitah, S. Rhouati, A. Debache P. Mosset, Acta Chem. Slov. 55, (2008), 617. (c) T. Boumoud, B. Boumoud, A. Belfaitah, S. Rhouati, A. Debache, P. Mosset, E. J. Chem. 5, (2008), 688.
- [39] K.A. Kumar, M. Kasthuraiah, C.S. Reddy, C.D. Reddy, Tetrahedron Lett. 42, (2001), 7873.
- [40] J. Lu, R.H. Ma, Syn. Lett. 6, (2000), 36.
- [41] I. Capanec, M. Litvic, M. Filipan-Tatvic, I. Grungold, tetrahedron. 63, (2007), 11822.
- [42] N.S. Nandurkar, M.J. Bhanushili, M.D. Bhor, B.M. Bhanage, J. Mol. Catalysis A. Chemical. 14, (2007), 271.
- [43] (a) M.A. Zolfigol, Tetrahedron. 57, (2001), 9509. (b) B.F Mirjalili, M.A Zolfigol,

- A.J. Bamoniri, Korean Chem. Soc. 45, (2001), 546. (c) M.A. Zolfigol, A. Bamoniri, Synlett. (2002), 1621. (d) M.A. Zolfigol, E. Madrakian, E. Ghaemi, Molecules. 7, (2002), 734. (e) Mirjalili, B.F.; Zolfigol, M.A.; Bamoniri, A. Molecules. 7, (2002), 751. (f) M. A. Zolfigol, F. Shirini, A.G. Choghamarani, I. Mohammadpoor-Baltork, Green Chem. 4, (2002), 562.
- [44] P. Salehi, M. Dabiri, M.A. Zolfigol, M.A. Bodaghi Fard, Tetrahedron Lett. 44, (2003), 2889.
- [45] Ch. Jiang, Q.D. You. Chinese. Lett. 18, (2007), 647.
- [46] Y. Yu, D. Liu, Ch. Liu, G. Luo, Bioorg. Med. Chem. Lett. 17, (2007), 3508.
- [47] (a) T. Walton, Chem. Ber 99 (1999). (b) P. Wassercheid, W. Keim, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 39, (2000), 3772.
- [48] J. Peng, Y. Deng, Tetrahedron Lett. 42, (2001), 5917.
- [49] S.S Bahekar, S.A. Kotharkar, D.B. Shinde, Mendeleev Commun. 14, (2004), 210.
- [50] R.G. Atul, K. Venkatesan, D. Thomas, R.J. Lahoti K.V. Srinivasan, The Royal Society of Chemistry. 6, (2004), 147.
- [51] (a) J.M. Thomas, K.I. Zamaraev, Perspectives in Catalysis A, Chemistry for the 21<sup>st</sup> Century Monograph (1992), 341. (b) I.V. Kozhevnikov, Catal. Rev. Sci. Eng. 37, (1995), 311.
- [51] T. Okuhara, N. Mizuno, M. Misuno, Adv. Catal.41, (1996), 221.
- [53] M. Mison, N. Noriji, Appl. Catal. 1, (1990), 64.
- [54] Y. Izumi, R. Hasebe, K. Urabe, J. catal. 84, (1983), 402.
- [55] H. Soeda, T. Okuara, M. Misono, J. Mol. Cat. 74, (1992), 247.
- [56] (a) M.M. Heravi, F. Derikvand, F.F. Bamoharram, J. Mol. Catal. A. Chemical. 242, (2005), 173. (b) M.M. Heravi, K. Bakhtiari, F.F. Bamoharram, Catal. Commun.7, (2006), 373.
- [57] S.P. Maradur, G.S. Gokavi, Catal. Commun. 8, (2007), 279.
- [58] M.J. Lusch, J.A. Tallarico, Org. Lett. 6, (2004), 3237.
- [59] J. Roozbeh, R. Ahmad, D. Behnam, Applied Clay Science 55, (2012), 1.
- [60] L.J. Suman, V.V.D.N. Prasad, S. Bir, Catalysis Communications. 9, (2008), 499.
- [61] (a) C.O. Kappe, S.F. Falsone, Synlett, 718, (1998),. (b) C.O. Kappe, D. Kumar, R.S. Varma, Synthesis. 1, (1999), 799.
- [62] W. Xicun, Q. Zhengjun, W. Fang, W. Mangang, Z. Zhang, L. Zheng, Taylor & Francis Group 36, (2006), 451.



- [63] S. Verma, L.J. Suman, Bir Sain, *Tetrahedron Letters*. 51, (2010), 6897.
- [64] K. Folkers, T.B. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* 55, (1933), 3781.
- [65] F.S. Sweet, J.D. Fissekis, *Am. Chem. Soc.* 95, (1973), 8741.
- [66] C.O. Kappe, *Acc. Chem. Res.* 33, (2000), 879.
- [67] C.O. Kappe, *J. Org. Chem.* 62, (1997), 7201.
- [68] I. Capanec, M. Litvic, M. Filipan-Litvic, I. Grüngold, *Tetrahedron*. 63, (2007), 11822.
- [69] J.G. Ma, J.M. Zhang, H.H. Jiang, W.Y. Ma, J.H. Zhou, study on mechanism of the classical Biginelli reaction. *Chinese chemical Letters*. 19, (2008), 375.

# **Chapitre II**

## **Techniques expérimentales**

## I. TECHNIQUES DE CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE

### I-1 Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits et aux échantillons biologiques. La CCM, elle seule reste insuffisante pour l'identification du produit mais elle apporte des renseignements susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structure.

Dans notre étude, la CCM de nos produits purs a été réalisée sur des plaques en verres recouvertes de gel de silice 60 F254 (épaisseur : 0,2 mm) avec un éluant constitué d'un mélange acétate d'éthyle/éther de pétrole : 80/20 (v/v). La révélation des taches est faite à l'aide d'une lampe UV à 254 nm.

Chaque constituant analysé migre par capillarité d'une certaine hauteur, caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal noté  $R_f$ .

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le composé}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

Chaque tache correspond à un constituant et on l'identifie par comparaison du  $R_f$  avec un témoin (une même substance migre à la même hauteur dans des conditions opératoires identiques).

Pour le benzaldéhyde :  $R_f = 0,8$  et pour l'urée :  $R_f = 0,8$

### I-2 Température de fusion ( $T_f$ )

La température ou le point de fusion du produit est déterminé dans un tube capillaire. Cette technique consiste à introduire le solide, sous forme de poudre, dans le tube capillaire de 1 mm de diamètre intérieur de façon à former une colonne de 4 mm de hauteur. Le tube capillaire contenant le solide est par la suite fixé sur la partie inférieure du thermomètre, puis introduit dans un bain d'huile (Figure 1). Afin de déterminer la température de fusion, on fait chauffer le bain (via un bec benzène) de la température ambiante jusqu'à la température à laquelle le solide disparaît complètement. Cette température représente ainsi le point de fusion du produit.



**Figure II-1 : Dispositif utilisé pour déterminer la température de fusion**

### **I-3 Spectroscopie Infra-Rouge (IR)**

La spectroscopie infrarouge est une spectroscopie moléculaire de nature vibrationnelle. Par le biais des fréquences de vibrations, elle permet de détecter la présence ou l'absence d'un groupement d'atomes et d'identifier ainsi un composé inconnu.

Les spectres infrarouges sont enregistrés sur un spectromètre à Transformé de Fourier type Shimadzu. Avant chaque analyse spectroscopique, le produit solide est préparé sous forme de pastille. Pour cela, le solide à l'état poudreux (2 mg) est mélangé avec du KBr (80 mg), le tout est broyé dans un mortier, puis comprimé sous pression réduite (80 bar) pour former de fines pastilles. Cette dernière est positionnée dans un porte échantillon qui est introduit dans la cellule infrarouge. Après stabilisation de la pression, le spectre IR correspondant au domaine de vibration des molécules (compris entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  et  $500\text{ cm}^{-1}$ ) est enregistré.

### **I-4 Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)**

Cette technique spectroscopique constitue l'une des techniques d'analyses modernes parmi les plus efficaces pour la détermination de la structure et de la stéréochimie des molécules organiques complexes.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) sont enregistrés avec un spectromètre Varian. Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en ppm (partie par million) par rapport au solvant deutéré DMSO- $d_6$  ( $\delta_{\text{H}} = 2,52$  ;  $\delta_{\text{C}} = 39,7$ ). Les constantes

de couplage ( $J$ ) sont exprimées en Hertz (Hz). Pour l'interprétation des spectres, les abréviations suivantes sont utilisées : s (singulet), d (doublet), dd (doublet dédoublé), t (triplet), td (triplet dédoublé), q (quadruplet), m (multiplet).

## II. TESTE CATALYTIQUE : REACTION DE BIGINELLI

### II-1 Description du montage

Le montage de la réaction de Biginelli, illustré sur la figure 2, se compose des parties suivantes :

- Support élévateur
- Bain d'huile
- Ballon (50 mL)
- Réfrigérant
- Thermomètre
- Plaque chauffante munie d'une agitation magnétique



**Figure II-2 : Montage de la réaction multicomposant de Biginelli**

Le ballon, en verre d'une contenance de 50 mL, est fixé à l'aide d'une pince à la potence. Le bain d'huile et la plaque chauffante sont placées sur le support élévateur que l'on monte jusqu'à ce qu'il soit en contact avec le ballon. Le réfrigérant est connecté au ballon et alimenté en eau par le bas, l'évacuation se faisant par le haut. Le thermomètre est fixé à son tour par une pince à la potence et placé au voisinage proche du ballon, ce qui permet le contrôle de la température au degré près.

## II-2 Mode opératoire

Le catalyseur de masse connue (0,05-0,4 mg) et une quantité en urée bien définie (1-4 mmol) sont placés dans le ballon, en présence d'un barreau magnétique, auxquelles on ajoute l'acétoacétate d'éthyle (2 mmol) suivi du benzaldéhyde (2 mmol). Le tout est bien homogénéisé, puis le ballon est relié au système à reflux avant d'être plongé dans le bain d'huile. La température du bain étant fixée au préalable à 100°C. L'instant correspondant au temps zéro de la réaction est le moment même où le ballon est dans le bain et où l'agitation est lancée. Après une heure de réaction, le mélange réactionnel est ramené à la température ambiante avant d'être lavé à l'éthanol chaud et placé dans un bain de glace afin de faire précipiter le produit. Le solide formé est filtré et purifié par recristallisation dans l'éthanol pour donner un produit analytiquement pur. Enfin, le produit pur obtenu est séché à l'étuve à 100°C pendant 24 heures.

## II-3 Exploitation des résultats

Le produit obtenu est analysé par la prise de sa température de fusion. De même, il est analysé par CCM et les techniques spectroscopiques (IR et RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ ).

Le rendement en produit est calculé sur la base du réactif limitant. Dans notre cas le réactif limitant est le benzaldéhyde.

### III. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

Les produits 3,4-dihydropyrimidinone/thione synthétisés sont testés pour leurs activités antibactériennes vis-à-vis de quatre souches :

- *Escherichia coli* (bactérie à Gram négatif)
- *Listeria innocua* (bactérie à Gram positif)
- SARM
- *Candida albicans* (levure)

Cette étude est réalisée au niveau du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Béjaia.

#### III-1 Technique et application

##### a- Préparation de la suspension bactérienne

À partir d'une préculture âgée de 24 heuresensemencée sur une *gélose nutritive*, on prélève 3 à 4 colonies bien isolées avec une anse et on les émulsionne dans un tube contenant 5 mL de *bouillon nutritif*.

##### b- Technique des puits

La mise en évidence de l'activité antibactérienne de nos produits est effectuée par la technique des puits (Figure 3). Dans cette technique le milieu utilisé est celui de Muller-Hinton (milieu semi solide 16 g.L<sup>-1</sup> d'agar), qui une fois coulé dans des boites de Pétri (d'une épaisseur > 4 mm), estensemencé avec des souches cibles par écouvillonnage. Des puits de 6 mm de diamètre sont réalisés à l'aide d'un emporte pièce.

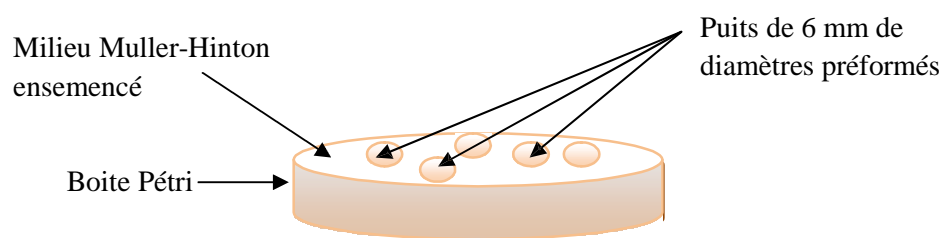
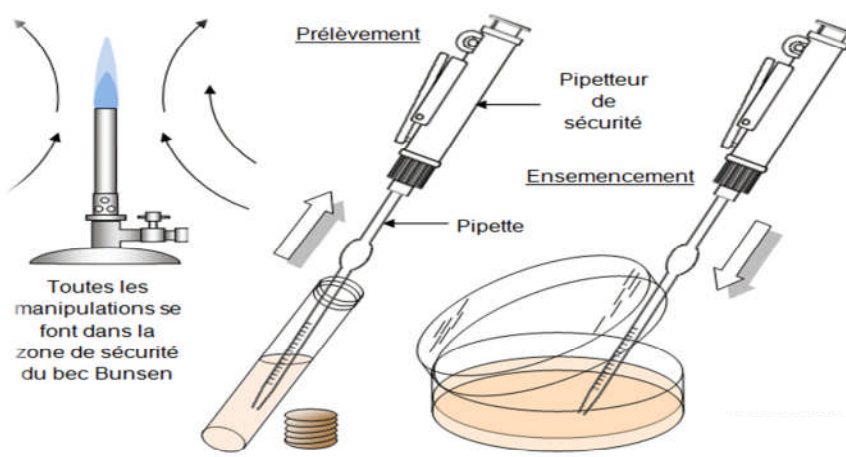


Figure II-3 : Réalisation des puits sur le milieu ensemencé

### c- Ensemencement des souches

Avec une pipette Pasteur muni d'un pipeteur de sécurité, passée au préalable sur une flamme, un volume (0,2 à 0,3 mL) de culture de bactérie est déposé dans la boîte de Pétri. A l'aide d'un étaloir stérilisé, la culture de bactérie est répartie sur toute la surface du milieu Muller-Hinton (Figure 4). Après solidification du milieu, des puits (6 mm) sont formés via un emporte pièce, au fond des quels une goutte de gélose blanche est déposée afin d'éviter la diffusion des extraits de produit au fond des boîtes puis 50  $\mu$ L de chaque extrait (solution de 3,4-dihydropyrimidinone/thione) sont introduits dans les puits. Le DMSO (diméthylsulfoxyde) est utilisé comme témoin. Par la suite, les boîtes sont gardées à 4°C pendant 2h pour permettre la diffusion des substances actives tout en arrêtant momentanément la croissance des germes cibles, puis incubées à 37°C pour les bactéries. A retenir, que les extraits sont préparés au préalable par dissolution du produit DHPM dans le solvant organique DMSO (1 mg.mL<sup>-1</sup>).



**Figure II-4 : Ensemencement des souches cibles sur milieu Muller-Hinton**

Toutes les manipulations sont faites dans une zone stérilisée au voisinage du bec Bunsen, boîtes de Pétris ouvertes le moins longtemps possible.



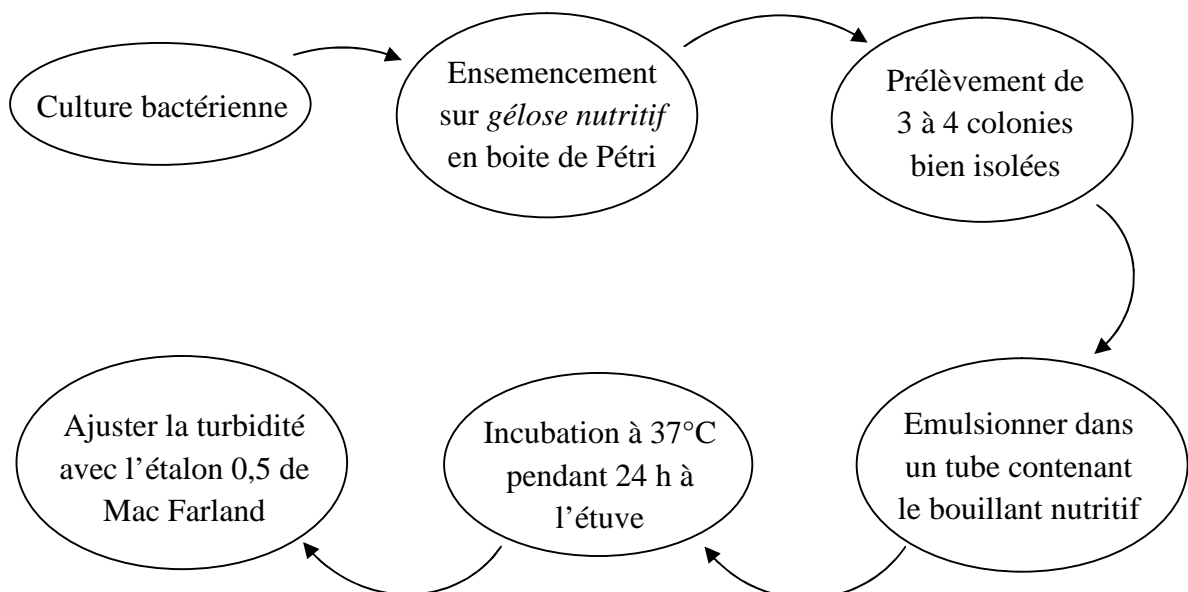
**d- Identification de l'activité antibactérienne**

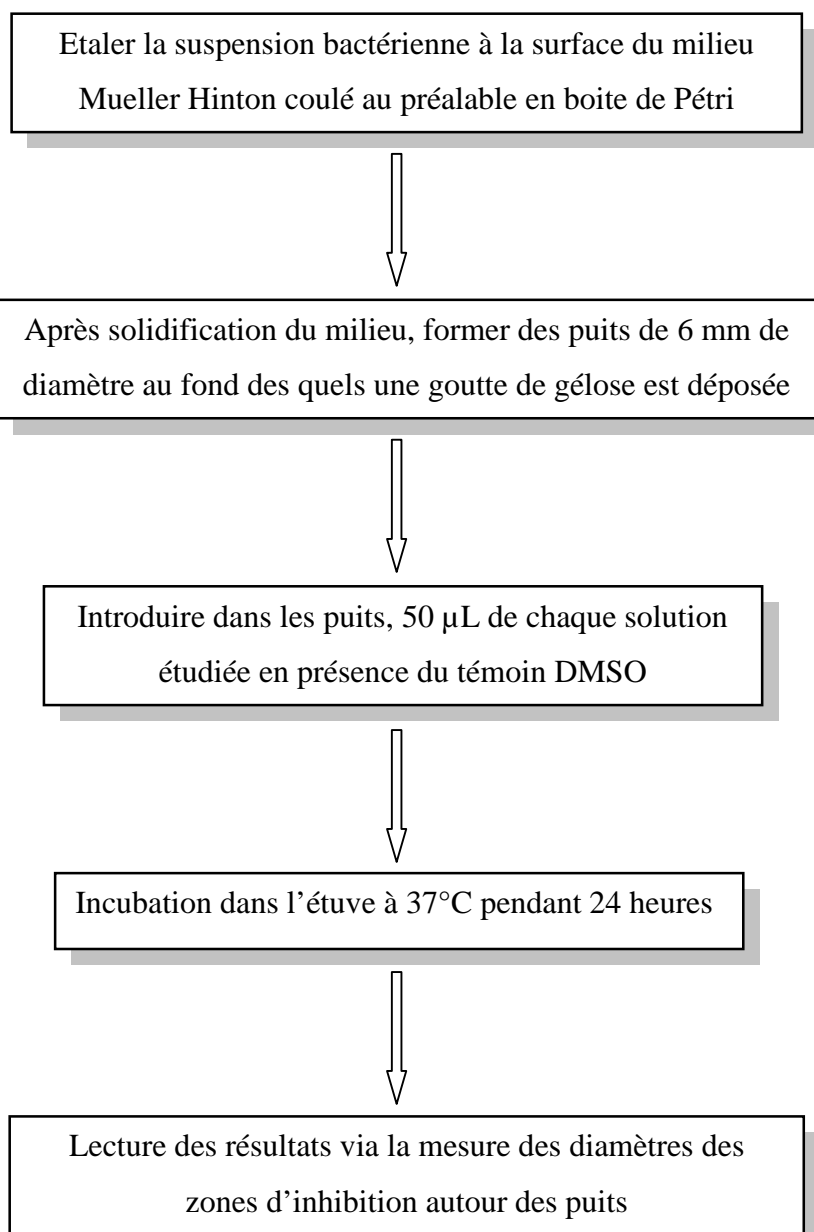
L'identification de l'activité antibactérienne est effectuée via une lecture directe en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour du puits après 24 heures (Figure 5).



**Figure II-5 : Identification de l'activité antibactérienne**

Préparation de la suspension bactérienne



*Étapes du test de l'activité antibactérienne*

# **Chapitre III**

## **Résultats et Discussions**

L'importance des réactions à composés multiples à considérablement renouvelé l'intérêt des chercheurs à développer la réaction de Biginelli, et un nombre de publications et brevets décrivant la synthèse de nouveaux composés analogues de la DHPM est constamment en hausse.

Dans ce chapitre, nous allons décrire l'ensemble des résultats obtenus consacrés respectivement aux deux parties suivantes :

- Partie A : Synthèse de la DHPM via la réaction de Biginelli, regroupant l'effet du catalyseur, l'optimisation des conditions expérimentales ainsi que l'effet du précurseur et du métal dans la réaction one-pot de Biginelli.
- Partie B : Application dans le domaine de la microbiologie, qui traite l'évaluation de l'activité antibactérienne en présence des DHPMs synthétisées.

## Partie A : Synthèse de la DHPM via la réaction de Biginelli

### 1- Introduction

La réaction de Biginelli est une réaction à composants multiples qui conduit à la synthèse des 3,4-dihydropyrimidi-2(1H)-ones (**4**) à partir de la cyclocondensation d'un aldéhyde aromatique tel que le benzaldéhyde (**1**), l'acétoacétate d'éthyle (**2**) et l'urée (**3**). (Schéma 1).

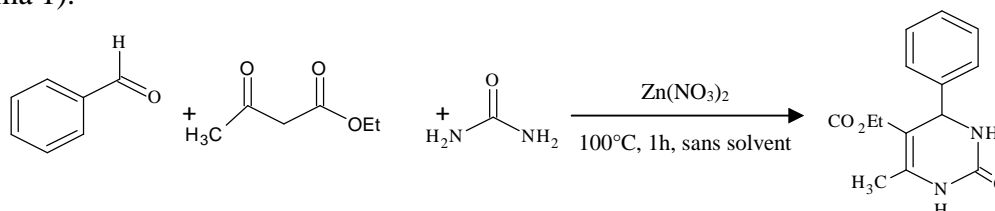


Schéma III-1 : Synthèse classique du produit de Biginelli

Récemment, de nouvelles méthodes ont été découvertes, toutefois ces dernières impliquent des séquences multiples et des conditions dangereuses avec un temps de réaction assez long. Cela a conduit à la mise au point de plusieurs protocoles améliorés, et par conséquent, le développement des méthodes de synthèses catalytiques efficaces et rapides est devenu une nécessité pour la synthèse de ce type de composés [1-3].

Dans cette optique, nous avons entrepris la démarche d'étudier la réaction de Biginelli en présence du catalyseur  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$  tout en essayant d'optimiser les conditions opératoires dans le but d'améliorer le rendement en produit DHPM.

## 2- Optimisation des conditions opératoires

### 2-1 Choix du temps de la réaction

Au cours de notre étude, le choix du temps de réaction est basé sur les résultats obtenus par la chromatographie sur couche mince (CCM). La durée d'une heure a été sélectionnée. Elle a conduit à un rendement nettement supérieur (58 %) comparé à celui obtenu (40 %) pendant 30 minutes de réaction dans les mêmes conditions réactionnelles (benzaldéhyde/acétoacétate d'éthyle/urée/ $Zn(NO_3)_2$  : 2/2/2/0,2) à 100°C. A signaler, qu'une durée de réaction dépassant une heure n'a entraîné aucune amélioration dans le rendement de la réaction.

### 2-2 Effet de la quantité en urée et de la masse du catalyseur

Dans un premier temps, nous avons comparé l'influence du catalyseur sur le rendement de la réaction de Biginelli. Pour cela, le catalyseur  $Zn(NO_3)_2$  est utilisé dans des conditions expérimentales bien définies. Les résultats obtenus, illustrés dans le tableau 1, montrent clairement l'effet promoteur du catalyseur dans la cyclocondensation des trois composants de Biginelli dans des conditions exemptes de solvants. En effet, la présence de l'acide de Lewis  $Zn^{2+}$  comme catalyseur (entrée 2, Tableau 1) permet la synthèse du produit souhaité en l'occurrence la DHPM avec un bon rendement (58 %) après 1 heure de réaction à 100°C, comparé au faible rendement (10 %) obtenu dans les mêmes conditions après 12 heures de test en l'absence de catalyseur (entrée 1, Tableau 1). La réaction a été suivie par chromatographie sur couche mince.

D'autre part, il faut remarquer que l'efficacité catalytique de  $Zn(NO_3)_2$  varie avec les conditions réactionnelles utilisées. Ainsi, au cours de la variation de la quantité de l'urée, nous pouvons constater au regard des résultats du tableau 1 (entrées 2-6) et la figure 1, pour une même masse de catalyseur (0,2 g), que le rendement en DHPM augmente quand l'urée augmente de 1,5 à 3 mmol, puis tend à se stabiliser au-delà de cette quantité. Un résultat similaire est reporté par Kalita et coll. [4] pour la synthèse de la DHPM via la réaction de Biginelli en présence du catalyseur CuI. De même, Boumoud [5] a montré que le rendement en DHPM, en présence des catalyseurs  $Ni(NO_3)_2$  et  $Pb(NO_3)_2$ , est optimal pour une quantité de 1,4 équivalent en urée par rapport à l'aldéhyde. De plus, il est à noter que sur une large étude bibliographique de la réaction de Biginelli, nous avons pu constater que les aldéhydes et les  $\beta$ -dicétones sont généralement utilisés dans un même rapport

stœchiométrique comparé à celui en urée qui est variable [6, 7]. Le plus souvent le rapport en urée est plus élevé de 20 à 50 % par rapport à l'aldéhyde [8, 9].

En ce qui concerne la quantité en catalyseur, la courbe représentée sur la figure 2 montre que celle-ci influe sur la cyclocondensation de Biginelli. En effet, on constate que l'activité catalytique traduite par le rendement en produit DHPM augmente avec la quantité en catalyseur jusqu'à un optimum correspondant à 0,3 g puis tend à se stabiliser. Cette augmentation peut être expliquée par la présence de plus de sites acides de Lewis  $Zn^{2+}$  qui permettent d'une part de stabiliser l'arylidène-urée (généralisé in situ à partir du benzaldéhyde et l'urée) et d'autre part, la formation de l'énolate de zinc (dérivé du composé acétoacétate d'éthyle). Ainsi, il se forme un intermédiaire résultant de la combinaison de l'arylidène-urée et l'énolate qui conduit par cyclisation au produit DHPM à travers une déshydratation (voir paragraphe 6 : Mécanisme réactionnel).

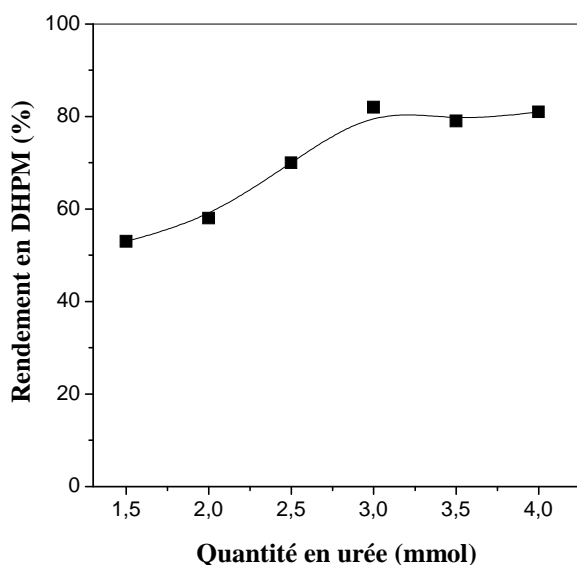
**Tableau III-1** : Effet de la quantité de l'urée et du catalyseur  $Zn(NO_3)_2$  sur le rendement en DHPM synthétisée via la réaction de Biginelli <sup>a</sup>.

Entrée	Catalyseur (g)	Urée (mmol)	Rendement <sup>b</sup> (%)
1	-	2	10 <sup>*</sup>
2	0,2	2	58
3	0,2	1,5	53
4	0,2	2,5	70
5	0,2	3	82
6	0,2	3,5	79
7	0,2	4	81
8	0,1	3	78
9	0,3	3	91
10	0,4	3	88

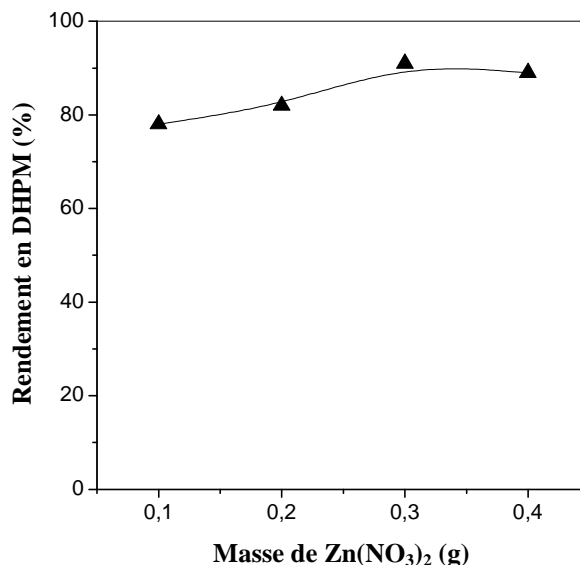
<sup>a</sup> Conditions de la réaction : benzaldéhyde (2 mmol) ; acétoacétate d'éthyle (2 mmol) ; 1 h ; 100°C ; sans solvant.

<sup>b</sup> Rendement isolé des produits après recristallisation

\* 12 heures de réaction



**Figure III-1. Rendement en DHPM en fonction de la quantité en urée en présence du catalyseur  $Zn(NO_3)_2$  (0,2 g).**



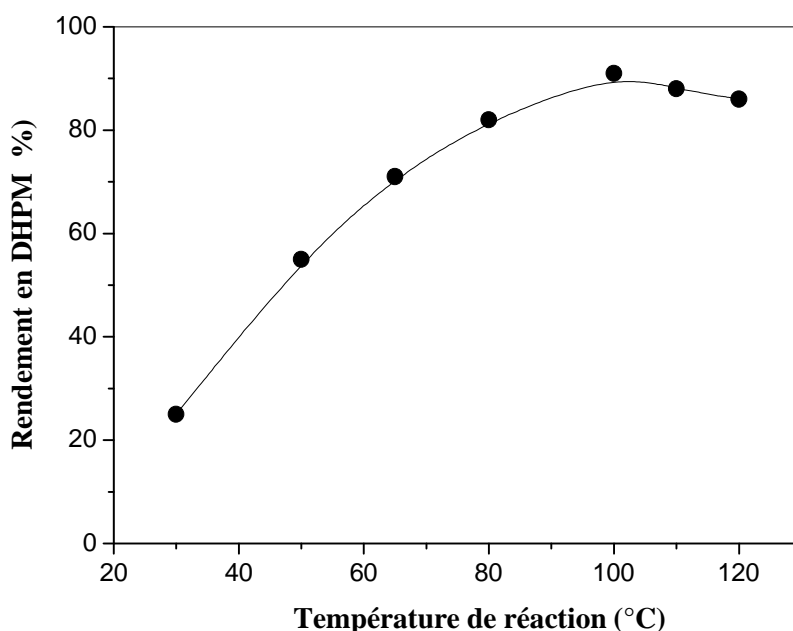
**Figure III-2. Rendement en DHPM en fonction de la masse du catalyseur  $Zn(NO_3)_2$ . Quantité en urée = 3 mmol**

En conclusion, cette étude nous a permis d'optimiser les quantités de l'urée et du catalyseur  $Zn(NO_3)_2$  qui permettent d'atteindre le meilleur rendement en DHPM. Ces quantités (urée = 3 mmol ;  $Zn(NO_3)_2$  = 0,3 g) sont retenues pour la suite du travail.

### 2-3 Effet de la température de réaction

Généralement, l'augmentation de la température a un effet bénéfique sur les réactions multicomposants. Dans ce contexte, nous avons suivi l'évolution de la réaction de Biginelli en présence du catalyseur  $Zn(NO_3)_2$  en fonction de la température de réaction.

Les résultats obtenus illustrés sur la figure 3, montrent qu'une augmentation de la température de réaction entraîne une augmentation du rendement en DHPM. Cependant, dans nos conditions expérimentales celui-ci semble atteindre une valeur limite (91%) à partir de 100°C puis tend à décroître légèrement. Cette baisse peut probablement être expliquée par un début de dégradation du produit à des températures de réaction élevées (85% en DHPM à 120°C).



**Figure III-3 : Rendement en DHPM en fonction de la température de réaction en présence du catalyseur  $Zn(NO_3)_2$ .**

#### 2-4 Effet du solvant

L'effet du solvant sur l'activité catalytique en réaction de Biginelli a fait l'objet de nombreux travaux [10-12]. A retenir que de plus en plus de réactions sans solvant sont utilisées surtout dans le domaine de la chimie verte, et généralement toute étude de réaction est accompagnée d'une étude comparative sans solvant.

Dans ce sens, nous avons jugé bon de suivre la réaction de Biginelli en présence de  $Zn(NO_3)_2$  dans nos conditions optimales en présence des solvants :  $H_2O$ ,  $C_2H_5OH$  et  $CH_3CN$  (5 mL). Les résultats obtenus des rendements en DHPM sont regroupés dans le tableau 2, et comparés à ceux de la bibliographie. Il ressort de cette étude que la réaction effectuée sans solvant (entrée 1, Tableau 2) révèle le meilleur rendement en DHPM que ses homologues en présence des différents solvants (entrées 2-4, Tableau 2). Toutefois, la comparaison de l'activité catalytique en présence des solvants (entrées 2-4) laisse apparaître qu'un bon rendement est obtenu avec le solvant aprotique  $CH_3CN$  (70 %) contrairement aux solvants polaires et protiques  $H_2O$  et  $C_2H_5OH$  (44 % et 66 % respectivement). Cette différence peut être liée au fait que l'acétonitrile présente une température d'ébullition plus élevée que celle de l'éthanol et l'eau ce qui active mieux la



réaction. D'autre part, la comparaison de nos résultats à ceux de la bibliographie (entrées 5-8) laisse apparaître que la réaction de Biginelli catalysé par  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$  est plus efficace et prometteuse dans nos conditions opératoires exemptes de solvants.

**Tableau III-2** : Effet du solvant sur le rendement en DHPM synthétisé par la réaction de Biginelli <sup>a</sup>.

Entrée	Catalyseur (g)	Solvant (mL)/Temps (h)	Rendement <sup>b</sup> (%) [Référence]
1	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$	sans solvant/1	91
2	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$	$\text{H}_2\text{O}/5$	44
3	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}/4$	66
4	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$	$\text{CH}_3\text{CN}/4$	70
5	$\text{ZnCl}_2$	$\text{CH}_3\text{CN}/20$	52 [13]
6	$\text{ZnI}_2$	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}/20$	60 [14]
7	$\text{ZnO}$	sans solvant/10	95 [15]

<sup>a</sup> Conditions de la réaction : benzaldéhyde (2 mmol) ; acétoacétate d'éthyle (2 mmol) ; urée (3 mmol) ;  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$  (0,3 g) ;  $100^\circ\text{C}$ .

<sup>b</sup> Rendement des produits isolés après recristallisation

Compte tenu de l'ensemble des résultats obtenus sur l'optimisation des conditions réactionnelles, la suite de notre étude est effectuée dans les conduits suivantes : benzaldéhyde/acétoacetate d'éthyle/urée : 2/2/3 mmol ;  $T_{\text{réaction}} = 100^\circ\text{C}$  ; temps de réaction = 1heure ; masse de catalyseur = 0,3 g ; sans solvant.

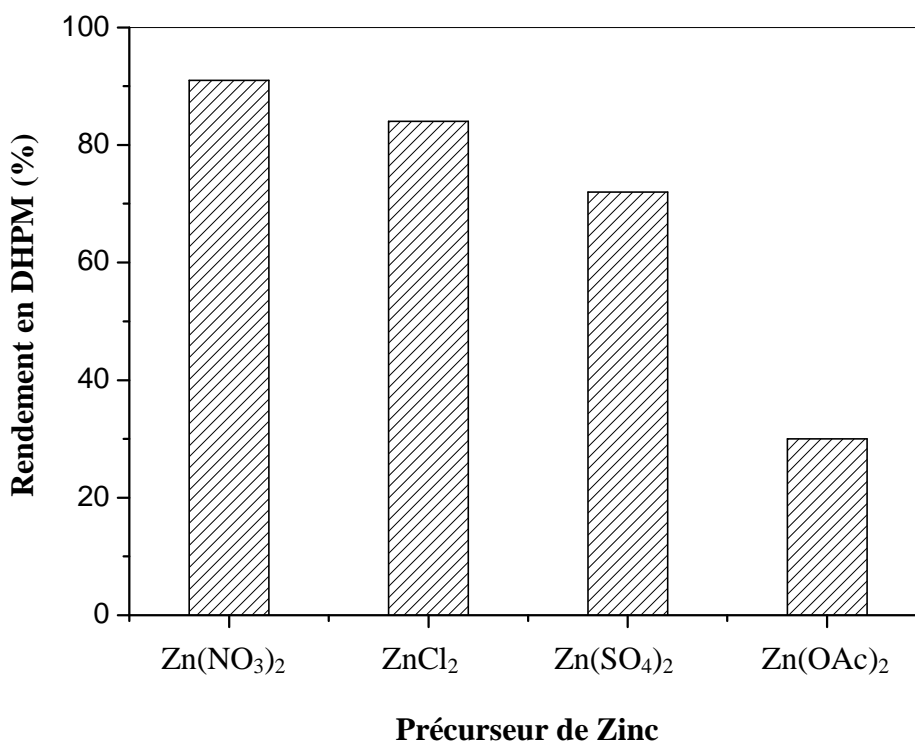
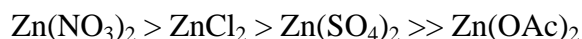
### 3- Influence du précurseur

Le but de cette étude est d'examiner l'influence du précurseur (anion) sur les propriétés catalytiques de l'acide de Lewis  $\text{Zn}^{2+}$ . Les résultats sont illustrés sur la figure 4 et comparés à ceux obtenus en présence des nitrates de zinc.

Les différents histogrammes (Figure 4) montrent que le meilleur rendement en DHPM est enregistré avec le précurseur nitrate (anion  $\text{NO}_3^-$ ). Cette différence de comportement peut s'expliquer par le fait que les anions nitrates sont des groupements

électro-attracteurs stables dotés d'un caractère organique plus prononcé que les chlorures, les acétates et les sulfates. Ce qui confère au cation  $Zn^{2+}$  un caractère acide plus marqué en présence de l'anion nitrate. De plus, ces anions  $NO_3^-$  se dissocient plus facilement en milieu organique pour donner le cation  $Zn^{2+}$  libre à effet catalytique plus prononcé.

Ainsi, l'activité des catalyseurs en réaction de Biginelli dans nos conditions réactionnels varie selon le classement suivant :



**Figure III-4 : Rendement en DHPM après 1 heure de réaction en fonction des différents précurseurs de zinc**

#### 4- Influence du métal

Dans le paragraphe précédent, on a pu constater que l'effet catalytique dépend de la nature de l'anion, et dans ce même ordre d'idée nous avons jugé utile d'étudier l'effet du métal (cation). Pour cela, une gamme de catalyseurs métalliques sous forme de nitrates est utilisée au cours de la cyclocondensation de Biginelli dans les mêmes conditions opératoires.

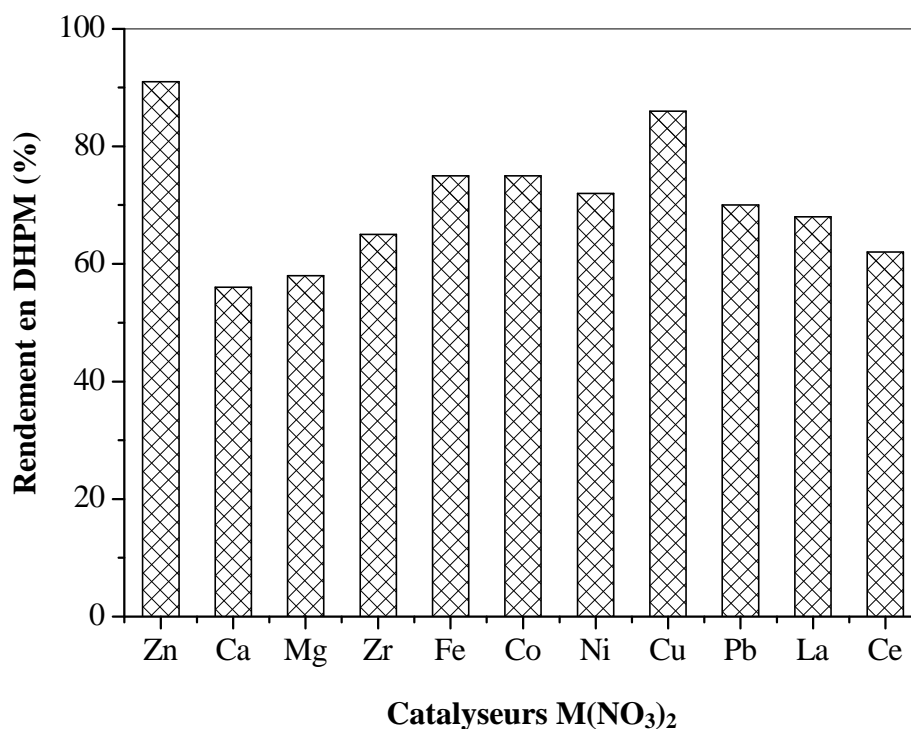
Les résultats reportés dans le tableau 2 et la figure 3 révèlent que les métaux de transitions de la quatrième période, plus particulièrement le zinc, sont plus actifs pour la cyclocondensation de Biginelli. Il est à noter par ailleurs, que les métaux de la triade fer, cobalt, nickel, montrent une activité catalytique similaire. Ce comportement peut être attribué au caractère réducteur qui augmente suivant l'ordre croissant :  $Zr < Fe = Co = Ni < Cu < Zn$ , ce qui correspond au classement des rendements en DHPM. D'autre part, le magnésium et le calcium présentent les plus faibles activités catalytiques alors que le plomb, le lanthane et le cérium présentent une activité intermédiaire avec celle des métaux de transitions. Ce résultat peut être relié à la stabilité de la couche de valence de chaque élément.

**Tableau III-3** : Synthèse de la DHPM via la réaction de Biginelli <sup>a</sup> en présence de différents catalyseurs  $M(NO_3)_2$  ( $M = Zn, Ca, Mg, Zr, \dots$ ).

Entrée	Nature de M dans $M(NO_3)_2$	Rendement (%)	Température de fusion (°C)
1	Zn	91	201-204
2	Ca	56	200-203
3	Mg	60	199-201
4	Zr	65	200-205
5	Fe	75	203-206
6	Co	75	200-203
7	Ni	72	200-204
8	Cu	87	200-202
9	Pb	70	200-204
10	La	68	200-205
11	Ce	62	200-204

<sup>a</sup> Conditions de la réaction : benzaldéhyde (2 mmol) ; acétoacétate d'éthyle (2 mmol) ; urée (3 mmol) ;  $M(NO_3)_2$  (0,3 g) ; 1 h ; 100°C ; sans solvant.

<sup>b</sup> Rendement des produits isolés après recristallisation



**Figure III-5 : Rendement en DHPM en présence des différents métaux (M) sous forme de catalyseur  $M(NO_3)_2$**

### 5- Influence de la thiourée

Généralement l'utilisation de l'urée ou de la thiourée dans la cyclocondensation de Biginelli conduit à la formation des produits correspondants désirés avec des rendements très proches.

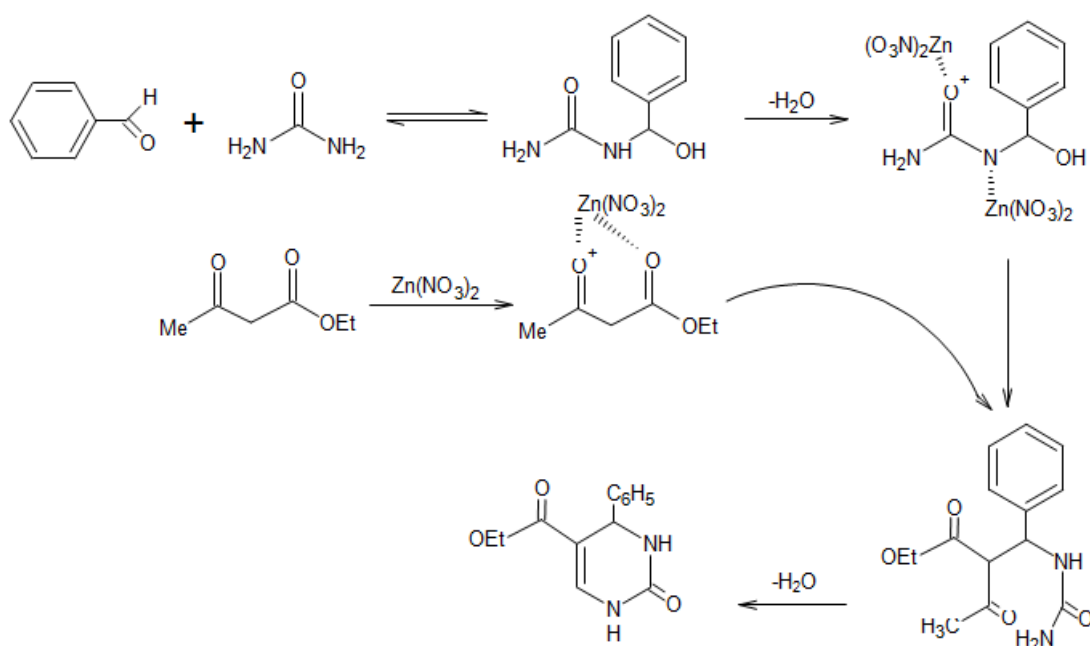
Cependant, dans notre étude, nous avons observé une différence significative dans les rendements en produit DHPM en utilisant l'urée et la thiourée (Tableau 3). En effet, suivant nos conditions expérimentales, le rendement en DHPM passe de 91 % en présence de l'urée à 37 % avec la thiourée. Cette diminution de l'activité peut être reliée à la température de réaction. Il apparait en effet, qu'une augmentation de température de la réaction à 120°C, en présence de la thiourée utilisée, conduit à un rendement de 44 % en 3,4-dihydropyrimidithione.

**Tableau III-4** : Synthèse de la 3,4-dihydropyrimidinone/thione catalysé par  $Zn(NO_3)_2$ 

Entrée	X	Rendement (%)	Température de fusion (°C)	
			Mesurée	Reportée
1	O	91	201-204	202-205
2	S	37	199-202	201-204

### 6- Mécanisme réactionnel

De l'ensemble des résultats obtenus, le mécanisme réactionnel proposé repose sur la formation de l'intermédiaire benzylimine [16, 17]. Ce dernier, est généré in situ à partir du benzaldéhyde et l'urée ou la thiourée, est stabilisé par coordination avec le zinc. Suivi par la suite, de l'addition de l'énolate de zinc qui dérive du 1,3-dicarbonyl. La cyclisation de l'intermédiaire résultant donne lieu à la DHPM en passant par une déshydratation. Le schéma 2 donné ci-dessous regroupe les différentes étapes de la cyclocondensation des trois composants de Biginelli en présence du catalyseur  $Zn(NO_3)_2$ .



**Schéma 2** : Proposition du mécanisme de la réaction de Biginelli catalysée par  $Zn(NO_3)_2$  en l'absence de solvant

Dans l'ensemble de notre étude, la structure de la DHPM synthétisée a bien été identifiée par sa température de fusion et les méthodes spectroscopiques usuelles (IR et RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ ), et elle se trouve en bon accord avec les données de la littérature.

- La température de fusion ( $T_f$ ) déterminée par la méthode capillaire est comprise entre 200-205°C ( $T_f$  littérature = 201-203°C)
- Les spectres Infrarouge (IR) de la DHPM synthétisée (voir annexe) sont caractérisés par la présence de bandes successives attribués à l'élongation de deux liaisons N-H du noyau DHPM qui apparaissent vers 3245-3120  $\text{cm}^{-1}$ . La bande intense qui sort au alentour de 1732  $\text{cm}^{-1}$  est caractéristique au groupement carbonyle (C=O) de la fonction ester, suivie par une autre bande du groupement C=O de la fonction amide en C2 à 1648  $\text{cm}^{-1}$  (celle du groupement C=S donne une bande à 1547  $\text{cm}^{-1}$ ). D'autres bandes enregistrées à 1290-1226  $\text{cm}^{-1}$  montrent la présence du groupement C-N. Celles qui apparaissent vers 1465  $\text{cm}^{-1}$  sont attribuées aux doubles liaisons C=C du cycle aromatique et du noyau DHPM.
- Les résultats donnés par la RMN  $^1\text{H}$  font apparaître des signaux sous formes singulets vers 9,24 et 7,75 ppm caractéristiques aux deux protons des deux groupements amine N1 et N3 respectivement. Le groupement méthyle lié à la double liaison du noyau DHPM résonne à 2,24 ppm sous forme de singulet. Deux autres signaux attribués aux protons du groupement éthyle de la fonction ester sont présents : un quadruplet de deux protons ( $\text{CH}_2$ ) vers 3,97-4,00 ppm ( $J = 7,1$  Hz) et un triplet de trois protons ( $\text{CH}_3$ ) à 1,07-1,12 ppm ( $J = 7$  Hz). Les signaux des protons du benzène résonnent sous forme de singulet vers 7,22 ppm.

Les spectres de la RMN  $^{13}\text{C}$  font apparaître les signaux suivants :

- un signal vers 165,38 ppm caractéristique au carbone de la fonction ester.
- un signal vers 153,10 ppm correspondant au carbone C=O de la fonction amide.
- des signaux dans la zone 125,81-144,75 ppm attribués aux carbones du noyau aromatique, ainsi que ceux des substituants :  $-\text{CH}_3$  vers 17,92 ppm ;  $-\text{C}_6\text{H}_5$  (C4) vers 54,81 ppm ; carbones hybridés en  $\text{sp}^2$  à 147,91 ppm (C6) et 99,83 ppm (C5).
- des signaux caractéristiques aux carbones de la fonction ester qui apparaissent à 58,64 ppm et 13,82 ppm pour le carbone secondaire  $-\text{CH}_2$  lié à l'oxygène et le carbone tertiaire respectivement.

## Partie B : Evaluation de l'activité antibactérienne de la DHPM synthétisée

Dans cette partie du travail nous avons testé l'activité antibactérienne des 3,4-dihydropyrimidinone/thione, synthétisées dans la partie A, sur trois souches bactériennes et une espèce de levure qui proviennent du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté SNV de l'Université de Béjaia.

- Les trois souches de bactéries sont :
  - ✓ *Escherichia coli*
  - ✓ *Listeria innocua*
  - ✓ *Staphylococcus aureus*
- L'espèce de Levure est :
  - ✓ *Candida albicans*

### 1- Généralité sur les bactéries utilisées :

#### ✓ *Escherichia coli* (*E. coli*)

*Escherichia coli* également appelée colibacille et abrégée en *E. coli*, est une bactérie à Gram négatif intestinale, des mammifères, très commune chez l'être humain. Elle compose environ 80 % de notre flore intestinale aérobie. La majorité des souches d'*E. coli* sont inoffensives, quelques-unes seulement sont pathogènes. C'est le cas des souches d'*E. coli* dites entérohémorragiques (ECEH). Ces dernières provoquent des diarrhées sanglantes et produisent une puissante toxine à l'origine du Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU) [18].

#### ✓ *Listeria innocua* (*L. innocua*)

Petit bacille à Gram positive, non sporule, ubiquiste, tellurique, très largement répandue dans l'environnement, possède de grandes capacités de résistance dans le milieu extérieur. Elle a été isolée, dans de nombreux pays de l'hémisphère Nord [19].

#### ✓ *Staphylococcus aureus* (SARM)

*Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré) résistant à la Méthicilline est connu sous l'acronyme SARM. Le staphylocoque doré est la deuxième plus importante cause d'infections nosocomiales après la bactérie *Escherichia coli*. Bien que les infections du

SARM se développent généralement chez les personnes hospitalisées, il peut arriver que le personnel hospitalier et les visiteurs soient infectés s'ils font partie de l'un de ces groupes à risque [20].

✓ *Candida albicans* (*C. albicans*)

*Candida albicans* est une levure, une sorte de champignon microscopique, habituellement inoffensive et qui siège naturellement au niveau des muqueuses digestive et gynécologique. Dans certains cas, il peut devenir pathogène et est alors responsable de candidose, une infection fongique. Cela se produit lorsqu'il atteint des organismes fragilisés dont les défenses immunitaires sont diminuées, notamment chez les individus porteurs du virus du SIDA ou les patients sous traitement immunosuppresseurs (dans le cadre de maladies auto-immunes, de traitements pour des cancers ou après une greffe) [21].

## 2- Mise en évidence de l'activité antibactérienne

Les 3,4-DHPMs synthétisées ainsi que la solution témoin (DMSO) testés dans cette étude sont nommés comme suit :

- 3,4-dihydropyrimidinone dissout dans le DMSO ( $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) : DHPM-Ur
- 3,4-dihydropyrimidithione dissout dans le DMSO ( $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) : DHPM-Th
- Témoin DMSO : T

Un volume de chaque solution (DHPM-Ur/Th et témoin) est prélevé stérilement puis introduit dans des puits creusés (6 mm de diamètre) sur milieu Muller Hinton préalablement ensemencé avec une bactérie cible. A retenir que deux essais sont effectués pour chaque souche. Les résultats de ce test, illustrés dans le tableau 5, révèle dans le cas de la DHPM-Ur que seul une activité antibactérienne est observée envers *L. innocua*, avec un diamètre d'inhibition de 9,51 mm. En revanche, avec la DHPM-Th, une activité antibactérienne est observée sur l'ensemble des bactéries étudiées à l'exception de la levure *C. albicans*. A retenir, que l'activité antibactérienne la plus élevée est enregistrée contre la bactérie *L. innocua* avec un diamètre d'inhibition de 10,08 mm.



**Tableau III-5 :** Activité antibactérienne des différentes solutions ( $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) par la méthode des puits ( $50 \mu\text{L}$ ).

Solution	Bactéries cibles en fonction du diamètre d'inhibition (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>L. innocua</i>	SARM	<i>C. albicans</i>
Témoin (DMSO)	0	0	0	0
DHPM-Ur	0	9,51	0	0
DHPM-Th	9,62	10,08	9,75	0

Sur la base des ces résultats qui semblent intéressant du fait qu'ils rendent compte d'un potentiel antibactérien, nous avons voulu voir l'effet de la concentration des substances étudiées (DHPM-Ur et DHPM-Th) sur l'évolution de l'activité antibactérienne. Pour cela, une gamme de concentration est choisie, de façon toute à fait fortuite, allant de  $0,5\text{-}3 \text{ mg.mL}^{-1}$ .

L'ensemble des résultats reportés dans le tableau 6 et les figures 6 et 7 montre, quelle que soit la solution et la concentration utilisée, aucune activité antibactérienne sur la *C. albicans*. Le même résultat est observé sur la bactérie SARM en présence de la DHPM-Ur. Ce résultat ne signifie pas forcément que la substance est absente ou pas assez active, mais pourrait être du à une différence du rapport structure-activité. En effet, le composé à base de la thiourée serait probablement responsable de la diffusion de la molécule à travers la paroi bactérienne qui se traduit par l'apparition d'halo d'inhibition autour de la bactérie, notamment la SARM à Gram positif. En revanche, pour les autres bactéries, une activité antibactérienne est enregistrée et croît en fonction de la concentration des solutions DHPM-Ur et DHPM-Th.

Il faut également noter dans ce travail, que pour un même type de bactérie, que l'activité antibactérienne reste plus importante en présence de la DHPM-Th comparé à son homologue DHPM-Ur et ceci quelle que soit la concentration.

**Tableau III-6** : Activité antibactérienne des solutions à différentes concentrations ( $\text{mg.mL}^{-1}$ ) par la méthode des puits ( $50 \mu\text{L}$ ).

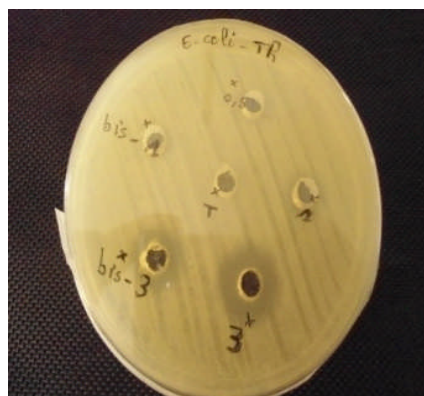
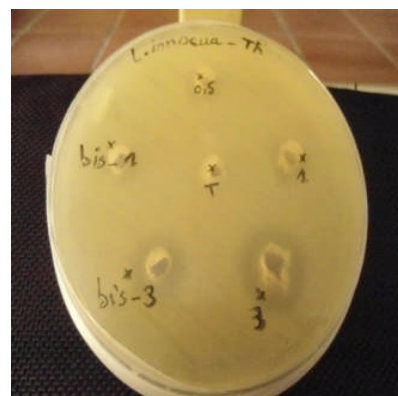
Solutions à différentes concentrations		Bactéries cibles en fonction du diamètre d'inhibition (mm)			
		<i>E. coli</i>	<i>L. innocua</i>	SARM	<i>C. albicans</i>
DHPM-Ur ( $\text{mg.mL}^{-1}$ )	0,5	0	0	0	0
	1	0	7,51	0	0
	3	9,91	9,60	0	0
DHPM-Th ( $\text{mg.mL}^{-1}$ )	0,5	7,11	8,42	8,48	0
	1	9,62	10,08	9,75	0
	3	18	17,55	16	0

(B) *E. coli*(A) *L. innocua*

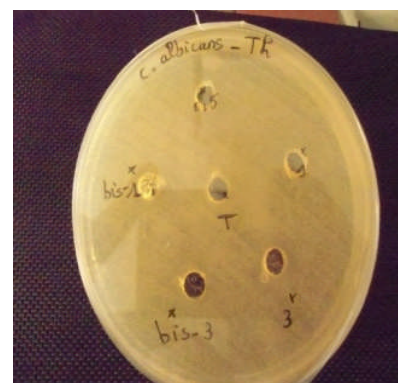
(C) SARM

*C. albicans*

**Figure III-6** : Activité de la DHPM-Ur via-à-vis des bactéries (A), (B), (C) et de *C. albicans*

(A) *E. coli*(B) *L. innocua*

(C) SARM

*C. albicans***Figure III-7** : Activité de la DHPM-Th via-à-vis des bactéries (A), (B), (C) et de *C. albicans*

Bien que cette partie du travail n'a pas été plus approfondie et plus affinée, mais elle nous a permis d'avoir une idée de l'activité antibactérienne des substances DHPM-Ur/Th étudiées. Ainsi, cette étude semble très prometteuse et mérite d'être développée et ce par l'utilisation d'autres DHPMs substituées.

## Références

- [1] R.L. Magar, P.B. Thorat, P.B. Thorat, V.V. Thorat, B.R. Patil, R.P. Pawar, *Chin. Chem. Lett.* 24, (2013), 1070.
- [2] M. Litvic, I. Vecenaj, Z.M. Ladisic, M. Lovric, V. Vi,kovic, M. Filipan-Litvic, *Tetrahedron*, 66, (2010), 3463.
- [3] F. Zamani, E. Izadi, *Catal. Comm.* 42, (2013), 104.
- [4] H.R. Kalita, P. Phukan, *Catal. Comm.* 8, (2007), 179.
- [5] B. Boumoud, Thèse de Doctorat, (2008).
- [6] E Rafiee, F. Shahbazi, *J. Mol. Catal.* 250, (2006), 57.
- [7] A. Kamal, T. Krishnaji, M. A. Azhar, *Catal. Comm.*, 8, (2007), 1929.
- [8] Patent application Publication Srinivasan *et coll.* N°. US 2005/0215790 A1 29, 09, (2005).
- [9] Ezzat Rafiee, Hadi jafari, *Biorganic & medecinal chemistry lett.* 16, (2006), 2463.
- [10] P.S. Harikrishnan, S.M. Rajesh, S. Perumal, A.I. Almansour, *Tetrahedron. Lett.* 54, (2013), 1076
- [11] R.L. Magar, P.B. Thorat, P.B. Thorat, V.V. Thorat, B.R. Patil, R.P. Pawar, *Chi. Chem. Lett.* 24, (2013), 1070
- [12] K.K. Pasunooti, H. Chai, C.N. Jensen, B.K. Gorityala, S. Wang, Xue-Wei Liu, *Tetrahedron*, 52 (2011), 80.
- [13] Q. Sun, Y.-q. Wang, Z.-m. Ge, T.-m. Cheng, R-t. Li, *Synthesis*, (2004), 1047.
- [14] G. Jenner, *Tetrahedron Lett.* 45, (2004), 6195.
- [15] F. Tamaddon, S. Moradi, *J. Mol. Catal. A*, 370, (2013), 117.
- [16] W. Su, J. Li, Z. Zheng, Y. Shen, *Tetrahedron Lett.* 46, (2005), 6037.
- [17] M.A. Bigdeli, G. Gholami, E. Sheikhsosseini, *Chin. Chem. Lett.* 22, (2011), 903.
- [18] J.L. Avril, J.L. Fauchère, *Bactériologie générale et médicale*, Ad. Ellipses, Paris, - (2002).
- [19] P.M. Foegeding, N.M. Stanley, *Journal of food protection*, 54, (1991), 519.
- [20] (a) J.L. avril, H. Dabernat, F. Denis, H. Monteil, *Bactériologie Clinique* 2<sup>ème</sup> Ed. Ellipses, (1992), 9. (b) C. Nauciel, J-L. Vildé, *Bactériologie médicale*, Ed. Elsevier Masson, (2005), 77.
- [21] T. Hart, P. Shears, *Atlas de poche de microbiologie*, AD. Médecine-sciences, Paris, (1997), 240.

# **Conclusion générale**

## Conclusion Générale

Le travail présenté dans ce manuscrit regroupe deux parties distinctes. La première partie traite la synthèse des 3,4-dihydropyrimidinone/thione (DHPM) via la réaction de Biginelli et la seconde partie se propose d'évaluer l'activité antibactérienne des composés synthétisés sur trois souches bactériennes et une levure.

L'étude de la réaction à trois composants (benzaldéhyde/acétoacétate d'éthyle/urée) de Biginelli en présence des nitrates de zinc comme catalyseur type acide de Lewis à permis d'obtenir le produit souhaité en l'occurrence la DHPM. Le but du travail est consacré d'une part à l'étude de l'effet du catalyseur et l'optimisation des conditions opératoires et d'autre part à l'étude de l'effet du précurseur, du métal et de la thiourée sur le rendement en produit DHPM. Les principaux résultats obtenus révèlent qu'un excellent rendement en DHPM (91 %) est enregistré avec une quantité en réactifs benzaldéhyde/acétoacétate d'éthyle/urée : 2/2/3 mmol en présence de 0,3 de  $Zn(NO_3)_2$  dans un milieu exempté de solvant à 100 °C pendant 1 heure. A retenir, que les molécules synthétisées sont identifiées par leur températures de fusions et les méthodes spectroscopiques (IR et RMN  $^1H$  et  $^{13}C$ ), et sont conformes aux données de la littérature.

L'étude de l'activité antibactérienne des produits synthétisés sur différentes souches à montré dans un premier temps que la DHPM synthétisée en présence de la thiourée (DHPM-Th) présente une bonne activité antibactérienne comparé à son homologue synthétisé en présence de l'urée (DHPM-Ur). D'autre part, l'activité antibactérienne augmente avec l'augmentation de la concentration des solutions DHPM-Ur et DHPM-Th mais reste toutefois plus importante en présence de la DHPM-Th et cela quelle que soit la bactérie étudiée.

# **Perspectives**

## Perspectives

L'ensemble des résultats exposés sont encourageants et très prometteurs, et les perspectives qui en découlent sont nombreuses, parmi elles :

- Réaliser la réaction de Biginelli en utilisant des aldéhydes aromatiques substitués par des groupements électron-attracteurs et/ou électron-donneurs. Les produits obtenus peuvent être le siège d'une large gamme de molécules potentiellement actives.
- Elargir la réaction de Biginelli en présence de catalyseurs supportés :  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2/\text{support}$  ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CeO}_2$ , zéolites, ...).
- Etude de l'influence de la technique de préparation des catalyseurs supportés et de la teneur métallique sur rendement en produits DHPMs synthétisés via la réaction de Biginelli.

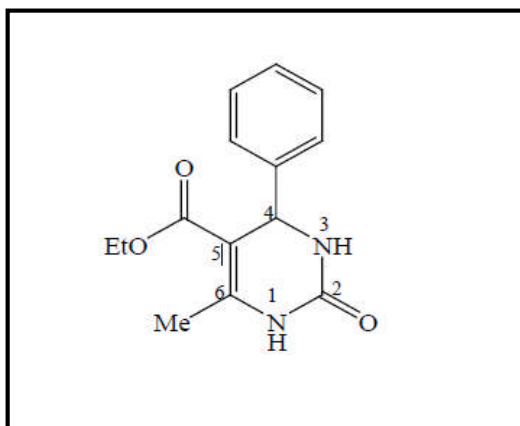


# **Annexe**

➤ Le premier produit synthétisé :

**5-(Ethoxycarbonyl)-6-méthyl-4-phényl-3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-one : 3,4-DHPM**

À partir de 0,25 ml de benzaldéhyde (2 mmol), 0,2 ml d'acétoacétate d'éthyle (2 mmol), 180 mg d'urée (3 mmol) et une quantité de 0,3 g de  $Zn(NO_3)_2$  on obtient 474 mg du composé sous forme de Cristaux jaune pale ; Rendement = 91,15 %



**Température de Fusion :**  $T_f = 200-205^\circ C$

**Infra-rouge (KBr) :**  $\lambda$  ( $cm^{-1}$ ) 3245-3120 (NH) ; 1732 (C=O ester) ; 1648 (C=O) ; 1465 (C=C cycle aromatique) ; 1226 (C-N) ; 776-700 (C-H du cycle aromatique).

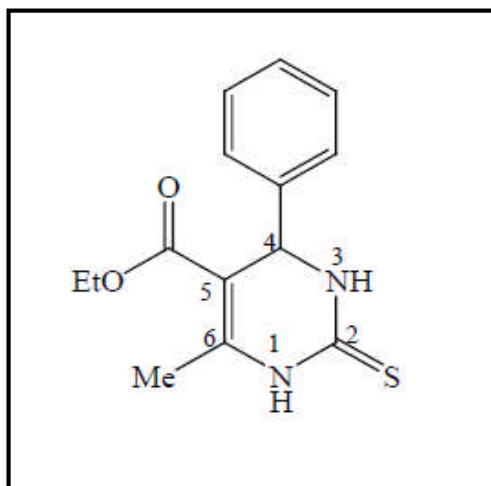
**RMN  $^1H$  (DMSO- $d_6$ ) :**  $\delta_H$  9,24 (s, 1H, NH) ; 7,75 (s, 1H, NH) ; 7,22 (m, 5H, CH arom) ; 5,13 (d, 1H,  $J = 3,2$ , CH) ; 3,97-4,00 (q, 2H,  $J = 7,1$ ,  $CH_2$ ) ; 2,24 (s, 3H,  $CH_3$ ) ; 1,07-1,12 (t, 3H,  $J = 7,1$ ,  $CH_3$ ).

**RMN  $^{13}C$  (DMSO- $d_6$ ) :**  $\delta_C$  165,38 ( $\underline{C}OOEt$ ) ; 153,10 (C2) ; 147,91 (C6) ; [144,75 ; 128,83 ; 127,76 ; 125,81]C arom ; 99,83 (C5) ; 58,64 ( $\underline{O}CH_2CH_3$ ) ; 54,81 (C4) ; 17,92 ( $CH_3$ ) ; 13,82 ( $\underline{O}CH_2\underline{C}H_3$ ).

➤ Le second produit synthétisé :

**5-(Ethoxycarbonyl)-6-méthyl-4-phényl-3, 4-dihydropyrimidin-2(1H)-thione**

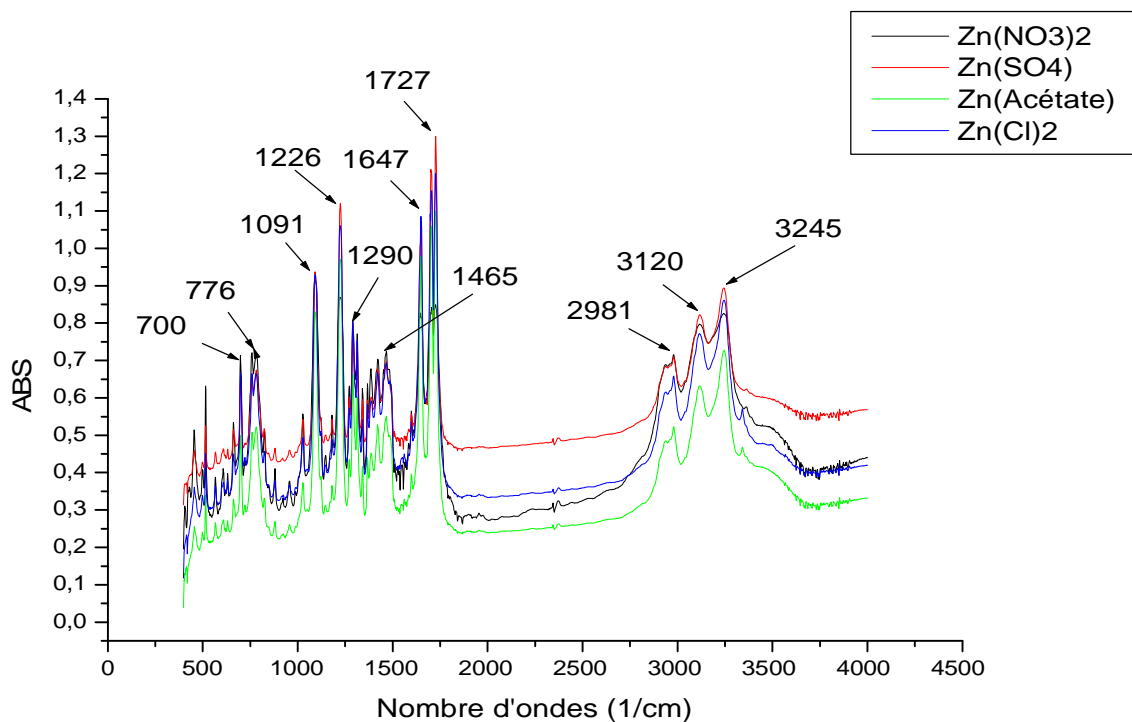
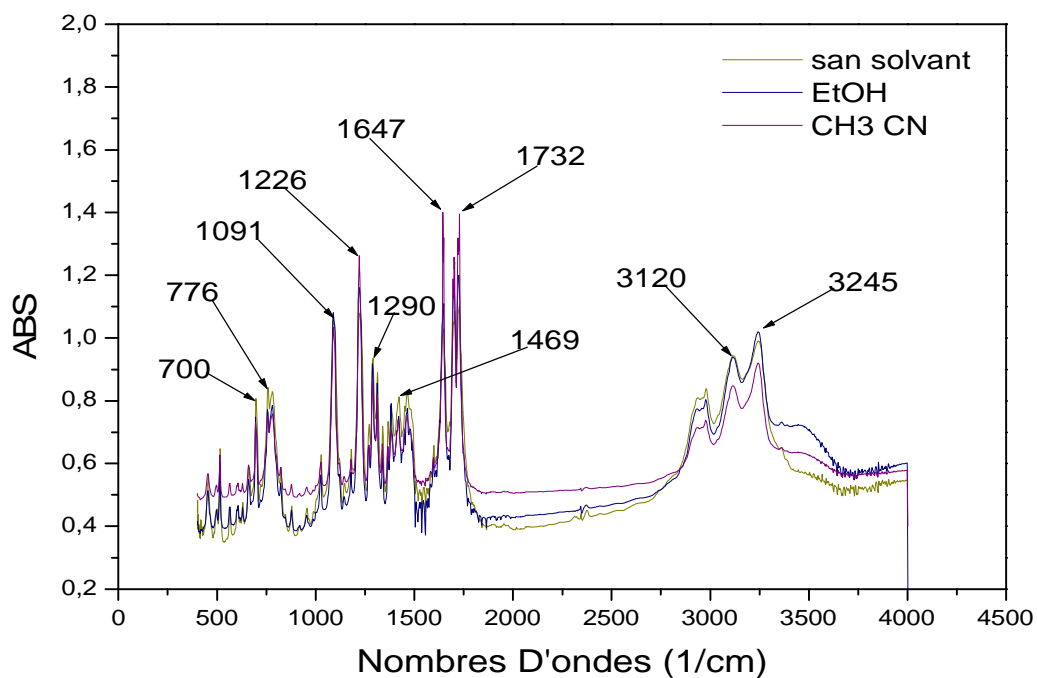
À partir de 0,2 ml de benzaldéhyde (2 mmol.), 0,25 ml d'acétoacétate d'éthyle (2mmol), 0,23 g de thiourée (3 mmol.) et une quantité de 0,3 g de  $Zn(NO_3)_2$  on obtient 183 mg du composé (**4f**) sous forme de solide jaune, Rendement = 37 %.

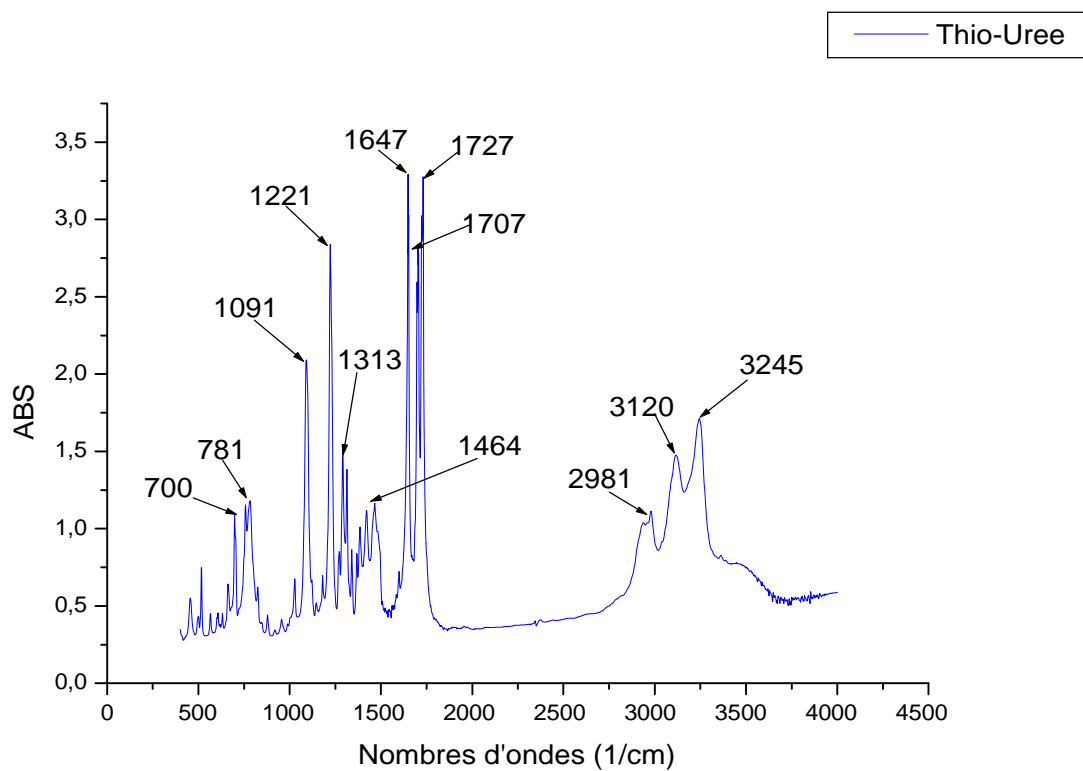
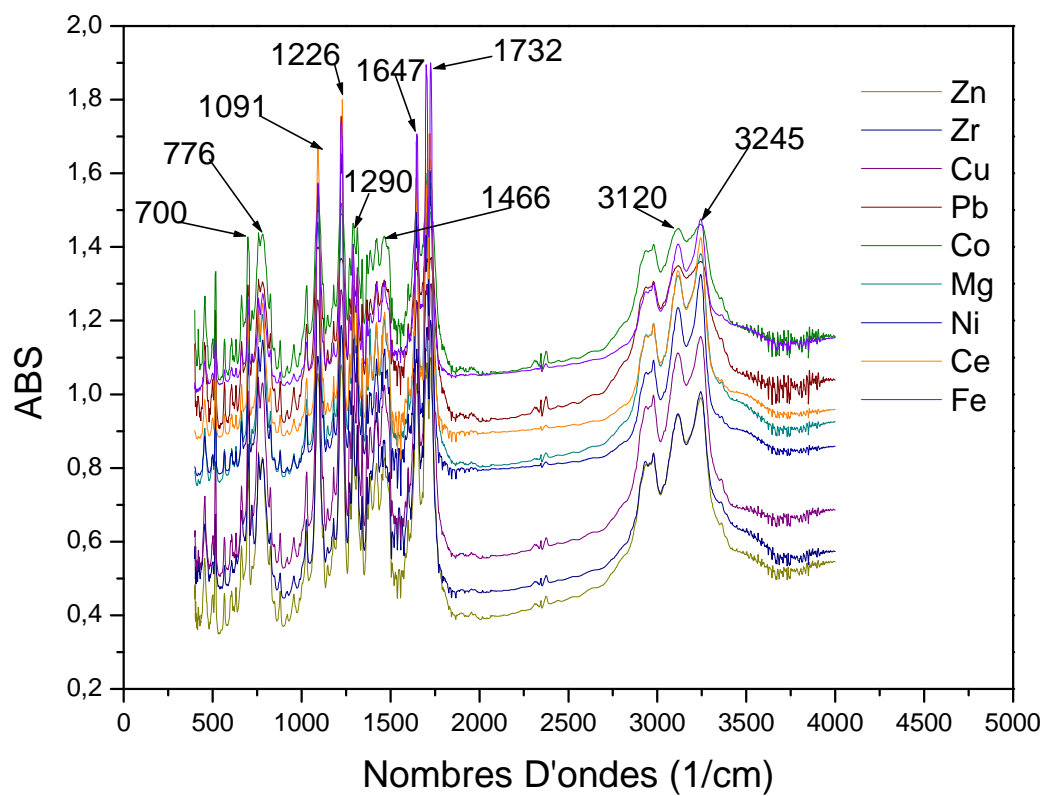


**Température de Fusion :**  $T_{fus} = 199-202^{\circ}C$

**Infra-rouge (KBr) :**  $\lambda$  ( $cm^{-1}$ ) 3245-3120 (NH) ; 1727 (C=O ester) ; 1647 (C=S) ; 1464 (C=C cycle aromatique) ; 1221 (C-N) ; 781-700 (C-H du cycle aromatique).

## Spectres IR







## Produits chimiques

Les différents produits utilisés au cours de la réaction sont regroupés dans le tableau 1.

**Tableau : Caractérisation des produits**

Produits	Formule	Fournisseur	Pureté (%)	Température d'ébullition ou fusion (°C)
Benzaldéhyde	$C_7H_6O$	Riedel-de Haen	99	64
Acétoacétate d'éthyle	$C_5H_8O_3$	Fluka	98	181
Urée	$CO(NH_2)_2$	Panreac	98	132-135
Ethanol	$C_2H_5OH$	Biochem	99,9	78
Acétonitrile	$CH_3CN$	Sigma-Aldrich	99,5	82
Nitrate de zinc	$Zn(NO_3)_2$	Sigma-Aldrich	98	110

Les autres précurseurs métalliques, utilisés au cours de notre étude, sont en majeure partie fournis par Sigma-Aldrich avec une pureté de 97-99%.

## Résumé

---

La réaction à trois composants nommée « Réaction de Biginelli » est l'une des plus importantes réactions multicomposants (RMCs), qui a l'avantage de former un noyau dihydropyrimidinone (DHPM). Ce noyau DHPM décore une large famille de composés biologiquement actifs et représente l'une des chemotypes les plus prolifiques dans le domaine pharmacologique et biologique.

Les travaux menés au cours de notre étude regroupent deux parties : la première partie porte sur la synthèse de la DHPM via la réaction de Biginelli en présence d'un catalyseur type acide de Lewis  $Zn^{2+}$ . Le but de cette étude repose essentiel sur l'obtention du produit DHPM avec un bon rendement. Pour cela, l'optimisation des conditions expérimentales, l'étude de l'effet du précurseur et du métal ainsi que l'effet de la thiourée sont étudiés. La seconde partie est consacrée à l'évaluation de l'activité antibactérienne des produits synthétisés (DHPM-Ur/Th) sur trois souches bactériennes et une levure.

**Mots clés :** Biginelli, réaction multicomposant, dihydropyrimidinone, catalyseurs, activité antibactérienne.

## Abstract

---

The three-components reaction called "Biginelli Reaction" is one of the most important multicomponents reaction (MCRs), which has the advantage of forming a core dihydropyrimidinone (DHPM). This core DHPM decorates a broad family with made up biologically active and represents one of the most prolific chemotypes in the pharmacological and biological field.

The work undertaken during our study gathers two parts: the first part relates to the synthesis of the DHPM via the Biginelli reaction in the presence of a standard catalyst of Lewis acid  $Zn^{2+}$ . The purpose of this study is based essentially on obtaining product DHPM with a good yields. For that, the optimization of the experimental conditions, the studies of the effect of the precursor and metal as well as the effect of thiourea are studied. The second part is devoted to the evaluation of the antibacterienne activity products synthesized (DHPM-Ur/Th) on three bacteria and a yeast.

**Keywords :** Biginelli, reaction multicomponent, dihydropyrimidinone, catalysts, antibacterienne activity.