

République Algérienne Démocratique et Populaire  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université des Sciences et de la Technologie d'Oran « Mohamed BOUDIAF »**  
Faculté des Sciences - Département de Chimie Industrielle  
Spécialité : Chimie Industrielle  
Option : Ingénierie Biomoléculaire

Mémoire de Magister

Présenté par

*Melle AMARA Sarah*

Thème

**Synthèse, caractérisation et évaluation de l'activité antibactérienne  
de nouveaux C-Nucléosides à double s base s dérivant du D -Glucose**

*Devant le jury composé de :*

Président	<b>Mr. AL -TAIAR Ali Hassoune</b>	Professeur	USTO-MB-
Encadreur	<b>Mr. ALI -OTHMANE Adel</b>	Professeur	USTO-MB-
Examineur	<b>Mr. ILIKTI Hocine</b>	Professeur	USTO-MB-
Examineur	<b>Mr. BELKHODJA Moulay</b>	Professeur	U.Oran (Es-Sénia)

*“Everything should be made as simple as possible, but not one bit simpler”*  
*A. Einstein*

*DEDICACES*

*A toute ma famille...*

## **REMERCIEMENTS**

*Je voudrais exprimer mes sincères remerciements tout d'abord à mon encadreur, le Pr ALI-OTHMANE Adel, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et m'avoir permis de mener à bien ce travail dans les meilleures conditions. Je le remercie également pour son aide, sa disponibilité, son écoute attentive ainsi que pour ses précieux conseils et suggestions qui m'ont toujours beaucoup appris et qui m'ont été très utiles*

*Je remercie également le Professeur AL-TAIAR Ali Hassoume d'avoir accepté d'être le président de mon jury, et lui présente à lui ainsi qu'au Professeur ILIKTI Hocine et au Professeur BELKHODJA Moulay ma sincère reconnaissance pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce mémoire.*

*Une pensée toute particulière en vers madame BENHARRATS Nassia pour sa gentillesse et sa compréhension.*

*Je tiens à remercier tous mes amis pour leur soutien permanent, leur aide ainsi que pour leurs encouragements de tous les jours.*

*Enfin, Je remercie tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

## SOMMAIRE

Liste des abréviations.....	1
Introduction générale.....	3
Partie A: Théorie.....	5
A-I Nucléosides et analogues de nucléosides.....	6
A-I-1 Les nucléosides naturels.....	6
A-I-1-1 Introduction.....	6
A-I-1-2 Les acides nucléiques.....	6
A-I-1-3 Composition des acides nucléiques.....	8
A-I-1-4 Nomenclature des nucléosides naturels.....	10
A-I-1-5 Les nucléotides naturels.....	11
A-I-2 Les analogues de nucléosides.....	13
A-I-2-1 Introduction.....	13
A-I-2-2 Classification et nomenclature des analogues de nucléosides.....	13
A-I-2-2-1 Les analogues cycliques de nucléosides.....	15
A-I-2-2-2 Les analogues acycliques de nucléosides.....	17
A.II Synthèses des nucléosides et de leurs analogues.....	26
A.II.1 Types de réactions.....	26
A.II.2 Exemples de synthèse.....	29
A.II.2.1 Analogues cycliques de nucléosides.....	29
A.II.2.2 Analogues acycliques de nucléosides.....	30
A.III Activité biologique des nucléosides et de leurs analogues.....	35
A.III.1 Analogues de nucléosides à activité biologique.....	35
A.III.2 Analogues de nucléotides à activité biologique.....	42
Partie B: Résultats et discussions.....	44
B.I Synthèses chimiques.....	45
B.I.1 Introduction.....	45
B.I.2 Les lactones (Esters cycliques).....	47
B.I.2.1 Généralités.....	47
B.I.2.2 Formation des lactones à partir des monosaccharides.....	49
B.I.3 Synthèses chimiques.....	50
B.I.3.1 Caractéristiques du D-glucose (B-1).....	50
B.I.3.2 Synthèse du D-glucaro-1,5:6,3-dilactone (B-3).....	52
B.I.3.3 Synthèse du 1,6-dihydrazide D-glucarique (B-5).....	54
B.I.3.4 Synthèse du 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3 <i>H</i> )-thione) (B-6).....	55
B.I.3.5 Synthèse du 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (B-7).....	57
B.I.3.6 Synthèse du 2,2'-(2,3,4,5-tetrahydroxy-1,6-dioxohexane-1,6-diyl)dihydrazine carbothioamide (B-8).....	59
B.I.3.7 Synthèse 1,4-bis(5-mercapto-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (B-9).....	59

B.II Tests de solubilité.....	62
B.II.1 Résultats des tests de solubilité .....	62
B.II.2 Discussion des résultats.....	64
B.III Activité biologique.....	65
B.III.1 Evaluation de l'effet antibactérien .....	65
B.III.2 Interprétation des résultats.....	66
B.III.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	71
Partie C: Expérimentale.....	72
C.I Généralités.....	73
C.I.1 Réactifs et solvants .....	73
C.I.2 Appareillages et techniques d'analyses utilisés.....	74
C.I.3 Chromatographie sur couche mince.....	76
C.I.3.1 Principe.....	76
C.I.3.2 Mode opératoire .....	76
C.I.4 Caractéristiques du D-glucose anhydre (B-1).....	81
C.II Synthèses.....	82
C.II.1 Synthèse du D-glucaro-1,5:6,3-dilactone (B-3).....	82
C.II.2 Synthèse 1,6-dihydrazide D-glucarique (B-5).....	82
C.II.3 Synthèse 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis (1,3,4-oxadiazole-2(3 <i>H</i> )-thione) (B-6) .....	83
C.II.4 Synthèse du 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-yl)butane-2,3,4-tetrol (B-7) .....	83
C.II.5 Synthèse du 2,2'-(2,3,4,5-tetrahydroxy-1,6-dioxohexane-1,6-diyl)dihydrazine carbothioamide (B-8).....	84
C.II.6 Synthèse du 1,4-bis(5-mercapto-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (B-9).....	84
C.III Tests de solubilité.....	86
C.III.1 Test de solubilité du D-glucose (B-1).....	86
C.III.2 Test de solubilité du D-glucaro-1,5:6,3-dilactone (B-3).....	87
C.III.3 Test de solubilité du 1,6-dihydrazide D-glucarique (B-5).....	87
C.III.4 Test de solubilité du 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl) bis (1,3,4-oxadiazole-2(3 <i>H</i> )-thione) (B-6).....	88
C.III.5 Test de solubilité du 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (B-7) .....	88
C.III.6 Test de solubilité du 2,2'-(2,3,4,5-tetrahydroxy-1,6-dioxohexane-1,6-diyl)dihydrazine carbothioamide (B-8).....	89
C.III.7 Test de solubilité du 1,4-bis(5-mercapto-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (B-9) .....	89
C.IV Activité biologique.....	90
C.IV.1 Principe .....	90
C.IV.2 Mode opératoire.....	90
C.IV.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	91
CONCLUSION GENERALE.....	92
BIBLIOGRAPHIE.....	93

## ***LISTE DES ABREVIATIONS***

**ADN** : Acide désoxyribonucléique  
**ARN** : Acide ribonucléique  
**ARNt** : Acide ribonucléique de transfert  
**ATB** : Antibiotique  
**B** : Base  
**CCM** : Chromatographie sur couche mince  
**CMI** : Concentration minimale inhibitrice  
**CMV** : Cytomégalovirus  
**d** : doublet (RMN)  
**dd** : double doublet (RMN)  
**DMF** : N,N-Diméthylformamide  
**DMSO** : N,N-Diméthylsulfoxyde  
**E. Coli** : Escherichia Coli  
**Fig** : Figure  
**g**: gramme  
**Glc** : Glucose  
**h**: heure  
**HNO<sub>3</sub>**: Acide nitrique  
**HSV** : Virus de l'herpès simplex  
**IR** : Infrarouge  
**J** : Constante de couplage  
**L** : Litre  
**m** : multiplet (RMN)  
**mCPBA** : Acide méta-chloroperoxybenzoïque  
**MH** : Muller Hilton  
**mL** : millilitre  
**mm** : millimètre  
**mn** : minutes  
**N** : Normalité  
**PM** : Poids moléculaire  
**ppm** : partie par million  
**q** : quadruplet (RMN)  
**R<sub>f</sub>** : Rapport frontal (CCM)

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire  
**RMN-<sup>13</sup>C**: Résonance magnétique nucléaire du carbone 13  
**RMN-<sup>1</sup>H**: Résonance magnétique nucléaire du proton  
**s** : singulet (RMN)  
**SIDA** : Syndrome d'immunodéficience acquise  
**t** : triplet (RMN)  
**Tab** : Tableau  
**T<sub>eb</sub>** : Température d'ébullition  
**T<sub>f</sub>** : Température de fusion  
**TMS** : Tétraméthylsilane (RMN)  
**UV** : Ultraviolet  
**V** : Volume  
**VHB** : Virus de l'Hépatite B  
**VHC** : Virus de l'Hépatite C  
**VIH** : Virus de l'immunodéficience humaine  
**°C** : Degrés Celsius  
**Δ**: Chauffage classique  
**δ** : Déplacement chimique en ppm (RMN)

## ***INTRODUCTION GENERALE***

Les premiers succès obtenus dans le traitement de la kératite herpétique avec l'*idoxuridine* par Kaufmann en 1962, l'introduction de la *vidarabine* dans les affections herpétiques en 1976 et surtout de l'acyclovir quelques années plus tard ont donné une forte impulsion à la recherche et à la mise au point de nouvelles molécules analogues de nucléosides possédant des activités antivirales ou anticancéreuses.

Ainsi, depuis près de 50 ans, un nombre important de ces molécules a pu être synthétisé. Ces dernières peuvent être soit des dérivés de bases pyrimidiques ou puriques soit des molécules ayant subi des modifications sur la partie osidique ou bien les deux à la fois.

Les analogues de nucléosides constituent actuellement le pilier de la chimiothérapie antivirale et sont une arme puissante dans la panoplie thérapeutique du sida, des hépatites et de l'herpès.

L'idée de ce travail consiste en la synthèse d'analogues de nucléosides à partir du D-Glucose qui constitue une matière première écologique, disponible en abondance et peu coûteuse.

Le basculement progressif de l'industrie chimique en faveur des matières premières renouvelables émerge comme une nécessité inévitable vu l'appauvrissement de la terre en matières premières pétrochimiques.

L'emploi des monosaccharides comme matière première se limitait le plus souvent aux produits textiles, au papier et aux industries de revêtement, et étaient utilisés comme tels ou bien sous forme d'ester simple ou d'éther.

Un grand effort a été réalisé cette dernière décennie pour passer, à grande échelle, à la transformation d'une matière première renouvelable vers des applications biomédicales et industrielles polyvalentes intéressantes pour le respect de l'environnement.

Le travail présenté dans ce mémoire se classe en 3 parties détaillées comme suit :

-**La partie A** , qui est la partie théorique, comprend 3 chapitres : le premier concerne les nucléosides et leurs analogues, le second aborde leurs différentes synthèses et le troisième chapitre étudie leurs activités biologiques.

- **La partie B**, qui est la partie « résultats et discussions », comporte une discussion des résultats obtenus au cours de la synthèse, des tests de solubilité et de l'évaluation de l'activité antibactérienne.

-**La partie C** , qui est la partie expérimentale, regroupe les modes opératoires ainsi que les analyses spectrales physico-chimiques effectuées.

Enfin, une conclusion générale suivie d'une bibliographie et des annexes clôturent ce mémoire.

# Partie A

## (Théorie)

Chapitre A.I Nucléosides et analogues de nucléosides

Chapitre A.II Synthèse des nucléosides et de leurs analogues

Chapitre A.III Activité biologique des nucléosides et de leurs analogues

## Chapitre A.I Nucléosides et analogues de nucléosides

### A.I.1 Les nucléosides naturels

#### A.I.1.1 Introduction

Les nucléosides naturels sont des molécules formées par l'association d'une base azotée et d'un sucre et dont l'importance est capitale car se sont les constituants essentiels des acides nucléiques. Ces derniers sont des macromolécules biologiques portant, dans chaque cellule, les instructions héréditaires codées qui permettent le développement de l'organisme. Ils sont donc responsables de la transmission du patrimoine génétique.<sup>1</sup>

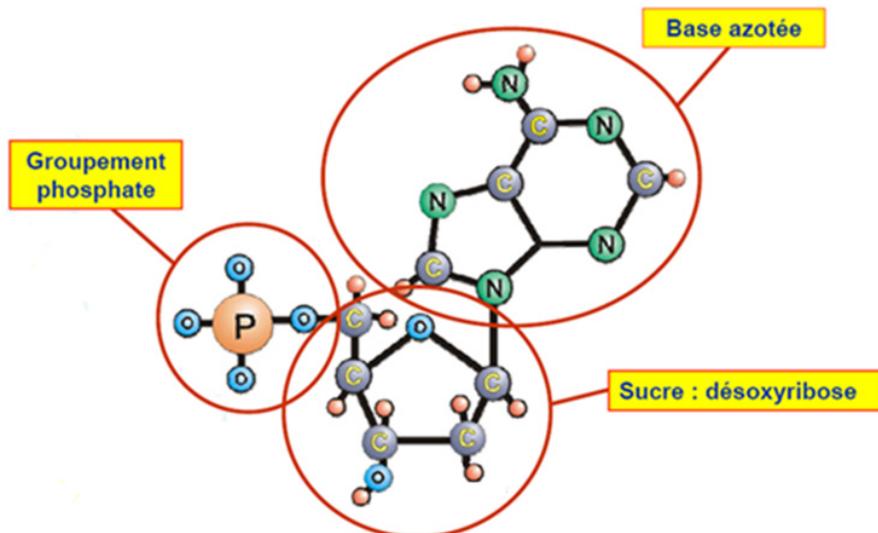
#### A.I.1.2 Les acides nucléiques

Il existe deux types d'acides nucléiques : l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN).<sup>2</sup>

##### - L'acide désoxyribonucléique (ADN)

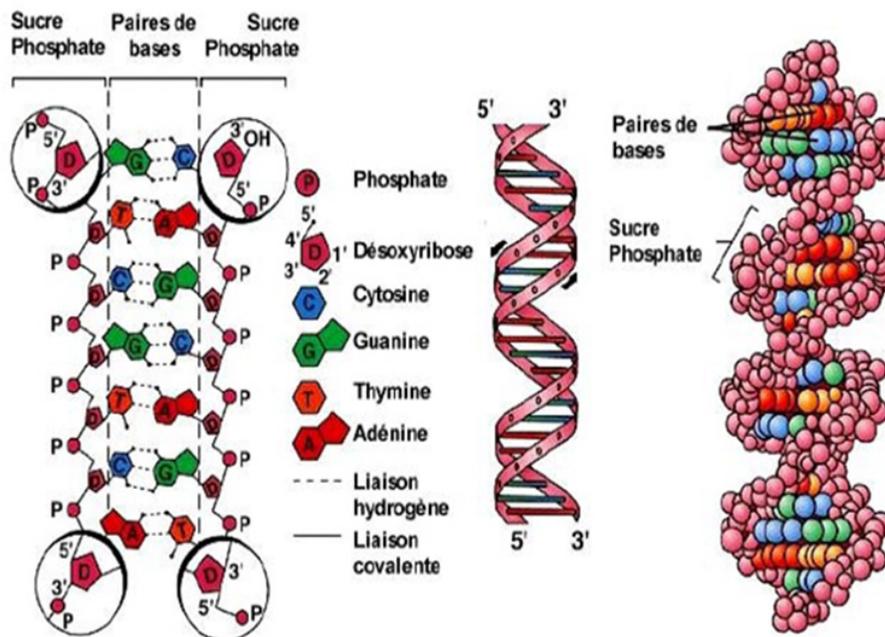
L'ADN est le principal constituant chimique des chromosomes. Sur ses brins se trouvent les informations qui permettent à des enzymes de synthétiser les protéines qui contrôlent les activités cellulaires. L'ADN est ainsi le support du contrôle des activités cellulaires et de la transmission des caractères héréditaires.

La molécule d'ADN, très allongée, comporte deux brins enroulés l'un autour de l'autre en double hélice. Chaque brin est constitué par une succession de nucléotides, « les désoxyribonucléotides » (**Fig. A-1**), formés par l'enchaînement d'un groupement phosphate, d'un glucide (le désoxyribose) et d'une base purique (adénine ou guanine) ou pyrimidique (cytosine ou thymine). Ces nucléotides sont liés les uns aux autres par des [liaisons phosphodiester](#).



**Fig. A-1 Molécule de désoxyribonucléotide**

Les deux brins d'ADN ne sont pas identiques ; chaque base d'un brin est en regard d'une base de l'autre brin selon une règle précise de complémentarité : ainsi une adénine est toujours en face d'une thymine, et une guanine en face d'une cytosine.<sup>2</sup> (Fig. A-2).



**Fig. A-2 Molécule d'ADN**

### - L'acide ribonucléique (ARN)

L'ARN est un acide nucléique qui utilise l'information héréditaire portée par l'acide désoxyribonucléique (ADN) pour synthétiser les protéines. Ainsi dans le noyau cellulaire, l'information génétique portée par l'ADN est transcrite en ARN, puis traduite en une protéine dans le cytoplasme.

La molécule d'ARN a une structure analogue à celle d'un brin d'ADN, elle est constituée par une succession de nucléotides, « les ribonucléotides », formés eux-mêmes par l'enchaînement d'un groupement phosphate, d'un glucide (le ribose) et d'une base purique (adénine ou guanine) ou pyrimidique (cytosine ou uracile) (Fig. A-3).

On distingue trois classes d'ARN qui diffèrent selon leur taille, localisation et fonction : Les ARN messagers (ARNm), les ARN ribosomiques (ARNr) et les ARN de transfert (ARNt).

- L'ARN messager : synthétisé au contact de l'ADN, grâce à une enzyme, l'ARN polymérase.
- L'ARN ribosomique : principal constituant des ribosomes qui permet le déchiffrement du code génétique inscrit dans l'ARN messager.

-L'ARN de transfert : a pour rôle le transfert des acides aminés vers les ribosomes fixés sur les ARN messagers, où les chaînes polypeptidiques sont en cours de formation.<sup>2</sup>

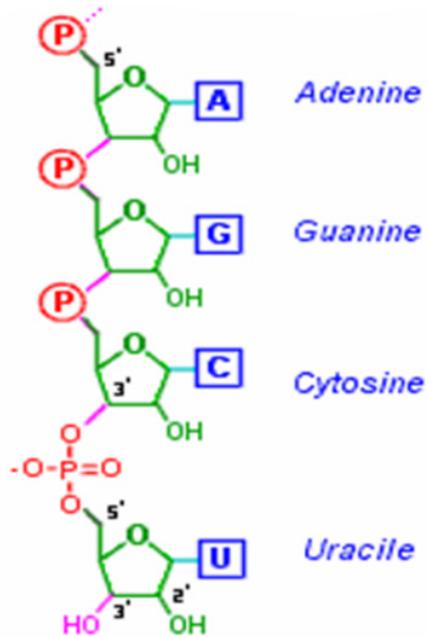


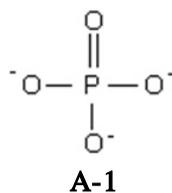
Fig. A-3 Molécule d'ARN

### A.I.1.3 Composition des acides nucléiques

Les acides nucléiques sont des polymères dont l'unité de base (ou monomère) est le nucléotide. Chaque nucléotide est constitué d'un groupe phosphate, d'un ose à 5 atomes de carbone (pentose) et d'une base azotée.

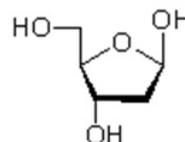
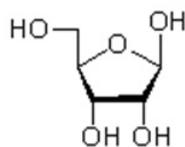
#### - Le phosphate

Le phosphate inorganique (**A-1**) est un ion stable formé à partir de l'acide phosphorique  $H_3PO_4$ , souvent noté  $P_i$ .



#### - Les oses

Il s'agit de deux pentoses : Le ribose pour l'ARN ( $\beta$ -D-ribofuranose) (**A-2**) et le désoxyribose pour l'ADN ( $\beta$ -D-désoxyribofuranose) (**A-3**)



A-2

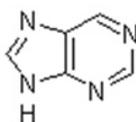
A-3

- **Les bases azotées**

On distingue deux groupes : Les bases puriques et les bases pyrimidiques.

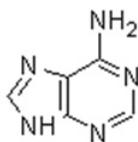
• **Les bases puriques**

Elles dérivent de la purine (**A-4**) qui est un composé bicyclique comprenant un noyau pyrimidique et un noyau imidazole.

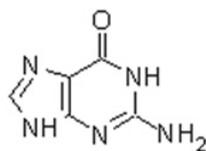


**A-4**

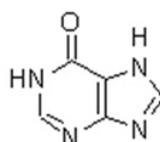
Deux bases puriques principales sont trouvées dans les acides nucléiques : l'adénine (6-aminopurine) (**A-5**) et la guanine (2-amino-6-oxypurine) (**A-6**). Une troisième base purique qui est l'hypoxanthine (6-oxypurine) (**A-7**) est présente en très petites quantités dans les [acides nucléiques](#) (on peut en trouver dans l'[ARNt](#)).<sup>3</sup>



**A-5**



**A-6**



**A-7**

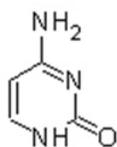
• **Les bases pyrimidiques**

Elles dérivent de la pyrimidine (**A-8**) qui est un hétérocycle à deux atomes d'azote et quatre atomes de carbone.

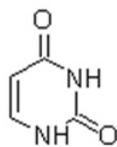


**A-8**

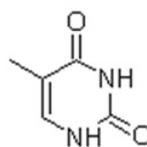
La cytosine (2-oxo-4-aminopyrimidine) (**A-9**) et l'uracile (2,4-dioxypyrimidine) (**A-10**) se trouvent dans les ARN, mais la thymine (2,4-dioxy-5-méthylpyrimidine) (**A-11**) remplace l'uracile dans les ADN.<sup>3</sup>



**A-9**



**A-10**



**A-11**

#### A.I.1.4 Nomenclature des nucléosides naturels

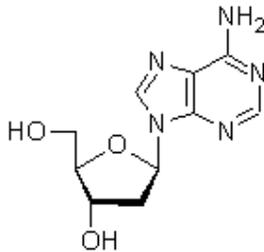
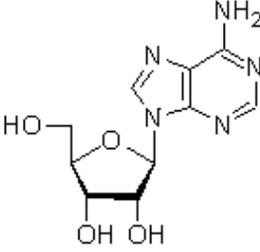
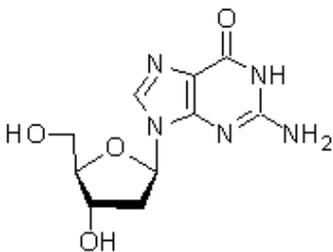
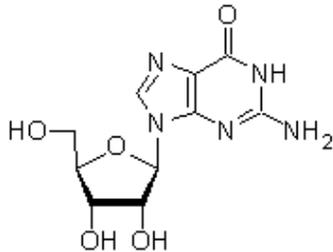
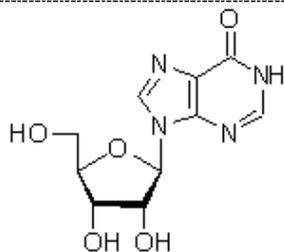
La liaison d'une base azotée avec un sucre donne un nucléoside.

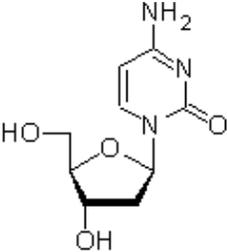
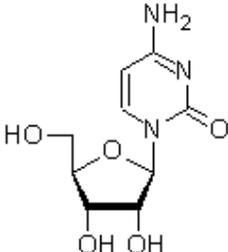
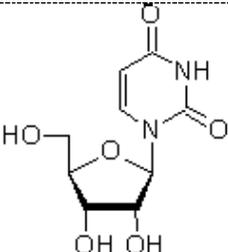
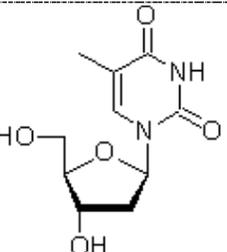
Dans un nucléoside, on numérote les atomes de la base par des chiffres : 1, 2, 3, etc..., et pour les distinguer, les carbones du sucre sont numérotés : 1', 2', 3', etc...

Les sucres (ribose ou désoxyribose) se lient aux bases azotées par des liaisons impliquant un des azotes de la base (azote n°1 des pyrimidines ou azote n°9 des purines) et le carbone n°1 de l'ose (carbone réducteur). Ce sont des liaisons N-osidiques.

Le tableau suivant (**Tab. A-1**) résume les nucléosides naturels présents dans l'ADN et l'ARN ainsi que leur nomenclature :<sup>4</sup>

**Tab. A-1 : Nomenclature des nucléosides naturels**

Base	Désoxyribonucléoside	Ribonucléoside
Adénine (A-5)	 Désoxyadénosine (A-12)	 Adénosine (A-16)
Guanine (A-6)	 Désoxyguanosine (A-13)	 Guanosine (A-17)
Hypoxanthine (A-7)	/	 Inosine (A-18)

Cytosine (A-9)	 Désoxycytidine (A-14)	 Cytidine (A-19)
Uracile (A-10)	/	 Uridine (A-20)
Thymine (A-11)	 Désoxythymidine (A-15)	/

**Remarque** : L'inosine (A-18) est un [nucléoside](#) formé par l'association de l'[hypoxanthine](#) et d'un [ribose](#). L'inosine se retrouve fréquemment dans l'[ARNt](#), et est formée par désamination de l'adénosine. Cette réaction est catalysée par l'adénosine désaminase.

#### A.I.1.5 Les nucléotides naturels

La liaison d'un nucléoside avec un phosphate se fait par une estérification de la fonction alcool primaire (carbone n°5') du sucre et une des trois fonctions acides du phosphate.

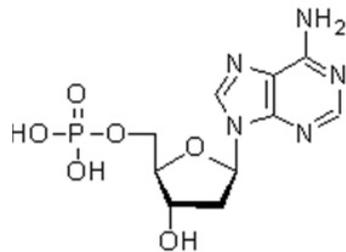
L'ester obtenu est un nucléotide.

Un nucléotide est donc formé d'une base azotée, liée par une liaison osidique avec un sucre, lui-même lié par une liaison ester avec un phosphate.<sup>2</sup>

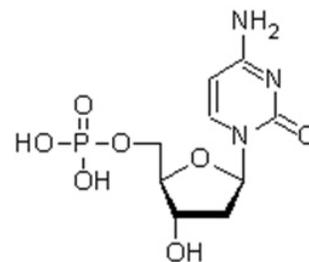
Quelques exemples de nucléotides naturels de l'ADN et de l'ARN:

) **Déoxyribonucléotides naturels** : Exemples :

La désoxyadénosine-5'-monophosphate (dAMP) (**A-21**) et la désoxycytidine-5'-monophosphate (dCMP) (**A-22**)



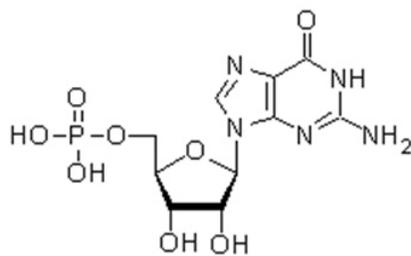
**A-21**



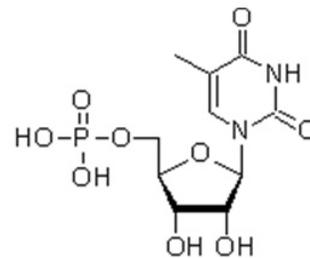
**A-22**

) **Ribonucléotides naturels** : Exemples :

La guanosine-5'-monophosphate (GMP) (**A-23**) et l'uridine-5'-monophosphate (UMP) (**A-24**).



**A-23**



**A-24**

## A.I.2 Les analogues de nucléosides

### A.I.2.1 Introduction

Un grand nombre d'analogues de nucléosides a été synthétisé ces dernières années. Ces analogues sont des composés semblables aux nucléosides naturels, certains d'entre eux possèdent des activités thérapeutiques (exemple : contre le [virus de l'hépatite B](#), le virus de l'[herpès simplex](#) et le [virus de l'immunodéficience humaine](#) (VIH), etc....)

### A.I.2.2 Classification et nomenclature des analogues de nucléosides

De nombreuses modifications structurales réalisées tant sur la base que sur la partie osidique ont permis de découvrir de nouvelles molécules analogues de nucléosides plus actives et moins toxiques. Ainsi, il est possible de les caractériser en :

- Analogues de nucléosides à sucre modifié
- Analogues de nucléosides à base modifiée
- Analogues de nucléosides à base et à sucre modifiés

Une classification des analogues de nucléosides a été proposée (**Schéma A-1**), celle-ci regroupe principalement deux grandes catégories : les analogues cycliques et les analogues acycliques.<sup>5,6</sup>

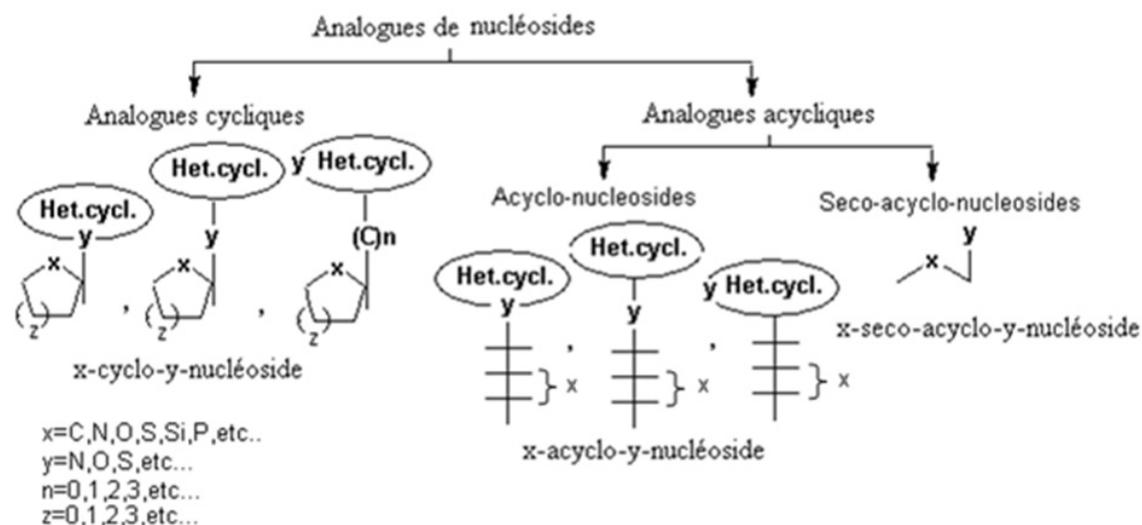


Schéma A-1 Classification des analogues de nucléosides

La nomenclature des analogues de nucléosides est établie selon le modèle et l'ordre suivants :

- 1- X = Hétéroatome de la partie glucidique : (oxa, aza, thia, carbocyclo, etc...)
- 2- Le type de sucre (cyclique, acyclique ou séco-acyclique)
- 3- Y= Le type d'hétéroatome qui relie le sucre à la base azotée : (N, S, C, etc...)

Exemple : Dans le cas où X est un oxygène, que le sucre est cyclique et que Y est un azote, la nomenclature sera donc : Oxa-cyclo-N-nucléoside

Le tableau (**Tab. A-2**) résume la nomenclature des analogues de nucléosides.

**Tab. A-2 : Nomenclature des analogues de nucléosides.**

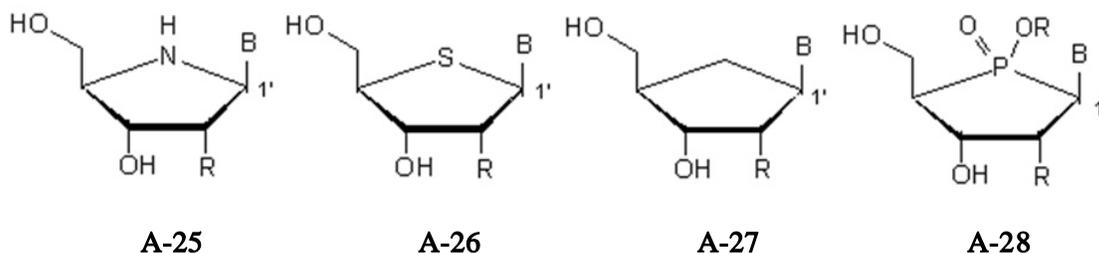
	<b>x-cyclo-y-nucléoside</b>	<b>x-acyclo-y-nucléoside</b>	<b>x-seco-acyclo-y-nucléoside</b>
<b>Y=N</b>	<b>N-nucléoside</b>		
<b>X=O</b> <b>X=N</b> <b>X=S</b> <b>X=C</b>	Oxa-cyclo-N-nucléoside Aza-cyclo-N-nucléoside Thia-cyclo-N-nucléoside carbocyclo-N-nucléoside	Oxa-acyclo-N-nucléoside Aza-acyclo-N-nucléoside Thia-acyclo-N-nucléoside Désoxy-acyclo-N-nucléoside	Oxa-seco-acyclo-N-nucléoside Aza-seco-acyclo-N-nucléoside Thia-seco-acyclo-N-nucléoside Désoxy-seco-acyclo-N-nucléoside
<b>Y=O</b>	<b>O-nucléoside</b>		
<b>X=O</b> <b>X=N</b> <b>X=S</b> <b>X=C</b>	Oxa-cyclo-O-nucléoside Aza-cyclo-O-nucléoside Thia-cyclo-O-nucléoside carbocyclo-O-nucléoside	Oxa-acyclo-O-nucléoside Aza-acyclo-O-nucléoside Thia-acyclo-O-nucléoside Désoxy-acyclo-O-nucléoside	Oxa-seco-acyclo-O-nucléoside Aza-seco-acyclo-O-nucléoside Thia-seco-acyclo-O-nucléoside Désoxy-seco-acyclo-O-nucléoside
<b>Y=S</b>	<b>S-nucléoside</b>		
<b>X=O</b> <b>X=N</b> <b>X=S</b> <b>X=C</b>	Oxa-cyclo-S-nucléoside Aza-cyclo-S-nucléoside Thia-cyclo-S-nucléoside carbocyclo-S-nucléoside	Oxa-acyclo-S-nucléoside Aza-acyclo-S-nucléoside Thia-acyclo-S-nucléoside Désoxy-acyclo-S-nucléoside	Oxa-seco-acyclo-S-nucléoside Aza-seco-acyclo-S-nucléoside Thia-seco-acyclo-S-nucléoside Désoxy-seco-acyclo-S-nucléoside
<b>Y=C</b>	<b>C-nucléoside</b>		
<b>X=O</b> <b>X=N</b> <b>X=S</b> <b>X=C</b>	Oxa-cyclo-C-nucléoside Aza-cyclo-C-nucléoside Thia-cyclo-C-nucléoside carbocyclo-C-nucléoside	Oxa-acyclo-C-nucléoside Aza-acyclo-C-nucléoside Thia-acyclo-C-nucléoside Désoxy-acyclo-C-nucléoside	Oxa-seco-acyclo-C-nucléoside Aza-seco-acyclo-C-nucléoside Thia-seco-acyclo-C-nucléoside Désoxy-seco-acyclo-C-nucléoside

### A.I.2.2.1 Les analogues cycliques de nucléosides

Les analogues cycliques de nucléosides se caractérisent par le fait que la partie glucidique se présente sous forme de cycle. En fonction de l'atome qui relie la base au carbone anomérique du sucre on distingue : les cyclo-N-nucléosides, les cyclo-O-nucléosides, les cyclo-S-nucléosides et les cyclo-C-nucléosides.

L'atome d'oxygène du cycle glucidique peut être remplacé par un atome d'azote, de soufre, de carbone ou de phosphore dans ce cas là, la nomenclature sera respectivement : aza-nucléoside (**A-25**), thia-nucléoside (**A-26**), carbocyclo-nucléoside (**A-27**) et phospho-nucléoside (**A-28**).

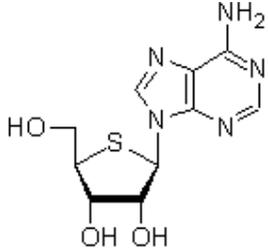
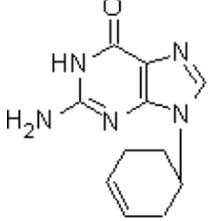
R= H ou OH    B= Base



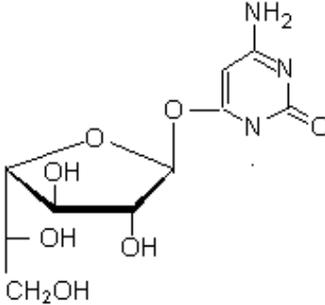
#### Exemple d'analogues cycliques de nucléosides (X-cyclo-Y-nucléoside) :

##### a- X-cyclo-N-nucléoside : Exemples :

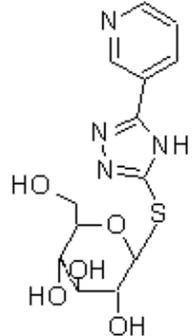
<b>Oxa-cyclo-N-nucléoside :</b> Zalcitabine : 2'-3'-didesoxycytidine (ddc) ( <b>A-29</b> ) <sup>7</sup>	<p style="text-align: center;"><b>A-29</b></p>
<b>Aza-cyclo-N-nucléoside :</b> Azétidine nucléoside ( <b>A-30</b> ) <sup>8</sup>	<p style="text-align: center;"><b>A-30</b></p>

<p><b>Thia-cyclo-N-nucléoside :</b> 4'-thiadenosine (<b>A-31</b>)<sup>8</sup></p>	 <p style="text-align: center;"><b>A-31</b></p>
<p><b>Carbocyclo-N-nucléoside :</b> 2-amino-9-(cyclohex-3-en-1-yl)-1,9-dihydro-6<i>H</i>-purin-6-one (<b>A-32</b>)<sup>5</sup></p>	 <p style="text-align: center;"><b>A-32</b></p>

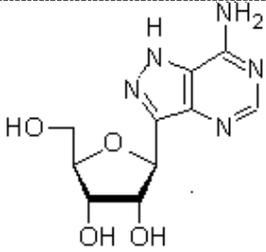
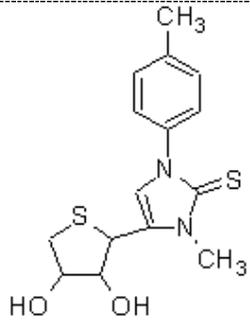
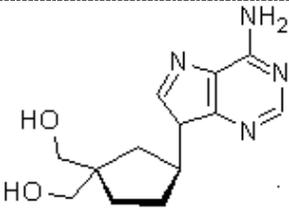
**b- X-cyclo-O-nucléoside : Exemple :**

<p><b>Oxa-cyclo-O-nucléoside :</b> 4-amino-6-{{5-(1,2-dihydroxyethyl)-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl}oxy}pyrimidin-2(1<i>H</i>)-one (<b>A-33</b>)<sup>9</sup></p>	 <p style="text-align: center;"><b>A-33</b></p>
--	--

**c- X-cyclo-S-nucléoside : Exemple :**

<p><b>Oxa-cyclo-S-nucléoside :</b> 2-(hydroxymethyl)-6-{{5-(pyridin-3-yl)-4<i>H</i>-1,2,4-triazol-3-yl}sulfanyl}tetrahydro-2<i>H</i>-pyran-3,4,5-triol (<b>A-34</b>)<sup>9</sup></p>	 <p style="text-align: center;"><b>A-34</b></p>
--	--

d- X-cyclo-C-nucléoside : Exemples :

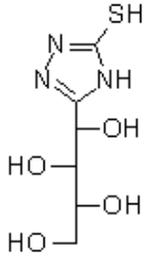
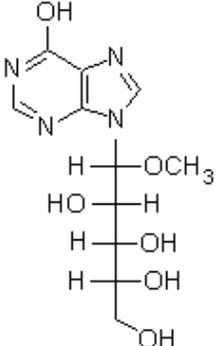
<p><b>Oxa-cyclo-C-nucléoside :</b> Formycine A (A-35)<sup>10</sup></p>	 <p style="text-align: center;"><b>A-35</b></p>
<p><b>Thia-cyclo-C-nucléoside :</b> 4-(3,4-dihydroxytetrahydrothiophen-2-yl)-3-methyl-1-(4-methylphenyl)-1,3-dihydro-2H-imidazole-2-thione (A-36)<sup>9</sup></p>	 <p style="text-align: center;"><b>A-36</b></p>
<p><b>Carbocyclo-C-nucléoside :</b> [3-(4-amino-7H-pyrrolo[3,2]pyrimidin-7-yl)cyclopentane-1,1-diyl]dimethanol (A-37)<sup>11</sup></p>	 <p style="text-align: center;"><b>A-37</b></p>

#### A.I.2.2.2 Les analogues acycliques de nucléosides

Les analogues acycliques de nucléosides se caractérisent par l'absence de la structure cyclique de la partie glucidique. Ces analogues acycliques se divisent eux-mêmes en :

- Acyclo-nucléosides : caractérisés par l'absence du centre anomérique.
- Séco-acyclo-nucléoside : dont le centre anomérique est toujours présent.<sup>5,6</sup>

❖ **Acyclo-nucléosides : Quelques exemples :**

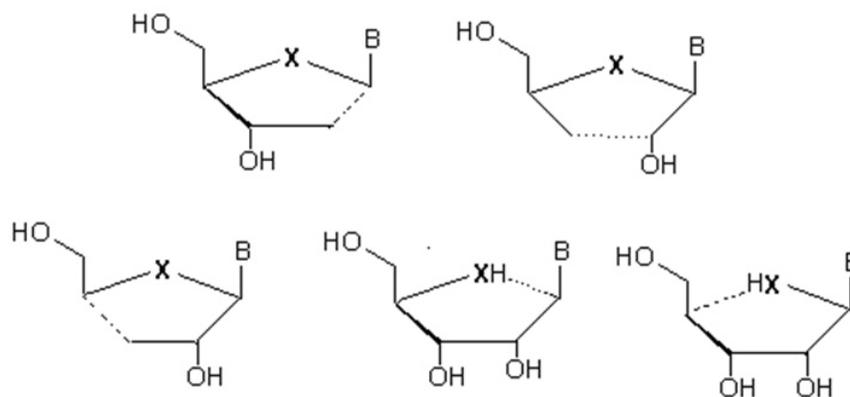
<p><b>Acyclo-C-nucléoside :</b>            1-(5-mercapto-4<i>H</i>1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (<b>A-38</b>)<sup>12</sup></p>	 <p style="text-align: center;"><b>A-38</b></p>
<p><b>Acyclo-N-nucléoside :</b>            5-(6-hydroxy-9<i>H</i>-purin-9-yl)-5-methoxypentane-1,2,3,4-tetrol (<b>A-39</b>)<sup>5</sup></p>	 <p style="text-align: center;"><b>A-39</b></p>

❖ **Séco-acyclo-nucléosides**

Il existe différents types de séco-acyclo-nucléosides et ceci en fonction du nombre de liaisons déconnectées dans le cycle glucidique.

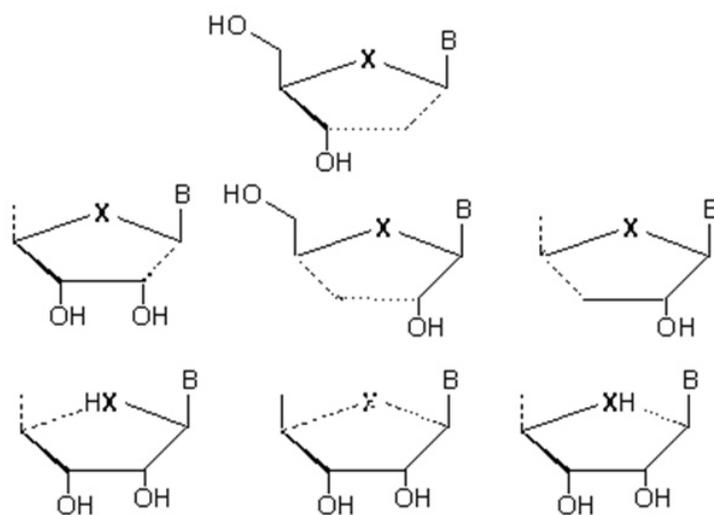
Il est possible alors d'effectuer la classification suivante :<sup>5</sup>

- Mono-séco-acyclo-nucléosides avec une liaison déconnectée (**Fig. A-4**)



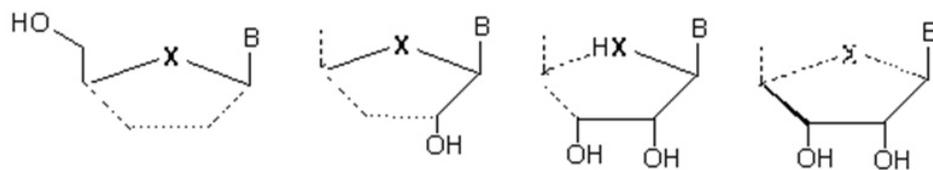
**Fig. A-4 Mono-séco-acyclo-nucléosides**

- Di-séco-acyclo-nucléosides avec deux liaisons déconnectées (**Fig. A-5**)



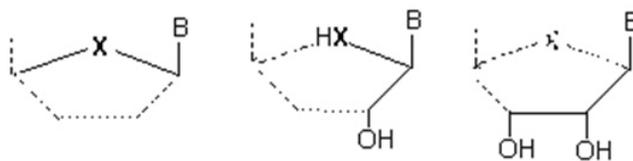
**Fig. A-5** Di-séco-acyclo-nucléosides

- Tri-séco-acyclo-nucléosides avec trois liaisons déconnectées (**Fig. A-6**)



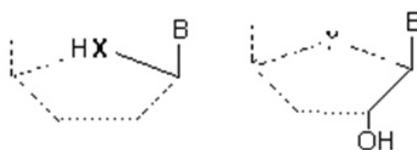
**Fig. A-6** Tri-séco-acyclo-nucléosides

- Tetra-séco-acyclo-nucléosides avec quatre liaisons déconnectées (**Fig. A-7**)



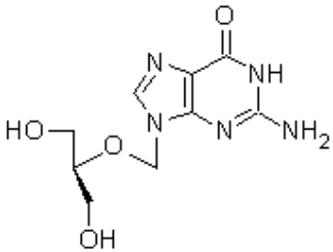
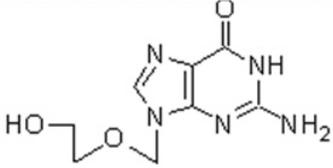
**Fig. A-7** Tetra-séco-acyclo-nucléosides

- Penta-séco-acyclo-nucléosides avec cinq liaisons déconnectées (**Fig. A-8**)



**Fig. A-8** Penta -séco-acyclo-nucléosides

**Exemple de quelques séco-acyclo-nucléosides :**

<p><b>Di-séco-acyclo-nucléoside :</b>  DHPG [9-(1,3-dihydroxy propoxyméthyl)guanine]  <b>(A-40)<sup>7</sup></b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>A-40</b></p>
<p><b>Tri-séco-acyclo-nucléoside :</b>  Acyclovir : [9-(2-hydroxyéthoxyméthyl)-guanine]  <b>(A-41)<sup>7</sup></b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>A-41</b></p>

**Remarque :**

La classification des analogues de nucléosides, détaillée ci-dessus, constitue une classification générale. Un autre type de classification s'impose de part la synthèse d'analogues de nucléosides présentant des structures nouvelles : Exemples :

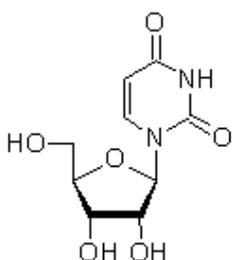
- Analogue de nucléoside à double base
- Analogue de nucléoside à triple base
- Analogue de nucléoside à une base et deux parties glucidiques...etc....

Cette nouvelle classification, basée sur les fondements de la précédente, est proposée de la manière suivante :

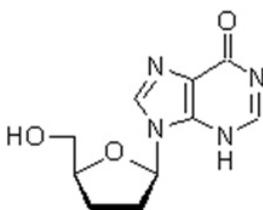
➤ Les analoges cycliques de nucléosides :

❖ Les cyclo-nucléosides à une seule base

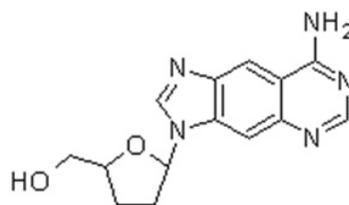
- Cyclo-nucléoside à base monocyclique (**A-20**)<sup>4</sup>
- Cyclo-nucléoside à base bicyclique : La didanosine (**A-42**)<sup>7</sup>
- Cyclo-nucléoside à base tricyclique (**A-43**)<sup>13</sup>
- Cyclo-nucléoside à base tétracyclique ou polycyclique (**A-44**)<sup>14</sup>
- Cyclo-nucléoside à base polymérique (**A-45**)<sup>14</sup>



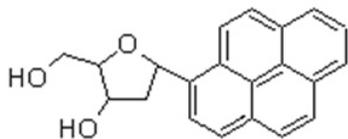
**A-20**



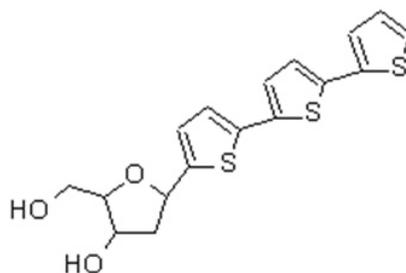
**A-42**



**A-43**



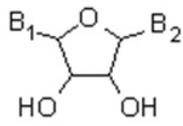
**A-44**



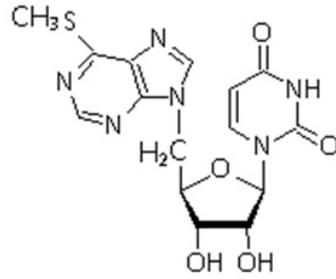
**A-45**

❖ Les cyclo-nucléosides à plusieurs bases

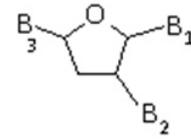
- Cyclo-nucléoside à double base avec: ( $B_1=B_2$ ) (**A-46**)
- Cyclo-nucléoside à double base avec: ( $B_1 \neq B_2$ )  
Purine-pyrimidine nucléoside (**A-47**).<sup>15</sup>
- Cyclo-nucléoside à triple base ( $B_1=B_2=B_3$  ou  $B_1 \neq B_2 \neq B_3$ )  
(**A-48**)



A-46

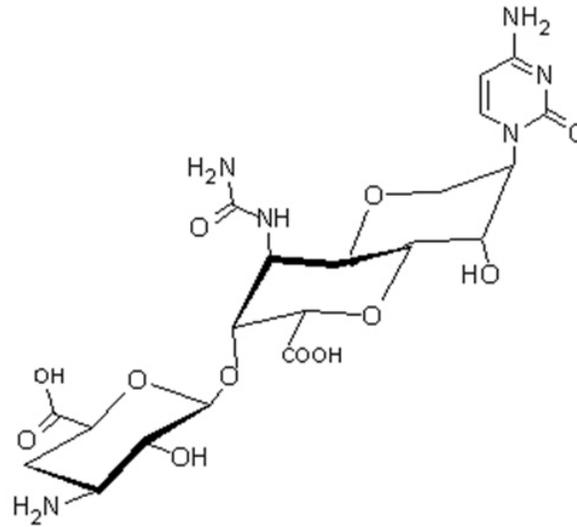


A-47



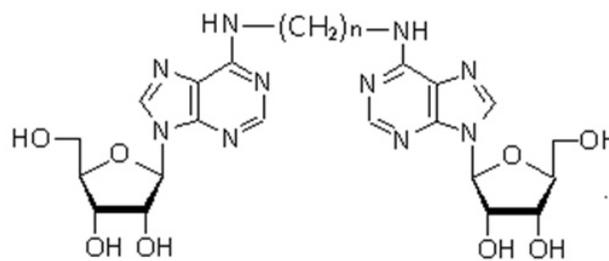
A-48

❖ Les cyclo-nucléosides à plusieurs oses : Ezomycine A<sub>2</sub> (A-49)<sup>16</sup>



A-49

❖ Les cyclo-nucléosides dimériques : Nucléoside dimérique : (A-50)<sup>17</sup>



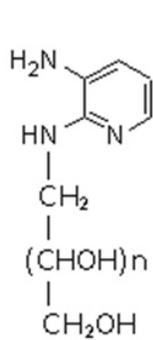
A-50

➤ Les analogues acycliques de nucléosides :

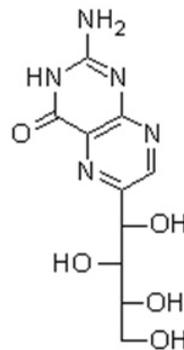
a- Acyclo-nucléosides :

❖ Acyclo-nucléosides à une seule base

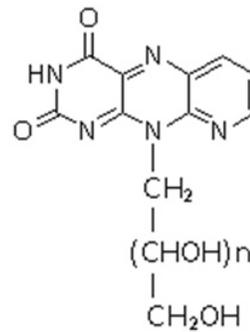
- Acyclo-nucléoside à base monocyclique (**A-51**)<sup>5</sup>
- Acyclo-nucléoside à base bicyclique (**A-52**)<sup>15</sup>
- Acyclo-nucléoside à base tricyclique (**A-53**)<sup>5</sup>



**A-51**



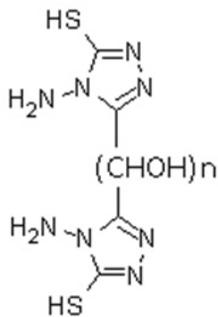
**A-52**



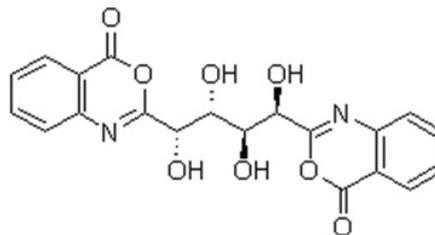
**A-53**

❖ Acyclo-nucléosides à plusieurs bases

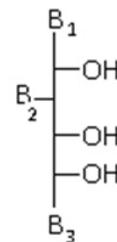
- Acyclo-nucléoside à double base monocyclique (**A-54**)<sup>18</sup>
- Acyclo-nucléoside à double base bicyclique (**A-55**)<sup>15</sup>
- Acyclo-nucléoside à triple base (**A-56**) :  
( $B_1=B_2=B_3$  ou  $B_1 \neq B_2 \neq B_3$ )



**A-54**

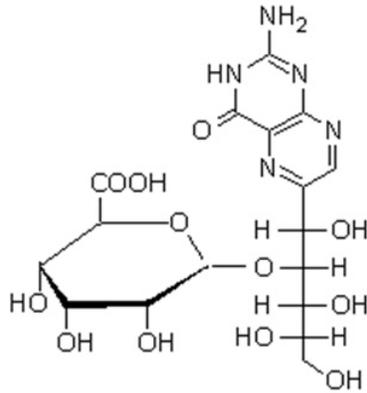


**A-55**



**A-56**

❖ Acyclo-nucléosides à deux oses : (A-57)<sup>15</sup>

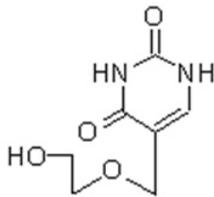


A-57

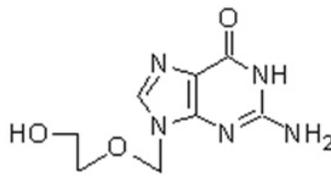
b- Séco-acyclo-nucléosides

❖ Séco-acyclo-nucléosides à une seule base

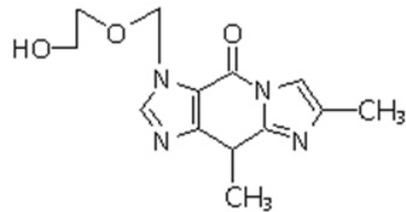
- Séco-acyclo-nucléoside à base monocyclique (A-58)<sup>6</sup>
- Séco-acyclo-nucléoside à base bicyclique : Acyclovir (A-41)<sup>7</sup>
- Séco-acyclo-nucléoside à base tricyclique ou polycyclique (A59)<sup>6</sup>



A-58

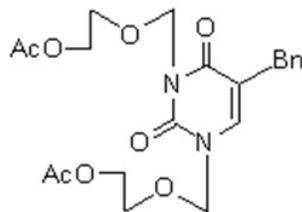


A-41



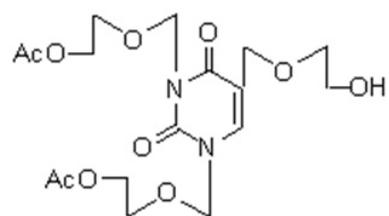
A-59

❖ Double séco-acyclo-nucléoside (A-60)<sup>6</sup>



A-60

❖ Triple séco-acyclo-nucléoside (**A-61**)<sup>5</sup>



**A-61**

## Chapitre A.II Synthèse des nucléosides et de leurs analogues

La première synthèse d'un ribonucléoside naturel a été publiée vers la fin des années 40. Depuis cette date, un effort considérable a été fourni pour développer des méthodes de synthèse des nucléosides et de leurs analogues dans le but d'optimiser le rendement et d'améliorer la stéréospécificité des réactions.<sup>19</sup>

### A.II.1 Types de réactions

Il existe différents types de réactions de formation des nucléosides et de leurs analogues, dont voici quelques exemples :

#### - La réaction de fusion

Le 2,6-dichloropurine (**A-62**) réagit avec le 1,2,3,5-tétra-O-acétyl-β-D-ribofuranose (**A-63**) à 150-155°C et forme deux intermédiaires : le (**A-64**) et le (**A-65**) qui se combinent pour donner le nucléoside correspondant (**A-66**) ainsi que de l'acide acétique. La présence d'un catalyseur (acide de Lewis) favorise la formation du cation électrophilique du sucre et le rendement est alors amélioré et passe de 54% à 65%.<sup>19</sup>

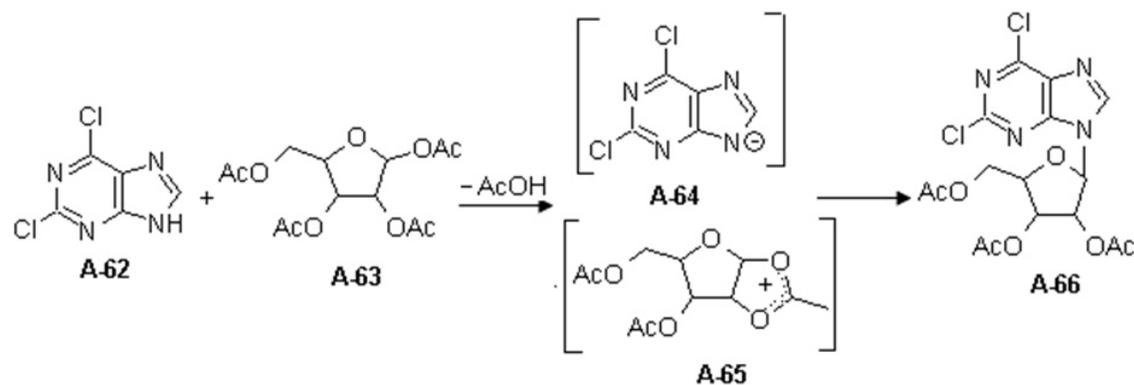
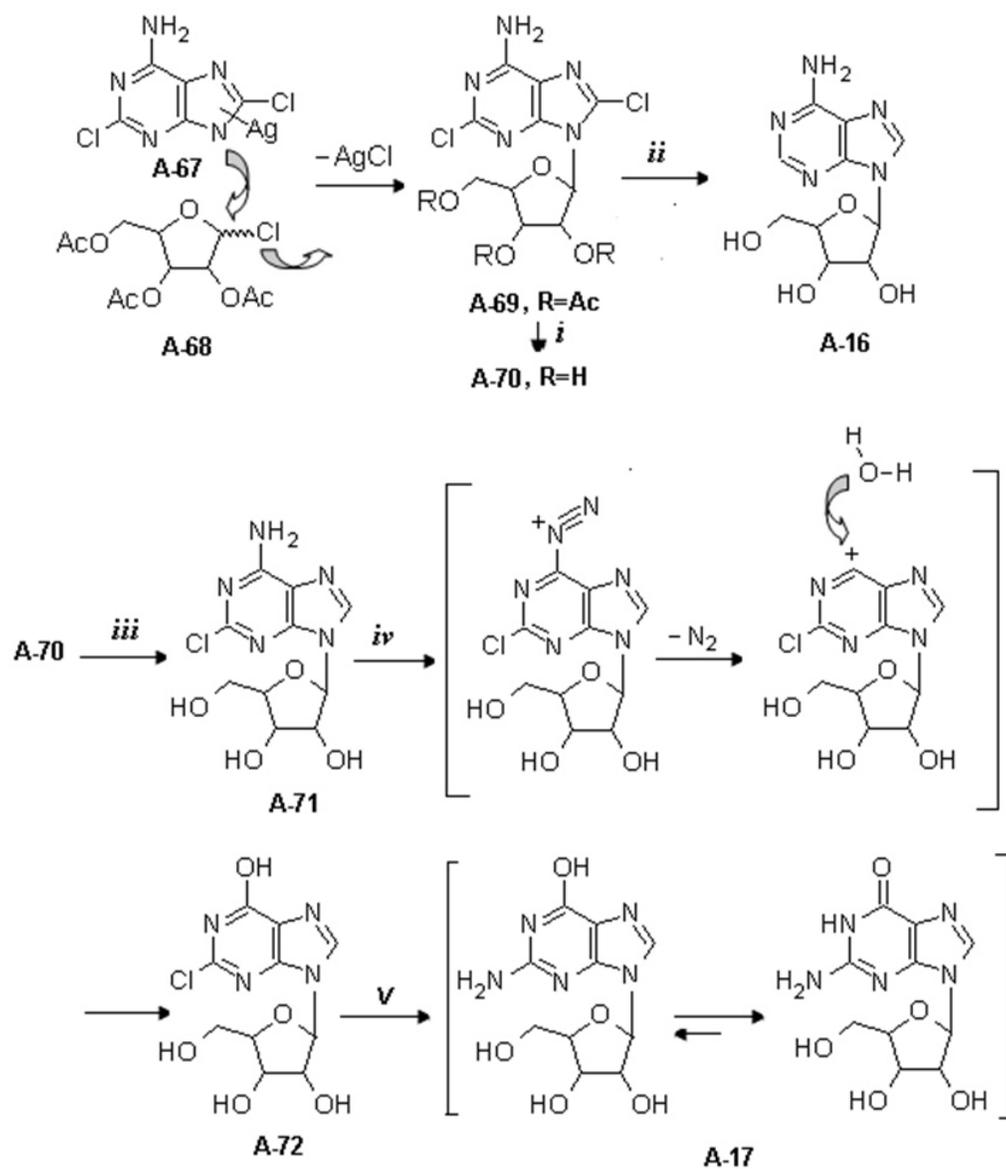


Schéma A-2 Synthèse du N-nucléoside (A-66)

#### - Procédure utilisant le sel métallique

La procédure de Fisher-Helferich a été utilisée pour la première synthèse de l'adénosine (**A-16**) et de guanosine (**A-17**). Cette procédure impliquait la condensation du sel d'argent du 2,8-dichloroadénine (**A-67**) avec le 1-chloro-2,3,5-triacétyl-ribose (**A-68**). Le nucléoside obtenu (**A-69**) subit une déprotection pour donner le 9-β-D-ribofuranosyl-2,8-dichloroadénine (**A-70**) qui est converti en adénosine (**A-16**) par une déshalogénéation.

Une hydrogénation catalytique du (**A-70**) entraîne l'élimination du chlore en C-8 (**A-71**). La diazotation du (**A-71**) avec de l'acide nitreux HNO<sub>2</sub> produit un ion diazonium qui s'élimine en N<sub>2</sub>. Un groupe hydroxyle du solvant aqueux remplace alors le groupement amine donnant ainsi le (**A-72**) dont la réaction avec NH<sub>3</sub> et EtOH produit la guanosine (**A-17**).<sup>4</sup>



**Schéma A-3 Synthèse de l'adénosine (A-16) et de la guanosine (A-17)**

**Réactifs et conditions :**

i :  $\text{MeOH}$ ,  $\text{NH}_3$

ii :  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd/BaSO}_4$ ,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 7h

iii :  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd/BaSO}_4$ ,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 9 min

iv :  $\text{HNO}_2$ ,  $\text{AcOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$

v :  $\text{EtOH}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $150^\circ\text{C}$

### - La réaction de Hilbert et Johnson

La première synthèse de la cytidine (**A-19**) et de l'uridine (**A-20**) fut réalisée par la méthode de Hilbert et Johnson utilisant le 2,6-diéthoxypyrimidine (**A-73**)

Ce dernier étant préparé par l'action du 2,6-dichloropyrimidine avec l'éthoxyde de sodium.

Le couplage de (**A-73**) avec le 1-bromo-2,3,5-triacétyl-ribose (**A-74**) donne un intermédiaire (**A-75**) qui est instable à 50°C et qui forme rapidement le nucléoside (**A-76**) avec élimination du bromure d'éthyle.

La réaction de (**A-76**) avec l'ammoniac NH<sub>3</sub> et le méthanol MeOH provoque une déséthylation et une désacétylation donnant ainsi la cytidine (**A-19**) qui peut être convertie en uridine (**A-20**) par action de la cytidine désaminase.<sup>4</sup>

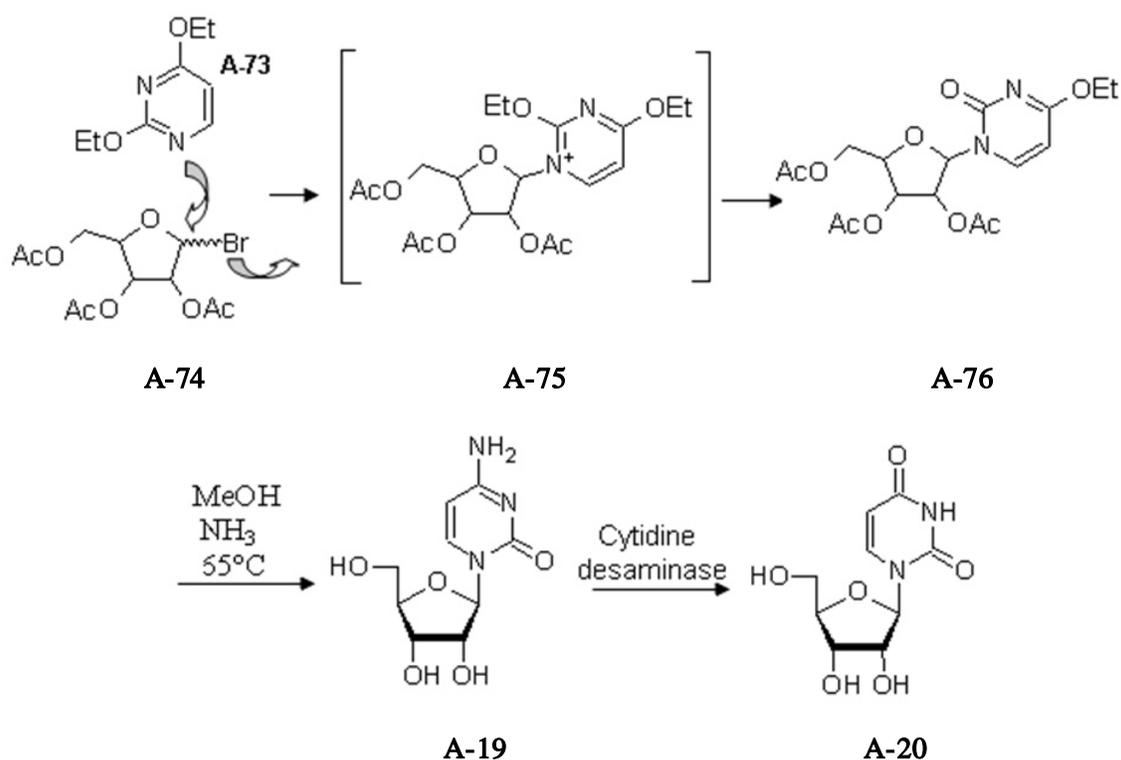


Schéma A-4 Synthèse de la cytidine (**A-19**) et de l'uridine (**A-20**)

## A.II.2 Exemples de synthèse

### A.II.2.1 Analogues cycliques de nucléosides

#### - Synthèse de l'imidazo[4,5-d]pyrimidin -2-yl C-nucléoside (A-80):

La réaction de l'acide 2,5-anhydro-D-allonique (A-77) avec le 4,5,6-triaminopyrimidine (A-78) donne l'amide correspondant (A-79) qui par déshydratation donne le 7-amino-2-β-D-ribofuranosylimidazo[4,5-d]pyrimidine (A-80). (8-β-D-ribofuranosyladenine).<sup>20</sup>

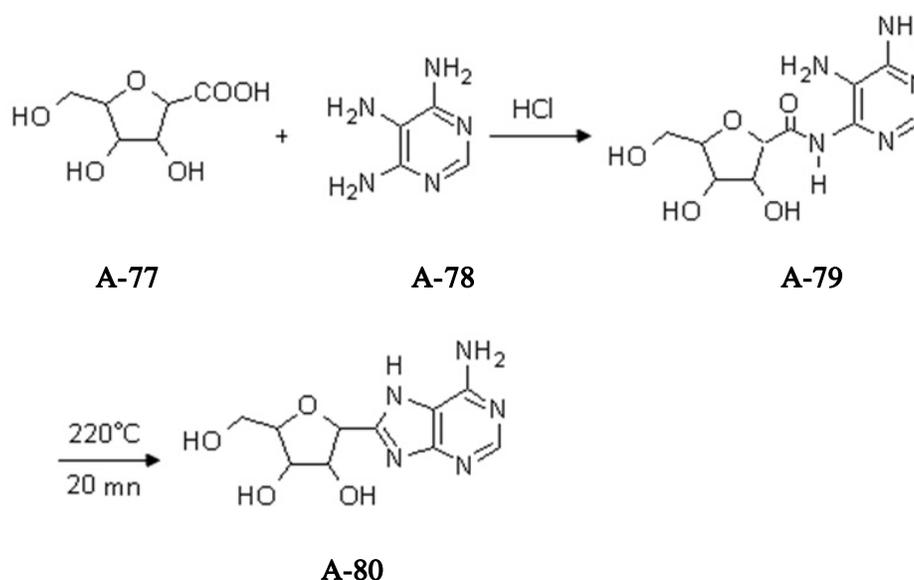
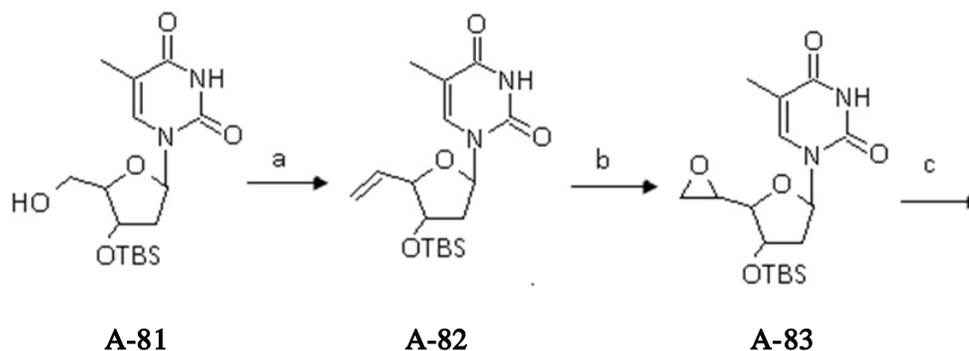
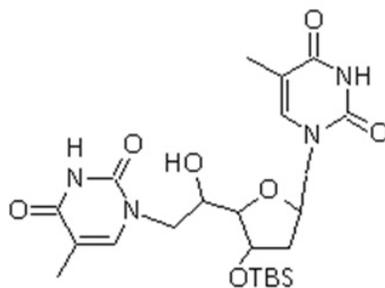


Schéma A-5 Synthèse du C -nucléoside (A-80)

#### - Synthèse d'un analogue cyclique à double base :

Le dérivé de la thymidine (A-81) est converti en oléfine (A-82)<sup>21</sup> puis en époxyde (A-83)<sup>22</sup> selon des procédures connues dans la littérature. L'addition d'une thymine, de carbonate de potassium et de DMF à haute température donne le nucléoside à double base correspondant (A-84).<sup>23</sup>





A-84

Schéma A-6 Synthèse du nucléoside à double base (A-84)

a : voir reference 21

b: mCPBA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 42%

c: thymine, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 39%

### A.II.2.2 Analogues acycliques de nucléosides

#### - Synthèse d'acyclo-C-nucléoside s:

#### 1<sup>er</sup> Exemple :

Plusieurs acyclo-C-nucléosides ont été préparés par Pictet-Spengler et ceci par condensation de dérivés de la dopamine avec un aldose. Exemple : la synthèse de l'acyclo-C-nucléoside (A-87) a été réalisée par condensation de l'hydrochlorure de dopamine (A-85) avec le D-Galactose (A-86).<sup>20</sup>

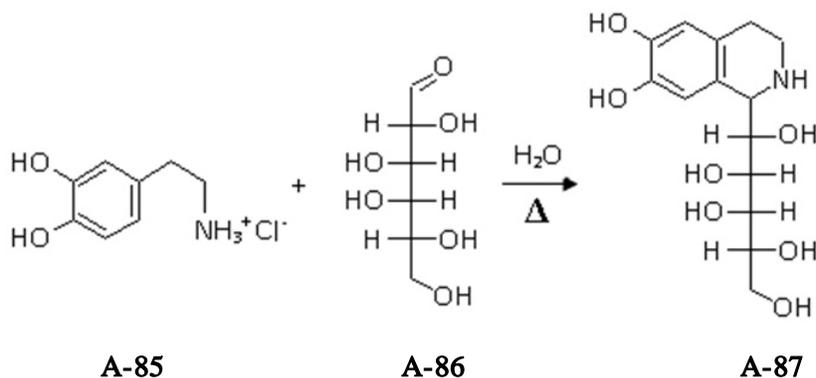


Schéma A-7 Synthèse du C -nucléoside (A-87)

2<sup>ème</sup> Exemple: Synthèse du 1,3,4-oxadiazole Acyclo C -Nucleosides (A-92) :

La réaction du {7H-1,2,4-triazolo[1,5-d]tetrazol-6-yl sulfanyl}acétique hydrazide (A-88) avec un aldopentose ou aldohexose (A-89) donne l'hydrazone correspondant (A-90) qui par action du Brome (Br<sub>2</sub>) en milieu acide acétique et en présence d'acétate de sodium anhydre se transforme en l'intermédiaire (A-91) qui est le Bromure hydrazoneyle. Ce dernier par acétylation avec l'anhydride acétique fournit le 2-(per-O-acetyl-aditol-1-yl)-5-méthyl thio{7H-1,2,4-triazolo [1,5-d] tetrazol-6-yl}-1,3,4 oxadiazole (A-92).<sup>24</sup>

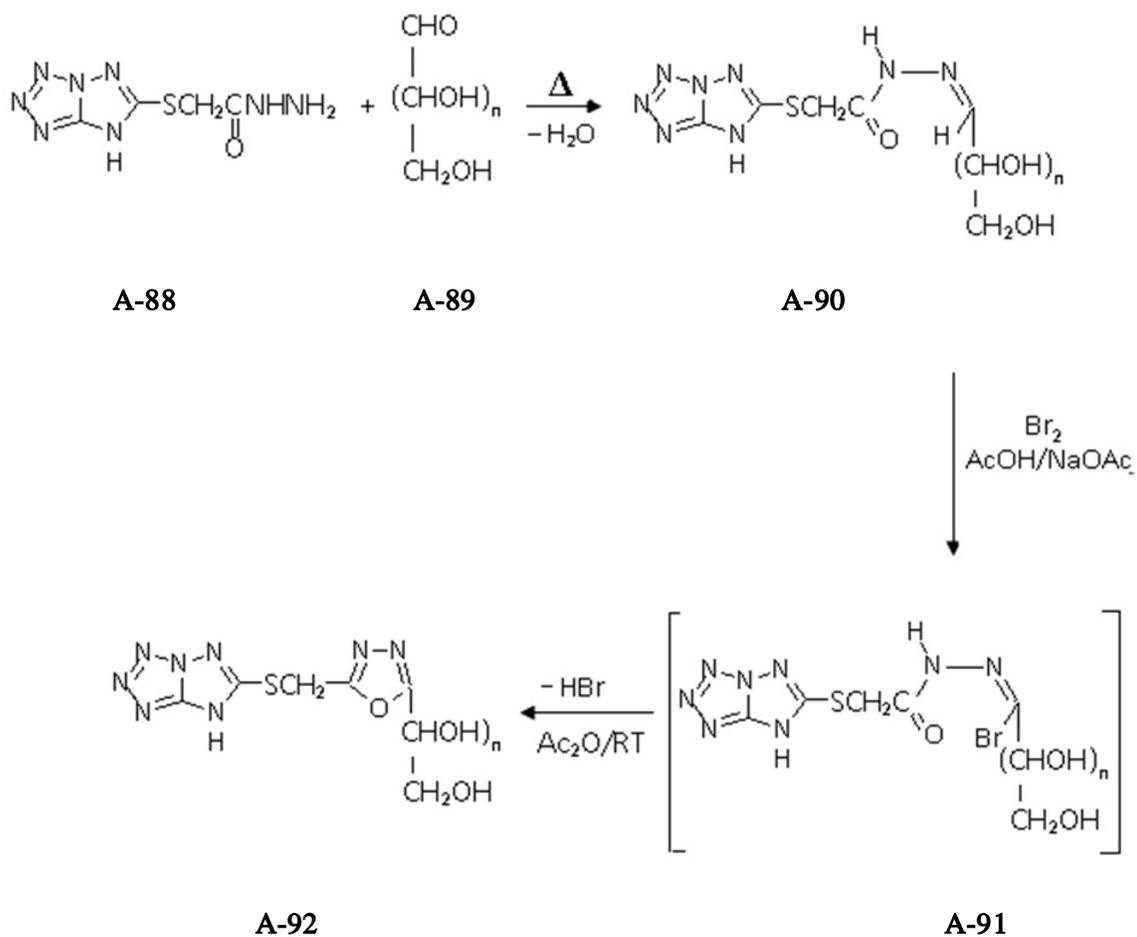


Schéma A-8 Synthèse du C -nucléoside (A-92)

### 3<sup>ème</sup> Exemple : Synthèse d'un analogue de nucléoside à double base monocyclique:

Le bis-1,4(4-aryltiosemicarbazide)tétra-O-acétyl-galactarique (**A-93**) réagit avec le  $\text{PoCl}_3$  et produit un acylo-C-nucléoside à double base monocyclique (**A-94**).<sup>16</sup>

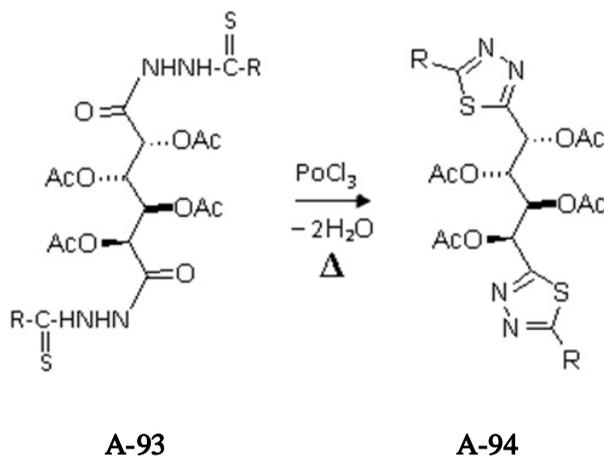


Schéma A-9 Synthèse de l'acylo-C-nucléoside à double base (**A-94**)

### 4<sup>ème</sup> Exemple : Synthèse d'un analogue de nucléoside à double base bicyclique :

La condensation du dichlorure de tétra-o-acétyl galactoroyle (**A-95**) avec l'acide anthranilique forme le bis-amide (**A-96**) qui est déshydraté en bis{4-oxobenzo[d]oxazin-yl}acylo-C-nucléoside (**A-97**).<sup>20</sup>

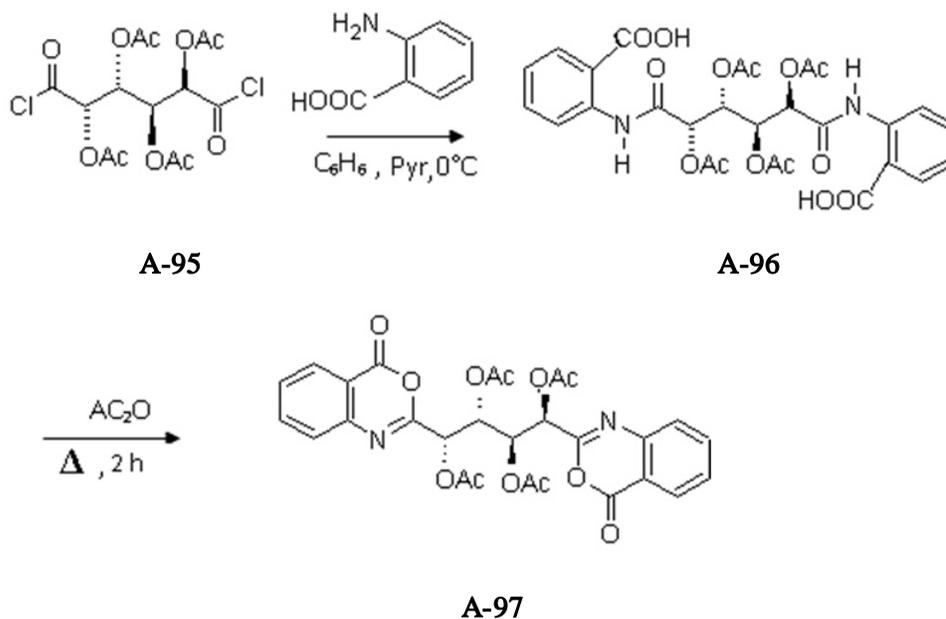


Schéma A-10 Synthèse de l'acylo-C-nucléoside à double base (**A-97**)

- Synthèse de séco -acyclo-nucléosides (de type 1,2 -2,3 et 3,4 tris éco-nucléosides) :

**1<sup>er</sup> Exemple :**

La réaction du 1,3-Dioxolane (**A-98**) avec le bromure d'acétylène en présence d'acide sulfurique donne le bromure de (2-acétoxyéthoxy) méthyle (**A-99**). Le couplage du bis(triméthyl-silyl)-5-benzyl-uracile (**A-100**) avec le (**A-99**) donne le séco-acylo-nucléoside correspondant (**A-101**) selon la réaction :<sup>6</sup>

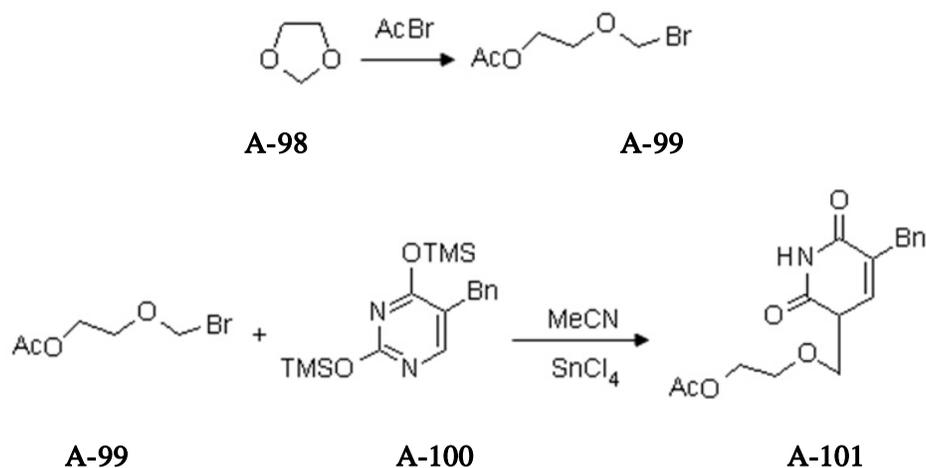
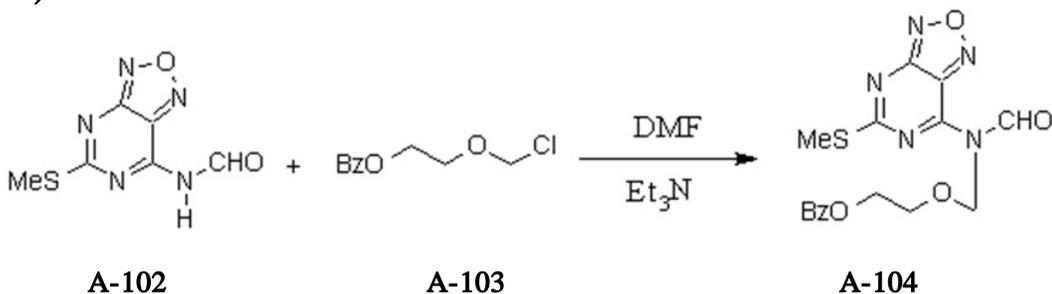
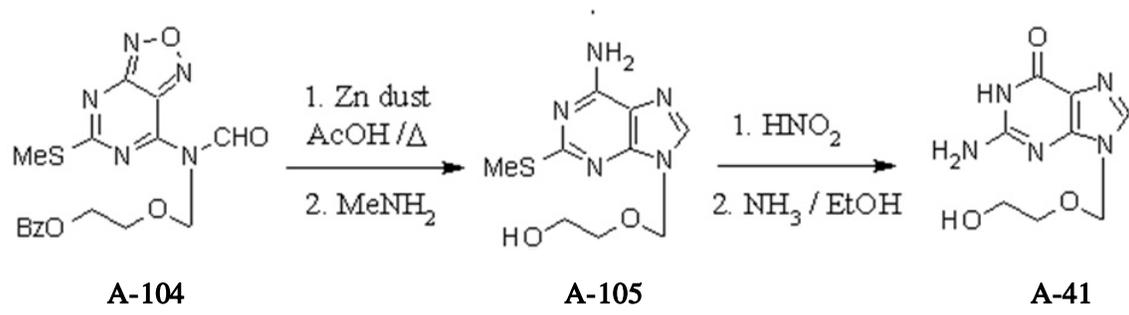


Schéma A-11 Synthèse du séco -acyclo-C-nucléoside à base monocyclique (**A-101**)

**2<sup>ème</sup> exemple : Synthèse de l'acyclovir = [9-(2-hydroxyéthoxyméthyl) -guanine] (**A-41**)**

L'acyclovir est préparé par couplage du furazono[3,4-d]pyrimidine (**A-102**) avec le 2-(chlorométhoxy)benzoate d'éthyle (**A-103**) ce qui donne le composé (**A-104**). Ce dernier subit une coupure réductrice du cycle furazan (1,2,5 oxadiazole) et donne le (**A-105**). L'hydrolyse du groupe 6-amino du (**A-105**) suivie d'une amination aboutit à l'acyclovir (**A-41**).<sup>6</sup>





**Schéma A-12 Synthèse de l'acyclovir (séco-acyclo-N-nucléoside à base bicyclique) (A-41)**

## Chapitre A.III Activité biologique des nucléosides et de leurs analogues

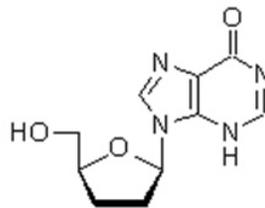
Les analogues de nucléosides et de nucléotides représentent une famille de médicaments très diversifiée. Ils sont employés dans un grand nombre de thérapies.

Ainsi, la découverte des « didésoxynucléosides » tel que le ddC (2',3'-didésoxycytidine), le ddI (2',3'-didésoxyinosine) et l'AZT (2'-azido-3'-désoxythymidine), agents thérapeutiques utilisés dans le traitement du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), a été le point de départ d'une importante série de développement des nucléosides et de leurs analogues.<sup>25</sup>

### A.III.1 Analogues de nucléosides à activité biologique

Il existe un grand nombre d'analogues de nucléosides à usage thérapeutique, parmi ces molécules :

- La didanosine = [9-(2,3-didésoxy-β-para-ribofuranosyl)-1,9-dihydro-6H-purin-6-one] ou (2',3'-dideoxyinosine, ddI, DDI)<sup>26</sup>

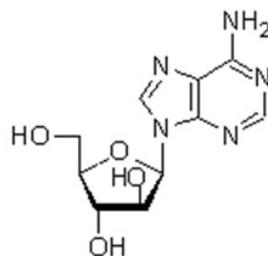


A-42

La didanosine (A-42) est un antirétroviral actif sur le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Elle fait partie d'une classe de médicaments appelés les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse.

En bloquant cette enzyme, elle empêche la multiplication du virus dans la cellule infectée, sans toutefois permettre son élimination.

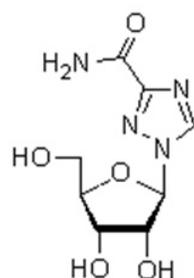
- La vidarabine = (9-β-D-arabinofuranosyl adénine) ou (adénine arabinoside)<sup>7</sup>



A-106

La vidarabine (**A-106**) inhibe les virus à ADN à l'exception des adénovirus. Son utilité clinique a été démontrée pour des affections graves dues aux virus de l'herpès simple, de la varicelle et du zona. Toutefois en raison de ses difficultés d'application (non absorbée par voie orale, doit être administrée par voie intraveineuse) et de ses effets indésirables (troubles gastro-intestinaux, troubles neurologiques, tel que : tremblements, convulsions, ataxie...) elle a aujourd'hui été largement remplacée par l'acyclovir.

- La ribavirine = (1-β-D-ribofuranosyl -1H-1,2,4-triazol -3-carboxamide) <sup>7</sup>

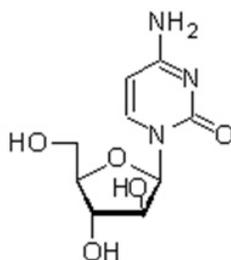


**A-107**

La ribavirine (**A-107**) est un [antiviral](#) utilisé dans le traitement du [VIH](#), de l'[hépatite C](#) et [B](#) et de certaines fièvres [hémorragiques](#) de type [fièvre de Lassa](#) ou [fièvre Congo-Crimée](#) ainsi que contre le [virus respiratoire syncytial](#), principal agent des infections respiratoires basses chez les nourrissons et les jeunes enfants.

La ribavirine serait également efficace dans le traitement d'environ 30% des cancers, et est apparemment sans effets indésirables pour le patient.

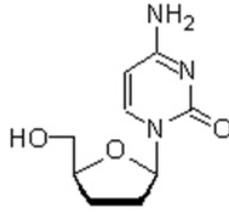
- La cytarabine = (4-amino -1-β-D-arabinofuranosyl -2(1H)-pyrimidinone) ou (cytosine arabinoside) <sup>27</sup>



**A-108**

La cytarabine (**A-108**) est un composé anti-tumoral d'origine marine (extraite d'une éponge des Caraïbes, *Cryptotethya crypta*). La cytarabine est utilisée en [chimiothérapie](#) pour le traitement des [leucémies](#) et des [lymphomes non hodgkinien](#).

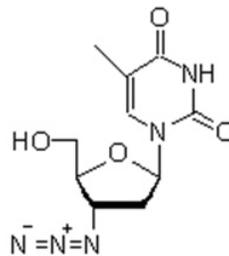
- Zalcitabine = 2'-3'-dideoxycytidine (ddc) <sup>28</sup>



**A-29**

La zalcitabine (**A-29**) est un médicament antirétroviral. C'est un analogue nucléosidique qui est utilisé en association avec d'autres médicaments pour traiter l'infection par le VIH.

- La zidovudine = 3'-azido-3'-désoxythymidine [azidothymidine, (AZT)]<sup>7</sup>

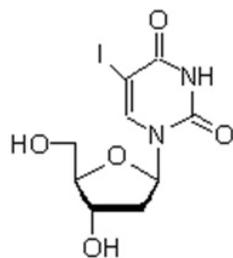


**A-109**

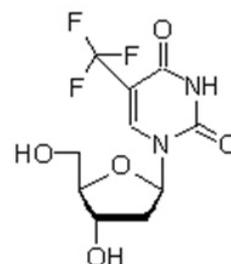
La zidovudine (**A-109**) a été synthétisée en 1964 à partir de la [thymidine](#) par Jerome Horwitz. C'est un médicament [antirétroviral](#), le premier utilisé pour le traitement de l'infection par le [VIH](#).

Egalement indiqué en chimioprophylaxie chez la femme enceinte, séropositive pour le VIH, dans la prévention de la transmission materno-fœtale.

- L'**Idoxuridine** (5-iodo-2'-déoxyuridine) et la **Trifluridine** [5-trifluorométhyl-1-(2-désoxy-B-D-ribofuranosyl)pyrimidine-2-4-1H 3H)-dione]<sup>29</sup>



**A-110**



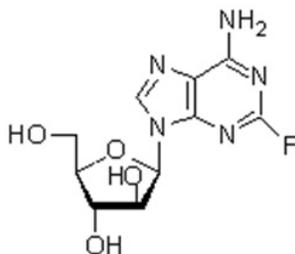
**A-111**

L'idoxuridine (**A-110**) fut un des premiers analogues de nucléosides possédant une activité antivirale intéressante décrite au début des années 60. Ce composé a été utilisé dans le

traitement de certaines infections herpétiques mais son utilisation n'a pas été poursuivie à cause de son manque de sélectivité et des effets secondaires intolérables en utilisation systémique. Elle est utilisée sous forme de collyre, dans le traitement de l'herpès de la cornée et des conjonctivites à virus à ADN.

La trifluridine (**A-111**) inhibe, après sa transformation en trifluridine triphosphate, l'ADN viral dans lequel elle s'incorpore. Elle est utilisée sous forme de collyre dans le traitement des atteintes oculaires herpétiques.

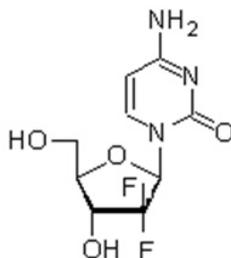
- La fludarabine = 9-β-D-arabinofuranosyl -2-fluoroadénine <sup>7</sup>



**A-112**

La fludarabine (**A-112**) est un médicament de [chimiothérapie](#) utilisé dans le traitement de la [leucémie lymphoïde chronique](#).

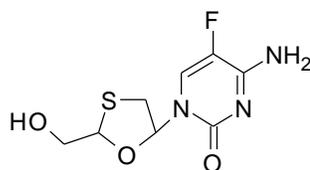
- La gemcitabine = (2'-désoxy-2',2'-difluorocytidine) <sup>7</sup>



**A-113**

La Gemcitabine (**A-113**) est utilisée dans le traitement [chimiothérapeutique](#) des [cancers du poumon](#), du [pancréas](#), et [de la vessie](#).

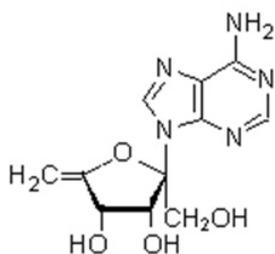
- L'émtricitabine = 2',3'-didéoxy-5-fluoro-3'-thiacytidine <sup>30</sup>



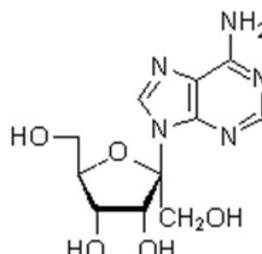
**A-114**

L'emtricitabine (**A-114**) est un antiviral de la famille des inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse, indiqué en association avec d'autres antirétroviraux pour le traitement des adultes et des enfants infectés par le VIH. Son efficacité sur le VHB a été démontrée dans le cadre de la co-infection.

- **Les Angustmycines (Decoyinine et Psicofuranine)** <sup>31</sup>



**A-115**



**A-116**

La decoyinine (**A-115**) et la psicofuranine (**A-116**) sont deux antibiotiques et antitumoraux isolés en 1954, par Yuntsen, Yonehara et Ui à partir d'une bactérie : *Streptomyces hygroscopicus*. Ces deux molécules inhibent également la GMP synthétase jouant ainsi un rôle important dans la thérapie immunosuppressive.<sup>31</sup>

- **Analogues anhydro -nucléosidiques**

Les anhydro-nucléosides, dont la base nucléique est liée au sucre par un pont anhydro, ont attiré l'attention en tant qu'intermédiaires de synthèse pour l'obtention de nouvelles structures originales.<sup>32</sup>

Ce sont de nouvelles molécules synthétisées en 2004, qui possèdent une activité thérapeutique contre le VHC et agissent également sur certaines enzymes virales.<sup>33</sup>

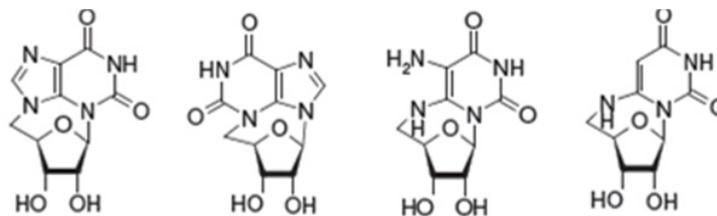
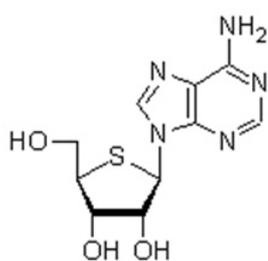


Fig. A-9 Analogues anhydro -nucléosidiques

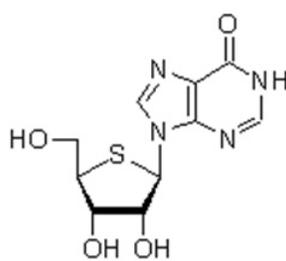
- Analogues Thio-nucléosides

Un grand effort a été fourni pour développer la synthèse d'analogues « thio-nucléosides » stimulé par l'activité biologique que possèdent certains nucléosides ayant un atome de soufre dans le cycle pentose.

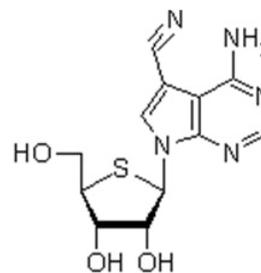
Le 4'-thioadenosine (**A-31**)<sup>8</sup>, le 4'-thioinosine (**A-117**) et le 4'-thiotyocamicine (**A-118**) possèdent tous les trois une activité antibactérienne (entre-autre contre *Streptococcus faecalis*)<sup>34</sup>



**A-31**

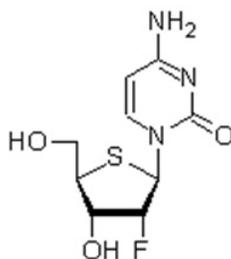


**A-117**



**A-118**

Le 4'-Thio-fac (**A-119**) présente une activité inhibitrice efficace sur la croissance des cellules cancéreuses de l'estomac et du colon.<sup>34</sup>

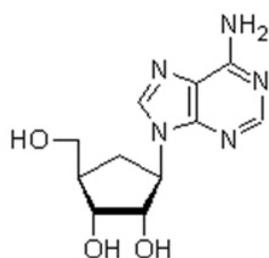


**A-119**

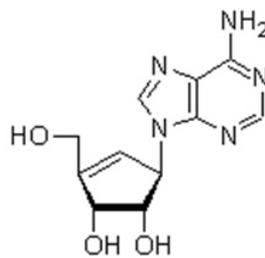
- Carbocyclo -N-nucléosides

L'importance pharmaceutique du nucléoside carbocyclique a incité la conception et la synthèse de beaucoup d'exemples de ce type de composés montrant une activité contre le VIH, le VHB ou le HSV.

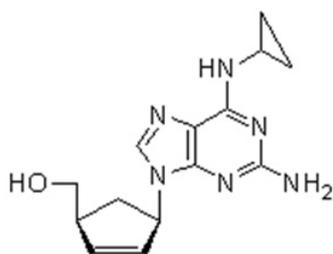
L'aristeromycine (**A-120**), le neplanocine A (**A-121**), l'abacavir (**A-122**) et l'entecavir (**A-123**) font partie des nucléosides carbocycliques importants en chimiothérapie antivirale.<sup>4</sup>



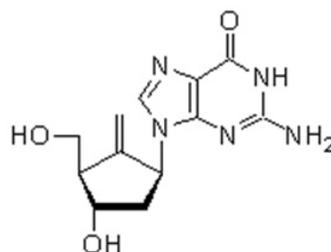
**A-120**



**A-121**

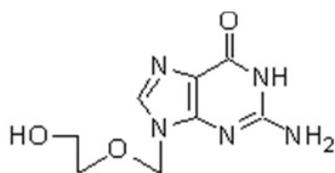


**A-122**



**A-123**

- **L'acyclovir** : [9-(2-hydroxyéthoxyméthyl) -guanine]<sup>7,29</sup>



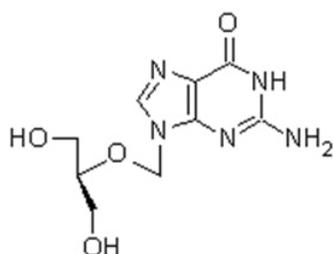
**A-41**

En 1977, l'activité anti-herpétique et la sélectivité de l'acyclovir (**A-41**) découvert par DeMiranda a bouleversé la recherche antivirale et provoqué un engouement sans précédent pour les acyclo-nucléosides.

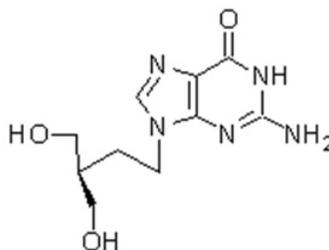
L'acyclovir est phosphorylé en acyclovir monophosphate par la thymidine kinase des virus herpétiques d'une façon très spécifique, il n'exerce donc pratiquement aucune activité sur des cellules non infectées.

L'acyclovir ne provoque que de très rares effets indésirables et est utilisé dans les infections à herpès simplex, ainsi que dans la varicelle et le zona.

- La DHPG [9-(1,3-dihydroxy-2-propoxyméthyl)guanine]<sup>7</sup> et la DHBG [9-(4-hydroxy-3-hydroxyméthylbutyl)guanine]<sup>20</sup>



A-40



A-124

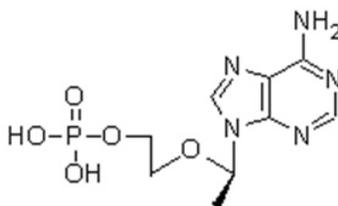
La DHPG (Ganciclovir) (A-40) et la DHBG (A-124) ont montré une activité vis-à-vis de la réplication des HSV, VZV (Virus de Varicella Zoster) et d'autres types de virus tel que le CMV (Cytomégalovirus) et l'EBV (Virus Epstein-Barr).

### A.III.2 Analogues de nucléotides à activité biologique

Les analogues de nucléotides monophosphates ont des spectres d'activité antivirale larges. Ces molécules pourraient se révéler intéressantes pour le traitement d'infections virales graves pour lesquelles aucun traitement efficace n'est actuellement disponible.<sup>35</sup>

Parmi ces analogues nucléotidiques il existe :

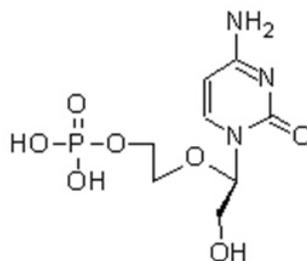
- Le ténofovir ou 9-(2-phosphonylméthoxy-propyl)adénine<sup>36</sup>



A-125

Le ténofovir (A-125) est le premier analogue nucléotidique mis sur le marché en 2002 dans le traitement de l'infection par le VIH. C'est un nucléotide acyclique analogue de la désoxyadénosine monophosphate.

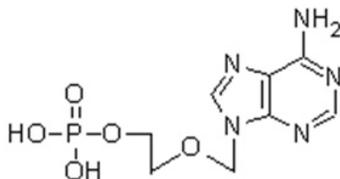
- Le cidofovir ou HPMPC ou (3-hydroxy-2-phosphonylméthoxypropyl)-cytosine<sup>7,26</sup>



**A-126**

Le cidofovir (**A-126**) est un analogue de la cytidine monophosphate. Il est réservé aux infections graves à CMV, c'est également un produit de secours en cas de résistance à des HSV à l'acyclovir et au foscarnet.

- **L'adéfovir ou PME A ou 9-(2-phosphonylméthoxyéthyl) -adénine** <sup>7,36</sup>



**A-127**

L'adéfovir (**A-127**) est un analogue de l'adénine ayant des propriétés antivirales, notamment contre le VHB. Il constitue le traitement des patients adultes, atteints d'infection chronique par le virus de l'hépatite B (VHB) en cas d'intolérance ou d'échec du traitement par la lamivudine d'au moins 24 semaines.

# Partie B

## (Résultats et discussions)

Chapitre B.I Synthèses chimiques

Chapitre B.II Tests de solubilité

Chapitre B.III Activité biologique

## Chapitre B.I Synthèses chimiques

### B.I.1 Introduction

L'objectif de ce travail consiste en la synthèse d'analogues de nucléosides à doubles bases à partir du D-glucose.

Ces analogues de nucléosides sont :

- Le 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione)
- Le 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol
- Le 1,4-bis(5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol.

Pour aboutir à ces produits finaux, différents intermédiaires ont été synthétisés.

Le schéma suivant (**Schéma B-1**) résume le chemin réactionnel parcouru :

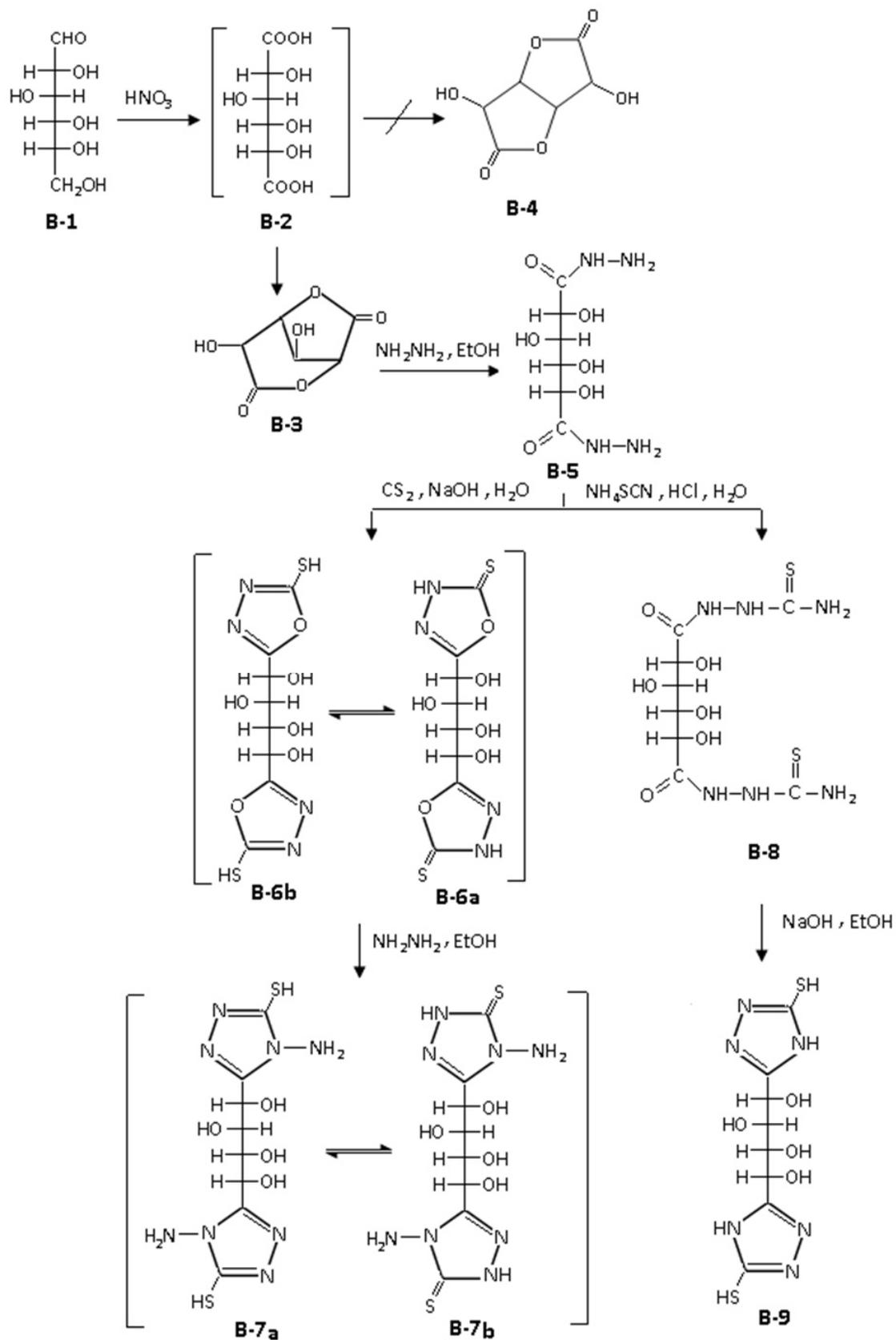
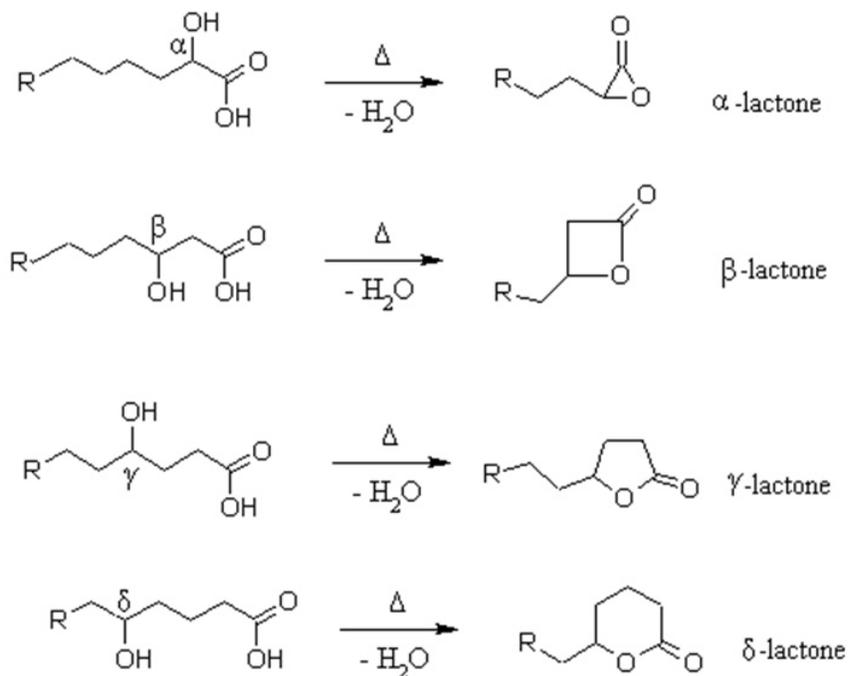


Schéma B-1 Chemin réactionnel global

## B.I.2 Les lactones (Esters cycliques)

### B.I.2.1 Généralités :

Les esters cycliques, connus sous le nom de lactones, sont des composés issus de la déshydratation de groupes acides carboxyliques et de groupes alcools situés sur la même molécule. Il s'agit d'une réaction intramoléculaire. Le nom commun est dérivé de celui de l'hydroxyacide correspondant où la position du groupe hydroxyle est indiquée à l'aide d'une lettre grecque.<sup>37</sup>



**Schéma B-2 Lactonisation des positions :  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$**

Les différentes lactones citées ci-dessus présentent dans l'infrarouge les absorptions suivantes :

**IR  $\nu(\text{cm}^{-1})$ : 1910  $\alpha$ -lactone<sup>38</sup>**

**IR  $\nu(\text{cm}^{-1})$ : 1840  $\beta$ -lactone<sup>39</sup>**

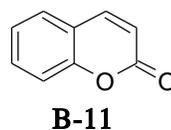
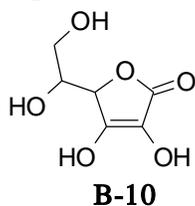
**IR  $\nu(\text{cm}^{-1})$ : 1770  $\gamma$ -lactone<sup>39</sup>**

**IR  $\nu(\text{cm}^{-1})$ : 1735  $\delta$  lactone<sup>39</sup>**

**Remarque :** La lactonisation est favorable pour les cycles possédant 5 ou 6 chaînons ( $\gamma$ -lactone et  $\delta$  lactone) dont les hydroxy-acides correspondants se cyclisent spontanément. Dans les autres cas, les lactones sont difficiles à synthétiser.<sup>37</sup>

Exemple de lactones naturelles:<sup>37</sup>

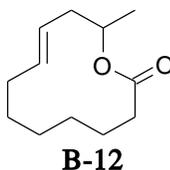
- L'acide ascorbique (ou vitamine C) (**B-10**) et la coumarine (**B-11**) :



- Lactones macrocycliques :

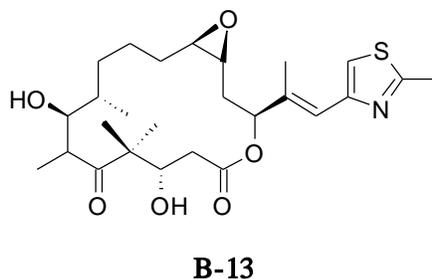
De nombreuses lactones macrocycliques, appelées macrolides, se trouvent dans la nature et présentent une activité biologique intéressante, telles que :

- Le réciféiolide (**B-12**)



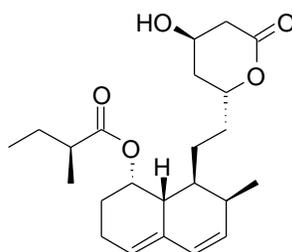
Le réciféiolide est un antibiotique. Il s'agit d'une lactone à 12 chaînons extraite d'un champignon.

- L'épothilone A (**B-13**)



L'épothilone A possède une activité anticancéreuse.

- La mévastatine (**B-14**)



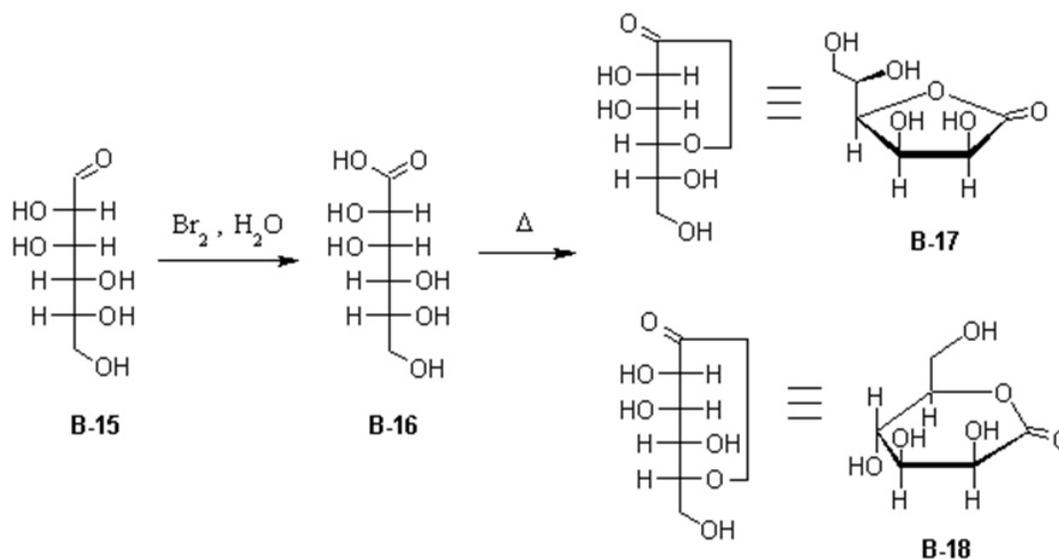
**B-14**

La mévastatine est un métabolite fongique capable d'inhiber l'enzyme qui contrôle la biosynthèse du cholestérol.

### B.I.2.2 Formation des lactones à partir des monosaccharides

Les monosaccharides (de formule générale  $C_nH_{2n}O_n$ ) sont des composés poly- hydroxylés qui possèdent une fonction carbonyle qui peut être soit un aldéhyde (aldose) soit une cétone (cétose).

- L'oxydation de la fonction aldéhyde des aldoses par une solution aqueuse de brome conduit à des acides aldoniques. Le D-mannose (**B-15**) par exemple donnera l'acide D-mannonique (**B-16**) qui par déshydratation donne une  $\gamma$ -lactone (**B-17**) ou une  $\delta$ -lactone (**B-18**).<sup>40</sup>



**Schéma B -3 Formation et lactonisation de l'acide D-mannonique (B -16)**

- L'oxydation de la fonction alcool primaire conduit à des acides uroniques, toutefois cette réaction nécessite la protection de la fonction aldéhyde afin d'éviter son oxydation.

Exemple : le D-glucose (**B-1**) subit une protection de la fonction aldéhyde par formation, en milieu acide et en présence de méthanol, d'un acétal.

Ce dernier est oxydé par le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  donnant le méthylglucuronide dont la déprotection, par hydrolyse, libère l'acide D-Glucuronique (**B-19**).

Cet acide, par déshydratation, peut former une  $\gamma$ -glucuro lactone (**B-20**) mais également une  $\delta$ -glucuro lactone (**B-21**).<sup>40</sup>

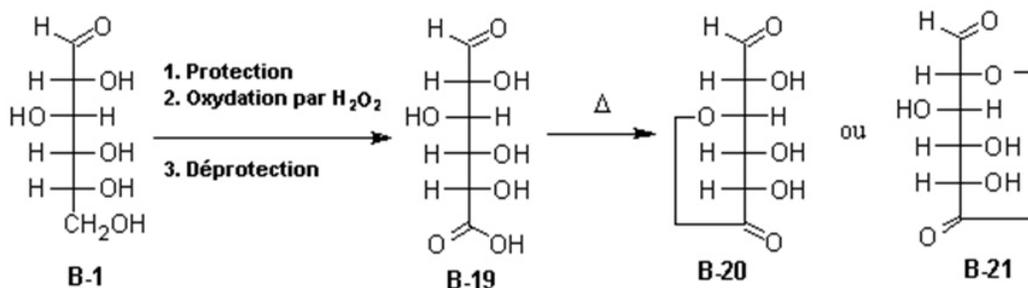


Schéma B-4 Formation et lactonisation de l'acide D-glucuronique (**B-19**)

- L'oxydation plus énergétique par le  $HNO_3$  à  $60^\circ C$  permet d'oxyder à la fois la fonction aldéhyde et la fonction alcool primaire, il en résulte un acide aldarique qui est un diacide. Ainsi le D-glucose donne l'acide D-glucarique et le D-mannose donne l'acide D-mannarique, etc...<sup>40</sup>

Ces acides aldariques donnent par déshydratation des dilactones. L'oxydation du D-glucose par l'acide nitrique est étudiée en détail au chapitre B.I.3.2

### B.I.3 Synthèses chimiques

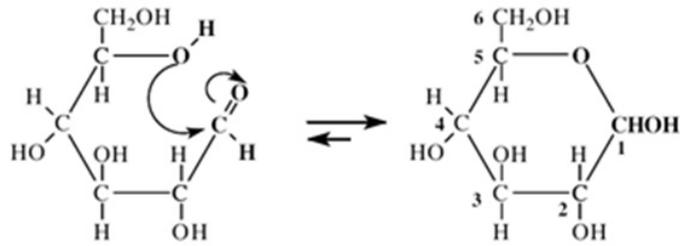
#### B.I.3.1 Caractéristiques du D-glucose (**B-1**)

L'analyse du D-glucose (**B-1**) a donné les résultats suivants :

- Température de fusion :  $153^\circ C$
- $R_f = 0,53$  (éluant : Ethanol / Toluène; 7:2 ; V:V)
- IR (KBr)  $\nu (cm^{-1})$  : 3414.35 (OH), 990.268 (C-O-C) (Annexe IR-1)

Le spectre IR du D-glucose (**B-1**) indique la présence d'une bande large centrée à  $3414.35\text{ cm}^{-1}$  caractéristique du groupement OH.

L'absence d'une bande intense située à  $1765-1645\text{ cm}^{-1}$  caractéristique de la fonction aldéhyde, et la présence de l'élongation C-O-C à  $990.268\text{ cm}^{-1}$  confirme que le D-glucose (**B-1**) est sous forme de cycle.<sup>39</sup>



**Fig. B-1 Cyclisation du D -glucose**

Dans l'eau, le D-Glucose donne l'équilibre suivant (**Tab. B-1**):

**Tab. B-1 : Equilibre du D -glucose dans l'eau**

D-Glucose		
Forme linéaire	Projection de HAWORTH	
<p>0,5%</p>	<p><math>\alpha</math>-D-Glucofuranose &lt;0,5%</p>	<p><math>\beta</math>-D-Glucopyranose &lt;0,5%</p>
	<p><math>\alpha</math>-D-Glucopyranose 35%</p>	<p><math>\beta</math>-D-Glucopyranose 65%</p>

La forme prédominante est le  $\beta$ -D-Glucopyranose (65%).

### B.I.3.2 Synthèse du D-glucaro-1,5:6,3-dilactone (B-3)

La réaction à chaud (55-60°C) du D-glucose (B-1) avec l'acide nitrique HNO<sub>3</sub> 60% débute par une oxydation rapide de la fonction aldéhyde donnant l'acide D-gluconique (B-22) suivie de l'oxydation de la fonction alcool primaire qui est plus lente. Le produit final est un diacide : l'acide D-glucarique (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>8</sub>) (B-2).<sup>41</sup>

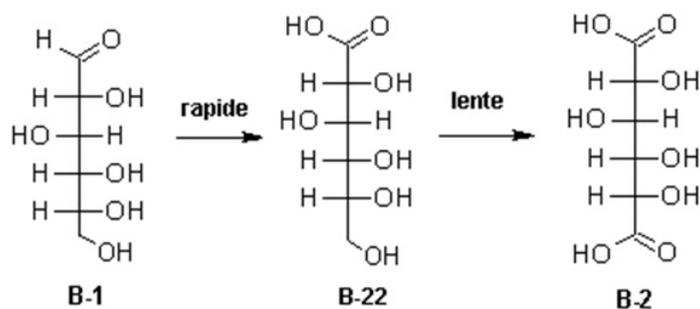


Schéma B-5 Oxydation du D -glucose (B-1) par l'acide nitrique

Cet acide D-glucarique (B-2) peut cristalliser sous forme de deux dilactones :

- D-glucaro-1,5:6,3-dilactone (B-3)
- D-glucaro-1,4:6,3-dilactone (B-4)

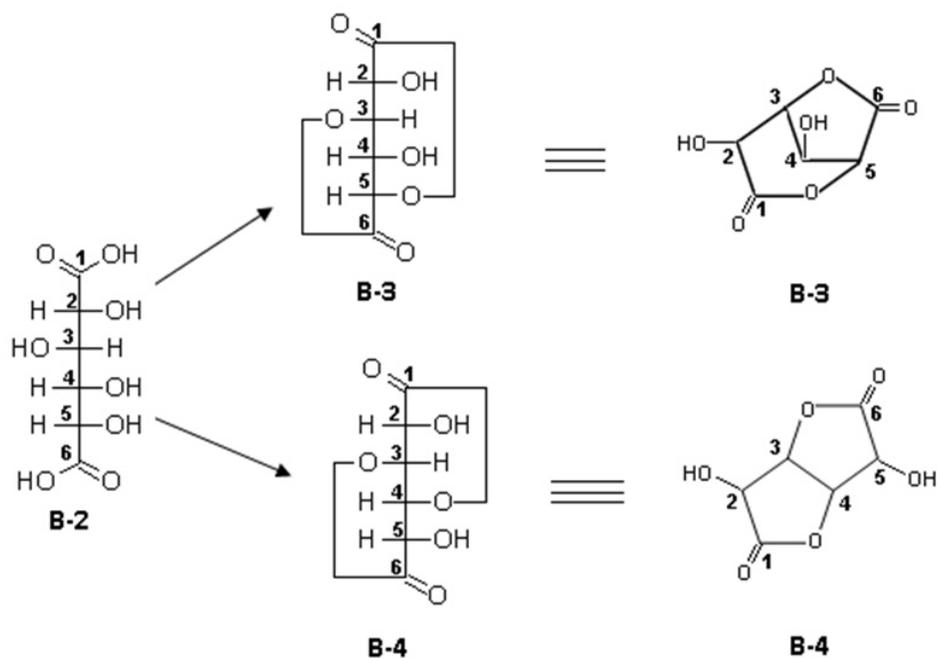
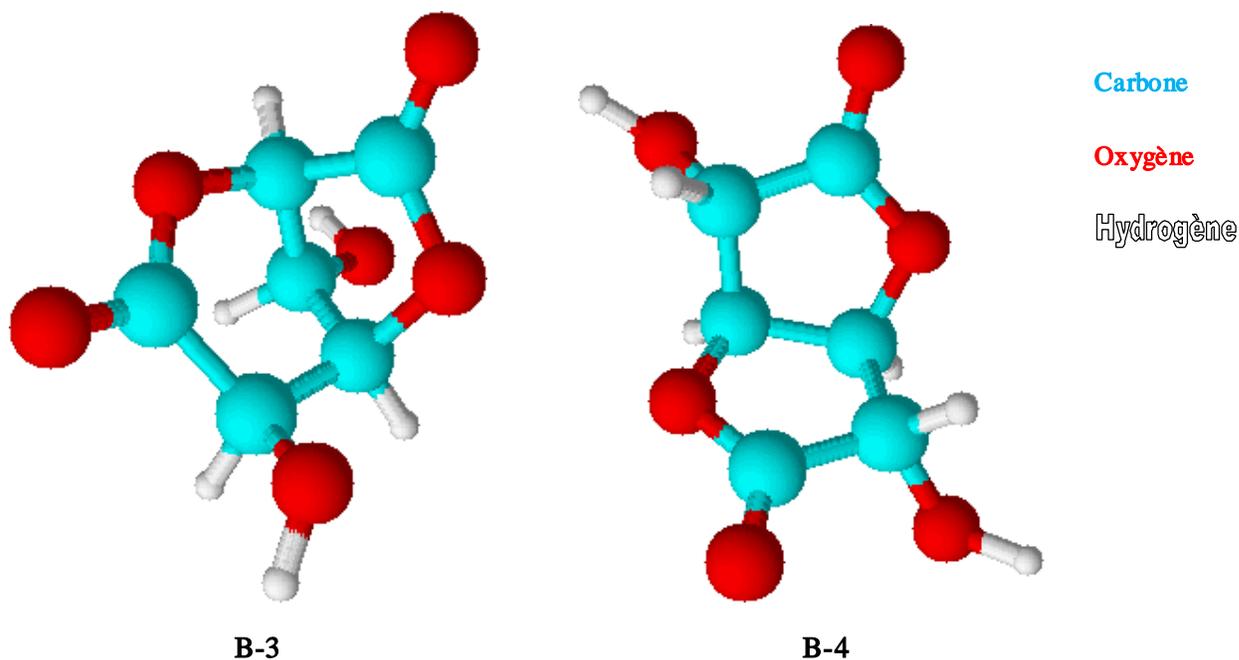


Schéma B-6 Lactonisation de l'acide D-glucarique (B-2)

Toutefois le D-glucaro-1,5:6,3-dilactone (B-3) présente une configuration spatiale plus stable que celle du D-glucaro-1,4:6,3-dilactone (B-4).



**Fig. B-2** Représentation en 3 dimensions des molécules (B-3) et (B-4).

Le rendement de cette réaction varie selon le rapport molaire du D-glucose/ $\text{HNO}_3$ .

Le rendement le plus élevé obtenu pour cette synthèse est de 45% et ceci pour un rapport molaire égale à 1/8.

**Remarque** : Les conditions d'oxydation du D-glucose par l'acide nitrique sont très importantes. Une oxydation prolongée, non maîtrisée ou pas suffisamment contrôlée peut aboutir à la formation, en grande quantité, de produits secondaires indésirables comme l'acide oxalique ou l'acide tartarique.<sup>41</sup>

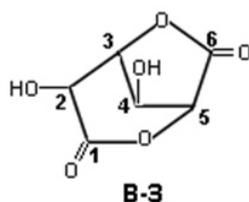
#### **Analyse du spectre IR :**

Le spectre IR confirme la formation du D-glucaro-1,5:6,3-dilactone :

Il apparaît ainsi deux bandes voisines et intenses l'une à  $1782.87 \text{ cm}^{-1}$  indiquant la présence d'une  $\gamma$ -lactone et l'autre à  $1747.19 \text{ cm}^{-1}$  désignant la présence d'une  $\delta$ -lactone.<sup>39</sup>

Une bande large centrée à  $3490.53 \text{ cm}^{-1}$  est caractéristique de la fonction OH. (Annexe IR-2)

### Analyse du spectre RMN $^1\text{H}$ :



Le spectre RMN  $^1\text{H}$  du produit (**B-3**) dissout dans le DMSO- $d_6$ , indique la présence d'un doublet représentant le proton  $\text{H}_5$  lié au carbone n° 5 et situé à 4.471 ppm.

Un double doublet situé à 4.424 ppm correspond au signal du proton  $\text{H}_3$  lié au carbone n° 3.

Un second double doublet situé à 4.329 ppm représente quant à lui le proton  $\text{H}_2$  lié au carbone n° 2.

Un troisième double doublet correspondant au proton  $\text{H}_4$  lié au carbone n° 4 est situé à 4.257 ppm.

Chaque proton des deux groupements OH situés sur les carbones n° 2 et n° 4, apparaît sous forme d'un singulet, l'un à 4.213 ppm et l'autre à 4.186 ppm.<sup>42</sup> (Annexe RMN  $^1\text{H}$  -1)

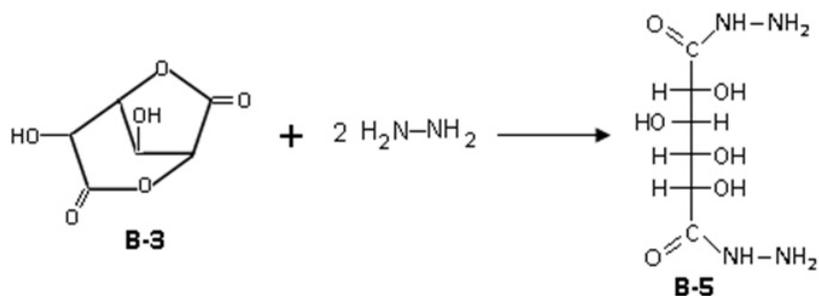
### Analyse du spectre RMN $^{13}\text{C}$ :

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du produit (**B-3**) dissout dans le DMSO- $d_6$ , indique la présence de deux signaux l'un à 176.427 ppm et l'autre à 172.186 ppm qui correspondent respectivement aux carbones :  $\text{C}_6$  et  $\text{C}_1$ .

Les carbones  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_2$  et  $\text{C}_4$  sont situés respectivement à 80.516 ppm, 72.498 ppm, 70.743 ppm et 69.869 ppm.<sup>43</sup> (Annexe RMN  $^{13}\text{C}$  -1)

### B.I.3.3 Synthèse du 1,6-dihydrazide D -glucarique (B-5)

La réaction de l'hydrazine avec le D-glucaro-1,5:6,3-dilactone (**B-3**) dans de l'éthanol aboutit à l'ouverture des deux cycles selon la réaction suivante :



Cette réaction est immédiate et aboutit à la formation d'un dihydrazide sous forme de précipité avec un rendement de 86%.

#### Analyse du spectre IR :

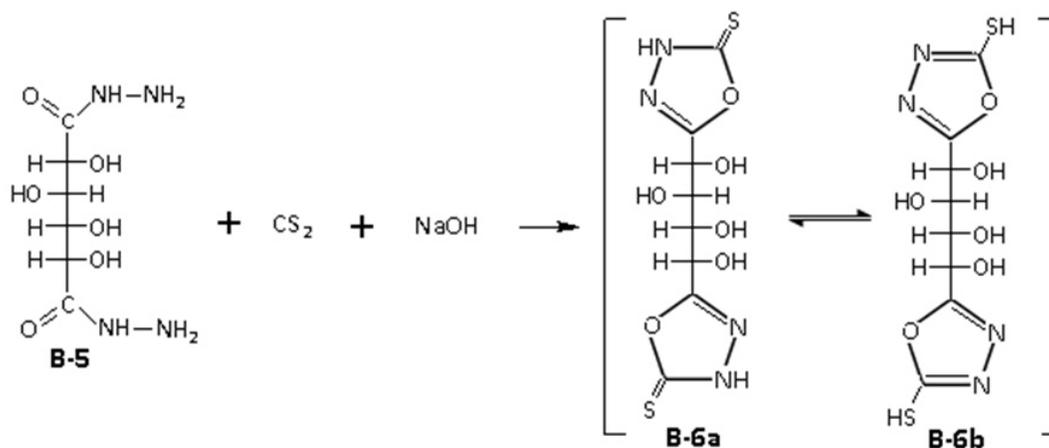
Le spectre IR du 1,6-dihydrazide D-glucarique (**B-5**) indique une large bande présentant deux extrémités: une à  $3431.14\text{ cm}^{-1}$  attribuée au groupement hydroxyle et l'autre située à  $3362.28\text{ cm}^{-1}$  désignant la fonction (NH).

La fonction (CO=N) apparait sous forme de deux bandes intenses et très voisines, l'une à  $1629.39\text{ cm}^{-1}$  et l'autre à  $1616.06\text{ cm}^{-1}$ . Ceci confirme la présence du dihydrazide. Dans la molécule du (**B-5**) les deux fonctions (CO=N) ne sont pas coplanaires c'est ce qui explique cette légère différence d'absorption.<sup>39</sup> (Annexe IR-3)

#### B.I.3.4 Synthèse du 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane -1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) (**B-6**)

La formation du 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) (**B-6**) se fait par la réaction du 1,6-dihydrazide D-glucarique (**B-5**) avec l'hydroxyde de sodium NaOH en présence de disulfure de carbone CS<sub>2</sub>. L'hydrazide étant insoluble dans l'éthanol, la réaction se fait en milieu aqueux. Cette réaction nécessite 8 heures de reflux à 80°C.

Après acidification avec l'acide chlorhydrique HCl, un précipité jaune apparait, ce dernier est dissout dans l'acétate d'éthyle, cristallisé puis recristallisé avec un mélange de chloroforme/Méthanol (2 :1 ;V/V). Le rendement de cette réaction est de 76,3%.



Comme le montre la réaction ci-dessus, un équilibre s'établit entre deux formes tautomères : la forme thione (**B-6a**) et la forme thiole (**B-6b**)

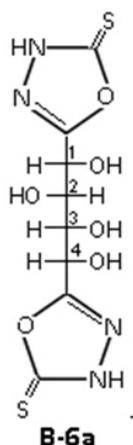
### Analyse du spectre IR :

Le spectre IR du 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) (**B-6**) indique la présence d'une bande large centrée à  $3423.99\text{ cm}^{-1}$  correspondant au groupement OH, une seconde bande à  $3240.79\text{ cm}^{-1}$  indique quant à elle le groupement NH.

L'analyse de ce spectre indique également une forte prédominance de la forme thione (**B-6a**) et ceci par la présence d'une bande intense et aigue à  $1380.78\text{ cm}^{-1}$  représentant la fonction C=S.

Les élongations C=N et C-O-C du cycle sont représentées respectivement par les bandes situées à  $1617.98\text{ cm}^{-1}$  et  $1042.35\text{ cm}^{-1}$ .<sup>39</sup> (Annexe IR-4)

### Analyse du spectre RMN $^1\text{H}$ :



Pour effectuer cette analyse, le produit (**B-6**) a été dissout dans le DMSO- $d_6$ .

Les protons des carbones  $C_1$  et  $C_4$  apparaissent chacun sous forme d'un doublet, l'un est situé à 3.922 ppm et l'autre est sous la bande large.

Les protons des carbones  $C_2$  et  $C_3$  apparaissent chacun sous forme d'un double doublet l'un à 3.735 ppm et l'autre à 3.437 ppm.

Le proton du NH du cycle oxadiazole apparaît à 8.909 ppm, les différents OH sont situés à 4.312 ppm, 4.218 ppm, 3.504 ppm et 3.166 ppm.<sup>42</sup> (Annexe RMN  $^1\text{H}$ -2)

### Analyse du spectre RMN $^{13}\text{C}$ :

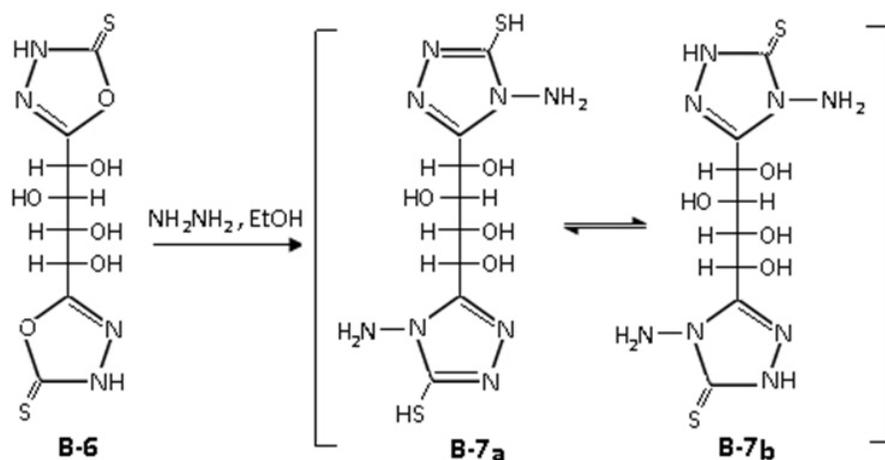
Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du composé (**B-6**) dissout dans le DMSO- $d_6$ , indique la présence de deux signaux l'un à 173.180 ppm et l'autre à 151.884 ppm qui correspondent respectivement au carbone en position 2 du cycle oxadiazole (Carbone lié au soufre : C=S) et au carbone en position 5 (Carbone lié à l'azote : C=N) du cycle oxadiazole.

Les carbones  $C_1$  et  $C_4$  donnent un signal à 73.118 ppm, et les carbones  $C_2$  et  $C_3$  donnent un autre signal à 65.985 ppm.<sup>43</sup> (Annexe RMN  $^{13}\text{C}$ -2)

### B.I.3.5 Synthèse du 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (B-7)

Cette synthèse se fait par réaction du 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) (B-6) avec l'hydrazine hydratée. La réaction se fait dans l'éthanol et nécessite un reflux de 8 heures à 90°C.

Après cristallisation puis recristallisation avec un mélange MeOH/H<sub>2</sub>O (2/1), le produit apparaît sous forme de cristaux marrons. Le rendement de cette réaction est de 72.2%.



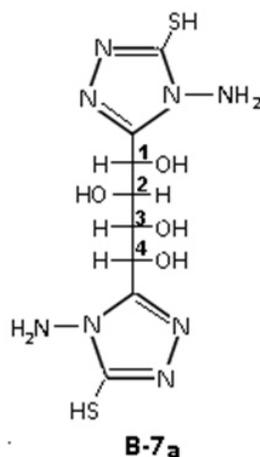
Le 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) (B-6) étant insoluble dans l'eau, il est impossible de réaliser cette synthèse dans un milieu aqueux pour comparer les rendements et les résultats.

Comme pour le 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) (B-6), le 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (B-7) présente un équilibre tautomère entre la forme thiole (B-7a) et la forme thione (B-7b).

#### Analyse du spectre IR :

Le spectre IR confirme la formation d'une forme thiole (B-7a) prédominante grâce à l'apparition d'une bande située à 2620.79 cm<sup>-1</sup> qui indique la présence du groupement SH. L'élongation (C=N) apparaît sous forme d'une bande à 1621.84 cm<sup>-1</sup>. Une bande large indique à 3431.71 cm<sup>-1</sup> la fonction hydroxyle, et à 3315.03 cm<sup>-1</sup> la fonction NH.<sup>39</sup> (Annexe IR-5)

### Analyse du spectre RMN $^1\text{H}$ :



Pour effectuer cette analyse, le produit (**B-7**) a été dissout dans le DMSO- $d_6$ .

Les protons des carbones  $C_1$  et  $C_4$  apparaissent chacun sous forme d'un doublet, l'un est situé à 4.031 ppm et l'autre à 3.462 ppm.

Les protons des carbones  $C_2$  et  $C_3$  apparaissent l'un sous forme d'un triplet à 3.870 ppm et l'autre sous forme d'un double doublet à 3.403 ppm.

Les protons du  $\text{NH}_2$  sont sous forme d'un singulet à 5.646 ppm ;

Le proton du SH se présente en singulet à 4.198 ppm.

Les différents OH sont situés à 8.878 ppm, 8.828 ppm, 8.408 ppm et 8.223 ppm.<sup>42</sup>  
(Annexe RMN  $^1\text{H}$  -3)

### Analyse du spectre RMN $^{13}\text{C}$ :

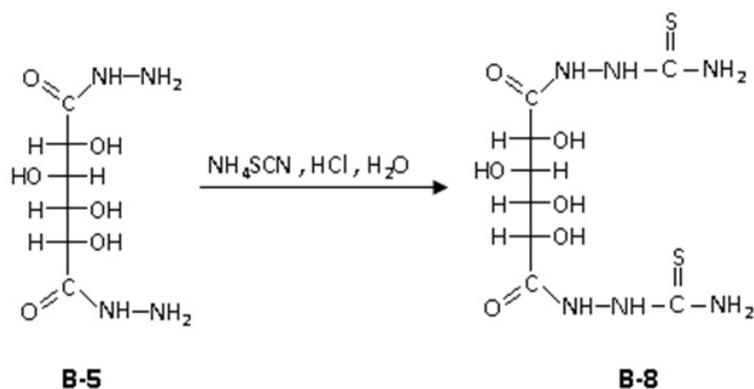
Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du (**B-7**) dissout dans le DMSO- $d_6$ , indique la présence d'un signal à 181.598 ppm qui correspond au carbone en position 5 dans le cycle et lié au groupement SH (C-SH).

Un deuxième signal situé à 165.942 ppm représente le carbone en position 3 du cycle (C=N).

Le signal à 142.457 ppm correspond aux deux carbones :  $C_1$  et  $C_4$ , alors que le signal à 140.917 ppm correspond aux carbones  $C_2$  et  $C_3$ .<sup>43</sup> (Annexe RMN  $^{13}\text{C}$  -3)

### B.I.3.6 Synthèse du 2,2'-(2,3,4,5-tetrahydroxy -1,6-dioxohexane -1,6-diyl)dihydrazine carbothioamide ou Bis(thiosemicarbazide) -D-glucarique (B -8)

Le 1,6-dihydrazide D-glucarique (**B-5**) étant soluble uniquement dans l'eau, la réaction a donc lieu en milieu aqueux en présence de thiocyanate d'ammonium et d'acide chlorhydrique. Cette synthèse nécessite un reflux de 8 heures à 80°C. Le rendement est de 88.6%.

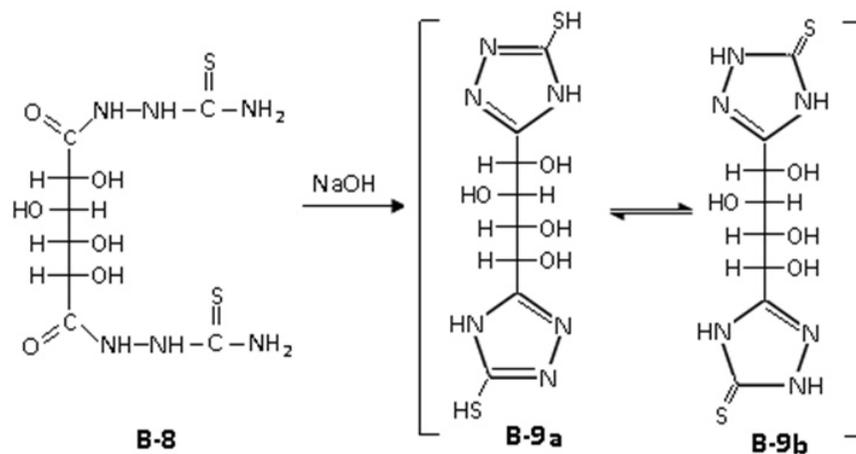


#### Analyse du spectre IR :

Le spectre IR confirme la formation du (**B-8**) et indique la présence d'une première bande large à  $3442.31\text{ cm}^{-1}$  correspondant au groupement OH, et une seconde à  $3196.43\text{ cm}^{-1}$  pour le groupement NH. La fonction (CO-N) est située à  $1623.77\text{ cm}^{-1}$ , la fonction C=S quant à elle est à  $1381.75\text{ cm}^{-1}$ .<sup>39</sup> (Annexe IR-6)

### B.I.3.7 Synthèse du 1,4-bis(5-mercapto -4H-1,2,4-triazol -3-yl)butane -1,2,3,4-tetrol (B-9)

Le Bis(thiosemicarbazide)-D-glucarique (**B-8**) étant soluble à la fois dans l'eau et l'éthanol, la synthèse du 1,4-bis(5-mercapto-4H-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (**B-9**) a été effectuée dans ces deux milieux en présence d'hydroxyde de sodium NaOH selon la réaction suivante :



**\*Synthèse du 1,4-bis(5-mercapto-4H-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (B-9) dans l'éthanol**

L'addition du NaOH à une solution contenant le Bis(thiosemicarbazide)-D-glucarique (**B-8**) et l'éthanol entraîne l'apparition immédiate d'un précipité sous forme de cristaux beiges. Après filtration du précipité, dissolution dans l'eau puis acidification, le produit est cristallisé et une seconde fois dissout dans l'acétate d'éthyle pour le séparer du NaCl et du reste du composé (**B-8**). Après cristallisation puis recristallisation avec de l'eau, des cristaux beiges apparaissent dont le point de fusion est de 72°C. Le rendement de cette réaction est de 84.4%

**\*Synthèse du 1,4-bis(5-mercapto-4H-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (B-9) en milieu aqueux**

Contrairement à la réaction précédente dans l'éthanol, en milieu aqueux, la réaction nécessite un reflux à 80°C pendant 8 heures. Après acidification, cristallisation, dissolution dans de l'acétate d'éthyle puis recristallisation, des cristaux beiges apparaissent et présentent un point de fusion égale à 72°C. Le rendement cette fois-ci est de 88 %.

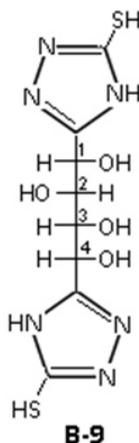
**Analyse du spectre IR :**

Les spectres IR dans les deux synthèses présentent les mêmes bandes :

Pour la synthèse dans l'éthanol : le spectre présente une bande intense à 1618.95 cm<sup>-1</sup> pour la fonction (C=N), une autre bande à 2535.93 cm<sup>-1</sup> indique la présence du groupe SH. La bande à 1716.34 cm<sup>-1</sup> correspond à une impureté due à l'acétate d'éthyle. <sup>39</sup> (Annexe IR-7)

Pour la synthèse en milieu aqueux : le spectre présente également une bande intense à 1637.93 cm<sup>-1</sup> pour la fonction (C=N), une autre bande à 2529.18 cm<sup>-1</sup> indique la présence du groupe SH. La bande à 1691.27 cm<sup>-1</sup> correspond à une impureté due à l'acétate d'éthyle. <sup>39</sup> (Annexe IR-8)

**Analyse du spectre RMN <sup>1</sup>H :**



Le composé (**B-9**) est dissout dans le DMSO-d<sub>6</sub>.

Les protons des carbones C<sub>1</sub> et C<sub>4</sub> apparaissent chacun sous forme d'un doublet, l'un est situé à 4.084 ppm et l'autre à 3.909 ppm.

Les protons des carbones C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> apparaissent l'un sous forme d'un double doublet à 3.961 ppm et l'autre également sous forme d'un double doublet à 3.830 ppm.

Deux signaux indiquent les protons NH de la forme thiole et de la forme thione. L'un situé à 13.936 ppm et l'autre à 12.016 ppm .

Le proton du SH indique un singulet à 4.456 ppm.

Les différents OH sont situés à 8.667 ppm, 8.217 ppm, 4.304 ppm et 4.211 ppm.<sup>42</sup>  
(Annexe RMN <sup>1</sup>H -4)

### **Analyse du spectre RMN <sup>13</sup>C :**

Le spectre RMN <sup>13</sup>C du composé **(B-9)** dissout dans le DMSO-d<sub>6</sub>, indique un signal à 182.011 ppm correspondant au carbone en position 5 du cycle et lié au groupement SH. (C-SH)

Un deuxième signal à 173.521 ppm correspondant au carbone en position 3 du cycle triazole. (C=N)

Les deux carbones C<sub>1</sub> et C<sub>4</sub> de la chaîne aliphatique apparaissent en un signal à 161.378 ppm.

Les deux carbones C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> apparaissent en un signal à 140.871 ppm.<sup>43</sup>(Annexe RMN <sup>13</sup>C -4)

## B.II Tests de solubilité

Il est intéressant de connaître la solubilité des produits chimiques synthétisés au cours de ce travail, et ceci pour différentes raisons dont les plus importantes sont :

- Prévoir le milieu réactionnel dans lequel pourraient se faire les réactions
- Choisir le bon solvant avant de réaliser des analyses spectrales telles que : RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, UV, etc...
- Choisir le bon éluant pour une CCM afin de pouvoir suivre l'avancement d'une réaction chimique.

Les tests de solubilité ont été réalisés sur le produit de départ (D-glucose) **(B-1)** et sur l'ensemble des produits synthétisés à savoir :

- Le D-glucaro-1,5:6,3-dilactone **(B-3)**
- Le 1,6-dihydrazide D-glucarique **(B-5)**
- Le 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) **(B-6)**
- Le 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol **(B-7)**
- Le bis(thiosemicarbazide) D-glucarique **(B-8)**
- Le 1,4-bis(5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol **(B-9)**

Différents solvants (polaires, semi-polaires et apolaires) ont été utilisés.

Les tests ont été réalisés dans différentes conditions :

- A froid
- A froid avec un excès de solvant
- A chaud
- A chaud avec un excès de solvant

L'insolubilité ou la solubilité partielle a été confirmée à l'aide d'une CCM.

### B.II.1 Résultats des tests de solubilité

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tab. B-2 : Résumé des tests de solubilité

Produits	Eau				DMSO				DMF				Méthanol				Ethanol				Acétone				Acétate d'éthyle			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
B-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
B-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-6	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
B-8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
B-9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Produits	Acide acétique				chloroforme				Ether diéthylique				dichlorométhane				Tétrachlorure de carbone				Toluène				cyclohexane			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
B-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

NB. a : A froid    b : A chaud    c : A froid avec un excès de solvant    d : A chaud avec un excès de solvant

+ : soluble    \* : peu soluble    - : insoluble

## B.II.2 Discussion des résultats

- A l'exception du 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) (**B-6**) tous les composés sont solubles dans l'eau.
- Tous les composés sont solubles dans le DMSO et le DMF sauf le 1,6-dihydrazide D-glucarique (**B-5**) qui présente dans le DMF une insolubilité totale, par contre dans le DMSO il présente une solubilité partielle à chaud et totale à chaud avec un excès de solvant.
- Dans les alcools testés (méthanol et éthanol), seuls le D-glucaro-1,5 :6,3-dilactone (**B-3**), le 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) (**B-6**) et le 1,4-bis(5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (**B-9**) présentent des solubilités totales. Pour les autres produits : le D-glucose (**B-1**) est partiellement soluble à froid mais soluble dans toutes les autres conditions, le 1,6-dihydrazide D-glucarique (**B-5**) et le 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (**B-7**) y sont totalement insolubles, par contre le bis(thiosemicarbazide) D-glucarique (**B-8**) présente une solubilité totale dans le méthanol. Dans l'éthanol le (**B-8**) présente une insolubilité à froid, une solubilité partielle à froid avec un excès de solvant et à chaud et une insolubilité totale en présence d'un excès de solvant à chaud.
- Seuls le D-glucaro-1,5 :6,3-dilactone (**B-3**), le 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) (**B-6**) et le 1,4-bis(5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (**B-9**) sont solubles dans l'acétone.
- La solubilité dans l'acétate d'éthyle diffère d'un composé à un autre : le D-glucose (**B-1**), le 1,6-dihydrazide D-glucarique (**B-5**), le 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (**B-7**) et bis(thiosemicarbazide) D-glucarique (**B-8**) y sont tous insolubles. Le D-glucaro-1,5 :6,3-dilactone (**B-3**) n'est que partiellement soluble à chaud ou à chaud avec un excès de solvant, le 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) (**B-6**) y est partiellement soluble à froid ou à froid avec un excès de solvant, et dans les autres conditions il est soluble. Et pour le 1,4-bis(5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (**B-9**) sa solubilité n'est que partielle à chaud avec un excès de solvant.
- Tous les produits testés sont insolubles dans l'acide acétique, le chloroforme, l'éther diéthylique, le dichlorométhane, le tétrachlorure de carbone, le toluène et le cyclohexane.

En conclusion, les produits chimiques synthétisés sont en général, solubles dans les solvants polaires, leur solubilité est faible dans les solvants semi-polaires, et ils sont totalement insolubles dans les solvants apolaires.

### B.III Activité biologique

Tous les produits chimiques synthétisés sont testés sur différentes bactéries afin d'évaluer l'activité antibactérienne.

Les bactéries choisies sont :

- Bactéries à gram positif :
  - *Staphylococcus aureus*
  - *Listeria inovanii*
  
- Bactéries à gram négatif :
  - *Pseudomonas aeruginosa*
  - *Acenitobacter sp*
  - *Klebsiella pneumoniae*
  - *Salmonella sp*
  - *Escherichia coli*

Les antibiotiques pris comme référence sont :

- L'amoxicilline + acide clavulanique : **AMC**
- La spiramycine : **S**

#### B.III.1 Evaluation de l'effet antibactérien :

Pour chaque espèce bactérienne ont été préparées deux boîtes de pétri.

L'une contenant les deux antibiotiques de référence , (**AMC**) et (**S**), sous forme de disques de papier ainsi que quatre autres disques de papier imbibés le premier avec le D-glucose (**B-1**), le second avec le D-glucaro-1,5:6,3-dilactone (**B-3**), le troisième avec le 1,6-dihydrazide D-glucarique (**B-5**) et le quatrième avec le 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) (**B-6**), et l'autre boîte de pétri contient trois disques de papier imbibés l'un avec le 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (**B-7**), le second avec le bis(thiosemicarbazide)-D-glucarique (**B-8**) et le troisième avec le 1,4-bis(5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (**B-9**).

Après incubation à 37°C pendant 24 h, il est possible de voir la croissance bactérienne ainsi que les zones circulaires d'inhibition de la croissance à proximité de chaque disque.

La mesure du diamètre de la zone claire autour du disque permet d'évaluer l'activité inhibitrice du produit vis-à-vis de la bactérie choisie.

Les zones d'inhibition sont définies comme suit :

- Le produit est actif pour un diamètre > 15 mm
- Le produit est modérément actif pour un diamètre compris entre 8 et 15 mm
- Le produit est inactif pour un diamètre < 8 mm

Le tableau (Tab. B -3) résume les résultats obtenus :

**Tab. B -3 : Résultats de l'analyse bactériologique**

Les produits à tester :	Les bactéries utilisées						
	Gram +		Gram -				
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria inovanii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acenitobacter sp</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>E.coli</i>
(B-1)	*	*	*	*	*	*	*
(B-3)	*	*	*	*	*	*	*
(B-5)	36	16	18	16	18	14	16
(B-6)	16	14	8	*	8	10	12
(B-7)	22	8	10	*	8	*	14
(B-8)	8	8	*	*	*	*	8
(B-9)	8	*	14	*	*	*	*
Les ATB de référence							
AMC	30	16	18	16	10	24	18
Spiramycine	16	*	8	*	*	8	*

\* : Produit inactif

Les zones d'inhibition sont données en mm

### B.III.2 Interprétation des résultats

A l'exception du (B-1) et du (B-3) qui sont inactifs, tous les autres produits testés montrent une activité antibactérienne.

- Effet des produits testés sur le *S taphylococcus aureus*

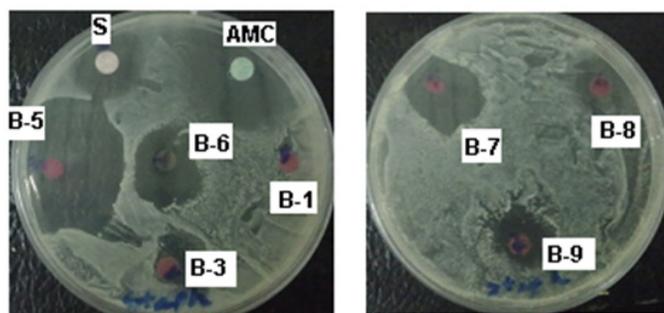


Fig. B-3 Produits testés sur le *S taphylococcus aureus*

-L'AMC et la spiramycine sont actifs contre le *Staphylococcus aureus*, leurs zones d'inhibition sont respectivement de 30 mm et 16mm.

-Les composés **(B-8)** et **(B-9)** présentent une activité modérée contre cette bactérie. (Leur diamètre est de 8 mm chacun)

-Les composés qui se démarquent sont le **(B-5)**, le **(B-6)** et le **(B-7)** :

Le **(B-6)** est un composé actif dont la zone d'inhibition est égale à celle de la spiramycine.

Le **(B-7)** est également actif et possède un effet inhibiteur plus élevé que celui de la spiramycine.

Le **(B-5)**, quant à lui, présente une activité inhibitrice supérieure à celle des deux antibiotiques de référence, il est donc très actif contre cette bactérie.

- Effet des produits testés sur *Listeria inovanii*

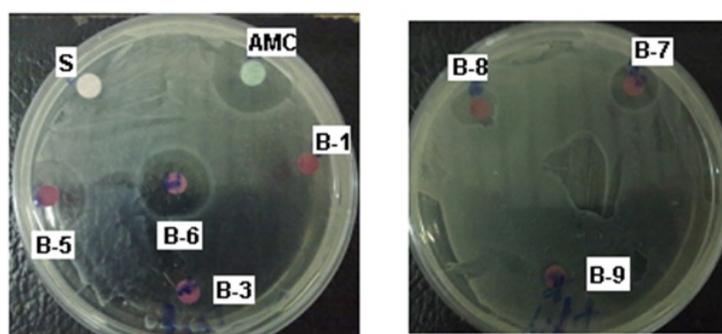


Fig. B-4 Produits testés sur *Listeria inovanii*

-*Listeria inovanii* est sensible à l'AMC, et résistante à la spiramycine.

-Le composé **(B-9)** est inactif sur *Listeria inovanii*.

-Les composés **(B-7)** et **(B-8)** présentent une activité modérée contre cette bactérie avec des diamètres de 8 mm chacun.

-Le **(B-6)** est également modérément actif, mais possède, par contre, une zone d'inhibition supérieure à celle du **(B-7)** et du **(B-8)**.

-Le composé **(B-5)** montre une activité semblable à celle de l'AMC, (même diamètre de la zone d'inhibition), il est actif contre cette bactérie.

- Effet des produits testés sur *Pseudomonas aeruginosa*

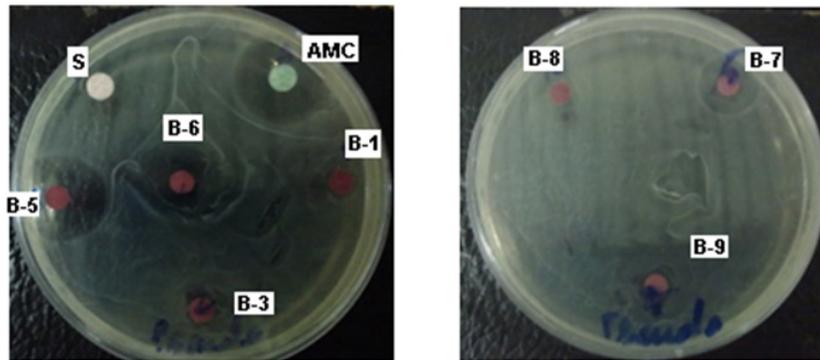


Fig. B-5 Produits testés sur *Pseudomonas aeruginosa*

- Le composé (B-8) est totalement inactif sur le *Pseudomonas aeruginosa*.
- Les composés (B-6), (B-7) et (B-9) sont quant à eux modérément actifs contre cette bactérie. Toutefois, il est à noter que la zone d'inhibition du (B-6) est la même que la spiramycine, et que celle du (B-7) et du (B-9) y est supérieure.
- Le produit (B-5) possède une zone d'inhibition égale à celle de l'AMC et bien supérieure à celle de la spiramycine. Il est donc actif contre cette bactérie.

- ) Effet des produits testés sur *Acenitobacter sp*

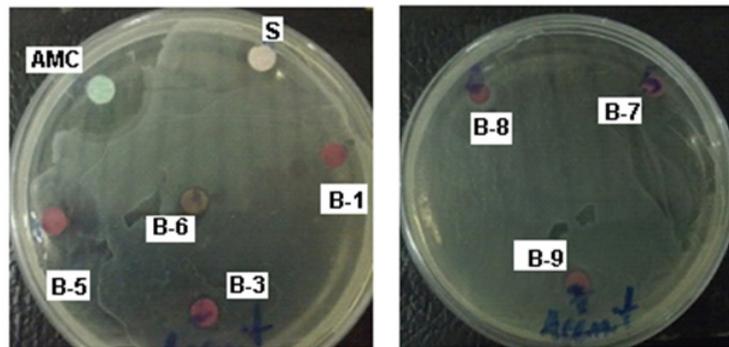


Fig. B-6 Produits testés sur *Acenitobacter sp*

- L'*Acenitobacter sp* est sensible à l'AMC, et résistant à la spiramycine.  
 Seul le (B-5) présente une activité contre l'*Acenitobacter sp*, cette activité n'est pas des moindres car elle est la même que celle exercée par l'antibiotique de référence AMC.  
 Quant aux autres produits, ils sont totalement inactifs contre cette bactérie.

- Effet des produits testés sur *Klebsiella pneumoniae*

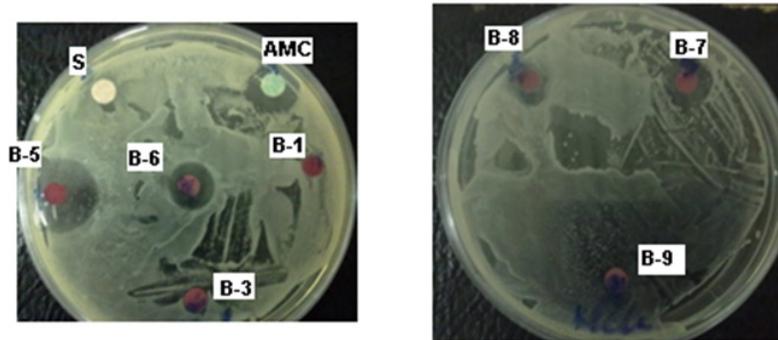


Fig. B-7 Produits testés sur *Klebsiella pneumoniae*

*Klebsiella pneumoniae* est une bactérie qui possède une sensibilité intermédiaire à l'AMC, mais qui est résistante à la spiramycine.

Les composés (B-8) et (B-9) ne présentent pas d'activité contre *Klebsiella pneumoniae*.

Les produits (B-6) et (B-7) sont modérément actifs contre cette bactérie.

Par contre, il est à remarquer que le produit (B-5) présente une activité contre *Klebsiella pneumoniae* supérieure à celle de l'AMC. Ce produit est donc très actif contre cette bactérie.

- Effet des produits testés sur *Salmonella sp*

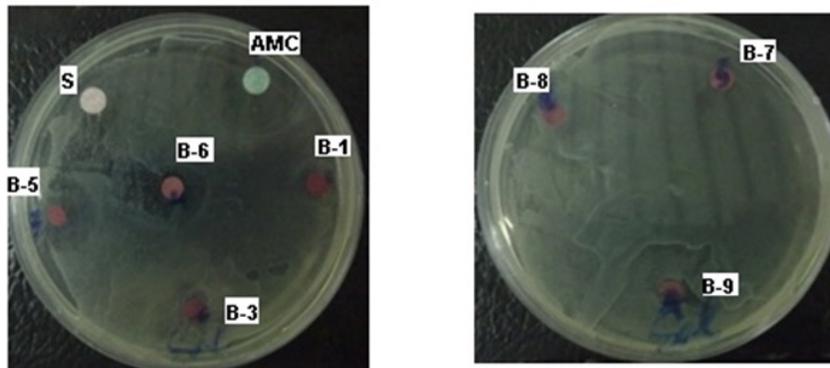


Fig. B-8 Produits testés sur *Salmonella sp*

Seuls le (B-5) et le (B-6) sont modérément actifs contre *Salmonella sp*, leur activité n'atteint pas celle de l'AMC mais dépasse celle de la spiramycine.

- Effet des produits testés sur *Escherichia coli*

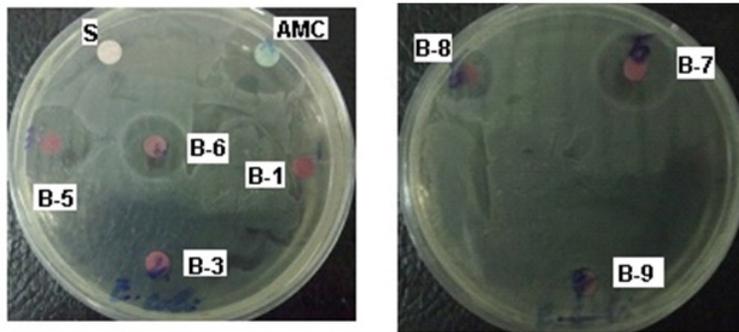


Fig. B-9 Produits testés sur *Escherichia coli*

L'*E. coli* est une bactérie sensible à l'AMC mais résistante à la spiramycine.

Les composés **(B-6)**, **(B-7)** et **(B-8)** présentent une activité modérée contre *E. coli*, avec des diamètres de zones d'inhibition respectivement de 12 mm, 14 mm et 8 mm.

Le **(B-5)** est actif contre cette bactérie, toutefois l'activité inhibitrice de l'AMC reste supérieure.

) **Conclusion de l'interprétation :**

A l'exception du **(B-1)** et du **(B-3)**, les produits chimiques testés possèdent une bonne activité antibactérienne.

- Particulièrement le 1,6-dihydraside-D-glucarique **(B-5)** a montré une activité sur toutes les bactéries testées (gram + et gram-). Cette activité antibactérienne a parfois égalé (contre *Listeria inovanii*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Acenitobacter sp*) ou même dépassé ( contre *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*) celle de l'AMC. Il est important de noter que tous les résultats donnés par le **(B-5)** sont supérieurs à ceux de la spiramycine. Ce composé est donc plus actif, sur ces bactéries, que ne l'est la spiramycine.
- Concernant le 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3H)-thione) **(B-6)**, seule l'*Acenitobacter sp* y est résistante. Le **(B-6)** est aussi actif contre le *Staphylococcus aureus* que ne l'est la spiramycine. Concernant les autres bactéries, le **(B-6)** possède une activité modérée.
- L'activité du 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4H-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol **(B-7)** contre *Staphylococcus aureus* est importante. Par contre, il ne présente pas d'activité contre l'*Acenitobacter sp* et *Salmonella sp*. Sur l'ensemble des autres bactéries il présente une activité modérée.

- Le Bis(thiosemicarbazide)-D-glucarique (**B-8**) est modérément actif sur le *Staphylococcus aureus*, *Listeria inovanii* et *E.coli*. Les autres bactéries y sont résistantes.
- Le 1,4-bis(5-mercapto-4H-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol (**B-9**) montre une activité modérée contre le *Staphylococcus aureus*. Il présente également une activité modérée contre *Pseudomonas aeruginosa*, toutefois cette activité est supérieure à celle de la spiramycine. Les autres bactéries testées sont résistantes au (**B-9**).

### B.III.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus petite concentration de produit chimique qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 heures de culture à 37°C.

La détermination de la CMI a été effectuée en milieu liquide. Elle consiste à mettre un inoculum bactérien au contact de concentrations décroissantes du produit chimique selon une progression géométrique. Le premier tube dans lequel aucune croissance n'est visible à l'œil nu déterminera alors la CMI.

A partir d'une solution mère de 30 mg/mL, différentes dilutions sont préparées pour chaque produit : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et 1/32.

La CMI est déterminée bien évidemment pour les produits actifs.

Les résultats obtenus sont les suivants :

**Tab. B -4 : Résultats de la détermination de la CMI**

Produits chimiques	Bactéries						
	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Listeria inovanii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acenitobacter sp</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>E.coli</i>
(B-1)	*	*	*	*	*	*	*
(B-3)	*	*	*	*	*	*	*
(B-5)	1/32	1/16	1/16	1/16	1/16	1/16	1/16
(B-6)	1/16	1/16	1/8	*	1/8	1/8	1/16
(B-7)	1/32	1/8	1/8	*	1/8	*	1/16
(B-8)	1/8	1/8	*	*	*	*	1/4
(B-9)	1/8	*	1/16	*	*	*	*

\* : Produit inactif

**Conclusion :** D'une manière générale, le tableau ci-dessus indique que plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus petite est la CMI.

# Partie C

## (Expérimentale)

Chapitre C.I Généralités

Chapitre C.II Synthèses

Chapitre C.III Tests de solubilité

Chapitre C.IV Activité biologique

## Chapitre C.I Généralités

### C.I.1 Réactifs et solvants

Un certain nombre de produits chimiques (réactifs et solvants) a été utilisé pour réaliser ce travail.

La liste de ces produits ainsi que quelques unes de leurs caractéristiques sont données dans le tableau qui suit :

Tab. C -1 : Liste des produits chimiques utilisés

Produit chimique	Formule chimique	T <sub>éb</sub> (°C)	T <sub>f</sub> (°C)	d	PM (g/mol)	Provenance
Acétate d'éthyle	CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	77,10	-83,6	0,90	88,11	Prolabo
Acétone	CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	56,10	-94,6	0,79	58,08	Prolabo
Acide acétique 80%	CH <sub>3</sub> COOH	117,87	16,64	1,07	60,05	Panreac
Acide chlorhydrique 37%	HCl	48	-30	1,19	36,50	Biochem
Acide nitrique 60%	HNO <sub>3</sub>	83	-42	1,52	63,01	Chemika
Chloroforme	CHCl <sub>3</sub>	61,20	-63	1,47	119,4	Biochem
Cyclohexane	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	81	7	0,78	84,16	Panreac
Dichlorométhane	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	40	-95,1	1,32	84,93	Biochem
N,N Diméthylformamide	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NCHO	153	-61	0,95	73,10	Fluka
Diméthylsulfoxyde	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO	188	-27	1,84	126,0	Organics
Dioxyde de silicium	SiO <sub>2</sub>	2230	1650	2,20	60,08	Prolabo
Disulfure de carbone 99%	CS <sub>2</sub>	46	-111	1,27	76,13	Rectapur
Ethanol 95%	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	78,50	-117,4	0,81	46,07	Biochem
Ether diéthylique	(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> O	34,60	-116,3	0,71	74,12	Fluka
D-Glucose anhydre	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	-	146	1,56	180,16	Prolabo
Hydrazine hydratée 64%	NH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	114	2	1,01	50,06	Prolabo
Hydroxyde de sodium	NaOH	1390	318	2,10	40,00	Prolabo
Méthanol	CH <sub>3</sub> OH	65	-98	0,79	32,04	Biochem
Nitrite de sodium	NaNO <sub>2</sub>	320	280	2,20	69,00	Fluka
Tétrachlorure de carbone	CCl <sub>4</sub>	76,70	-23	1,59	153,82	Panreac
Thiocyanate d'ammonium	NH <sub>4</sub> SCN	170	149,6	1,30	76,12	Panreac
Toluène	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	111	-95	0,87	92,14	Organics

## C.I.2 Appareillages et techniques d'analyse utilisés

Afin de mener à bien ce travail, différents types d'appareils et de techniques ont été utilisés, dont voici une liste récapitulative :

- **Une balance électronique** :  
Qui permet d'effectuer des pesées d'une précision de  $10^{-2}$  g.
- **Un pH mètre (type HANNA Instruments)** :  
Cet appareil permet la mesure précise du pH d'une solution.
- **Appareil de mesure du point de fusion (Type GALLENKAMP)** :  
Utilisé pour *la détermination de la température de fusion d'un solide*. Le solide est placé dans un capillaire. On attend en regardant le capillaire et on note la température où l'on voit la fusion se produire. ( $T_{\max} = 400^{\circ}\text{C}$ )
- **Une plaque chauffante avec agitateur magnétique (type Assistent TMA)** :  
Cette plaque sert de source de chaleur pour chauffer divers récipients et leur contenu. Elle permet également d'assurer une bonne homogénéisation de la solution grâce à l'agitation magnétique.
- **Un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (Jasco, FT/IR -4200)** :  
Les spectres IR sont réalisés sur des échantillons déposés sur pastille de KBr préparée en broyant environ 0,5 à 1 mg de l'échantillon à analyser avec 100 mg de KBr sec. Le tout est compressé sous forme de pastille.  
L'analyse infrarouge a été réalisée au laboratoire de chimie organique appliquée, département de chimie, Université d'Es-Sénia Oran.
- **Un spectromètre RMN  $^{13}\text{C}$  et  $^1\text{H}$**  :  
L'analyse à l'aide du spectromètre RMN a permis d'identifier la structure de composés, de caractériser leur enchaînement atomique, et d'obtenir des informations sur l'environnement (nature des voisins proches) des noyaux atomiques.  
Tous les solvants utilisés sont deutérés.  
Le tétraméthylsilane (TMS) constitue l'étalon interne, ainsi les déplacements chimiques  $\delta$  sont donnés en ppm par rapport au TMS.  
L'analyse a été effectuée au laboratoire de chimie des polymères, département de chimie, Université d'Es-Sénia Oran. L'appareil est de type Bruker avancé 300.10 MHz.

- **La chromatographie sur couche mince (CCM) :**

Les plaques CCM sont préparées au niveau du laboratoire. Cette préparation consiste à l'étalement en couche mince d'un gel de silice sur des plaques en verre. Après dépôt des échantillons sur la plaque CCM, cette dernière est placée dans une cuve chromatographique (récipient en verre) contenant un éluant et fermée de manière étanche. Le choix de l'éluant est primordial et doit être en fonction de la nature du composé à séparer.

La révélation a été réalisée par l'iode ou par l'acide phospho-molybdique.

### C.I.3 Chromatographie sur couche mince

L'utilisation de la chromatographie sur couche mince est devenue incontournable en laboratoire de recherche.

La simplicité du matériel utilisé, sa rapidité et les bonnes séparations qu'elle offre permettent de suivre l'évolution d'une réaction chimique ou de tester la pureté de composés organiques.

#### C.I.3.1 Principe

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur les phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui migre le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque en verre, en plastique ou en aluminium entraînant avec lui les constituants de l'échantillon.

L'échantillon soit liquide ou solubilisé dans un solvant volatil est déposé sur la phase stationnaire. Les constituants de l'échantillon sont élués par la phase mobile qui migre par capillarité vers le haut de la plaque (Fig. C-1). La vitesse à laquelle ils sont élués dépend de leur nature et de celle du solvant.

Les constituants ainsi séparés peuvent être identifiés par comparaison à l'éluition simultanée de témoins.

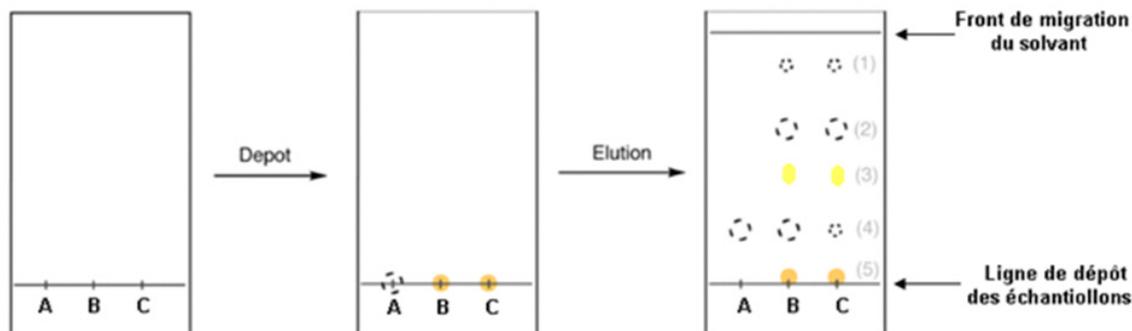


Fig. C-1 Dépôt et éluition des échantillons

#### C.I.3.2 Mode opératoire

- **Préparation du gel de silice**

Le dioxyde de silicium  $\text{SiO}_2$  (35.0 g) est ajouté par petite partie à un mélange de méthanol  $\text{CH}_3\text{OH}$  (34.0 mL) et de chloroforme  $\text{CHCl}_3$  (67.0 mL) et ceci sous agitation magnétique.

L'agitation est maintenue environ 1 heure afin de bien homogénéiser le mélange.

Une fois l'heure écoulée, l'étalement du gel de silice sur les plaques en verre se fait en mettant une plaque contre l'autre. Ces deux plaques ainsi maintenues sont plongées délicatement dans le mélange et retirées de manière rapide afin d'obtenir une couche fine et homogène.

Ces plaques sont séchées à l'air libre et conservées à l'abri de l'humidité. Elles seront activées dans l'étuve pendant 2 h à 110°C juste avant leur emploi.

- **Le Choix de l'éluant**

L'éluant (un solvant ou un mélange de solvants) est choisi en fonction des substances à séparer. Un éluant qui entraîne tous les composants de l'échantillon est trop polaire; celui qui empêche leur migration ne l'est pas suffisamment.

Le pouvoir éluant d'un liquide dépend de sa propre polarité.

Les solvants classés ci-dessous le sont par ordre de polarité croissante :

- Cyclohexane
- Tétrachlorure de carbone
- Toluène
- Dichlorométhane
- Tétrahydrofurane
- Acétate d'éthyle
- Chloroforme
- Ethanol
- Pyridine
- Acétonitrile
- Acide acétique
- Méthanol
- Ethylène glycol
- Eau

- **Préparation de la cuve chromatographique**

La cuve chromatographique (cuve de migration) est une cuve en verre qui doit être d'une étanchéité parfaite.

La préparation se fait par l'introduction de l'éluant dans la cuve de manière à être à environ 0.5 cm du fond.

Le récipient doit être bien fermé pour assurer une atmosphère saturée en vapeur de solvant. Pour améliorer cette saturation, les parois de la cuve peuvent être tapissées de papier filtre.

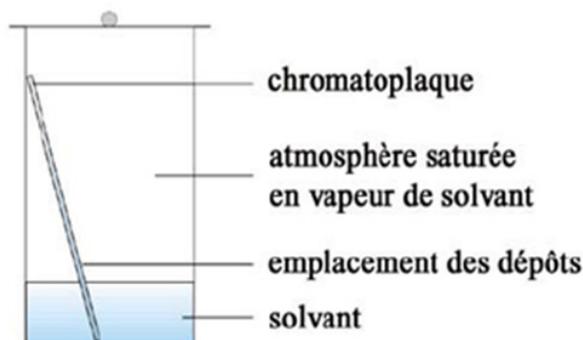
- **Dépôt des échantillons**

A l'aide de micropipettes, les échantillons sont déposés sur des points disposés sur une ligne horizontale à deux centimètres du bord de la plaque préalablement activée. Ces échantillons sont de volume allant de 10 à 50 microlitres et de concentration voisine de 2 à 5 %,

Il est parfois nécessaire de faire plusieurs dépôts du même échantillon au même endroit. Il faut alors sécher entre chaque dépôt.

- **Développement des plaques**

Une fois préparée la plaque est introduite dans la cuve de migration au fond de laquelle se trouve l'éluant (Fig. C-2).



**Fig. C-2 Développement d'une plaque CCM**

La vitesse de développement dépend de la nature de l'éluant.

Lorsque le front de solvant se trouve à environ 1 cm de l'extrémité supérieure, la plaque est retirée, il faut marquer le niveau atteint par le solvant, puis la sécher à l'air libre.

- **La révélation**

La révélation des substances isolées se fait selon différentes méthodes : soit directement si les substances sont colorées, ou alors à l'aide de révélateurs si elles sont incolores afin de les transformer en taches colorées. Dans ce deuxième cas il existe différentes manières de visualiser les taches, parmi elles :

- L'utilisation de la lampe ultraviolette : Certains composés apparaissent sous forme de taches brillantes sur un fond sombre. Si un indicateur fluorescent est incorporé à l'adsorbant, la plaque entière devient fluorescente lorsqu'elle est soumise à une radiation UV; les composés y sont révélés sous forme de taches sombres.

- L'exposition de la plaque aux vapeurs d'iode : La plaque chromatographique est placée quelques minutes dans un récipient étanche au fond duquel se trouvent des cristaux d'iode métalloïdes. Les vapeurs d'iode se fixent sur la plupart des composés organiques qui apparaissent alors sous forme de taches brun foncé. Cette réaction est réversible, les composés insaturés et les composés aromatiques sont évidemment les plus sensibles à cette révélation.
- La vaporisation par une solution d'acide sulfurique 6N suivie d'un chauffage à 100°C
- La vaporisation par une solution d'acide phosphomolybdique préparée en dissolvant de l'acide phosphomolybdique (20.0) g dans de l'éthanol (100.0 mL) et en ajoutant avec précaution de l'acide sulfurique (1.0 mL)

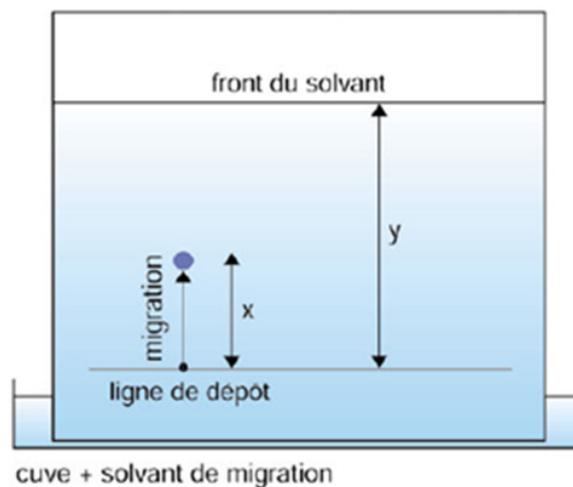
Dans ces deux derniers cas, il s'agit de la formation de dérivés colorés obtenus par l'action des solutions d'acides sur les substances séparées.

Après avoir été révélées, les taches sont marquées au crayon de façon à pouvoir se rappeler de leur position même après qu'elles se soient estompées.

- **Calcul du Rapport front al  $R_f$**

Le paramètre le plus utilisé pour l'analyse qualitative est le rapport frontal  $R_f$ .

C'est le rapport de la distance de migration du soluté sur la distance de migration de l'éluant (Fig. C-3).



**Fig. C-3 Rapport frontal**

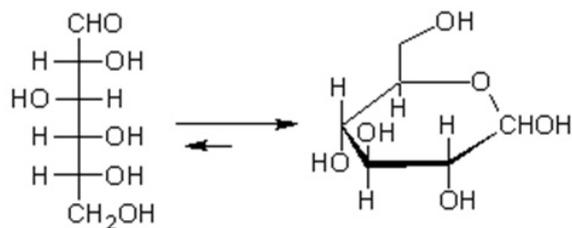
$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par le composé}}{\text{distance parcourue par le front du solvant}} = \frac{x}{y}$$

Le  $R_f$  sera donc toujours compris entre 0 et 1.

Le  $R_f$  d'une substance est une constante caractéristique au même titre qu'une température de fusion. Sa détermination peut donc être précieuse pour l'identification.

Pour obtenir des  $R_f$  reproductibles, il est nécessaire d'opérer dans des conditions identiques : composition identique d'éluant, température constante, cuve saturée etc ...

#### C.I.4 Caractéristiques du D -glucose anhydre (B-1)



Nom IUPAC : D-glucose

Autres noms : dextrose ; 2,3,4,5,6-pentahydroxyhexanal

Etat physique : solide

Aspect : poudre blanche

Odeur : inodore

Formule brute:  $C_6H_{12}O_6$

Masse molaire :  $180,16 \text{ g.mol}^{-1}$

Température de fusion :  $153 \text{ }^\circ\text{C}$

Masse volumique :  $1,544 \text{ g.ml}^{-1}$  ( $25^\circ\text{C}$ )

Solubilité dans l'eau: très soluble ( $1000 \text{ g/L}$  à  $20^\circ\text{C}$ )

N° CAS : 50-99-7

$R_f = 0,53$  (éluant : Ethanol / Toluène; 7:2 ; V:V)

**IR (KBr)  $\nu(\text{cm}^{-1})$**  : 3414.35 (OH), 990.268 (C-O-C) (Annexe IR-1)

## Chapitre C.II Synthèses

### C.II.1 Synthèse du D-glucaro -1,5:6,3-dilactone (B-3)

Dans un ballon muni d'un thermomètre et d'un barreau magnétique, a été placé de l'acide nitrique  $\text{HNO}_3$  60% (31.0 mL) et chauffé à 55-60°C. Le ballon est ensuite retiré de la chaleur et le D-glucose (**B-1**) (10.0 g, 0.0555 mole) est ajouté par parties sur une période de 10 mn. La réaction étant fortement exothermique, son emballement est évité en plaçant le ballon dans un bain de glace. Une fois la température maîtrisée, la réaction est maintenue sous agitation magnétique à 55-60°C pendant 3 heures et suivie par CCM (Ethanol/toluène; 7:2 ; V:V),  $R_f$ : 0.63. La solution obtenue est concentrée en un sirop épais à l'aide d'un évaporateur rotatif.

L'addition d'éther di-éthylique provoque l'apparition de cristaux. Ces derniers sont filtrés, lavés avec un mélange d'éther di-éthylique et de dichlorométhane (3 :1) (V/V) puis recristallisés avec du méthanol MeOH pour donner des cristaux blancs (**B-3**) (4.35 g). (Rendement : 45 %)

#### Caractéristiques du produit :

$T_f$ : 80 °C

**IR (KBr)  $\nu(\text{cm}^{-1})$** : 3490.53 (OH); 1782.87 (C=O)  $\gamma$ -lactone; 1747.19 (C=O)  $\delta$  lactone  
(Annexe IR-2)

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO - $d_6$ )  $\delta$  (ppm)**: 4.471 (d, 1H,  $\text{H}_5$ ); 4.424 (dd, 1H,  $\text{H}_3$ ); 4.329 (dd, 1H,  $\text{H}_2$ ); 4.257 (dd, 1H,  $\text{H}_4$ ); 4.213 (s, 1H, OH); 4.186 (s, 1H, OH)  
(Annexe RMN  $^1\text{H}$ -1)

**RMN  $^{13}\text{C}$  (300 MHz, DMSO - $d_6$ )  $\delta$  (ppm)**: 176.427 (C, $\text{C}_6$ ); 172.186 (C, $\text{C}_1$ ); 80.516 (C,  $\text{C}_5$ ); 72.498 (C, $\text{C}_3$ ); 70.743 (C,  $\text{C}_2$ ); 69.869 (C, $\text{C}_4$ ) (Annexe RMN  $^{13}\text{C}$ -1)

### C.II.2 Synthèse du 1,6-dihydrazide D -glucarique (B-5)

Le D-glucaro-1,5:6,3-dilactone (**B-3**) (1.0 g, 0.00574 mole) est dissout, sous agitation magnétique, dans de l'éthanol (40.0 mL). L'hydrazine hydratée 64% (5.0 mL) est ajoutée goutte à goutte à la solution. La réaction est immédiate et entraîne l'apparition d'un précipité.

La réaction est maintenue 30 minutes sous agitation magnétique et est suivie par CCM (Ethanol/Toluène; 6:4; V:V)  $R_f$ : 0.51

Le précipité est filtré, lavé avec de l'éthanol puis recristallisé avec de l'eau distillée pour donner des cristaux cotonneux de couleur jaune claire (**B-5**) (1.17 g). (Rendement : 86 %)

### Caractéristiques du produit :

$T_f$ : 122 °C

**IR (KBr)  $\nu(\text{cm}^{-1})$** : 3431.14 (OH) ; 3362.28 (NH) ; 1629.39 (CO-N), 1616.06 (CO-N) ;  
(Annexe IR-3)

### C.II.3 Synthèse du 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane -1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3H)-thione) (B-6)

Le 1,6-dihydrazide D-glucarique (**B-5**) (1.0 g, 0.0042 mole) est dissout dans de l'eau distillée (40.0 mL) et additionné, sous agitation magnétique, à une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium formée de NaOH (1.0 g) et d'eau distillée (10.0 mL). Le disulfure de carbone (30.0 mL) est ajouté goutte à goutte à la réaction.

Le mélange est porté au reflux sous agitation magnétique à 80°C pendant 8 heures.

L'avancement de la réaction est suivi par CCM. (Ethanol/Toluène; 6:4; V:V)  $R_f$ : 0.74.

Après refroidissement à température ambiante, la solution est acidifiée avec de l'acide chlorhydrique HCl (10%) jusqu'au pH 5. Il se forme alors un précipité de couleur jaune qui est filtré, dissout dans de l'acétate d'éthyle, cristallisé puis recristallisés avec du chloroforme/méthanol (2/1) donnant des cristaux jaunes (**B-6**) (1.03 g). (Rendement : 76.3 %)

### Caractéristiques du produit :

$T_f$ : 159 °C

**IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$** : 3423.99 (OH) ; 3240.79 (NH) ; 1617.98 (C=N); 1380.78 (C=S);  
1042.34 (C-O-C) (Annexe IR-4)

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO - $d_6$ )  $\delta$  (ppm)**: 8.909 (s, 1H, NH) ; 4.312 (s, 1H, OH) ;  
4.218 (s, 1H, OH) ; 3.922 (d, 1H,  $\text{H}_1$  ou  $\text{H}_4$ ) ; 3.735 (dd, 1H,  $\text{H}_2$  ou  $\text{H}_3$ ) ; 3.504 (s, 1H, OH);  
3.437 (dd, 1H,  $\text{H}_2$  ou  $\text{H}_3$ ); 3.166 (s, 1H, OH) (Annexe RMN  $^1\text{H}$ -2)

**RMN  $^{13}\text{C}$  (300 MHz, DMSO - $d_6$ )  $\delta$  (ppm)**: 173.180 (C,C=S) ; 151.884 (C,C=N);  
73.118 (C,  $\text{C}_1$  et  $\text{C}_4$ ) ; 65.985 (C, $\text{C}_2$  et  $\text{C}_3$ ) (Annexe RMN  $^{13}\text{C}$ -2)

### C.II.4 Synthèse du 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4H-1,2,4-triazol-3-yl)butane -1,2,3,4-tetrol (B-7)

Le 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3H)-thione) (**B-6**) (1.0 g 0.0031 mole) est dissout dans de l'éthanol (80.0 mL). De l'hydrazine hydratée 64% (5.0 mL) est ajoutée à la solution.

Le mélange est porté au reflux sous agitation magnétique à 90 °C pendant 8 heures. La réaction est suivie par CCM. (Ethanol/Toluène; 6:4; V:V)  $R_f$ : 0.52

L'excès de solvant est évaporé, le produit est lavé avec de l'acétate d'éthyle puis recristallisé avec un mélange MeOH/H<sub>2</sub>O (2/1) pour donner des cristaux de couleur marron (**B-7**) (0.78 g). (Rendement : 72.2 %)

**Caractéristiques du produit :**

**T<sub>f</sub>** : 142.7 °C

**IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>)** : 3431.71 (OH); 3315.03(NH); 2620.79 (SH); 1621.84 (C=N)  
(Annexe IR-5)

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO -d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm)** : 8.878 (s, 1H, OH); 8.828 (s, 1H, OH); 8.408 (s, 1H, OH); 8.223 (s, 1H, OH); 5.646 (s, 2H, NH<sub>2</sub>); 4.198 (s, 1H, SH); 4.031 (d, 1H, H<sub>1</sub> ou H<sub>4</sub>); 3.870 (t, 1H, H<sub>2</sub> ou H<sub>3</sub>); 3.462 (d, 1H, H<sub>1</sub> ou H<sub>4</sub>); 3.403 (dd, 1H, H<sub>2</sub> ou H<sub>3</sub>). (Annexe RMN <sup>1</sup>H-3)

**RMN <sup>13</sup>C (300 MHz, DMSO -d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm)** : 181.598 (C,C-SH); 165.942 (C,C=N); 142.457 (C, C<sub>1</sub> et C<sub>4</sub>); 140.917 (C, C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub>) (Annexe RMN <sup>13</sup>C-3)

**C.II.5 Synthèse du 2,2'-(2,3,4,5-tetrahydroxy -1,6-dioxohexane -1,6-diyl)dihydrazine carbothioamide ou Bis(thiosemicarbazide) -D-glucarique (B -8)**

Le 1,6-dihydrazide D-glucarique (**B-5**) (1.0 g, 0.0042 mole) est dissout dans de l'eau distillée (40.0 mL). A cette solution est ajouté du thiocyanate d'ammonium (1.40 g, 0.0186 mole) et de l'acide chlorhydrique (30 mL).

Le mélange est porté au reflux sous agitation magnétique à 80 °C pendant 8 heures.

L'avancement de la réaction est suivi par CCM. (Ethanol/Toluène; 6:4; V:V) R<sub>f</sub>: 0.60

Le solvant est évaporé, le produit obtenu est recristallisé avec du méthanol pour donner des cristaux beiges (**B-8**) (1.32 g). (Rendement : 88.6 %)

**Caractéristiques du produit :**

**T<sub>f</sub>** : 100 °C

**IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>)** : 3442.31 (OH); 3196.43 (NH); 1623.77 (CO-N); 1381.75 (C=S).  
(Annexe IR-6)

**C.II.6 Synthèse du 1,4-bis(5-mercapto -4H-1,2,4-triazol -3-yl)butane -1,2,3,4-tetrol (B-9)**

**Première méthode : synthèse dans l'éthanol**

Le thiosemicarbazide (**B-8**) (1.0 g, 0.0028 mole) est dissout dans de l'éthanol (40.0 mL). A cette solution est ajouté un mélange constitué d'hydroxyde de sodium (0.33 g) et d'éthanol (10.0 mL). La réaction est immédiate et entraîne l'apparition de cristaux beiges.

La réaction est maintenue 30 minutes sous agitation magnétique et est suivie par CCM (Ethanol/Toluène; 6:4; V:V)  $R_f$ : 0.83

Les cristaux sont filtrés, dissouts dans de l'acétate d'éthyle (afin de les séparer du composé **(B-8)** restant), cristallisés puis recristallisés avec de l'eau distillée donnant des cristaux beiges **(B-9)** (0.76 g). (Rendement : 84.4 %)

**Caractéristiques du produit :**

$T_f$ : 72 °C

**IR (KBr)  $\nu_{max}$  ( $cm^{-1}$ )** : 3414.35 (OH et NH) ; 2535.93 (SH) ; 1618.95 (C=N)  
(Annexe IR-7)

**Deuxième méthode : synthèse en milieu aqueux :**

Le thiosemicarbazide **(B-8)** (1.0 g, 0.0028 mole) est dissout dans de l'eau distillée (40.0 mL) et ajouté à une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (0.33 g).

Le tout est porté au reflux sous agitation magnétique à 80 °C pendant 8h.

La réaction est suivie par CCM. (Ethanol/Toluène; 6:4; V:V)  $R_f$ : 0.83

La solution est ensuite acidifiée jusqu'au pH 1 et le solvant est évaporé. Il apparait alors un précipité qui est dissout dans de l'acétate d'éthyle, cristallisé puis recristallisé avec du méthanol pour donner des cristaux beiges **(B-9)** (0.79 g). (Rendement : 88 %)

**Caractéristiques du produit :**

$T_f$ : 72 °C

**IR (KBr)  $\nu_{max}$  ( $cm^{-1}$ )** : 3426.89 (OH et NH); 2529.18 (SH); 1637.93 (C=N) (Annexe IR-8)

**RMN  $^1H$  (300 MHz, DMSO - $d_6$ )  $\delta$  (ppm)** : 13.936 (s, 1H, NH forme thiole ou thione); 12.016 (s, 1H, NH forme thiole ou thione); 8.667 (s, 1H, OH); 8.217 (s, 1H, OH); 4.456 (s, 1H, SH); 4.304 (s, 1H, OH); 4.211 (s, 1H, OH) ; 4.084 (d, 1H,  $H_1$  ou  $H_4$ ) ; 3.961 (dd, 1H,  $H_2$  ou  $H_3$ ) ; 3.909 (d, 1H,  $H_1$  ou  $H_4$ ) ; 3.830 (dd, 1H,  $H_2$  ou  $H_3$ ). (Annexe RMN  $^1H$ -4)

**RMN  $^{13}C$  (300 MHz, DMSO - $d_6$ )  $\delta$  (ppm)**: 182.011 (C,C-SH) ; 173.521 (C,C=N); 161.378 (C,  $C_1$  et  $C_4$ ) ; 140.871 (C, $C_2$  et  $C_3$ ) (Annexe RMN  $^{13}C$ -4)

## Chapitre C.III Tests de solubilité

Le produit de départ (D-Glucose) ainsi que tous les produits synthétisés ont subi des tests de solubilité dans différents solvants : solvants polaires, semi-polaires et apolaires.

Les résultats de faible solubilité ou d'insolubilité totale ont été confirmés par une analyse de CCM.

Ces tests de solubilité ont été réalisés à froid, à chaud, en présence d'un excès de solvant à froid et d'un excès de solvant à chaud.

Les résultats obtenus sont donnés dans les tableaux ci-dessous :

NB : + : soluble      \* : peu soluble      - : insoluble

### C.III.1 Test de solubilité du D -glucose (B-1)

Solvant	A froid	A chaud	Excès de solvant à froid	Excès de solvant à chaud
cyclohexane	-	-	-	-
Toluène	-	-	-	-
Tétrachlorure de carbone	-	-	-	-
Dichlorométhane	-	-	-	-
Ether diéthylique	-	-	-	-
Chloroforme	-	-	-	-
Acide acétique	-	-	-	-
Acétate d'éthyle	-	-	-	-
Acétone	-	-	-	-
Ethanol	*	+	+	+
Méthanol	*	+	+	+
DMF	+	+	+	+
DMSO	+	+	+	+
Eau	+	+	+	+

C.III.2 Test de solubilité du D-glucaro -1,5:6,3-dilactone (B-3)

Solvant	A froid	A chaud	Excès de solvant à froid	Excès de solvant à chaud
cyclohexane	-	-	-	-
Toluène	-	-	-	-
Tétrachlorure de carbone	-	-	-	-
Dichlorométhane	-	-	-	-
Ether diéthylique	-	-	-	-
Chloroforme	-	-	-	-
Acide acétique	-	-	-	-
<b>Acétate d'éthyle</b>	-	*	-	*
Acétone	+	+	+	+
Ethanol	+	+	+	+
Méthanol	+	+	+	+
DMF	+	+	+	+
DMSO	+	+	+	+
Eau	+	+	+	+

C.III.3 Test de solubilité du 1,6-dihydrazide D -glucarique (B-5)

Solvant	A froid	A chaud	Excès de solvant à froid	Excès de solvant à chaud
cyclohexane	-	-	-	-
Toluène	-	-	-	-
Tétrachlorure de carbone	-	-	-	-
Dichlorométhane	-	-	-	-
Ether diéthylique	-	-	-	-
Chloroforme	-	-	-	-
Acide acétique	-	-	-	-
<b>Acétate d'éthyle</b>	-	-	-	-
Acétone	-	-	-	-
Ethanol	-	-	-	-
Méthanol	-	-	-	-
DMF	-	-	-	-
DMSO	-	*	-	+
Eau	+	+	+	+

C.III.4 Test de solubilité du 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane -1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione) (B-6):

Solvant	A froid	A chaud	Excès de solvant à froid	Excès de solvant à chaud
cyclohexane	-	-	-	-
Toluène	-	-	-	-
Tétrachlorure de carbone	-	-	-	-
Dichlorométhane	-	-	-	-
Ether diéthylique	-	-	-	-
Chloroforme	-	-	-	-
Acide acétique	-	-	-	-
<b>Acétate d'éthyle</b>	*	+	*	+
Acétone	+	+	+	+
Ethanol	+	+	+	+
Méthanol	+	+	+	+
DMF	+	+	+	+
DMSO	+	+	+	+
Eau	-	-	-	-

C.III.5 Test de solubilité du 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane - 1,2,3,4-tetrol (B-7) :

Solvant	A froid	A chaud	Excès de solvant à froid	Excès de solvant à chaud
cyclohexane	-	-	-	-
Toluène	-	-	-	-
Tétrachlorure de carbone	-	-	-	-
Dichlorométhane	-	-	-	-
Ether diéthylique	-	-	-	-
Chloroforme	-	-	-	-
Acide acétique	-	-	-	-
<b>Acétate d'éthyle</b>	-	-	-	-
Acétone	-	-	-	-
Ethanol	-	-	-	-
Méthanol	-	-	-	-
DMF	+	+	+	+
DMSO	+	+	+	+
Eau	+	+	+	+

C.III.6 Test de solubilité du 2,2' - (2,3,4,5-tetrahydroxy -1,6-dioxohexane -1,6-diyl) dihydrazine carbothioamide (B -8) :

Solvant	A froid	A chaud	Excès de solvant à froid	Excès de solvant à chaud
cyclohexane	-	-	-	-
Toluène	-	-	-	-
Tétrachlorure de carbone	-	-	-	-
Dichlorométhane	-	-	-	-
Ether diéthylique	-	-	-	-
Chloroforme	-	-	-	-
Acide acétique	-	-	-	-
<b>Acétate d'éthyle</b>	-	-	-	-
Acétone	-	-	-	-
Ethanol	-	*	*	+
Méthanol	+	+	+	+
DMF	+	+	+	+
DMSO	+	+	+	+
Eau	+	+	+	+

C.III.7 Test de solubilité du 1,4-bis(5-mercapto -4*H*-1,2,4-triazol -3-yl)butane -1,2,3,4-tetrol (B -9) :

Solvant	A froid	A chaud	Excès de solvant à froid	Excès de solvant à chaud
cyclohexane	-	-	-	-
Toluène	-	-	-	-
Tétrachlorure de carbone	-	-	-	-
Dichlorométhane	-	-	-	-
Ether diéthylique	-	-	-	-
Chloroforme	-	-	-	-
Acide acétique	-	-	-	-
<b>Acétate d'éthyle</b>	-	-	-	*
Acétone	+	+	+	+
Ethanol	+	+	+	+
Méthanol	+	+	+	+
DMF	+	+	+	+
DMSO	+	+	+	+
Eau	+	+	+	+

## C.IV Activité biologique

Un examen bactériologique a été réalisé afin d'apprécier la sensibilité ou la résistance de différentes bactéries vis-à-vis de chaque produit chimique à tester, à savoir : Le (B-1), (B-3), (B-5), (B-6), (B-7), (B-8) et le (B-9).

### C.IV.1 Principe

Le principe de cet examen consiste à disposer, dans une boîte à pétrie contenant une gélose Mueller Hinton (MH) et inoculée par une souche bactérienne, des disques de papier imprégnés du produit chimique « à tester » à une concentration donnée.

Après incubation, il est possible de voir la croissance bactérienne ainsi que des zones circulaires d'inhibition de la croissance, à proximité de chaque disque.

Plus la zone d'inhibition est grande, plus grande est la sensibilité de la souche bactérienne vis-à-vis du produit testé.

### C.IV.2 Mode opératoire

Les bactéries utilisées pour réaliser cet examen bactériologique sont :

- Bactéries à gram positif :
  - *Staphylococcus aureus* (ATCC ref. 25923)
  - *Listeria inovanii*
  
- Bactéries à gram négatif :
  - *Pseudomonas aeruginosa*
  - *Acenitobacter sp*
  - *Klebsiella pneumoniae*
  - *Salmonella sp*
  - *Escherichia coli* (ATCC ref. 25925)

Les *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ainsi que *Listeria inovanii* sont des souches jeunes obtenues à partir d'une collection du laboratoire de microbiologie du C.H.U. d'Oran. Toutes les autres bactéries ont été prélevées sur des patients au niveau du C.H.U. d'Oran.

Chaque composé chimique synthétisé est dissout dans du DMSO pour préparer des solutions d'une concentration de 30 mg/mL. Ces dernières sont stérilisées par filtration.

Des disques de papier, préalablement stérilisés à 170 °C pendant 30 mn, sont introduits dans ces solutions et ceci pour y être imprégnés du produit à tester.

Chaque boîte de pétrie contenant un milieu gélosé MH est inoculée avec 0.1 mL d'une suspension bactérienne dont l'opacité est équivalente à 0.5 Mc Farland ( $10^8$  UFC/mL). L'inoculum est réparti sur l'ensemble de la surface.

Les disques de papier saturés sont disposés à la surface du milieu gélosé MH.

L'incubation est à 37°C pendant 24 h.

L'Amoxicilline + acide clavulanique (**AMC**) et la Spiramycine (**S**) sont pris comme antibiotiques de référence.

La mesure du diamètre de la zone claire autour du disque permet d'évaluer l'activité inhibitrice du produit vis-à-vis de la bactérie utilisée.

Les zones d'inhibition sont définies comme suit :

- Le produit est actif pour un diamètre > 15 mm
- Le produit est modérément actif pour un diamètre compris entre 8 et 15 mm
- Le produit est inactif pour un diamètre < 8 mm

### C.IV.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

Différentes dilutions sont préparées à partir d'une solution mère de 30 mg/mL afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour laquelle le produit synthétisé exerce un effet d'inhibition vis-à-vis d'une bactérie testée.

Les dilutions préparées sont les suivantes : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

**Tab. C-2 : Résultats de la détermination de la CMI**

Produits chimiques	Bactéries						
	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Listeria inovanii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acenitobacter sp</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>E.coli</i>
(B-1)	*	*	*	*	*	*	*
(B-3)	*	*	*	*	*	*	*
(B-5)	1/32	1/16	1/16	1/16	1/16	1/16	1/16
(B-6)	1/16	1/16	1/8	*	1/8	1/8	1/16
(B-7)	1/32	1/8	1/8	*	1/8	*	1/16
(B-8)	1/8	1/8	*	*	*	*	1/4
(B-9)	1/8	*	1/16	*	*	*	*

\* : Produit inactif

## ***CONCLUSION GENERALE***

Le travail présenté dans ce mémoire est basé sur la synthèse de nouveaux analogues de nucléosides à doubles bases dérivant du D-Glucose. Ces derniers sont :

Le 5,5'-(1,2,3,4-tetrahydroxybutane-1,4-diyl)bis(1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione), le 1,4-bis(4-amino-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol et le 1,4-bis(5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butane-1,2,3,4-tetrol.

Différents exemples de synthèse d'analogues nucléosidiques, obtenus par greffage d'un ose (ou dérivés) sur une base azotée (ou dérivés) ou inversement, ont été largement étudiés. Ces synthèses nécessitaient des réactions de protection et de déprotection pas toujours facile à réaliser et qui diminuent le rendement.

La particularité de ce travail repose sur le fait que l'analogue nucléosidique à double base est synthétisé à partir du monosaccharide lui-même. Il n'y a donc pas nécessité de greffage. Ceci a été possible grâce à la formation d'une dilactone qui confère la protection nécessaire à la molécule et permet donc le bon déroulement de la réaction. Les étapes de protection et de déprotection sont donc évitées.

La préparation de ces nouveaux composés a nécessité le passage par plusieurs intermédiaires, et leur caractérisation a été réalisée par des méthodes physico-chimiques telles que : **T<sub>f</sub>**, **IR**, **RMN-<sup>1</sup>H** et **RMN-<sup>13</sup>C**.

Ces analogues ont montré une efficacité prouvée sur un ensemble de bactéries (gram + et gram -). Il serait donc intéressant de réaliser des tests antiviraux et antifongiques afin de compléter l'analyse antimicrobienne.

Il serait également possible d'effectuer la synthèse d'autres analogues nucléosidiques à partir des différents monosaccharides, qu'ils soient sous forme de pentoses, hexoses ou même heptoses.

## ***BIBLIOGRAPHIE***

1. V. A. Bloomfield; D. M. Crothers; I. Tinoco, “*Nucleic acids: structures, properties, and functions*”, University science books: Californie, **2000**, pp 1,13,14
2. R. H. Garrett; C. M. Grisham; B. Lubochinsky, “*Biochimie*”, traduction 2<sup>ème</sup> édition, De boeck Université : Bruxelles, **2000**, pp 328-344
3. J. McMurry ; E. Simanek, “*Chimie organique: Les grands principes*”, 2<sup>ème</sup> édition, Dunod : Paris, **2007**, pp 554-563
4. C. Simons, “*Nucleoside mimetics: their chemistry and biological properties*”, advanced chemistry texts, Gordon and Breach Science Publishers: Amsterdam , **2001**, pp 7, 9, 29
5. E. S. H. El Ashry; Y. El Kilany, in “Advances in heterocyclic chemistry”, A. R. Katritzky, Academic Press , **1997**, Vol. 67, pp 395- 421
6. E. S. H. El Ashry; Y. El Kilany, in “Advances in heterocyclic chemistry”, A. R. Katritzky, Academic Press, **1998**, Vol. 69, pp 131- 149
7. M. Moulin ; A. Coquerel, “*pharmacologie : connaissances et pratique*”, 2<sup>ème</sup> édition, Masson : Paris, **2002**, pp 273-416
8. T. S. Mansour; R. Storer, in “*Current Pharmaceutical Design, a timely review journal on recent advances in drug design*”, Bentham Science Publishers: Miami, **1997**, Vol. 3, N° 2, pp 246, 254
9. G. M. Blackburn, “*Nucleic acids in chemistry and biology*”, 3<sup>ème</sup> edition, Royal Society of Chemistry: Cambridge, **2006**, p 114
10. N.K. Sanyal; R. P. Ojha; M. Roychoudhury, *Journal of Theoretical Biology*, **1991**, Vol. 150, Issue 3, pp 277-286
11. Ying Lan Jin; Joon Hee Hong, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2005**, Vol. 26, No. 9, pp 1366-1368
12. M. Belkadi; A. A. Othman, *Arkivoc*, **2006**, Vol. 11, pp 183-195
13. D. C. K. Chu, “*Recent advances in nucleosides: chemistry and chemotherapy*”; Elsevier, 1<sup>ère</sup> édition, **2002**, p 301
14. M. V. Kisakürek; H. Rosemeyer, “*Perspectives in nucleoside and nucleic acid chemistry*”, Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, **2002**, p 44
15. J. S. Brimacombe, “*Carbohydrate Chemistry*”; Royal Society of Chemistry , **1979**, Vol. 11, pp 146, 261, 271
16. A. R. Katritzky, “*Advances in heterocyclic chemistry*”, Elsevier Science & Technology , **1997**, Vol 68, pp 338, 362
17. N. R. Williams, “**Carbohydrate Chemistry: Mono -Di-Tri-saccharides and their derivatives, part I** ”, Royal Society of Chemistry, **1983**, **Vol. 14, p 190**
18. E. S. H. El Ashry, “Heterocycles from carbohydrate precursors”, Springer , **2007**, Vol. 7, pp 15, 22
19. H. Vorbrüggen; C. Ruh-Pohlenz, “*Handbook of nucleoside synthesis*”, wiley-IEEE, **2001**, Vol. 67, p 4
20. A. R. Katritzky, “*Advances in heterocyclic chemistry*”, Elsevier, **1998**, Vol. 70, pp 249- 443

21. J. Fensholdt; J. Wengel, *Acta Chem. Scand*, **1996**, 50, p 1157
22. G. Wang; P. J. Middleton, *Tetrahedron lett.*, **1996**, 37, pp 2739-2742
23. C. Andersen; P. K. Sharma; M. S. Christensen; N. S. Pedersen; P. Nielsen, *Oxford University Press*, **2008**, 52, pp 275-276
24. M. A. M. Taha; S. M. El-Badry, *Journal of Chinese Chemical Society*, **2006**, 53, 1181-1188
25. C. K. Chu, *“Antiviral nucleoside: chiral synthesis and chemotherapy”*, Elsevier, **2003**, pp1-3
26. B. A. Cunha, *“Antibiotic Essentials 2010”*, 9ème edition, Jones & Bartlett Publishers: USA, **2010**, pp 562, 578
27. M. C. Perry; *“The chemotherapy source book”*, 5ème edition, Lippincott Williams & Wilkins, **2008**, pages 499-518
28. K. J. Ryan; C. G. Ray; N. Ahmed; W. L. Drew; J. J. Plorde, *“Sherris medical microbiology”*, 5ème edition, McGraw Hill Professional: USA, **2010**, p 162
29. K. Maramorosch; A. J. Shatkin; F. A. Murphy, *“Advances in Virus Research”*, 1ère edition, Academic Press: USA, **2009**, Vol. 73, pp 13-15, 18
30. P. Marcellin ; T. Asselah, *“Hépatites virales”*, Editions Doin : Paris, **2008**, p 75
31. J. Nakamura ; L. Lou, *The American Society for Biochemistry and Molecular Biology* **1995**, vol. 270, N° 13, pp 7347-7353
32. M. Sako; T. Saito; K. Kameyama; K. Hirota; Y. Maki, *Synthesis*, **1987**, pp 829-831
33. P. Wang; L. Hollecker; K. W. Pankiewicz; S. E. Patterson; T. Whitaker; T. R. McBrayer; P. M. Tharnish; R. W. Sidwell; L. J. Stuyver; M. J. Otto; R. F. Schinazi; K. A. Watanabe, *J. Med. Chem.* **2004**, 47, pp 6100-6103.
34. J. G. Fernandez-Bolanos; N. A. L. Al-Masoudi; I. Maya , *“Sugar derivatives having sulfur in the ring”*, 6ème edition, Academic Press, **2001**, Vol. 57, pp 33-34
35. J. C. Martin; *“Nucleotide analogues as antiviral agents”*, American Chemical Society, **1989**, Vol. 40, p 1190
36. P. Herdewijn, *“Modified Nucleosides: In Biochemistry, Biotechnology and Medicine”*, Wiley –VCH, **2008**, pp 601 -610
37. A. W. Johnson, *“Invitation à la chimie organique”*, De Boeck, **2003**, p 547
38. M. Platz; R. A. Moss; M. Jones, *“Reviews of reactive intermediate chemistry”*, Wiley-Interscience, **2007**, p 189
39. E. Pretch; P. Buhlmann; C. Affolter, *“Structure determination of organic compounds: Tables of spectral data”*, 3ème édition , Springer, **2000**, pp 265-269, 273-303
40. S. Coffey, *“Rodd’s chemistry of carbon compounds”*, 2ème edition, Elsevier, **1967**, Vol. 1, Partie F, pp 270-290
41. M. Ibert; F. Marsais; N. Merbouh; C. Brückner, *Carbohydrate Research* , **2002**, 337, pp 1059–1063
42. E. Pretch; P. Buhlmann; C. Affolter, *“Structure determination of organic compounds: Tables of spectral data”*, 3ème édition , Springer, **2000**, pp 186-237
43. E. Pretch; P. Buhlmann; C. Affolter, *“Structure determination of organic compounds: Tables of spectral data”*, 3ème édition Springer, **2000**, pp 104-158