



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

DB 6020

UNIVERSITE DE NANCY 1
1992

GROUPE DE FORMATION DOCTORALE "BIOLOGIE-MEDICAMENT"

THESE

présentée et soutenue publiquement
le 29 Juin 1992

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE NANCY 1

Mention Chimie Thérapeutique

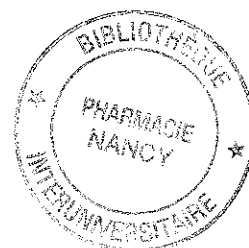
par

Nicolas AUZEIL

Titulaire du Diplôme d'Etudes Approfondies
de

Pharmacologie

Métabolisme des Médicaments et Pharmacologie Clinique



Sujet :

**RECHERCHE D'ANTIFONGIQUES INHIBITEURS DE L'ADHESION :
SYNTHESE ET ACTIVITE BIOLOGIQUE DE THIO-DERIVES
LIPOPHILES (THIOCYANATES, THIOUREES, AZOLES MONO ET
POLYCYCLIQUES).**

MEMBRES DU JURY

<u>Président</u>	:	V. LOPPINET, Professeur (Faculté de Pharmacie de Nancy)
<u>Juges</u>	:	B. LOUBINOUX, Professeur (Faculté des Sciences de Nancy)
	:	R. BONALY, Professeur (Faculté de Pharmacie de Nancy)
	:	A. CARTIER, Chargé de recherche au CNRS
<u>Rapporteurs</u>	:	C.G. WERMUTH, Professeur (Faculté de Pharmacie de Strasbourg)
	:	J. VAN CUTSEM, Dir. Départ. Bactériologie et Mycologie (Lab. Janssen - Beerse Belgique)



UNIVERSITE DE NANCY I

GROUPE DE FORMATION DOCTORALE "BIOLOGIE-MEDICAMENT"

Président : G. SIEST, Professeur de Biochimie Pharmacologique
(URA CNRS 597 - Centre du Médicament - U.F.R. PHARMACIE - NANCY)

Membres du Bureau

Collège I : (Professeurs)

J. ATKINSON, Professeur de Pharmacologie cardiovasculaire
Pharmacologie cardiovasculaire - U.F.R. PHARMACIE - NANCY

A.M. BATT, Professeur de Toxicologie
URA CNRS 597 - U.F.R. PHARMACIE - NANCY

J.C. BLOCK, Professeur Santé Environnement
Santé et Environnement - U.F.R. PHARMACIE - NANCY

J.C. JARDILLIER, Professeur de Biochimie
GIBSA - U.F.R. PHARMACIE - REIMS

J.P. KANTELIP, Professeur en Pharmacologie Fondamentale
Pharmacologie - U.F.R. MEDECINE - BESANCON

B. KRAFFT, Professeur de Biologie du Comportement
URA CNRS 1293 - U.F.R. STB - VANDOEUVRE

V. LOPPINET, Professeur de Chimie Thérapeutique
Chimie et Biochimie des Vecteurs supramoléculaires biologiquement actifs
U.F.R. PHARMACIE - NANCY

P. NETTER, Professeur de Pharmacologie
URA CNRS 1288 - U.F.R. MEDECINE - VANDOEUVRE

A. NICOLAS, Professeur de Chimie Analytique
URA CNRS 597 - U.F.R. PHARMACIE - NANCY

L. SCHWARTZBROD, Professeur de Virologie - Immunologie
Dépt. Microbiologie - U.F.R. PHARMACIE - NANCY

P. VERT, Professeur de Pédiatrie
INSERM U272 - U.F.R. MEDECINE - NANCY

Collège II : (Maîtres de conférences)

J. MOUNIE, Docteur ès Sciences Pharmaceutiques et biologiques
Formation Biochimie Pharmacologique - U.F.R. PHARMACIE - DIJON

D. DESOR, Docteur de Biologie du Comportement
URA CNRS 1293 - U.F.R. STB - VANDOEUVRE

Mes remerciements vont à :

Monsieur LOPPINET, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Nancy et directeur du laboratoire de Chimie Thérapeutique I, sous la direction duquel j'ai effectué ce travail et qui me fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

*Monsieur WERMUTH, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg et directeur de L'U.P.R. C.N.R.S. 421 Pharmacochimie moléculaire,
et
Monsieur VAN CUTSEM, Directeur du département de Bactériologie et Mycologie des Laboratoires Janssen (Beerse),
qui ont bien voulu être rapporteurs de ce travail.*

Monsieur LOUBINOUX, Professeur et directeur du laboratoire de Chimie Organique 4 de la Faculté des Sciences de Nancy,

*Monsieur BONALY, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Nancy et directeur du laboratoire de Biochimie Microbienne dans le laboratoire duquel les activités biologiques de nos produits ont été déterminées,
et
Monsieur CARTIER, Chargé de recherche au CNRS qui a eu la gentillesse d'effectuer les calculs quantiques pris en compte dans l'établissement des relations 'structure -activité".
qui ont accepté de juger ce travail.*

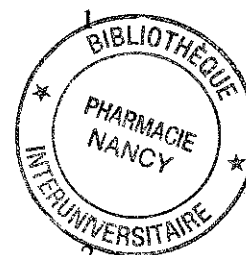
Je remercie également :

*Madame Galipienso qui a effectué la mesure des CMI des composés synthétisés,
Madame Colson et Mademoiselle Aliout qui ont participé à la frappe de ce mémoire
ainsi que l'ensemble du personnel, techniciens et étudiants, du laboratoire dont la gentillesse a contribué au plaisir que j'ai eu à travailler dans cette équipe de recherche.*

I. OBJECTIF DE RECHERCHE

II. PARTIE THEORIQUE

1.REVUE BIBLIOGRAPHIQUE



1.1 L'ADHESION DANS LE PROCESSUS DE PATHOGENESE

1.1.1. Généralités	2
1.1.11. Taxonomie : Le genre <i>Candida</i>	2
1.1.12. Biotypes	4
1.1.13. Interaction avec d'autres micro-organismes	4
♦ <i>C. albicans</i> - virus	4
♦ <i>C. albicans</i> - bactérie	4
♦ <i>C. albicans</i> - <i>Candida</i>	5
♦ <i>C. albicans</i> - autres <i>fongi</i> pathogènes	5
1.1.14. Résistance	5
1.1.15. Structure morphologique	5
♦ Introduction	5
♦ Différents aspects morphologiques de <i>C. albicans</i>	6
- Blastospores	6
- Filaments vrais (hyphes)	7
- Pseudofilaments (pseudohyphes)	7
- Chlamydospores	9
♦ Signification biologique de la transformation "levure-mycelium"	9
1.1.2. Eléments structuraux mis en jeu lors de l'adhésion : la paroi	9
1.1.21. Introduction	9
1.1.22. Composition de la paroi	10
♦ Généralités	10
♦ Les mannanes	10
♦ Les glucanes	11
♦ La chitine	12
♦ Les lipides	12
♦ Les protéines	13
1.1.23. Ultrastructure de la paroi	14
1.1.24. Adhésines	14
♦ Définition	14
♦ Les deux types d'adhésines	14
- Adhésines floculantes	15
- Adhésines fibrillaires	15
♦ Nature chimique des adhésines	15
- Protéines et mannoprotéines	16
- La chitine	17
- Glycoprotéines	17
♦ Conclusion	17
1.1.3. Mécanisme de l'adhésion	19
1.1.31. Modèles utilisés pour les études de mécanisme(s) de l'adhésion, de la colonisation et de la pathogénèse	19
1.1.311. Les différents modèles	19
1.1.312. Utilisation des différents modèles	20
1.1.313. Facteurs influençant l'adhésion, dans les différents modèles d'étude	22
1.1.314. Limites de ces modèles	23
1.1.32. Aspect physico-chimique de l'adhésion	24
♦ Introduction	24
♦ La théorie D.L.V.O.	24
1.1.33. Adhésion de <i>C. albicans</i> à des surfaces biologiques (cavité buccale) ou synthétiques (résine acrylique)	27
♦ La cavité buccale	27

♦ Surface synthétique	28
1.1.4. Rôle du processus d'adhésion dans la colonisation des tissus et la pathogénèse	29
1.2. CANDIDOSES	30
1.2.1. Introduction	30
♦ Définition et historique	30
♦ Recrudescence des candidoses et aspect statistique	31
1.2.2. Facteurs favorisant les candidoses	32
1.2.3. Modes d'infestation	34
1.2.4. Les différentes candidoses	35
♦ Candidoses superficielles	35
♦ Candidoses viscérales ou profondes	35
♦ Candidoses muco-cutanées chroniques	35
♦ Candidoses allergiques	35
1.3. MEDICAMENTS DES CANDIDOSES	36
1.3.1. Introduction	36
1.3.2. Les différentes classes d'anticandidosiques	36
1.3.21. Les polyènes	36
♦ Généralités	36
♦ Structure	37
♦ Mécanisme d'action	38
♦ Points faibles	39
- Toxicité	39
- Résistance	39
1.3.22. Azolés	39
♦ Généralités	39
♦ Structure	41
♦ Mécanisme d'action	41
♦ Points faibles	47
- Toxicité	47
- Résistance	47
1.3.23. Autres antifongiques	47
♦ 5-fluorocytosine	47
♦ Allylamine	48
♦ Extraits d'ail (<i>Allium sativum</i>)	49
♦ Synoptique de quelques autres antifongiques commerciaux	49
1.3.3. Conclusion	50
1.4. MOLECULES PRESENTANT UNE ACTIVITE INHIBITRICE DE L'ADHESION	50
1.4.1. Antifongiques utilisés en thérapeutique	50
1.4.2. Les extraits d'ail (<i>allium sativum</i>)	51
1.4.3. Autres principes antifongiques	52
♦ Noxythioline	52
♦ Composés à fonction thiol	52
1.5. CONCLUSION	52
2. CHIMIE	53
2.1. SYNTHÈSE DES MONO ET DITHIOLS INSATURES : OBTENTION DES PRECURSEURS IA,B,C II A-D ET DES DITHIOLS ID,E	53
2.1.1. Objectifs pharmacochimiques	53
2.1.2. Stratégie de synthèse	53

2.1.21. Principales voies d'accès à la structure thiol	53
2.1.22. Choix des méthodes retenues	55
- Voie des xanthates ; obtention des précurseurs Ia-b et IIa-d	55
- Voie des thiouroniums : obtention du dithiol Id	55
- Voie des thioesters	55
2.1.23. Plan de synthèse	55
2.1.231. Synthèse du 1,4-bis (dithiocarbonato-O-méthyle-S-)but-2- yne Ia et du 1,4-bis (dithiocarbonato-O-éthyle-S-)but-2-ène Ib	56
2.1.232. Synthèse du 1,6-diacétylthiohex-3-ène Ic	56
2.1.233. Synthèse du 1,2-bis (4-mercaptométhylphényl) éthylène Id	58
2.1.234. Synthèse du 1,2-bis (p-mercaptométhylstyril)benzène Ie	59
2.1.235. Synthèse des dithiocarbonates de O-éthyle et de S-4- aroxybut -2-èn-1-yle II .	60
2.1.24. Intérêts des thiols	62
2.2. SYNTHÈSE DES THIOCYANATES DE 4-AROXY-BUT-2-EN-1-YL .III	62
2.2.1. Objectifs pharmacochimiques	62
2.2.2. Stratégie de synthèse	62
2.2.21. Principales voies d'accès à la fonction thiocyanate	62
2.2.22. Choix de la méthode retenue	64
2.2.23. Plan de synthèse	64
2.3. SYNTHÈSE DES 4-AROXY-1-(2-MERCAPTOBENZO- THIAZOLYL)BUT-2-ENES ET 4-AROXY-1-(2-MERCAPTOBEN- ZOXAZOLYL)BUT-2-ENES. IV	65
2.3.1. Objectif pharmacochimique	65
2.3.2. Plan de synthèse	66
2.4. SYNTHÈSE DES N-BIS(4-AROXYBUT-2-EN-1-YL) N'-(4-CHLOROPHENYL, 1-NAPHTYL, 1-ALLYL) THIOUREES. V	67
2.4.1. Objectifs pharmacochimiques	67
2.4.2. Stratégie de synthèse	67
2.4.21. Principales voies d'accès aux thiourées trisubstituées	67
2.4.22. Choix de la méthode retenue	68
2.4.23. Plan de synthèse	68
2.4.24. Composés obtenus	71
2.4.25. Intérêt industriel des thiourées	72
2.5. SYNTHÈSE DES 1-(BIS-(4-AROXYBUT-2-EN-1-YL)AMINO)-4- (4-CHLOROPHENYL)THIAZOLES IVA-F ET 1-(BIS(4-AROXYBUT- 2-EN-1-YL)AMINO)-4-(1-NAPHTYL)THIAZOLES. VIG-L	73
2.5.1. Objectifs pharmacochimiques	73
2.5.2. Stratégie de synthèse	73
2.5.21. Principales voies d'accès aux 2-dialcoylaminothiazoles	73
2.5.22. Choix de la méthode retenue	75
2.5.23. Plan de synthèse	75
2.5.24. Composés obtenus.	78
2.5.25. Intérêt industriel des thiazoles.	78
2.6. SYNTHÈSE DES DERIVES 5-ALCOYL-4-ARYL-3-MER- CAPTO-1,2,4-TRIAZOLES VII	80
2.6.1. Objectifs pharmacochimiques	80
2.6.2. Stratégie de synthèse	80
2.6.21. Principales voies d'accès aux 1,2,4-triazoles	80

2.6.22. Choix de la méthode retenue	81
2.6.23. Plan de synthèse	81
2.6.24. Composés obtenus	85
2.7. SYNTHÈSE DES 1-THIOALCENYL-2-ANILIDYL- IMIDAZOLES VIII	88
2.7.1. Objectif pharmacochimique	88
2.7.2. Stratégie de synthèse et plan de synthèse	89
3. ACTIVITE BIOLOGIQUE	94
3.1. INTRODUCTION	94
3.2. ACTIVITE ANTIADHERENTE.	94
3.2.1. Méthodologie: autoaggrégation des tubes germinatifs de <i>C. albicans</i> (modèle d'étude de l'adhérence)	94
3.2.11. Principe	94
3.1.12. Pouvoir antiadhérent (PA)	94
3.1.2. Résultats	95
3.3. ACTIVITE ANTIFONGIQUE	99
3.2.1. Méthodologie : détermination des CMI (première approche de l'activité antifongique)	99
3.2.2. Résultats	99
4. CORRELATION "STRUCTURE CHIMIQUE- ACTIVITE BIOLOGIQUE"	107
4.1. LES METHODES UTILISEES	107
4.1.1. Introduction	107
4.1.2. Modèles bases sur les propriétés physico-chimiques de la molécule modèle de Hansch	107
4.1.21. La méthode Hansch	107
a) Paramètres hydrophobes	108
♦ Coefficient de partage	108
♦ Paramètre chromatographique	109
♦ Calcul du coefficient de partage	109
b) Paramètres électroniques	110
c) Paramètres stériques	111
♦ Paramètres en relation avec la molécule entière	111
♦ Constantes de substituants	112
4.1.3. Modèles basés sur la structure de la molécule	112
a) Théorie de Free et de Wilson (méthode semi-empirique)	112
b) Méthode de Bocek et Kopecky	112
c) Méthode quantique, basée sur les descripteurs électroniques	113
4.2. APPLICATION DES METHODES Q.S.A.R. A NOS TRAVAUX	113
4.2.1. Méthodologie	113
4.2.2. Détermination des paramètres intervenant dans les corrélations.	114
4.2.21. Détermination expérimentale du R_m	114
4.2.22. Calcul du logP selon Hansch -Léo	117
4.2.23. Calcul des descripteurs électroniques	121
♦ Liste et définition des différents descripteurs électroniques calculés	122
♦ Résultats obtenus	125
4.2.3. Elaboration des équations de corrélation	126

♦ Méthodologie	126
♦ Résultats	127
5. DISCUSSION	132
III. PARTIE EXPERIMENTALE	
1. CHIMIE	141
Obtention du <i>1,4-bis (dithiocarbonato-O-méthyl -S-) but -2-yne. Ia</i>	142
♦ Méthode de synthèse	142
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	142
Obtention du <i>1,4 bis (dithiocarbonato-O-méthyl-S-)but -2-ène. Ib</i>	142
♦ Méthode de synthèse	142
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques	143
Obtention du <i>1,4-diéthoxycarbonylbut-2-ène. 1</i>	143
♦ Méthode de synthèse	143
♦ Caractéristiques physicochimiques et spectroscopiques	143
Obtention du <i>1,6-dihydroxyhex-3-ène. 2</i>	144
♦ Méthode de synthèse	144
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques	144
Obtention du <i>1,6-diacetylthiohex-3-ène. Ic</i>	144
♦ Méthode de synthèse	144
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques	145
Obtention du chlorhydrate de <i>4-méthylbenzyltriphénylphosphonium. 3</i>	145
♦ Méthode de synthèse	145
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	145
Obtention du <i>1,2-bis (4-méthylphényl)éthylène. 4</i>	146
♦ Méthode de synthèse.	146
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	146
Obtention du <i>1,2-bis (4-bromométhylphényl)éthylène. 5</i>	147
♦ Méthode de synthèse.	147
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques	147
Obtention du <i>bromhydrate de 1,2-bis (thiouroniumméthylphényl)éthylène. 6</i>	147
♦ Méthode de synthèse.	147
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques	148
Obtention du <i>1,2-bis (4-mercaptopméthylphényl)éthylène. Id</i>	148
♦ Méthode de synthèse.	148
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	149
Obtention du <i>chlorhydrate de 4-éthoxycarbonylbenzyltriphénylphosphonium. 7</i>	149
♦ Méthode de synthèse.	149
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	149
Obtention du <i>1,2-bis (4-éthoxycarbonylstyryl)benzène. 8</i>	150
♦ Méthode de synthèse.	150
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	150
Obtention du <i>1,2-bis (4-hydroxyméthylstyryl)benzène 9</i>	151
♦ Méthode de synthèse.	151
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	151
Obtention du <i>1,2-bis (4-tacétylthiométhylstyryl)benzène. 10</i>	151
♦ Méthode de synthèse.	151
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	152
Obtention du <i>1,2-bis (4-mercaptopméthylstyryl)benzène. Ie</i>	152
♦ Méthode de synthèse.	152
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	153
Obtention des <i>4-aroxy-1-chlorobut-2-ènes. 11-16</i>	153
♦ Méthode de synthèse.	154-156
Obtention du <i>4-(2-naphthoxy)-1-chlorobut-2-ène. 17</i>	157
♦ Méthode de synthèse.	157
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	157

Obtention des dithiocarbonates de <i>O</i> -éthyle et de <i>S</i> -4-aroxybut-2-èn-1-yle. II	157
♦ Méthode de synthèse.	157
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	158-160
Obtention des thiocyanates de 4-aroxybut-2-èn-1-yl. III	160
♦ Méthode de synthèse.	160
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	161-163
Obtention des 4-aroxy-1-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-ènes et 4-aroxy-1-(2-mercaptobenzoxazolyl)but-2-ènes. IV	163
♦ Méthode de synthèse.	163
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	163-171
Obtention des bis (4-phénoxybut-2-èn-1-yl)cyanamines. 18-23	171
♦ Méthode de synthèse.	171
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	171-174
Obtention des bis (4-aroxybut-2-èn-1-yl)amines. 24-29	174
♦ Méthode de synthèse.	174
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	174-177
Obtention des <i>N</i> -[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]- <i>N'</i> -[4-chlorophényl]thiourées, des <i>N</i> -[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]- <i>N'</i> -[1-naphtyl]thiourée, et des <i>N</i> -[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]- <i>N'</i> -[1-allyl] thiourées. V	177
♦ Méthode de synthèse.	177
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	178-190
Obtention de la 2-(1-naphtyl)-1-bromoéthan-2-one. 30	191
♦ Méthode de synthèse.	191
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	191
Obtention du 2-(1-naphtyl)-1-thiocyanatoéthan-2-one. 31	191
♦ méthode de synthèse.	191
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	191
Obtention du 2-(4-chlorophényl)-1-thiocyanatoéthan-2-one. 32	192
♦ Méthode de synthèse.	192
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	192
Obtention des 2-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)amino]-4-[4-chlorophényl]thiazoles et des 2-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)amino]-4-[1-naphtyl]thiazoles. VI	193
♦ Méthode de synthèse	193
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	193-202
Obtention des isothiocyanates de 4-biphényle 33 4-tertiobutylphényle. 34	202
♦ Méthode de synthèse.	202
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	202-203
Obtention de l'isothiocyanate de 2-(4-chlorophényl)-1-éthyle. 35	203
♦ Méthode de synthèse.	203
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	203
Obtention des 4-acyl-1-arylthiosemicarbazides 36-55 et 4-acyl-1-[2-(4-chlorophényl)éthyl]thiosemicarbazides. 56-59	204
♦ Méthode de synthèse.	204
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	204-216
Obtention des 5-alcoyl-4-aryl-3-mercapto-1,2,4-triazoles VIIa-t et 5-alcoyl-4-[2-(4-chlorophényl)éthyl]-3-mercapto-1,2,4-triazoles. VIIu-x	216
♦ Méthode de synthèse.	216
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	216-232
Obtention du 2-anilidylimidazole 60 et du 2-(4-fluoroanilidyl)imidazole. 61	232
♦ Méthode de synthèse.	232
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	232-233
Obtention du 1-(4-chlorobut-2-èn-1-yl)-2-anilidylimidazole 62 et du 1-(4-chlorobut-2-èn-1-yl)-2-(4-fluoroanilidyl)imidazole. 63	233
♦ méthode de synthèse.	233
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	234-235
Obtention du 1-(4-chloroxyl-1-yl)-2-anilidylimidazole 64 et du 1-(4-chloroxyl-1-yl)-2-(4-fluoroanilidyl)imidazole. 65	235
♦ Méthode de synthèse.	235
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	235-236
Obtention des 1-(4-thiocyanatobut-2-èn-1-yl)-2-anilidylimidazoles VIIIa,b et des 1-(4-thiocyanatoxyl-1-yl)-2-anilidylimidazoles. VIIIc,d	236
♦ Méthode de synthèse.	236

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	237-239
Obtention des dithiocarbonates de O-éthyle et de S-[1-(4-but-2-èn-1-yl)-2-anilido]imidazolyle <i>VIIIe f</i> et des dithiocarbonates de O-éthyle et de S-[1-(4-xyl-1-yl)-2-anilido]imidazolyles. <i>VIIIg, h</i>	240
♦ Méthode de synthèse.	240
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	240-242
Obtention des 1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-èn-1-yl]-2-anilidyl-imidazoles <i>VIIIi j</i> et des 1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl)xyl-1-yl]-2-anilidyl-imidazoles. <i>VIIIk, l</i>	243
♦ Méthode de synthèse.	243
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	243-245
2. ACTIVITE BIOLOGIQUE	246
2.1. ACTIVITE ANTIADHERENTE	246
2.1.1. Souche utilisée dans l'expérimentation	246
2.1.1. Milieux de cultures	246
♦ Milieu de Sabouraud	246
♦ Milieu -199	246
2.1.3. Culture des blastospores de <i>C. albicans</i> en boîte de Roux	247
2.1.4. Formation de tubes germinatifs de <i>C. albicans</i> en milieu 199 et étude de leur désagrégation par des thiodérivés.	248
2.2. ACTIVITE ANTIFONGIQUE	248
2.2.1. Souches utilisées dans notre expérimentation	248
2.2.2. Préparation de l'inoculum	249
2.2.3. Préparation des boîtes de Pétri	249
2.2.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI)	249
IV. CONCLUSION	250
BIBLIOGRAPHIE	253

I

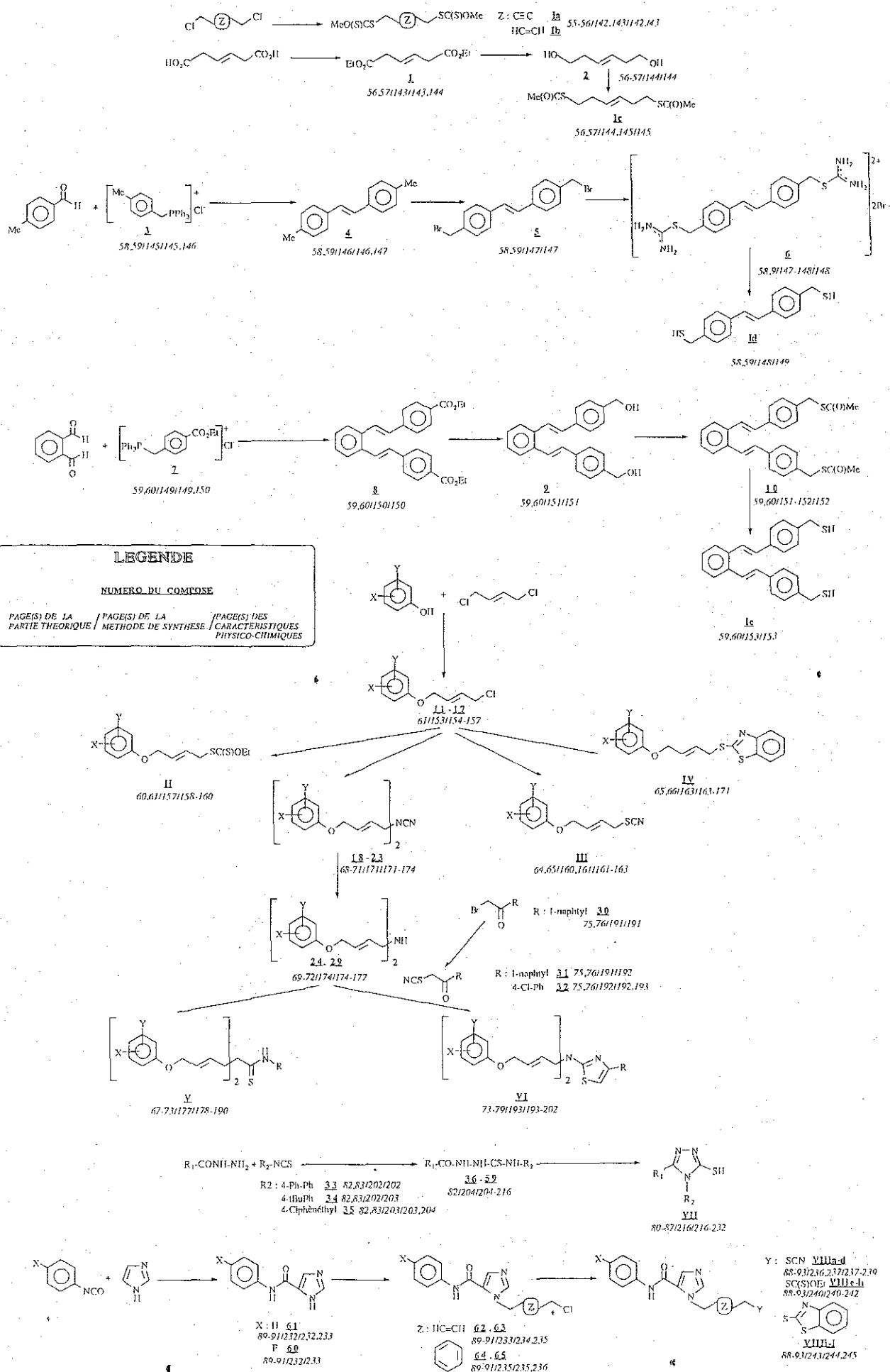
OBJECTIF DE RECHERCHE

C. albicans, levure opportuniste, rencontrée à l'état saprophyte dans le tractus digestif et urinaire, peut devenir responsable d'infections muco-cutanées et systémiques souvent gravissimes. Cette levure est à l'origine de 70 % des mycoses, maladies en nette recrudescence depuis une dizaine d'années dans les pays occidentaux.

La colonisation et donc l'infection par un micro-organisme (champignon, bactérie) est conditionnée par l'aptitude de celui-ci à adhérer à la surface de la cellule hôte. Cet "attachement" constitue donc une étape clé dans le processus de la pathogénèse. De plus, l'adhésion et l'agréation sont des facteurs de virulence permettant au champignon de résister aux défenses de l'hôte et de diminuer l'efficacité de la thérapeutique antifongique. Ainsi, *C. albicans* dont la virulence est supérieure à celle des autres fungi présente effectivement une meilleure capacité d'adhérence.

Par ailleurs, tous les antifongiques actuellement sur le marché ont été retenus pour un usage thérapeutique, essentiellement sur la base de leur capacité à inhiber la prolifération de la levure pathogène et non sur leur propriété d'inhibition de l'adhérence.

Au vu de ces constats, nous nous sommes donnés comme objectif de synthétiser des molécules antifongiques originales non plus sur la base de leur activité fongicide ou fongistatique mais sur leur capacité à inhiber l'adhésion de *C. albicans* à la surface de sa cellule hôte. Outre son originalité, un tel concept nous paraît présenter, au moins, deux avantages. Tout d'abord celui de diminuer la posologie de l'antifongique à utiliser, car il est clairement établi que la concentration inhibitrice de l'adhésion est nettement inférieure à la concentration fongicide / fongistatique. Or l'un des inconvénients majeurs des antifongiques actuellement commercialisés réside dans leur toxicité, liée en partie à leur posologie élevée, nécessaire à leur efficacité. Un deuxième avantage apparaît dans l'utilisation prophylactique de ces dérivés qui pourraient permettre d'imprégner ou de créer un film "anti-adhésion" autour de biomatériaux (cathéters, sondes, tubulures de perfusion en polypropylène ou polyvinyle, prothèses en résine, vis et plaques métalliques), qui constituent le meilleur support de *C. albicans* et le premier facteur de l'invasion fongique.



II

PARTIE THEORIQUE

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. L'ADHESION DANS LE PROCESSUS DE PATHOGENICITE DE C. ALBICANS

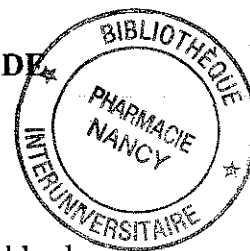
1.1.1. Généralités

1.1.1.1. Taxonomie : Le genre *Candida* *

Le genre *Candida* auquel appartient *Candida albicans* regroupe l'ensemble des levures, c'est-à-dire des *fongi* présentant de façon prédominante un mode de développement unicellulaire. Il comporte plus de 150 espèces dont le point commun principal est l'absence de forme sexuée. A l'intérieur de ce genre, seul un petit nombre d'espèces présente une signification médicale constituant ainsi une minorité au milieu d'un groupe important et disparate.

Une levure existe principalement sous forme asexuée (anaphorme - "imparfaite" selon le terme taxonomique), mais pour certaines espèces, il coexiste une forme sexuée (téléophorme - "parfaite"). D'un point de vue taxonomique il est attribué un nom différent à chacune des deux formes (sexuées et asexuées) et ce bien qu'il s'agisse de la même espèce.

Ainsi, bien que les espèces de *Candida* isolées à partir de matériel clinique sont toujours sous forme asexuée, on a pu isoler les formes sexuées pour trois des huit espèces majeures de *Candida* pathogènes et pour trois autres espèces moins fréquentes en clinique (cf. tableau I).



(*) Dans la classification systématique mycologique, le genre *Candida* se situe comme suit :

Classe : Ascomycètes (caractérisés par des ascospores renfermées dans les asques).

Sous-classe : Hemiascomycètes (les asques sont libres et nus sans perithèce)

Ordre : Endomycétales

Famille : Saccharomycetacées (Levures blastosporées)

Genre : *Candida*

Torula

Torulopsis

Tableau I. Dénomination des formes sexuées d'espèces de *Candida* (issues de matériels cliniques) d'après F.C. ODDS (2)

Nom de la forme asexuée	Nom de la forme sexuée
<i>Candida famata</i>	<i>Debaromyces hansenii</i>
<i>Candida guilliermondii</i> (var. <i>guilliermondii</i>)	<i>Pichia guilliermondii</i>
<i>Candida guilliermondii</i> (var. <i>membranaefaciens</i>)	<i>Pichia ohmeri</i>
<i>Candida kefyr</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
<i>Candida krusei</i>	<i>Issatchenkia orientalis</i>
<i>Torulopsis lusitaniae</i>	<i>Clavispora lusitaniae</i>
<i>Torulopsis norvegensis</i>	<i>Pichia norvegensis</i>

Pour l'ensemble du genre *Candida*, il existe une dizaine d'espèces reconnues pathogènes pour l'homme, vraisemblablement en raison de leur faculté d'adaptation aux températures élevées (37°C). Les noms de ces espèces sont rassemblés dans le tableau II et correspondent à la dernière révision taxonomique effectuée en 1978 (1). Cette nouvelle classification distingue deux genres : *Candida* et *Torulopsis*, ce qui soulève de nombreuses controverses dans le milieu mycologique médical. Le premier point de divergence est d'ordre taxonomique: Faut-il ou non regrouper les deux genres en un seul? Deuxièmement dans l'hypothèse où les deux genres sont effectivement réunis, quelle nomenclature faut-il conserver ?.

Tableau II. Noms des états téléomorphes des espèces de *Candida* isolées en milieu hospitalier, d'après F.C. ODDS (2)

Nom formel	Nom usuel
<i>Candida brumptii</i>	<i>Candida catenulata</i>
<i>Candida claussenii</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Candida parakrusei</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Candida paratropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Candida pseudotropicalis</i>	<i>Candida kefyr</i>
<i>Candida ravautii</i>	<i>Candida catenulata</i>
<i>Candida stelatoidea</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Torulopsis candida</i>	<i>Candida famata</i>
<i>Torulopsis glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>

1.1.12. Biotypes

A l'intérieur de l'espèce *C. albicans*, il est maintenant possible de caractériser des phénotypes dont le rôle est déterminant pour des études épidémiologiques. La différenciation en sérotypes A et B (3) fût la première méthode utilisée en routine, pour identifier des souches de *C. albicans*. Les deux sérotypes (groupes antigéniques) A et B diffèrent par leurs antigènes de surfaces. Ils ont été identifiés par une technique d'agglutination en tubes (3). Le sérotype A rassemble les souches fongiques sensibles à la flucytosine, tandis que le sérotype B regroupe celles qui sont résistantes à cet antimétabolite. A côté du sérotype, il existe bien d'autres possibilités d'identifier les différents phénotypes de *C. albicans*. Parmi celles-ci citons : la dimension des cellules, les composants antigéniques et la susceptibilité à la lyse virale; mais soulignons que les méthodes les plus performantes sont fondées sur la résistance des souches aux agents chimiques, la plus ou moins grande assimilation des sources du carbone ou d'azote et les différences morphologiques entre les colonies.

1.1.13. Interaction avec d'autres micro-organismes (1)

Plusieurs études *in vitro* (1) ont été conduites sur l'interaction de *C. albicans* avec d'autres *Candida* ou d'autres micro-organismes : la plupart de ces expériences ayant été réalisées dans le contexte de possibles interactions microbiennes au sein d'une même niche écologique (particulièrement le tractus gastro-intestinal). Les résultats de ces travaux sont parfois contradictoires.

♦ *C. albicans* - virus

Sachant que les virus ne peuvent se développer que dans un organisme hôte, il était intéressant de vérifier que les champignons pouvaient jouer ce rôle. Des études récentes ont clairement montré que *C. albicans* constitue un hôte artificiel pour le virus de la poliomyélite et celui de l'encéphalomyocardite.

♦ *C. albicans*-bactérie

In vitro, il a été démontré que plusieurs germes du genre *Enterobacteriaceae* incluant *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, plusieurs *Salmonella*, différents *Proteus*, et quelques bactéries anaérobies inhiberaient la croissance de *C. albicans*, alors que ce même champignon pouvait potentialiser la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*. Notons enfin, que plusieurs études (1) ont décrit l'interaction de substances potentiellement antibactériennes, isolées de milieux de culture de différents *Candida*.

♦ *C. albicans* - *Candida*

Contrairement aux autres types de levures, le genre *Candida* comporte plusieurs espèces qui expriment naturellement des facteurs "killers de levures". Ces molécules sont spécifiques de la souche génératrice et sont capables de détruire d'autres souches de levures.

En fait les différentes espèces de *Candida* et plus particulièrement *C. albicans*, se caractérisent par une grande sensibilité aux facteurs killers provenant d'autres espèces de *Candida*, alors qu'elle-même est dotée d'un faible pouvoir killer. Par contre, les souches de *Candida glabrata* possèdent plus souvent des propriétés de killer que les autres espèces. Ces effets sont probablement dûs aux mannoprotéines.

♦ *C. albicans* - autres *fongi* pathogènes

C. albicans inhibe la croissance d'autres *fongi* tels que certains dermatophytes. Ce phénomène est attribué à la production de CO₂ par *C. albicans*, mais pourrait aussi être lié à la formation d'acides par les levures. Il existe même un effet inhibiteur mutuel entre différentes souches de *Candida*. (*C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. kefir*, *C. krusei*).

Toutes ces études d'interaction *in vitro* de *C. albicans* avec d'autres micro-organismes (*fongi*, bactéries) constituent une simplification délibérée par rapport à la complexité du milieu écologique naturel, ce qui rend difficile leur interprétation. Effectivement, les relations de *C. albicans* avec d'autres micro-organismes peuvent être initiées par des facteurs physiologiques (compétition pour les nutriments, sécrétion de substances inhibitrices ou stimulatrices, importance de l'inoculum), ou des conditions expérimentales (pH, pression partielle en oxygène, ...).

1.1.14. Résistance

C. albicans peut se développer dans une atmosphère hyperbare en oxygène se situant aux concentrations habituelles de la réanimation, mais l'oxygène pur à une pression minimale de 2 atmosphères inhibe la croissance de cette levure. *C. albicans* est très résistant à l'effet cytolytique du glucose et du sucrose. Il peut survivre durant de longues périodes dans l'eau de mer ou l'eau distillée et il est beaucoup plus résistant à des variations d'humidité relative que d'autres espèces de *Candida*.

1.1.15. Structure morphologique

♦ Introduction

Les premières observations microscopiques de *C. albicans* ont montré que ce micro-organisme pouvait se présenter sous plusieurs formes morphologiques : arrondie (levures) ou tubulaire filamenteuse (mycélium : ensemble d'hyphes), occasionnellement

porteuses de spores biréfringentes (chlamydospores). La prédominance d'une forme par rapport à l'autre dépend essentiellement de la nature du milieu de culture (4). Au cours des années 80, de très nombreux travaux (5) ont permis de conclure que :

- Au niveau des tissus infectés toutes les formes morphologiques sont rencontrées, alors que la levure est toujours isolée sous forme de blastospore lorsqu'elle se développe à l'état saprophyte (5)
- Les thalles filamenteux (hyphes et tubes germinatifs) adhèrent mieux que leurs homologues levuriformes tant sur les épithéliums buccaux et vaginaux que sur l'endothélium vasculaire (6)

Il existe effectivement une différence de virulence entre la forme levure et la forme mycélium : cette dernière jouant un rôle pathogène prépondérant dans le processus de l'invasion tissulaire. Compte tenu de cette relation "morphologie - pathogénicité", il nous apparaît intéressant de rappeler maintenant quelques notions essentielles des différentes structures morphologiques de ce micro-organisme.

♦ Différents aspects morphologiques de *C. albicans* (1)

- Blastospores

C'est la forme unicellulaire d'un champignon, qui se caractérise par une division cellulaire (mitose) spécifique appelée bourgeonnement (fig. 1). Le bourgeonnement implique la synthèse de matériel cellulaire à partir d'un site précis de la surface de la blastospore. Le bourgeon grossit progressivement jusqu'à atteindre une phase stationnaire, au cours de laquelle, il se produit une division nucléaire, suivie de la mise en place d'un *septum* entre la cellule mère et la cellule fille. Enfin, dans une dernière étape, les deux cellules se séparent pour donner naissance à deux blastospores.

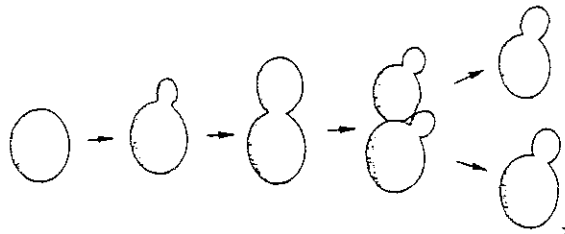


Fig.1. Processus de bourgeonnement chez *C. albicans* (le processus schématiquement rapporté ici est généralisable à la plupart des levures). Une blastospore parent (à gauche) produit une excroissance à partir d'un site péri-polaire. Ce bourgeon croît jusqu'à un stade critique de son développement. La mitose se produit, puis un *septum* apparaît à la base de l'étranglement entre les cellules mère et fille. Chaque cellule se singularise et peut alors engager un autre cycle de bourgeonnement. D'après F.C. ODDS (2)

- Filaments vrais (hyphes) :

Un hyphe est un tube microscopique (quelques microns de diamètre) qui contient plusieurs unités cellulaires fongiques séparées par des cloisons (*septa*). Les hyphes prennent naissance sur un hyphe préexistant ou sur une blastospore. Dans ce dernier cas, la blastospore génère une structure cellulaire de forme cylindrique, appelée tube germinatif, qui croît de façon continue par extension apicale. Durant cet "étirement", une série de mitoses et de cloisonnements vont se produire à l'intérieur de l'hyphe. Notons que le terme "tube germinatif" ne s'applique à l'hyphe qu'avant la formation du premier *septum* : les hyphes de *C. albicans* peuvent à leur tour bourgeonner latéralement en donnant naissance à de nouvelles blastospores ou de nouveaux hyphes (fig.2). La dénomination de mycélium recouvre l'ensemble de l'agrégat cellulaire incluant hyphes et bourgeonnements latéraux. Parmi les levures, seules *C. tropicalis* et *C. albicans* forment de véritables tubes germinatifs.

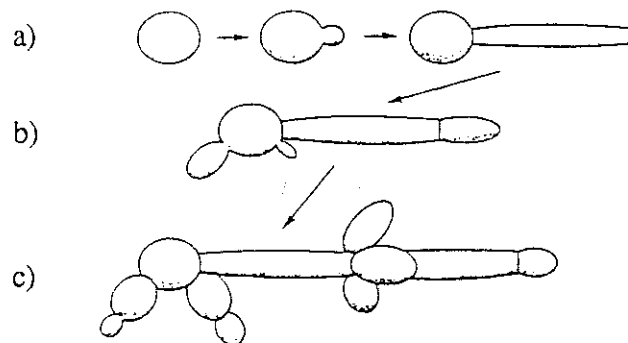


Fig.2. Formation de filaments vrais chez *C. albicans*.

a) Une excroissance cylindrique apparaît à n'importe quel point de la blastospore. L'illustration est caractéristique d'un tube germinatif de *C. albicans* : au fur et à mesure que l'hyphe s'allonge b) des *septa* se forment tandis que des blastospores bourgeonnent immédiatement à l'arrière des cloisons ainsi édifiées (c).
D'après F.C. ODDS (2)

- Pseudofilaments (pseudohyphes) :

Il ressemble morphologiquement au filament mais son mode de formation est différent. Il est, en effet, issu d'une blastospore ou d'un hyphe par un processus de bourgeonnement cylindrique et reste attaché à la cellule parentale. Ce pseudofilament croît en longueur et engendre un nouveau pseudohyphes à son extrémité. Ces pseudofilaments sont donc, en fait, des équivalents cylindriques des blastospores, car comme elles, ils ne se séparent ni les uns des autres, ni de la cellule mère. Un étranglement, sans cloison vraie, marque la limite entre chaque pseudofilament.

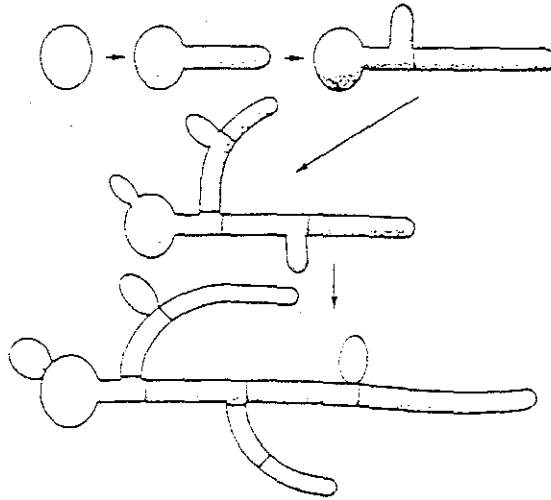


Fig.3. Formation d'hyphes latéraux. Dans nombre de milieux de culture favorisant la formation de l'hyphe (sérum à 37°C par ex) le processus de la croissance de l'hyphe débute par la formation d'un tube germinatif comme précédemment (Fig.1). Il en diffère, par l'apparition d'hyphes latéraux au lieu de bourgeons latéraux (cependant on note souvent un retour vers la formation de bourgeons latéraux dans les dernières phases exponentielles de telles cultures). D'après F.C. ODDS (2)

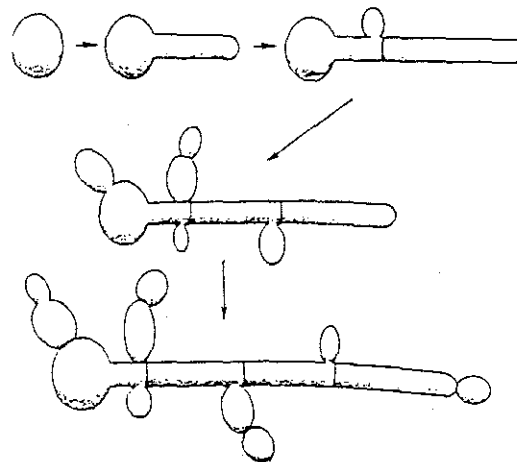


Fig.4 Formation de pseudofilaments chez *C. albicans*. Il s'agit d'un développement morphogénétique intermédiaire entre le bourgeon et l'hyphe. Le mode de développement est identique à celui de la fig.2, mais les bourgeons sont allongés et ne se séparent pas, donnant une apparence grossière plus ou moins similaire au vrai mycelium de *C. albicans*. D'après F.C. ODDS (2)

- Chlamydospores :

Il s'agit d'une blastospore particulière, caractéristique de *C. albicans*, qui est rattachée au filament par l'intermédiaire d'un élément suspenseur. Elle se reconnaît à sa grande taille et à sa paroi, épaisse et réfringente. Elle constitue probablement une forme de résistance.

♦ Signification biologique de la transformation "levure-mycélium"

La transition morphologique entre la forme ovoïde, la cellule bourgeonnante et le filament vrai est un processus régulé par l'environnement. Au cours de cette séquence, l'étirement apical ainsi que la phase de synthèse d'éléments constitutifs de la paroi déterminent la forme globale des cellules. Malheureusement, les médiateurs moléculaires de ces transitions sont inconnus. Soulignons par ailleurs, que la production de formes filamenteuses du champignon est un processus associé à l'adhésion et à l'invasion des cellules hôtes par celui-ci. Effectivement on retrouve dans l'organisme les conditions de température, de pH et d'environnement identiques à celles permettant la production de la forme filamenteuse *in vitro*. Cependant, en clinique on ne peut affirmer que le développement de formes filamenteuses et pseudofilamenteuses soit toujours associé avec l'invasion tissulaire.

1.1.2. Eléments structuraux mis en jeu lors de l'adhésion.

1.1.2.1. Introduction

La paroi de *C. albicans* exerce deux fonctions dans le développement de ce champignon : d'une part, elle constitue l'enveloppe du contenu cellulaire et d'autre part, elle est la zone de contact entre le champignon et son environnement. Ces fonctions sont importantes dans la pathogénèse et le diagnostic sérologique des candidoses. La capacité de *C. albicans* à modifier la forme de ses cellules peut être associée à sa virulence : en effet, certains composés de la surface cellulaire sont impliqués dans l'adhésion de *C. albicans* à la surface de l'hôte, tandis que d'autres paraissent exercer une activité toxique. Indiquons enfin, que les antigènes de surface peuvent être mis à profit pour le diagnostic sérologique des infections à *Candida*. Ces quelques aspects de biologie moléculaire montrent le rôle déterminant de la paroi dans le processus infectieux et justifie une présentation succincte de celle-ci.

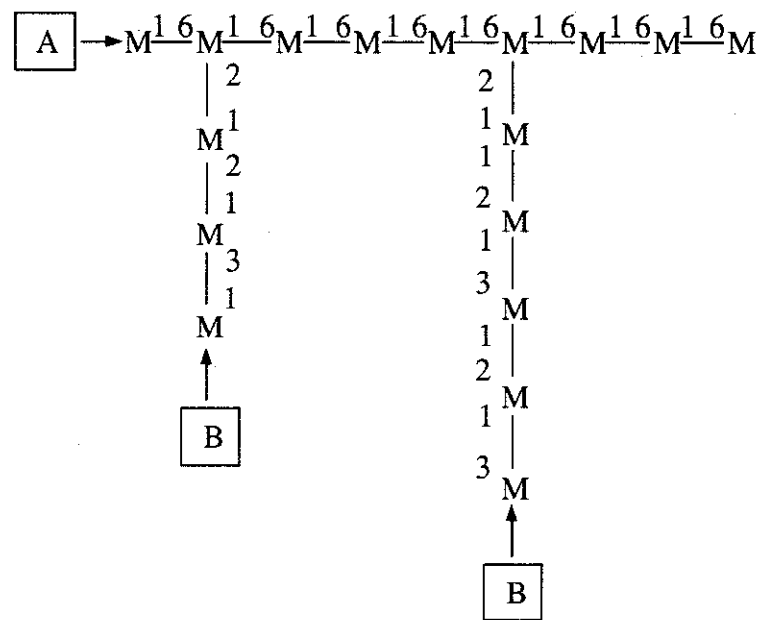
1.1.22. Composition de la paroi (7) :

◆ Généralités :

La paroi de *C. albicans* est une structure complexe d'une épaisseur approximative de 100-300 nm, dans laquelle on peut distinguer cinq à huit couches. La composition et l'apparence de ces couches peut varier, non seulement avec la forme et l'âge de la cellule, mais aussi sous l'influence de facteurs externes, tant durant le développement cellulaire qu'au cours même de l'observation de ces structures. Les études effectuées sur la composition de cette paroi ont montré que les α -mannanes et β -glucanes représentent environ 75 - 85 % du poids sec, le pourcentage restant se répartissant entre la chitine, les protéines, et les lipides, ces derniers similaires à ceux de *Saccharomyces cerevisiae*.

◆ Les mannanes (7, 8) :

L'analyse chimique des composants de la paroi de *C. albicans* montre que les mannanes représentent entre 35 % et 45 % du poids total sec de cette enveloppe. Il s'agit d'un polysaccharide à haut degré de ramification (cf. fig. 5), constitué d'un squelette de résidus mannoses (M) unis par des liaisons α -1,6- (arête centrale : A) auquel se rattachent des chaînes latérales (B), dont les liaisons M-M sont du type α -1,2 ou parfois α -1,3. Cette maille glucidique peut comporter une proportion importante d'unités phosphates liées entre elles par des ponts phosphodiester. L'analyse des mannanes isolés à partir des sérotypes A et B de *C. albicans* révèle des différences de structures qui semblent dûes au nombre et à la longueur des chaînes latérales. Par rapport au sérotype B, le sérotype A présente des chaînes latérales plus longues, une proportion et une position différente des sites d'accrochage des enchaînements α -1,2. L'impact de ces caractères différentiels sur la capacité d'adhésion de *C. albicans* n'est qu'imparfaitement connu.



M: unité de mannose

A : arête centrale α (1 $\rightarrow$ 6)

B : chaîne latérale α (1 $\rightarrow$ 2)

La longueur des chaînes latérales (B) ainsi que les proportions de liaisons α (1 $\rightarrow$ 2) et α (1 $\rightarrow$ 3) sont probablement le support de la spécificité antigénique.

Fig. 5. Représentation schématique des mannanes constitutifs de la paroi de *C. albicans*.

♦ Les glucanes (9,10) :

Ce polysaccharide, fortement ramifié, est formé d'un squelette de résidus glucoses liés entre eux par des liaisons β -1,6, auxquels sont rattachées des chaînes latérales également constituées de résidus glucoses unis par des liaisons β -1,3. Des études récentes suggèrent qu'il y aurait deux sortes de glucanes : tous deux arborescents, se caractérisant par la nature spécifique et exclusivement β -1,3 ou β -1,6 des liaisons unissant les molécules de glucose entre elles.(cf. fig. 6)

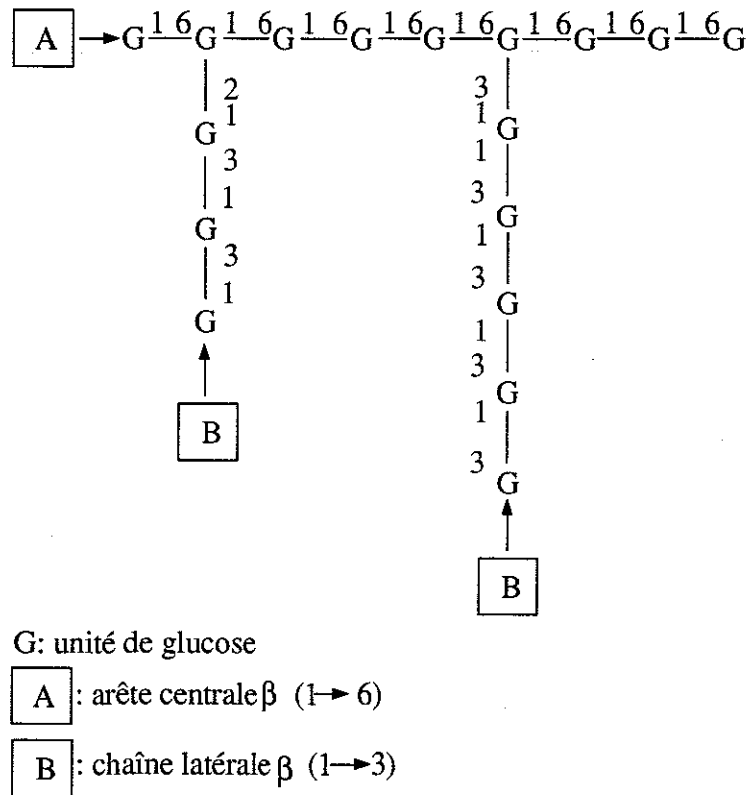


Fig. 6. Représentation schématique des glucanes, constitutifs de la paroi de *C. albicans*.

♦ La chitine (10, 11, 12, 13) :

Elle ne représente qu'une faible proportion de la paroi, variant de 0,5 % à 1 % selon l'état physiologique de la levure. Il s'agit d'un polymère constitué de résidus N-acétyl -D- glucosamine liés par des liaisons β -1,4. La chitine, qui est essentiellement localisée au niveau des cicatrices de bourgeonnement, serait complexée ou liée aux motifs glucoses. Notons enfin que la chitine est trois fois plus abondante dans la forme mycéliale que dans la forme levure.

♦ Les lipides (14, 15) :

Ils représentent environ 7 % des constituants de la paroi mais leur proportion ainsi que leur composition varient avec la forme morphologique du fong. Ainsi, il y aurait au moins deux fois plus de lipides dans la paroi de l'hyphé que dans celle de la blastospore; de même, l'accumulation de divers stérols et du triglycérol serait plus importante dans la paroi du filament. Notons également que les lipides de la levure comportent une proportion plus forte de stérols libres que ceux du mycélium. Nous rapportons dans le Tableau III, ci-après, quelques données sur la composition lipidique pariétale de *C. albicans*.

Tableau III. Composition des lipides pariétaux chez les formes levure et mycéliale de *C. albicans*. D'après M.A. GHANNOUM (15)

Lipides	Cultures de 12 h.		Cultures de 96 h.	
	Formes levures	Formes mycéliales	Formes levures	Formes mycéliales
Composés apolaires				
Hydrocarbures	Tr	Tr	Tr	Tr
Esters stéroliques	Tr	Tr	8,5	25,3
Esters aliphatiques	Tr	Tr	3,8	8,8
Triacylglycerols	Tr	Tr	6,4	16,5
Acides gras	Tr	Tr	10,4	11,2
Sterols	14,8	Tr	9,3	Tr
Composés polaires				
Glycosides stéroliques estérifiés	N.D	N.D	Tr	6,5
Monogalactosyldiacylglycérols	Tr	Tr	Tr	2,7
Glycosides stéroliques	Tr	16,5	Tr	9,1
Céramides monohexosides	10,3	Tr	8,8	Tr
Phosphatidyléthanamines	11,4	12,7	9,6	Tr
Phosphatidylglycérols	9,2	Tr	7,3	Tr
Phosphatidylcholines	25,6	28,8	15,0	4,1
Digalactosyldiacylglycérols	Tr	10,2	Tr	6,2
Phosphatidylsérines	8,8	9,9	6,9	N.D
Phosphatidylinositols	10,9	11,4	8,9	N.D
Acides phosphatidiques	9,0	7,3	4,8	N.D

Tr : Trace ; N.D. : Non déterminé ;

Céramide : $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{13}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{NH}-\text{CO}-\text{hexose})-\text{CH}_2\text{OH}$

♦ Les protéines (16) :

Le contenu en protéines de la paroi de *C. albicans* a été sensiblement moins étudié que celui en polysaccharides, bien qu'elles peuvent représenter jusqu'à 30 % de la paroi. La totalité des protéines trouvées dans les couches externes de la paroi sont associées à de grosses molécules de mannanes (17). Toutefois, on a pu isoler des protéines ne contenant presque pas de mannanes. Ceci suggère l'existence de complexes "protéine - mannose" unis entre eux par des ponts inter et intradisulfures (18) situés dans les couches externes de la paroi (chez la levure et chez le mycelium). On a également isolé, de la paroi de *C. albicans*, des complexes de glycoprotéines, de mannoprotéines et de glucomannoprotéines (19, 20). Ces macromolécules sont totalement ou en partie associées entre elles ainsi qu'aux mannanes et aux glucanes pour lesquels elles semblent servir de bras de liaison (21). Les complexes mannanes-protéines sont liés par l'intermédiaire de résidus N-acétylglucosamine et d'acides aminés constitutifs des chaînes latérales. Certaines mannoprotéines semblent servir d'adhésines.

1.1.23. Ultrastructure de la paroi

L'ultrastructure de la paroi de *C. albicans* a fait l'objet de nombreuses investigations ayant pour but de déterminer la localisation précise des principaux constituants pariétaux (8, 22, 23). Plusieurs couches ont été identifiées (17), elles sont notées de C0 à C8, et ont fait l'objet d'une représentation schématique par Poulain et al. (17) (cf. fig. 7). Cette représentation de la paroi, telle qu'elle est perçue en microscopie électronique est celle d'une structure en "sandwich". Ainsi, on observe de l'extérieur vers l'intérieur de la paroi quatre couches (C0 à C4) de forte densité électronique, puis une série intermédiaire de strates de faible densité électronique (C5 à C7) et enfin une couche interne (C8) à nouveau de haute densité électronique. Cependant, le nombre et l'apparence de ces couches sont fonction de plusieurs paramètres tels que : la nature du milieu de culture, la température, l'âge des cellules. Les changements observés au niveau de l'ultrastructure de la paroi et qui affectent plus particulièrement les couches les plus externes sont corrélés à la capacité d'adhésion de *C. albicans* à des surfaces biologiques ou synthétiques (24, 25).

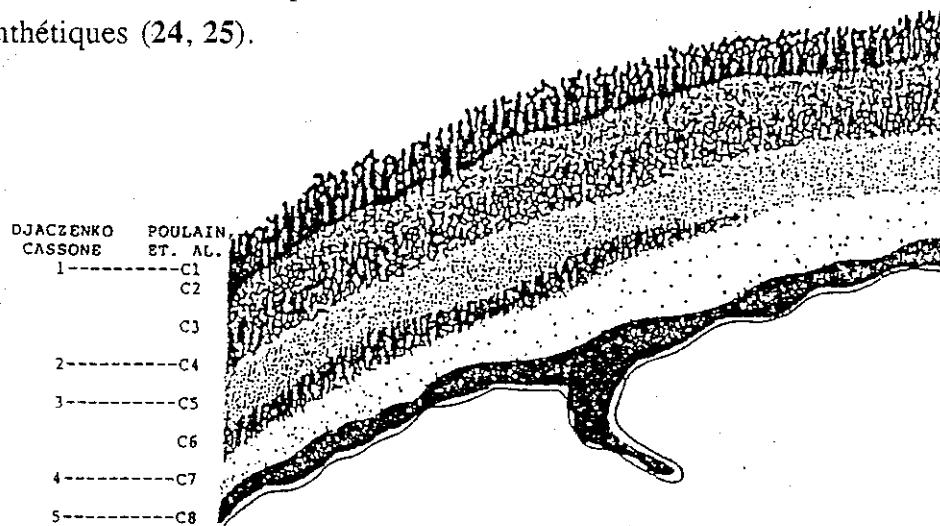


Fig. 7. Représentation schématique de la paroi de *C. albicans* de Poulain et al. (17) incluant les couches identifiées par Djaczenko et Cassone (23).

1.1.24. Adhésines

◆ Définition (7)

Le terme d'adhésine est utilisé pour décrire toute macromolécule de surface qui, chez un micro-organisme, permet l'adhésion spécifique à un récepteur de surface de l'hôte.

◆ Les deux types d'adhésines (7)

Bien que le nombre d'observations ultrastructurales concernant le mécanisme de l'adhésion de *C. albicans* soit limité, il semble qu'il existe deux classes morphologiques d'adhésines : floculantes et fibrillaires.

- Adhésines floculantes (25, 26)

Elles se présentent sous forme d'une enveloppe floculante, peu épaisse (approximativement 100-400 nm) non structuralement ordonnée. Un certain nombre d'informations permet de confirmer le rôle de ces adhésines floculantes dans l'adhésion du champignon. Par exemple, ces structures floculaires sont présentes chez les levures issues de tissus infectés (épithélium urinaire et vaginal) et participent à l'adhésion de *C. albicans*. D'autre part, des blastospores cultivées sur milieu riche en sucres présentent une couche externe floculante. Ces blastospores ont une meilleure capacité d'adhésion que les mêmes levures cultivées en absence de ces sucres et pour lesquelles d'ailleurs, la couche floculante n'existe pas (24).

- Adhésines fibrillaires (7)

Contrairement aux précédentes, les adhésines fibrillaires existent sous forme de structures filamenteuses disposées perpendiculairement à la surface cellulaire et distribuées régulièrement dans celle-ci. Le diamètre de ces organites qui n'a pas fait l'objet de mesures exactes, semble être compris entre 2 et 10 nm (comme les adhésines des bactéries). De même, on ne connaît pas leur longueur qui semble tout de même être inférieure à 0,5 μ m (beaucoup plus courte que les fibrilles de bactéries). Ces structures fibrillaires participent à l'adhésion de *C. albicans* sur l'endothélium rénal ainsi que sur des polymères anioniques (polysaccharides) (27).

♦ Nature chimique des adhésines :

La nature chimique et l'organisation de ces deux structures pariétales ne sont pas entièrement connues, mais on dispose, à leur égard, de quelques informations. Par exemple, il est très probable que ces deux structures correspondent à des entités adhésives distinctes (d'ailleurs il existe des preuves selon lesquelles *C. albicans* produirait plusieurs types d'adhésines). Ces différentes adhésines peuvent s'associer à l'hôte de plusieurs façons. Ainsi telle adhésine peut se lier directement à son récepteur, alors que telle autre à besoin de cations divalents pour former un "pont" entre les surfaces. Par conséquent la caractérisation d'une activité adhésive, de même que sa participation à la colonisation et à la pathogénèse, impliquent l'usage de plusieurs modèles d'études de l'adhésion. Lorsqu'une entité adhésive a été suspectée, elle peut être caractérisée par un grand nombre de méthodes, dont notamment, l'utilisation d'inhibiteurs de type compétitif, (cf. Tableau IV).

Tableau IV. Constituants pariétaux suspectés de servir d'adhésine chez *Candida*.
D'après M.J. KENNEDY (7)

Adhésines potentielles	Exemples d'inhibiteurs	Références
Chitine	Glucosamine	28
	Extraits solubles de chitine	28
Mannane / mannoprotéine	N-acétylglucosamine	28
	Mannosamine	28
	Mannose	29
	α -Mannosidase	29
	Concanavaline A	29
	D-méthylmannopyranoside	29
Glucane	Glucose	
	Glucane	30
Protéine	Papaine	30
	Pronase	30
	Pepsine	30
	Trypsine	30
Lipide	Chymotrypsine	31

De nombreux constituants, notamment les mannoprotéines, la chitine, les lipides ont été suspectés d'exercer une activité "adhésine". Certains auteurs (32) ont même avancé la possibilité d'une adhésion non spécifique de *Candida* (ie sans faire appel à une adhésine). La diversité des constituants pariétaux auxquels on attribue le rôle d'adhésine s'explique par le choix des paramètres expérimentaux. Ainsi une étude (25) a montré que la nature du milieu de culture modifiait l'adhésion de *C. albicans* aux cellules buccales. Or, les équipes de recherche qui ont proposé ces différentes "adhésines", ont utilisé des milieux de culture très différents.

- Protéines et mannoprotéines :

La majorité des expériences utilisant des lectines ou des sucres pour bloquer le processus de l'adhésion a montré que c'était une mannoprotéine qui jouait probablement le rôle d'adhésine (33). Par exemple, Sandin et al. (29) ont rapporté que le prétraitement de *C. albicans* par la concanavaline A (une lectine qui se lie spécifiquement aux résidus α -D-mannosyles) inhibait l'adhésion de *C. albicans* aux cellules épithéliales buccales. Cette adhésion peut également être inhibée par l'addition de mannose ou de α -D-méthylmannopyranoside (dérivé du mannose) durant la période d'incubation. De même, l'addition de tunicamycine (antibiotique qui, chez la levure, inhibe spécifiquement la synthèse des mannoprotéines, sans modifier celle de la chitine ou des glucanes) empêche la formation de la couche floculante et réduit significativement l'adhésion de *C. albicans* aux cellules épithéliales (34). Enfin, Lee et King (30) ont montré que des extraits de parois fongiques riches en mannane adhéraient aux cellules épithéliales vaginales et que

cette adhésion était inhibée par un prétraitement avec l' α -mannosidase (enzyme qui dégrade spécifiquement les mannoses).

D'autre part, des travaux effectués par Tronchin et al. (35) montrent que les tubes germinatifs de *C. albicans* adhèrent à un film plastique ou à une matrice protéinique grâce à des protéines de poids moléculaires de 60, 68, 200 kDa et plus. D'autres études (36, 40) révèlent que *C. albicans* exprime sur sa surface des récepteurs qui interagissent avec une grande variété de protéines de l'hôte (fibronectine, laminine, collagène), mais aussi de composants plasmatiques (fibrinogène, récepteurs ic3b et c3d). Ces récepteurs, là encore, sont des protéines de 60 et 68 kDa et jouent probablement le rôle d'adhésine. En se basant sur des homologues antigéniques, structurales et fonctionnelles, il semble que ces récepteurs (adhésines) de *C. albicans* appartiennent à la famille des intégrines (récepteurs de structure protéiques identifiés chez les mammifères).

- Chitine :

La chitine de la paroi peut jouer un rôle dans l'adhésion de *C. albicans* (28). Ainsi, la chitine elle-même, un hydrolysate de celle-ci, ou le N-acétylglucosamine inhibent de façon significative l'attachement de la levure à des cellules épithéliales vaginales. Cependant, il semble difficile qu'une partie aussi petite de la paroi, et qui de surcroît, est localisée dans les couches internes de cette enveloppe puisse être impliquée dans l'adhésion. D'autres approches doivent être développées pour savoir si la chitine (ou d'autres constituants pariétaux) servent d'adhésine, notamment la recherche et la caractérisation de mutants non adhésifs de *C. albicans*.

- Glycoprotéines :

Sobel et al. (36) montrent que le D et le L fucose inhibent l'adhésion de *C. albicans* à des cellules épithéliales vaginales. Ces travaux mettent en évidence l'existence de récepteurs "Fucose like", mais ne permettent pas de déterminer leur appartenance au champignon ou à la cellule hôte.

♦ Conclusion :

L'adhésion de *C. albicans* peut être spécifique ou non et, dans le premier cas, interviennent deux entités adhésives distinctes (floculante et fibrillaire), ce qui permet d'expliquer l'adhésion de *C. albicans* à diverses surfaces biologiques (cellules épithéliales ou autres micro-organismes). La nature chimique des adhésines est variée et ne peut être identifiée à un seul constituant pariétal comme les mannoprotéines, qui certes interviennent, mais probablement à côté d'autres structures (lipides, chitine).

Avant d'aborder le problème de l'adhésion il nous paraît utile de définir un certain nombre de termes que nous serons amenés à utiliser par la suite (7).

La terminologie en matière "d'adhérence" fongique n'est pas strictement arrêtée. Le terme "adhérence", par exemple, est moins bien adapté que celui d'adhésion, ou absorption dans la description de l'attachement d'un micro-organisme à une surface. Ce dernier terme, décrivant ces interactions du point de vue physico-chimique, il apparaît préférable d'utiliser le mot adhésion. En effet, celui-ci décrit un attachement relativement stable, et essentiellement irréversible de *C. albicans* à une surface. Par contre l'absorption correspond à "l'accumulation de molécules sur une interface fluide, à une concentration supérieure au reste de l'environnement".

Adhésion : Processus d'interaction entre des macromolécules de surface du micro-organisme et la surface du substrat, les macromolécules de celle-ci ou les macromolécules qui y sont adsorbées. (37). L'étendue et la force de l'adhésion dépendent des propriétés initiales des surfaces des deux partenaires et peuvent être influencées par différents facteurs (forces hydrodynamiques, effets s'exerçant à courtes et longues distances).

L'adhésion peut s'exercer selon l'une des deux modalités suivantes :

- non spécifique, mettant en jeu, par exemple, des forces attractives s'exerçant sur de courtes distances (interactions ioniques, liaisons par hydrogène, interactions dipolaires et hydrophobes). Reinhart et al. (32) ont proposé que l'adhésion de *C. albicans* à des cellules épithéliales pourrait résulter de la seule mise en jeu des propriétés hydrophobes de la paroi. Cependant, il semble difficile qu'un phénomène non spécifique comme l'hydrophobicité permette d'expliquer toutes les activités adhésives observées chez *C. albicans*.
- spécifique, mécanisme du type "clef-serrure" qui engage des interactions entre des configurations moléculaires complémentaires sur le substrat et la surface cellulaire du micro-organisme.

Association : Le terme est utilisé pour décrire l'interaction d'un micro-organisme avec une surface lui permettant de rester en contact prolongé avec elle et de résister à un "décrochage" mécanique. Le terme d'association ne préjuge pas du mécanisme exact de l'interaction du micro-organisme avec la surface. On utilise association au lieu d'adhésion tant que le mécanisme spécifique concernant l'attachement de *C. albicans* à une surface n'est pas identifié.

Agrégation : Processus conduisant à la formation d'un agrégat microbien. Un agrégat étant un ensemble de cellules du micro-organisme en contact intime les unes avec les autres.

1.1.3. Mécanisme de l'adhésion

Le "muguet" est une mycose connue depuis l'antiquité, ainsi que l'a rapporté Hippocrate (460-377 av. J.C.) dans son ouvrage "épidémie". La théorie d'une association de *C. albicans* à la surface des muqueuses est beaucoup plus récente. En effet, l'idée que l'attachement de la levure à la muqueuse puisse contribuer à l'infection et à la colonisation n'est apparue qu'au milieu du XXème Siècle. En effet, dans les années 1970, Kimura et Howlett (cf. 1.1.32. p25) furent les premiers à décrire l'attachement *in vitro* de *C. albicans* à des cellules épithéliales buccales. Aujourd'hui, on sait que ce phénomène d'adhésion de *C. albicans* à la quasi totalité des tissus biologiques, s'exerce également à l'égard de nombreuses surfaces synthétiques comme les polymères constituant les prothèses dentaires, les cathéters et valves cardiaques. Dans ce chapitre, nous présenterons, tout d'abord, succinctement, les différents modèles d'études de l'adhésion puis les mécanismes d'adhésion et d'association.

1.1.31. Modèles utilisés pour les études de mécanisme(s) de l'adhésion, de la colonisation et de la pathogénèse (38)

1.1.311. Les différents modèles :

Il existe de nombreux modèles, *in vitro* et *in vivo*, utilisés dans l'étude des phénomènes d'adhésion. Les modèles *in vitro* mettent en oeuvre, aussi bien des tissus biologiques (cellules épithéliales, tissus endothéliaux, matrice de fibrinogène), que des surfaces non biologiques (verre, plastique). Les modèles *in vivo*, qui sont au nombre d'une quinzaine, utilisent des animaux : le rat, le chien et le lapin. Ils mettent en jeu des études qualitatives et/ou quantitatives, afin de déterminer le mode d'association de *C. albicans* à certains tissus et d'évaluer le nombre de cellules fongiques associées avec ceux-ci. Nous rapportons dans le tableau V les différents modèles utilisés pour l'étude des phénomènes d'adhésion.

Tableau V. Modèles d'études de l'adhésion et du mécanisme d'action de *C. albicans*.
D'après M.J. KENNEDY (38).

Nature du modèle	Matériel biologique utilisé :
<i>In vitro</i>	
Cellules épithéliales	Cellules épithéliales buccales, urogénitales, vaginales Cornéocytes
Cultures de tissus	Cellules épithéliales cervicales Cellules HeLa Cellules épithéliales vaginales
Tissus isolés	Tissu endothélial Matrices de plaquettes Muqueuse gastrointestinale Muqueuse orale
Surfaces synthétiques	Polymères acryliques Résines (polyamides) Verre Matières plastiques (silicones,...)
Test d'hydrophobicité	Test de phase-partition Chromatographie d'interaction hydrophobe (HIC) Microsphères de polystyrene
<i>In vivo</i>	
Muqueuse gastrointestinale	Embryons de souris Souris gnotobiotiques Souris conventionnelles Souris traitées ou non par des antibiotiques Chiens
Coeur	Lapins
Muqueuse orale	Souris Hamsters
Endothélium rénal	Lapins
Muqueuse vaginale	Souris Rats

1.1.312. Utilisation des différents modèles

Ces différents modèles ont permis de caractériser les mécanismes d'adhésion-association de *C. albicans* avec sa cible et de préciser le rôle joué par cette phase d'attachement dans la colonisation et la pathogénèse.

- Caractéristiques de l'adhésion et mécanismes d'association :

Les différents modèles ont permis de suggérer l'existence d'adhésines et de préciser leur nature (cf. 1.1.24. rôle des mannoprotéines, de la chitine). Ils ont aussi permis de préciser l'hypothèse d'une adhésion non spécifique de *C. albicans* à sa cellule hôte.

- Rôle de l'attachement dans la colonisation et l'adhésion :

Il s'agit là, d'un problème ardu et essentiel, qui nécessite, à la fois, la connaissance du mécanisme biochimique et moléculaire de l'adhésion et la compréhension des interactions avec les autres mécanismes qui, collectivement, régulent le processus séquentiel de la colonisation et de la pathogénèse. Nous indiquons, dans la figure 8 (38), la stratégie d'étude de l'adhésion fongique, des mécanismes d'agrégation et de leur rôle dans la colonisation et la pathogénèse.

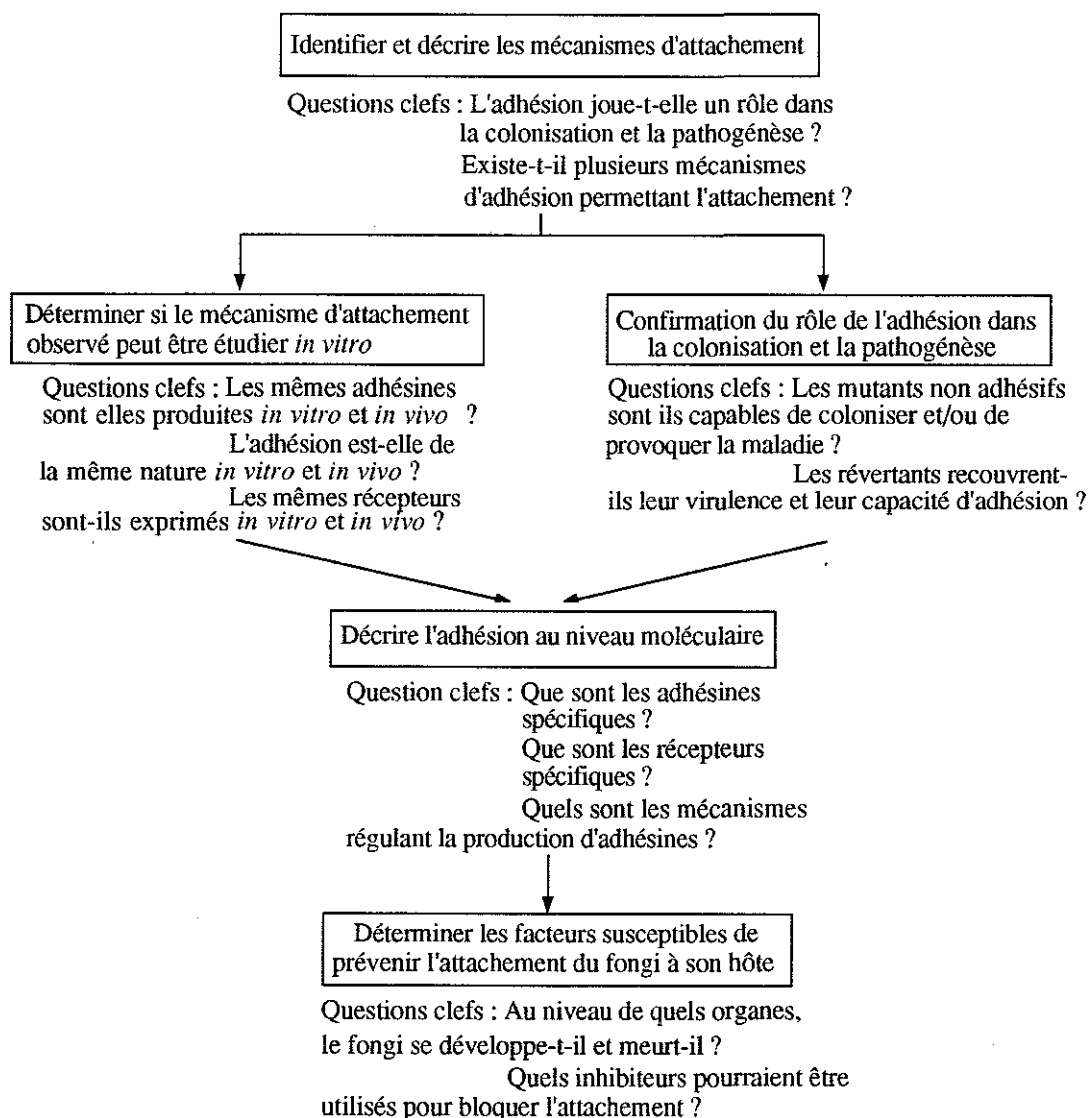


Fig. 8. Stratégie d'étude de l'adhésion fongique, des mécanismes d'agrégation et de leur rôle dans la colonisation et la pathogénèse. D'après M.J. KENNEDY (38)

1.1.313. Facteurs influençant l'adhésion dans les différents modèles d'étude.

Il existe un grand nombre de facteurs susceptibles d'influencer l'adhésion ou l'agrégation de *C. albicans* tant *in vitro* qu'*in vivo* (cf tableaux VI et VII). Au premier rang de ceux-ci, il convient de mentionner les conditions de culture, qui apparaissent tout particulièrement déterminantes, dans les études de son adhésion aux cellules épithéliales buccales. Le tableau VI précise quelques uns de ces facteurs : phase de croissance, température, viscosité et composition du milieu de culture. Ce dernier paramètre est sans aucun doute le plus important, puisque des données récentes (25, 39, 40) montrent qu'il influence directement la production des adhésines. On peut ainsi expliquer les données contradictoires relatives à l'identification des constituants pariétaux servant d'adhésine (certains auteurs ayant suggéré qu'il s'agissait de mannoprotéines, d'autres de la chitine, alors même que l'hypothèse d'un phénomène purement non spécifique était par ailleurs avancée). La diversité de ces théories marque clairement la limite des conclusions que l'on peut tirer de l'utilisation de modèles d'étude du processus d'adhésion.

Tableau VI. Facteurs affectant l'adhésion et l'agrégation fongique aux cellules épithéliales et aux surfaces synthétiques *in vitro*.

D'après M.J. KENNEDY (38)

Facteurs	Exemples
Facteurs environnementaux	Vitesse d'agitation Antibiotiques Milieu Température de l'expérimentation Temps d'incubation pH du milieu Importance relative des populations Levures / Cellules épithéliales
Facteurs épithéliaux	Organe d'origine Type de cellules Donneur
Facteurs fongiques	Flore indigène Type de cellules ou phénotype Coadhésion Morphologie Souche
Facteurs de croissance	Phase de croissance Composition du milieu Viscosité du milieu Température

Tableau VII. Facteurs affectant l'adhésion et l'agrégation *in vivo*. D'après
M.J. KENNEDY (38)

Facteurs	Exemples
Facteurs de l'hôte	Antibiothérapie Organe concerné Régime alimentaire Facteurs environnementaux (ex. pH) Etat hormonal, immunologique, physiologique
Flore indigène	Nombre et type de récepteurs disponibles Modification de la nature physico-chimique de l'environnement Colonisation des sites d'adhésion Modification du substrat Production d'inhibiteurs
Facteurs fongiques	Concentration et type d'adhésines Production enzymatique (<i>ie</i> , protéinases, phospho- lipases...) Formation de tubes germinatifs

1.1.314. Limites de ces modèles.

L'utilisation des modèles d'adhésion (en particulier ceux mis en oeuvre lors d'essais *in vitro*) ont parfois été à l'origine d'interprétations erronées concernant, d'une part le mode d'association de certains fungi aux tissus hôtes et, d'autre part le rôle des processus adhésifs dans la colonisation et la pathogénèse. De ce fait, on peut penser que la pathogénèse de toute infection fongique (animale ou végétale) résulte d'un ensemble complexe d'interactions distinctes et indépendantes, non reproductibles *in vitro*. Par conséquent, de simples essais *in vitro* ne sont pas en mesure de clarifier le rôle de l'attachement fongique dans la colonisation et la pathogénèse.

D'autre part, dans certains cas, l'adhésion ne représente qu'une étape transitoire (initiale ou réversible) dans le processus séquentiel de la colonisation pouvant conduire à une autre adhésion (secondaire ou permanente). Signalons enfin que, dans son environnement naturel, l'attachement peut faire intervenir plusieurs mécanismes d'adhésion. Par exemple, il semble qu'il existe plusieurs mécanismes distincts (41) par lesquels *C. albicans* peut s'associer avec la muqueuse intestinale.

En conclusion, si les protocoles *in vitro* gardent tout leur intérêt pour étudier un mécanisme d'adhésion, mais aussi pour comparer l'impact de divers composés chimiques (inhibiteurs, ...) sur ces mécanismes, il faut rester très critique et prudent sur leur interprétation et leur extrapolation à la situation rencontrée *in vivo*, dans l'environnement naturel.

1.1.32. Aspect physico-chimique de l'adhésion (7)

◆ Introduction :

En général, les surfaces cellulaires de *C. albicans* et de l'hôte présentent toutes deux une charge globale négative (42). Ces potentiels négatifs résultent de l'ionisation de divers groupements chimiques (fonctions carboxyliques de l'acide sialique, des amino-acides, des glycolipides et des phospholipides) de la surface cellulaire des deux partenaires. De même, les surfaces synthétiques (verre et plastique) peuvent aussi présenter une charge de surface négative qui dépendra du type et de la force ionique du milieu environnant. Ces pôles de surface attirent des contre-ions (charge opposée) de la solution environnante, formant ainsi une double couche ionique diffuse (43).

Deux modèles de cette interface ont été proposés (43, 44). Tout d'abord, celui de Stern (*in* 43) qui postule l'existence d'une fine couche monomoléculaire de contre-ions (couche de Stern) associée à la surface de la cellule par l'intermédiaire de forces d'attraction de London et de Van der Waals, suffisamment puissantes pour résister à l'agitation thermique. Le deuxième modèle, développé par Gouy et Chapman (*in* 44), décrit la zone d'interface sans la couche de Stern. Il faut noter que la force ionique du milieu environnant peut influencer considérablement les dimensions de l'interface par modification des forces d'attraction et de répulsion des deux partenaires (la répulsion ne se produit que lorsqu'il y a interpénétration des couches contre-ioniques respectives de *C. albicans* et de la cellule hôte). Ainsi, différentes études (25, 45, 46, 47) ont montré que l'adhésion de *C. albicans* aux cellules épithéliales variait selon la composition du milieu d'expérimentation.

◆ La théorie D.L.V.O.

Les interactions adhésives entre deux surfaces de charge négative (qui théoriquement se repoussent) peuvent être décrites par la théorie des colloïdes lyophobiques, développée successivement par Derjaguin et Landau (*in* 48) puis Verwey et Overbeek (49) (les initiales de ces auteurs permettent de former le sigle DLVO, également utilisées pour nommer cette théorie). Schématiquement, la théorie DLVO postule que les forces de répulsion (interactions électrostatiques lors du recouvrement des doubles couches) et d'attraction (forces de London et de Van der Waals) entre deux surfaces chargées négativement sont additives mais leurs variations respectives en fonction de la distance séparant les deux partenaires sont indépendantes. La fig.9 décrit la variation de l'énergie potentielle du système des deux partenaires se rapprochant l'un de l'autre.

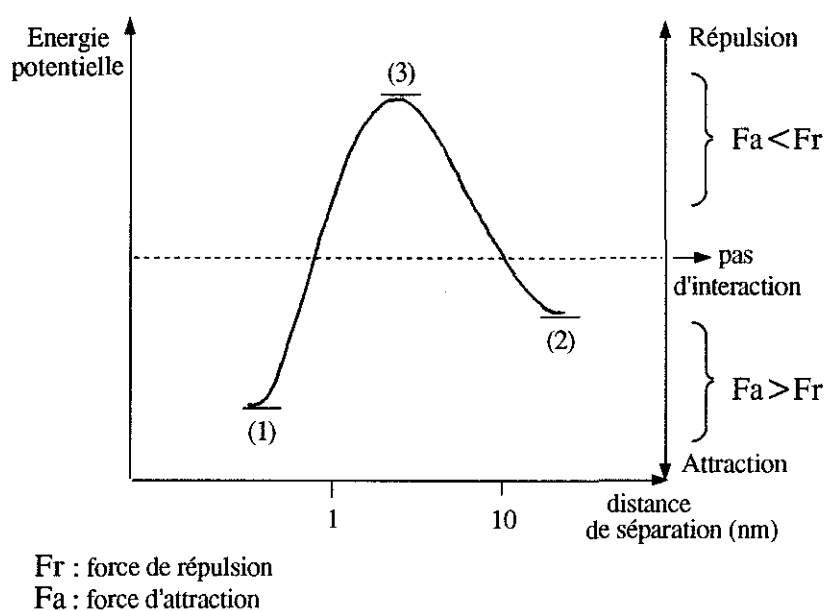


Fig. 9. Schéma énergétique de la théorie DLVO. D'après K.C. MARSHALL (43)

Ce schéma montre que lors de l'approche de deux partenaires (dont les surfaces sont toutes deux chargées négativement), on observe successivement trois niveaux énergétiques (1, 2, 3) :

- (1) : Etat dans lequel les deux partenaires sont proches l'un de l'autre (distance < 1 nm) et liés par des forces d'attraction importantes. Cet état d'interaction est dénommé "minimum primaire".
- (2) : Etat dans lequel, les deux partenaires sont éloignés l'un de l'autre d'au moins 10 nm et où les forces d'attraction, bien que faibles, sont supérieures aux forces de répulsion. Cet état d'interaction est facilement réversible. Il porte le nom de "minimum secondaire" (2).
- (3) : Entre ces deux minima (secondaire et primaire) existe, pour une distance intermédiaire (entre 1 et 10 nm) un état pour lequel les forces répulsives prédominent et où l'énergie potentielle est maximale (barrière énergétique).

La charge globale, ainsi que la forme des partenaires, sont importantes et contribuent significativement à l'interaction. Par exemple, les forces répulsives diminuent avec le rayon de courbure des entités, physiquement définies. De même, lorsque la force ionique dans l'environnement augmente, l'énergie maximale de la barrière de répulsion diminue et peut s'annuler.

La théorie DLVO décrit des interactions adhésives à grande distance (c.à.d. au minimum secondaire), état dans lequel les deux partenaires sont maintenus dans un état mutuel d'attraction. Par contre, elle ne permet pas de prendre en compte les interactions à courte distance, contractées par l'adhésine avec son récepteur. Effectivement, les levures (comme les bactéries) ne possèdent pas une énergie cinétique suffisante pour franchir la barrière énergétique, séparant le minimum secondaire du minimum primaire. (cf. fig. 9).

De ce fait, une adhésion irréversible (au minimum primaire) implique obligatoirement la participation d'une entité adhésive (adhésine). Le rôle de cette dernière est d'abaisser la barrière énergétique et de permettre aux deux partenaires d'atteindre l'état du minimum primaire.

En résumé, l'association de la levure à sa cellule hôte peut donc être décrite par la séquence suivante :

Dans une première étape a lieu une interaction au minimum secondaire, réversible, non spécifique, mais indispensable à une deuxième étape : l'association spécifique, par complémentarité structurale, de l'adhésine à son récepteur.

Marrie et Costerton (50) ont proposé l'existence de deux types d'interactions *Candida* - épithélium précédant l'invasion cellulaire. La première de type "lâche" est suivie d'une adhésion "étroite" entre l'hôte et la levure qui sont alors en contact direct.

Les adhésines fibrillaires, comme celles décrites précédemment (cf. p. 15), caractérisées par un rayon de courbure plus petit que celui de la levure, pourraient compenser la répulsion, liée à la barrière énergétique de l'interaction. C'est ainsi que Lee et King (30) ont mis en évidence, sur des blastospores de *C. albicans*, l'existence de fibrilles qui assurent l'adhésion à des cellules épithéliales vaginales. De même, il a été démontré que des blastospores porteuses de tubes germinatifs, même très petits, adhèrent significativement mieux aux cellules épithéliales buccales que les blastospores stricto-sensu (cf. définition p. 6). Les lois de la physico-chimie permettent d'expliquer l'augmentation de la capacité d'adhésion des systèmes à très faibles rayons de courbure tels les levures, les tubes germinatifs "naissant" ou de très petite dimension. Enfin, à faible distance, d'autres interactions de type électrostatique (dipôle, ion-dipôle), des liaisons chimiques (covalente, hydrogène) et des interactions hydrophobes (Van der Waals) peuvent également intervenir dans le processus d'adhésion, mais leur rôle n'est pas encore clairement élucidé. En vérité, seul un nombre limité de paramètres physico-chimiques, intervenant dans l'adhésion de *C. albicans*, ont fait l'objet d'études approfondies. Notons, par exemple, que les cations divalents, les détergents, l'urée n'ont aucune influence sur l'adhésion de *C. albicans* aux cellules épithéliales vaginales (30) ce qui laisse à penser que les liaisons électrostatiques, ioniques et hydrophobes ont peu de poids dans ce type d'adhésion. Par contre, les agents réducteurs (mercaptoéthanol, dithioérythritol,...) (30,45) diminuent considérablement l'adhésion de *C. albicans*, suggérant que l'intégrité structurale des facteurs adhésifs est importante. Les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} , au contraire, augmentent le pouvoir d'adhésion de *C. albicans* à la surface des cellules épithéliales buccales. L'intervention d'interactions hydrophobes dans l'adhésion de *C. albicans* a également été étudiée. Ainsi, Klotz et al (51) ont constaté que l'adhésion de *C. albicans* à des résines (prothèses dentaires) est principalement due à des interactions hydrophobes et électrostatiques. En revanche, ces mêmes interactions hydrophobes ne

semblent pas jouer un rôle déterminant dans l'adhésion de la levure à la muqueuse intestinale ou aux cellules épithéliales buccales, mais sont d'une grande importance dans l'adhésion levure-levure (25).

1.1.33. Adhésion de *C. albicans* à des surfaces biologiques (cavité buccale) ou synthétiques (résine acrylique)

Le mécanisme d'adhésion de *C. albicans* à des surfaces biologiques ou synthétiques a fait l'objet de très nombreuses études (voir par exemple 51-54). Les mécanismes mis en jeu dans l'un ou dans l'autre cas sont très différents, non seulement par la nature des constituants pariétaux, mais aussi par le type d'interactions mises en cause (spécificité liée à la nature du support synthétique ou biologique). Dans ce dernier cas, on observe des variations d'un tissu à l'autre : cavité orale, muqueuse intestinale).

Parmi les tissus étudiés citons l'épithélium (buccal, gastro-intestinal, uro-génital, endocardique) et l'endothélium vasculaire.

Toutefois, pour des raisons de concision et de clarté, nous ne développerons ici que le processus d'adhésion de *C. albicans* à l'épithélium de la cavité buccale.

♦ Surfaces biologiques : La cavité buccale :

L'adhésion de *C. albicans* à la muqueuse buccale a fait l'objet d'un grand nombre d'études *in vitro* et *in vivo* (voir par exemple 53, 54). Ces dernières concernaient l'adhésion à des cellules épithéliales, la colonisation et l'invasion de divers tissus isolés. La caractérisation ultra-structurale de l'attachement et de la pénétration de *C. albicans* au niveau de l'épithélium buccal (patients atteints de candidoses et animaux d'expérimentation) a également été abordée.

En étudiant la colonisation et l'invasion de l'épithélium buccal (tissu isolé), Howlett et Squier (53) ont constaté l'établissement d'un contact "intime" entre la surface des cellules de l'épithélium et certaines couches de la paroi de la levure (blastospore et parfois hyphe). La structure de surface, responsable de cet attachement, pourrait être une couche externe floculante. Il semble, en outre, se produire des changements ultra-structuraux, se traduisant par la formation d'une couche de surface fibrogranulaire. Dans l'état actuel de nos connaissances, il apparaît que les blastospores n'envahissent pas directement l'épithélium auquel elles adhèrent mais, par contre, que la pénétration des tissus est effectuée par les tubes germinatifs à la suite d'un processus adhésif particulier, n'entraînant pas d'altération des cellules de la surface épithéliale. Cette aptitude des tubes germinatifs peut s'expliquer par la présence chez ces derniers d'un plus grand nombre d'adhésines. Certaines sont différentes de celles des *blastoconidiae*, ce que confirme leur capacité d'adhésion qui est sensiblement supérieure à celle des levures. Signalons

également la coparticipation fréquente des blastospores et des bactéries au processus d'adhésion conduit par les pseudofilaments.

Tableau VIII. Mécanismes d'adhésion et d'association de *C. albicans*. D'après M.J. KENNEDY (7)

Mécanisme	Nature du mécanisme			ref
	Actif ou passif	Spécifique ou non spécifique	Directe ou indirecte	
Interaction adhésine - récepteur	A	S	D / I	55
Adhésion non spécifique	A / P	N	D / I	32, 41, 51
Coadhésion	A	S / N	I	25, 41
Pénétration des tubes germinatifs dans les tissus	A	S / N	D / I	41, 50, 52, 53

A : Actif ; P : passif ; S : spécifique ; N : non spécifique ; D : direct ; I : indirect.

Comme il a été signalé précédemment, un grand nombre d'études de caractérisation des adhésines de *C. albicans* a été réalisé en utilisant différentes substances bloquant l'adhésion. Par cette approche Sandin (54) a montré que *C. albicans* se lie de façon réversible pendant vingt minutes à sa surface cible, après quoi, l'adhésion devient irréversible. Il semblerait donc que le contact initial levure-épithélium soit lié à une adhésion non spécifique suivie par une adhésion spécifique. Une autre hypothèse suggère que l'attachement initial est le résultat d'une adhésion spécifique par exemple, du type interaction "lâche" (loose) via une adhésine floculante, une adhésion supplémentaire étant nécessaire pour créer un lien irréversible. En fait les modifications se produisant chez la levure lors de l'adhésion intéressent également l'hôte. Il est possible que lors du contact, puis de l'adhésion réversible entre *C. albicans* et les cellules épithéliales, des changements physiologiques se produisent chez les deux organismes renforçant ainsi l'adhésion (53) : augmentation du nombre de récepteurs épithéliaux de la cellule hôte, modification de la paroi de *C. albicans* afin d'augmenter la production d'adhésines (démassage d'adhésines classiques, élaboration de nouvelles), synthèse de nouveaux constituants pariétaux après l'attachement initial. Toutes ces hypothèses se révèlent progressivement confirmées, en particulier par les travaux de Tronchin et al (26). Ces auteurs ont noté la prolifération et la réorganisation d'une couche pariétale externe de *C. albicans* lors de son adhésion à des cellules épithéliales buccales.

♦ Surface synthétique : résine acrylique.

La capacité d'adhésion de *C. albicans* à des surfaces synthétiques est souvent avancée pour expliquer l'origine d'un grand nombre d'infections fongiques chez l'homme. Des

études épidémiologiques, sur la distribution de *Candida* dans la cavité buccale de sujets atteints de candidose chronique atrophique (maladie fréquente chez les sujets âgés porteurs de prothèses dentaires), ont montré que cette levure se localisait plus fréquemment, et souvent en colonies plus abondantes, sur la surface acrylique de la prothèse dentaire que sur celle de la paroi de la voûte palatine. Cette observation suggère que la colonisation de la prothèse sert de réservoir pour la levure et que l'adhésion à une surface synthétique est une condition prérequis pour la colonisation et l'infection ultérieure du palais. De même, l'adhésion de *C. albicans* sur diverses résines plastiques (cathéters, valves cardiaques, organes artificiels) peut être la cause de complications graves chez les sujets porteurs de ces prothèses (qui par essence sont fragilisés, en raison de leur immunodéficience). La majorité des études d'adhésion de *C. albicans* à des surfaces synthétiques a porté sur les polymères acryliques. Par exemple, une étude de Mc Courtie et Douglas (24) a montré que la supplémentation du milieu de culture de cette levure, par divers hydrates de carbone, modifie considérablement l'adhésion de *C. albicans* à des polymères acryliques. Ainsi, un milieu supplémenté par 500 mM de galactose, accroît la vitesse d'adhésion et entraîne la production d'une couche de surface floculante (probablement constituée de manoprotéines) sur ce champignon. Il semble, par ailleurs, que le caractère lipophile de la surface cellulaire des levures soit un des facteurs de l'adhésion aux supports acryliques. Cette propriété est logiquement liée à la composition de la paroi de la levure (elle-même fonction du milieu de culture). Il serait intéressant de quantifier la relation entre l'hydrophobicité de la surface cellulaire, le pouvoir d'adhésion à des supports acryliques et la composition du milieu de culture. Signalons enfin, avec Mc Courtie et Douglas (24) que l'addition de cations divalents (Ca^{2+} , Mn^{2+} et Mg^{2+}) dans ce dernier, augmente la capacité d'adhésion de la levure, ce qui conforte la théorie de liaisons ioniques mises en jeu dans le processus d'adhésion. Quelques rares études ont concerné l'adhésion de *C. albicans* à d'autres surfaces synthétiques : chlorure de polyvinyle, teflon, verre. Une étude de Klotz et al (51) a montré qu'à l'exception du verre l'adhésion de *Candida* à de tels supports met en jeu les propriétés hydrophobes de la surface fongique.

En conclusion, si ces travaux peuvent permettre de prévenir ou de réduire le processus d'adhésion *in vitro*, des études devront être effectuées pour généraliser ces concepts à la situation rencontrée *in vivo*.

1.1.4. Rôle du processus d'adhésion dans la colonisation des tissus et la pathogénèse.

Il nous apparaît important de souligner que la majorité des travaux concernant l'adhésion fongique n'ont pas cherché à élucider le rôle de cette dernière dans la colonisation ou la pathogénèse. Ainsi de nombreuses recherches ont décrit et caractérisé les mécanismes d'attachement de *Candida* (35, 36, 37), mais seules quelques unes

impliquent ce processus dans la génèse de la maladie. C'est à Calderone et al (55) que revient le mérite d'avoir les premiers soupçonné, en 1985, le rôle déterminant joué par le processus d'adhésion de *Candida albicans* dans la colonisation et la pathogénèse. Ces auteurs ont montré que des souches mutantes de *C. albicans* (cérulemine-résistantes), incapables de s'attacher *in vitro* à une préparation de fibrinogène, étaient dénuées de virulence à l'égard du modèle d'endocardite du lapin. Les autres facteurs d'adhésion (tube germinatif) ne sont pas significativement différents chez le mutant et la souche sauvage. L'absence de virulence de cette souche mutante semble directement être corrélable à la diminution du pouvoir d'adhésion. D'autre part ce mutant, qui adhère *in vitro* difficilement aux cellules épithéliales vaginales, est sensiblement moins virulent que *C. albicans* souche sauvage. Les preuves du rôle de l'adhésion de *C. albicans* dans la colonisation de l'hôte et la pathogénèse des autres tissus de l'organisme devraient découler d'études similaires montrant que l'inhibition de l'adhésion est susceptible de prévenir la colonisation ou l'infection, ou à *contrario*, que des mutants dénués de pouvoir adhésif ne sont pas virulents par incapacité de coloniser l'hôte.

De telles preuves de la colonisation des muqueuses de la cavité buccale font défaut, mais nombre de faits expérimentaux permettent de conclure de l'importance de l'adhésion dans ce processus. En effet, si l'adhésion n'existait pas, il est évident que *C. albicans* serait éliminé de la cavité orale par le flux continu de salive et la naturelle compétition pour l'occupation des sites d'adhésion par la flore bactérienne endogène devrait entraîner une réduction de la colonisation fongique chez la souris gnotobiotique (56). Enfin, la caractérisation ultrastructurale du tissu lésé par des candidoses digestives (muguet, candidoses des muqueuses) laisse à penser qu'il existe une association étroite de *C. albicans* avec la muqueuse considérée. Cependant, toutes ces observations ne sont pas à elles seules suffisantes pour situer le rôle exact de l'adhésion dans le processus de la pathogénèse.

1.2. CANDIDOSES

1.2.1. Introduction

◆ Définition et historique

On désigne par le terme de candidose, les mycoses dues à des levures du genre *Candida*. En fait, comme nous l'avons déjà mentionné, huit espèces seulement de *Candida* sont pathogènes pour l'homme et donc responsables de l'ensemble des candidoses. Rappelons également que *C. albicans* est à lui seul à l'origine de 70 % des mycoses. Historiquement, c'est Hyppocrate (466-377 Avt J.C.) qui, le premier, identifia une infection à *Candida*. (muguet : taches blanchâtres, crémeuses, au niveau de la langue, des gencives, de la voûte du palais). Bien plus tard, en 1665, la maladie est signalée par

Samuel Pepy dans son journal, et c'est en 1792, que Haussman et Franck décrivent pour la première fois la symptomatologie d'une candidose vaginale.

♦ Recrudescence des candidoses et aspect statistique (1)

L'incidence croissante des candidoses au cours des quinze dernières années est, sans aucun doute (à côté du SIDA), le problème majeur de l'inféctiologie. Cette augmentation est due à de nombreux facteurs, notamment l'utilisation abusive d'antibiotiques, à large spectre, et les progrès des techniques médicales qui ont entraîné un emploi plus important des méthodes invasives. La généralisation des transplantations d'organes et l'inquiétant développement du SIDA sont à l'origine d'une augmentation du nombre de malades immunodéprimés qui deviennent ainsi particulièrement vulnérables aux agressions fongiques. Les statistiques concernant les candidoses mortelles sont très partielles car, malheureusement, rendues publiques que par quelques pays (Fig. 10). Ces courbes démographiques montrent que, sur une période de 35 ans commençant en 1950 (1968 pour la France et le Japon), le nombre de décès par candidose est resté stable en Grande-Bretagne et a été, sur la période de 1973 - 1982, multiplié par trois aux Etats-Unis. Le tableau IX précise ces données et indique qu'en France, le nombre de morts par candidoses a doublé entre 1971 et 1982, alors que, durant cette même période, il a été divisé par deux au Japon. Cependant, les critères de prise en compte du nombre de décès par candidoses pouvant varier d'un pays à l'autre, l'interprétation de ces résultats doit être faite avec prudence. C'est pourquoi, il paraît plus juste de fonder ces statistiques sur le nombre de candidoses profondes à diagnostic fatal. Dans cet esprit, signalons que trois études ont été effectuées aux Etats-Unis en 1970, 1976 et 1982. Rapportée à un million d'habitants, l'incidence de ces candidoses profondes est respectivement de 1,7 en 1970, 1,8 en 1976 et 2,6 en 1982.

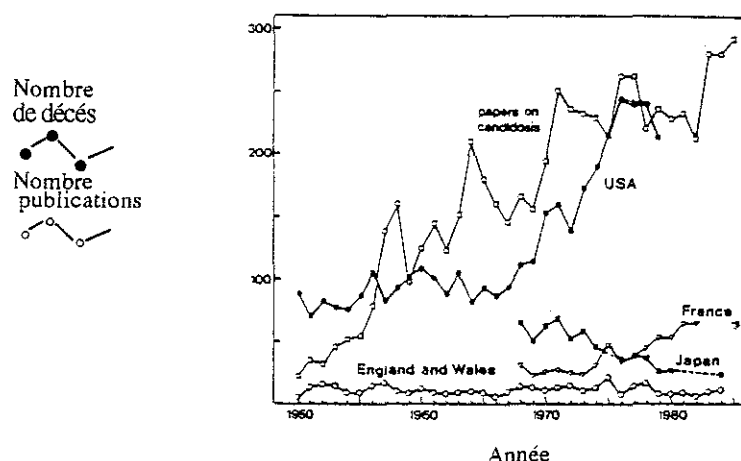


Fig 10. Nombre de décès par candidose et par année en Grande-Bretagne, aux Etats-Unis, en France et au Japon de 1950 à 1984. (D'après l'*Index medicus*, 1950-1985. in (1))

Tableau IX. Pourcentage de décès par candidose rapporté à un million d'habitants.
D'après F.C ODDS (2).

Période	Mortalité par candidose :			
	Angleterre / Pays de Galles	France	Japon	USA
1968-1970	0,26	0,52	0,58	0,62
1971-1973	0,27	0,49	0,56	0,75
1974-1976	0,29	0,71	0,37	1,01
1977-1979	0,27	0,85	0,29	1,04
1980-1982	0,15	1,12	N.D	N.D

1.2.2. Facteurs favorisant les candidoses (cf tableau X)

Candida albicans est une levure saprophyte faisant normalement partie de la flore du tube digestif (la fréquence de portage au niveau de la cavité buccale est de 4 à 6 % chez le nouveau-né, de 20 à 30 % chez l'enfant et de 50 à 80 % chez le sujet âgé porteur d'une prothèse dentaire). Cet état implique qu'une candidose ne peut se développer que chez un sujet dont l'état général favorise le passage de *C. albicans* d'une situation saprophyte à un état pathogène. Cette "prédisposition" du sujet apparaît être sous la dépendance de deux types de facteurs. En premier lieu, citons les facteurs intrinsèques, relatifs à l'organisme hôte, traduisant un déficit immunitaire de ce dernier. Cette immunodéficience peut être liée à une maladie, à la vieillesse ou à l'immaturité du système immunitaire (nouveau-né). Il y a d'autre part, des facteurs extrinsèques extérieurs à l'hôte, parmi lesquels signalons : le régime alimentaire (excès ou défaut de nourriture altérant la flore endogène), les facteurs mécaniques (traumatisme, occlusion, macération des tissus), les facteurs iatrogènes (prothèse, antibiothérapie ou thérapeutiques immunodépressives).

Tableau X. Facteurs prédisposant au développement d'une infection à *Candida*. D'après F.C ODDS (2).

Facteurs favorisant les candidoses			Observations
Facteurs intrinsèques (organiques)	Physiologiques	Age: ♦ Nouveau-né	L'immaturité des défenses vis-à-vis des microorganismes lors de l'établissement de la flore résidente normale bucco-digestive.
		♦ Grossesse (après le 4ème mois)	On observe une augmentation du glycogène vaginal et une plus grande fréquence du portage de <i>C. albicans</i> .
		♦ Sujet âgé	L'âge avancé est plus exposé, probablement à cause de facteurs associés: prothèses buccales, prises médicamenteuses.
Facteurs extrinsèques (iatrogènes)	Pathologiques	♦ Hématopathies malignes	Elle est illustrée par les candidoses muco-cutanées chroniques et par les candidoses buccales et oesophagiennes des S.I.D.A. Des candidoses sévères (granulomatose septique) surviennent au cours des déficits de la phagocytose des polynucléaires.
		♦ Anémies aplasiques	
		♦ Altération de l'immunité cellulaire	
	Médicamenteux	♦ Diabète	Les antibiotiques, surtout à large spectre, favorisent la population fongique, essentiellement par destruction de la flore bactérienne commensale. Les corticostéroïdes dépriment les réponses inflammatoires et immunitaires.
		♦ Endocrinopathies diverses	
		♦ Antibiothérapie	
		♦ Corticothérapie	
Facteurs extrinsèques (endogènes)	Médico-chirurgicaux ou chirurgicaux	♦ Agents psychotropes	L'utilisation de tranquillisants neuroleptiques, en particulier chlorpromazine, est corrélée à une grande fréquence de portage candidosique (muguet).
		♦ Pilule contraceptive	
		♦ Toxicomanie	L'usage illicite de drogues par voie I.V., en particulier d'héroïne, se complique parfois d'infections viscérales graves à <i>Candida</i> .
	Physiques	♦ Cathéters et sondes (artériel, péritonéal)	La présence de cathéters intraveineux ou intra-péritonéaux est une source de septicémies à <i>Candida</i> avec un risque d'autant plus grand que le cathéter reste en place plus longtemps et / ou est utilisé pour une réalimentation parentérale.
		Chirurgie cardiaque Chirurgie abdominale Transplantation d'organes	La chirurgie digestive, surtout en cas de perforation du tractus intestinal, expose aux suppurations intra-abdominales, aux levures et aux septicémies. La chirurgie à coeur ouvert, qui associe à un traumatisme rompant la barrière cutanée, la mise en place d'une prothèse valvulaire et une réanimation post-opératoire représentent un cumul de facteurs de risques.
		Rayons X, brûlures	La radiothérapie antinéoplasique, en particulier, du cancer de la sphère O.R.L. se complique souvent d'une candidose buccale.

1.2.3. Modes d'infestation.

Il est possible de distinguer deux modalités d'invasion fongique des tissus par *C. albicans* :

A) A partir de souches *Candida* exogènes. La voie d'entrée étant digestive ou respiratoire, l'envahissement peut se faire :

- par contiguïté
- par voie hématogène, les *Candida* pouvant, à partir de la muqueuse intestinale passer dans les organes et les tissus.

B) A partir de souches *Candida* endogènes. Celles-ci intervenant dans :

- la contamination candidosique du nouveau-né à partir d'une vaginite de la mère ou du personnel soignant
- les septicémies à *Candida* consécutives à la pose de cathéters, de sondes ou de toute instrumentation d'endoscopie.

Chez certains sujets, en particulier ceux atteints d'un déficit immunitaire ou soumis à une antibiothérapie prolongée, la population de levure au niveau du tractus gastrointestinal peut croître considérablement. Il y a, alors, passage au travers de la muqueuse intestinale et dissémination par voie hématogène, conduisant à une candidose systémique. De ce fait, outre les muqueuses, la peau, le tractus gastrointestinal et l'appareil urogénital, tous les tissus à l'exception des cheveux peuvent être le siège d'une infection à *Candida* . A titre indicatif, nous signalons ci-dessous, les organes principalement affectés :

- les yeux,
- les poumons
- le système nerveux central,
- le foie
- le coeur.

1.2.4. Les différentes candidoses

Les affections candidosiques peuvent être schématiquement divisées en quatre catégories.

♦ Candidoses superficielles

Elles regroupent des infections localisées sur les muqueuses digestives ou génitales, la peau et les ongles. Ce sont les manifestations les plus fréquentes de la pathologie candidosique. Elles comprennent essentiellement :

- candidoses digestives
- candidoses génitales
- candidoses cutanées et unguéales

♦ Candidoses viscérales ou profondes

Elles concernent des sujets dont les moyens de défense sont affaiblis (atteinte des couches profondes du derme ou de divers organes). Ces candidoses sont de pronostique gravissime. Citons entre autres :

- septicémie
- endocardite
- candidose neuroméningée
- candidose congénitale

♦ Candidoses muco-cutanées chroniques

Ces infections chroniques, d'intensité variable, sont le plus souvent localisées sur les muqueuses buccales et vaginales, les ongles et la peau. Elles touchent les enfants dans les premières années de leur vie et sont toujours de caractère gravissime.

♦ Candidoses allergiques

L'allergie à des métabolites produits par *Candida* est un phénomène indiscutable. Ces manifestations allergiques sont en rapport avec un foyer candidosique parfois discret, situé à distance. Citons :

- éruptions cutanées aseptiques (candidine)
- lésions eczémateuses, squameuses ou parakératosiques
- oedème de Quincke
- asthme
- brûlure gastrique, colique

1.3. MEDICAMENTS DES CANDIDOSES

1.3.1. Introduction (58)

Jusqu'en 1940, la thérapeutique antifongique se limitait à l'usage de quelques composés minéraux (soufre, sulfures,...) et organiques (colorants phénoliques, acide undécylénique, ...). C'est au début des années 1960, que le traitement des infections fongiques connaît un véritable essor. En effet, à cette époque, apparaissent outre la griséofulvine (premier antifongique oral) et le tolnaftate (molécule de synthèse), les premiers antibiotiques polyéniques (Amphotéricine B, nystatine, etc...). C'est également au cours de cette décennie que l'haloprogine, seul représentant de la classe des trichlorophénols, est mis sur le marché, suivi peu après par l'introduction en thérapeutique de nouveaux antifongiques à structure imidazolée : miconazole et clotrimazole. Plus récemment, ont été découverts les homologues isostères (structure triazolée) de ces derniers, constituant les molécules antifongiques les plus récentes (itraconazole, fluconazole, ...).

1.3.2. Les différentes classes d'anticandidosiques

1.3.2.1. Les polyènes

♦ Généralités

Les polyènes, potentiellement antifongiques, qui sont au nombre d'une centaine, sont soit des composés naturels produits par des champignons filamenteux du type *Streptomyces*, soit leurs dérivés d'hémisynthèse. Tous ces antibiotiques altèrent la membrane de la cellule eucariote et seuls quelques-uns, montrant une toxicité sélective pour la membrane fongique, ont fait l'objet d'un développement en thérapeutique antifongique. Parmi ces derniers (cf. Tableau XI), la clinique, pour des raisons de solubilité ou de stabilité, a seulement retenu quatre dérivés : amphotéricine B, candicidine, natamycine et nystatine. Ils sont actuellement très communément utilisés. Le nombre de doubles liaisons conjuguées du macrolide permet de classer l'amphotéricine B et la candicidine dans le groupe des heptaènes tandis que la natamycine et la nystatine font partie de la famille des tétraènes.

Tableau XI. Liste des polyènes antifongiques et de leurs dérivés inhibant le développement de *Candida in vitro* et *in vivo*. D'après F.C. ODDS (2)

Nom du polyène	Synonyme (s)	Espèce(s) de <i>Streptomyces</i> produisant le polyène
Amphotéricine B		<i>S. nodosus</i>
Amphotéricine B (ester méthylique)		
Candicidine		<i>S. griseus</i>
Etruscomycine	Lucensomycine	<i>S. lucensis</i>
Filipine	Filimarisine	<i>S. filipensis</i>
Hamycine		<i>S. primprina</i>
Levorines A et B		<i>S. levoris</i>
Lucknowmycine		<i>S. diastatochromogenes</i>
Mepartricine	Méthyl partricine	<i>S. aureofaciens</i>
Natamycine	Pimaricine, Tennenectine	<i>S. chatanoogensis, S. nataliensis</i>
N-d-omithyl amphotericine B (ester méthylique)		
N-succinyl perimycine		
Nystatine	Fungicidine	<i>S. noursei, S. albulus</i>
Perimycine		<i>S. aminophilus</i>
Trichomycine	Hachimycine	<i>S. hachijoensis, S. abikoensis</i>

♦ Structure (Cf. Fig. 11)

L'archétype polyénique est constitué par un macrocycle (20 à 40 atomes de carbone) de structure olidique. Il comporte un enchaînement d'au moins trois doubles liaisons conjuguées (polyènes), un nombre variable de groupements hydroxylés (6 à 14), une seule fonction carboxylique et un sucre aminé identique dans tous les polyènes (D-mycosamine).

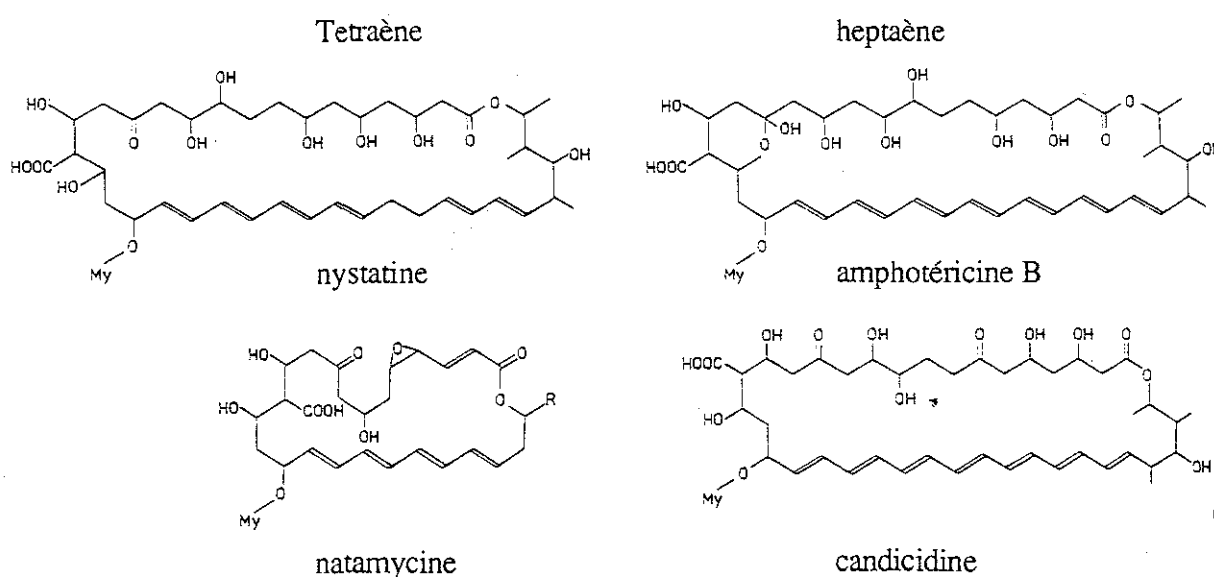


Fig. 11. Les quatre polyènes actuellement utilisés en clinique dans le traitement des candidoses.

♦ Mécanisme d'action (59, 60, 61)

L'action des polyènes se situe à plusieurs niveaux :

- La glycolyse qu'ils inhibent (62).
- La perméabilité membranaire qu'ils perturbent profondément (perte d'ion K^+ et du phosphore organique). Cette altération de la membrane est due à leur très grande affinité, notamment de l'amphotéricine B et de la nystatine, pour les stérols, en particulier l'ergostérol, entraînant la formation de pores à travers la membrane (Cf. Fig. 12) (60).
- L'activité des enzymes membranaires qu'ils annihilent. Cette activité est sensible aux variations de l'environnement lipidique et à la présence de cofacteurs. L'interaction des antifongiques polyéniques avec des constituants de la membrane modifie cet environnement et favorise la fuite des cofacteurs.
- La structure pariétale qu'ils désorganisent. Cette action, indirecte, est due à la modification de l'activité des enzymes responsables de la biosynthèse des constituants de la paroi.

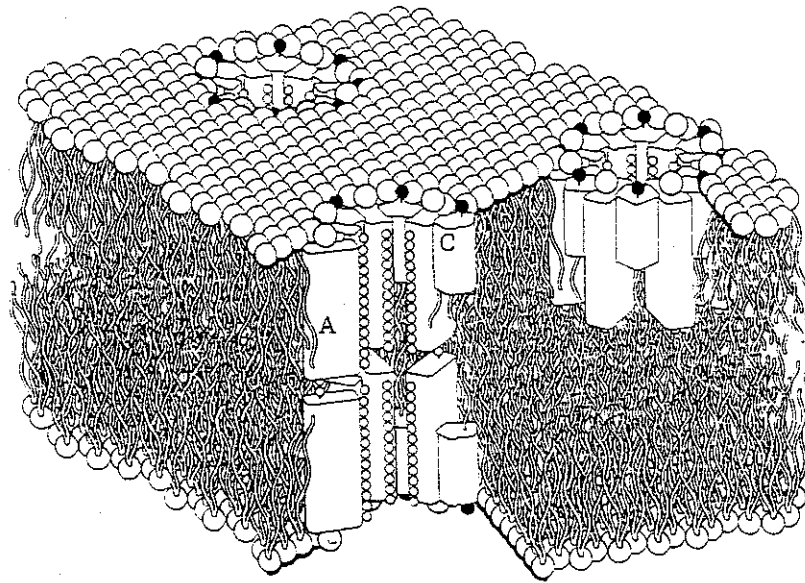


Fig. 12. Altération de la perméabilité membranaire par l'amphotéricine B. Représentation schématique de pores (en coupe transversale) formés par l'Amphotéricine B (A) et le cholestérol (C) dans une bicouche phospholipidique. D'après S.M. HAMMOND (61)

♦ Points faibles (cas de l'amphotéricine B).

- Toxicité : (60)

Malgré ses qualités indéniables, l'amphotéricine B n'est pas dépourvue d'inconvénients. Ainsi, l'administration par voie parentérale nécessite une perfusion intraveineuse lente et une surveillance médicale stricte (hospitalisation).

L'utilisation de l'amphotéricine B est également limitée par de fréquentes réactions indésirables. Enfin, il faut signaler une néphrotoxicité limitant la posologie admissible (1,5 mg/kg). Cette néphrotoxicité qui est accrue lorsque l'amphotéricine B est prescrite en association avec d'autres agents, eux-mêmes potentiellement néphrotoxiques (aminoglycosides, cyclosporines), doit être particulièrement surveillée en cas d'insuffisance rénale préexistante.

- Résistance : (63)

Même après 30 ans d'utilisation clinique, peu de fungi sont résistants à l'amphotéricine B. Cependant, l'incidence réelle de cette particularité est difficile à apprécier car, d'une part, les études de susceptibilité (antifongigramme) ne sont pas systématiquement réalisées, d'autre part, il n'existe pas de procédure standard permettant de comparer les résultats des différents laboratoires. Parmi les facteurs de résistance à l'amphotéricine B, citons la modification de la structure pariétale limitant le passage de l'antibiotique au travers de celle-ci, le déséquilibre de la balance biosynthèse-dégradation des glucanes pariétaux (mutation sur la β -glucansynthétase et/ou la β -glucanase) et enfin la transformation de la constitution lipidique de la membrane. Par ailleurs, il existe une souche de *C. albicans* naturellement résistante à l'amphotéricine B, caractérisée par l'absence d'ergostérol dans la membrane. La signification clinique de ces résistances n'est pas bien connue. Cependant, dans une lésion, il est clair que les souches résistantes vont constituer, après arrêt du traitement antifongique, un inoculum initiateur d'une nouvelle infection. Il s'agit peut-être là d'une des raisons expliquant les difficultés d'éradication des infections fongiques.

1.3.22. Azolés

♦ Généralités (cf. Tableau XII) (58a)

La présence de deux ou trois atomes d'azote dans l'hétérocycle "azolé" permet de distinguer deux sous-groupes : les imidazolés et les triazolés (ces derniers étant les plus récemment introduits en thérapeutique).

- Les dérivés imidazolés sont connus comme l'haloprogrine depuis le début des années 1960. Lors de premières études cliniques, le clotrimazole et le miconazole montrèrent une supériorité d'efficacité sur le dérivé trichlorophénolique iodé, notamment dans le traitement des dermatophytoses et, pendant de nombreuses années, ils furent les deux

principaux imidazolés utilisés. Plus récemment, d'autres dérivés imidazolés, le sulconazole, le bifonazole, l'oxiconazole et l'isoconazole ont été introduits en médecine. En terme d'efficacité clinique, ces médicaments sont comparables aux premiers imidazolés, mais quelques-uns d'entre eux présentent l'avantage d'une administration quotidienne à dose unique. Le kétoconazole, qui est l'un des imidazolés efficaces par voie orale, est actif dans le traitement des infections fongiques superficielles et profondes (58b).

- Les triazolés sont, au plan chimique (structure isostère) et biologique (mécanisme d'action), tout à fait analogues aux dérivés imidazolés précédents. Ils sont cependant moins hépatotoxiques, probablement grâce à une action plus faible sur les enzymes associés au cytochrome P-450. Le terconazole, qui est le prototype de la classe des triazolés, est très utilisé dans le traitement des candidoses vaginales. Deux autres triazolés, actifs par voie orale (itraconazole et fluconazole), sont particulièrement efficaces dans d'autres localisations des infections à *Candida* (forme neuro-méningée) en raison de leur capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique.

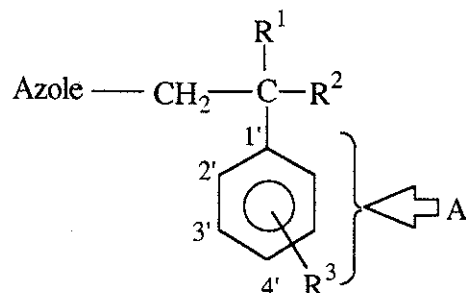
Tableau XII. Dénomination Commune Internationale (D.C.I.) ou sigle des composés imidazolés et triazolés actifs dans le traitement des candidoses. Un astérisque signale les composés actifs par voie orale. D'après F.C. ODDS (2)

Dérivés imidazolés		Dérivés triazolés	
Nom du composé	Laboratoire	Nom du composé	Laboratoire
BAY 19139*	Bayer	Fluconazole*	Pfizer
Bifonazole	Bayer	ICI 153, 066*	ICI
Butoconazole	Syntex	Itraconazole*	Janssen
Clotrimazole	Bayer	Terconazole*	Janssen / Ortho
Econazole	Janssen	Vibunazole	Bayer
Fenticonazole	Recordati		
Isoconazole	Janssen		
Ketoconazole*	Janssen		
Lombazole	Bayer		
Miconazole	Janssen		
Oxiconazole	Roche		
SM 4470*	Sumitomo		
Sulconazole	Syntex		
Tioconazole	Pfizer		

N.B. : On notera le codéveloppement par deux laboratoires fabricants de l'Econazole et du Terconazole. Cette procédure tend actuellement à se généraliser, en raison des coûts importants de recherche - développement de nouveaux médicaments.
un astérix indique un composé actif par voie orale.

♦ Structure (64)

La structure de base présente dans la majorité des antifongiques azolés est la suivante :



- Azole : il s'agit d'un hétérocycle azoté soit imidazolé (miconazole, kétoconazole) soit un triazolé (fluconazole, itraconazole).
- A représente un noyau benzénique monosubstitué en position 4' par un atome d'halogène : R³ (chlore chez le triadimefon) ou disubstitué en position 2',4' également par deux atomes d'halogène : R³ (chlore chez l'isoconazole, fluor chez le fluconazole).
- R¹ et R² sont des substituants de nature variable (cf. p. 42 et 43 Fig.13a,b).

♦ Mécanisme d'action

Leurs effets s'exercent sur :

- la perméabilité membranaire : le clotrimazole a la capacité de produire chez *C. albicans* une fuite de cations et de molécules à faible poids moléculaire.(65)
- l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques et des protéines (66)
- l'inhibition du cytochrome P-450 (67) dont dépend la 14 α -déméthylase, enzyme clé de la synthèse de l'ergostérol. Ce stérol étant un des constituants essentiels de la membrane de la levure, il en résulte des changements de perméabilité, l'inhibition de la croissance cellulaire et la mort de la cellule. Sur les fig. 14a,b,c, nous avons schématiquement résumé l'enchaînement d'événements conduisant à l'inhibition de la synthèse de l'ergostérol (67).

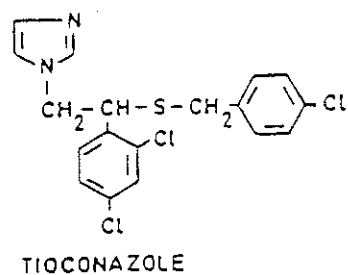
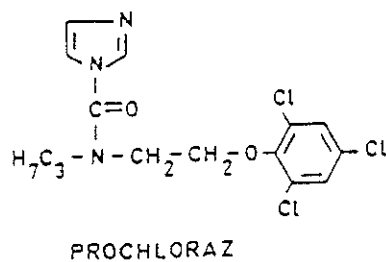
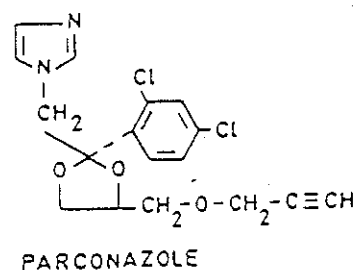
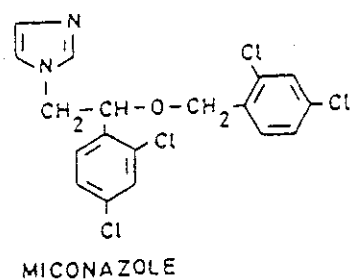
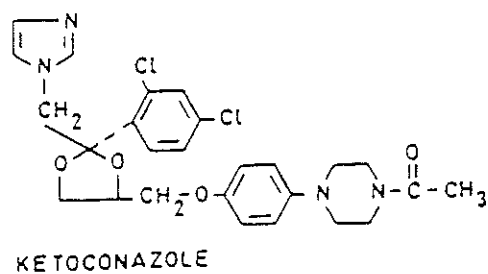
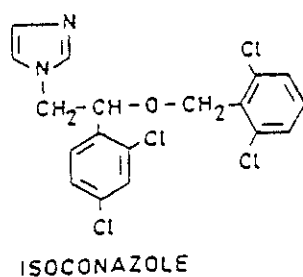
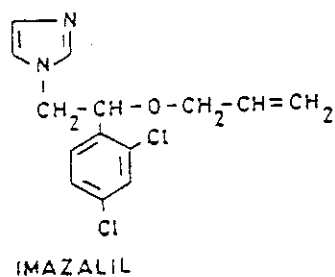
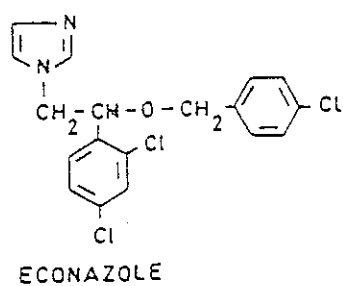
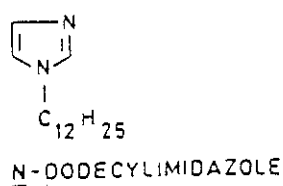
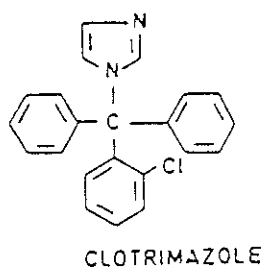
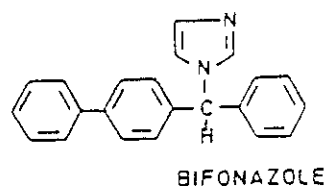


Fig. 13 a. Structure des antifongiques imidazolés N-substitués. D'après H. VANDEN BOSSCHE (67)

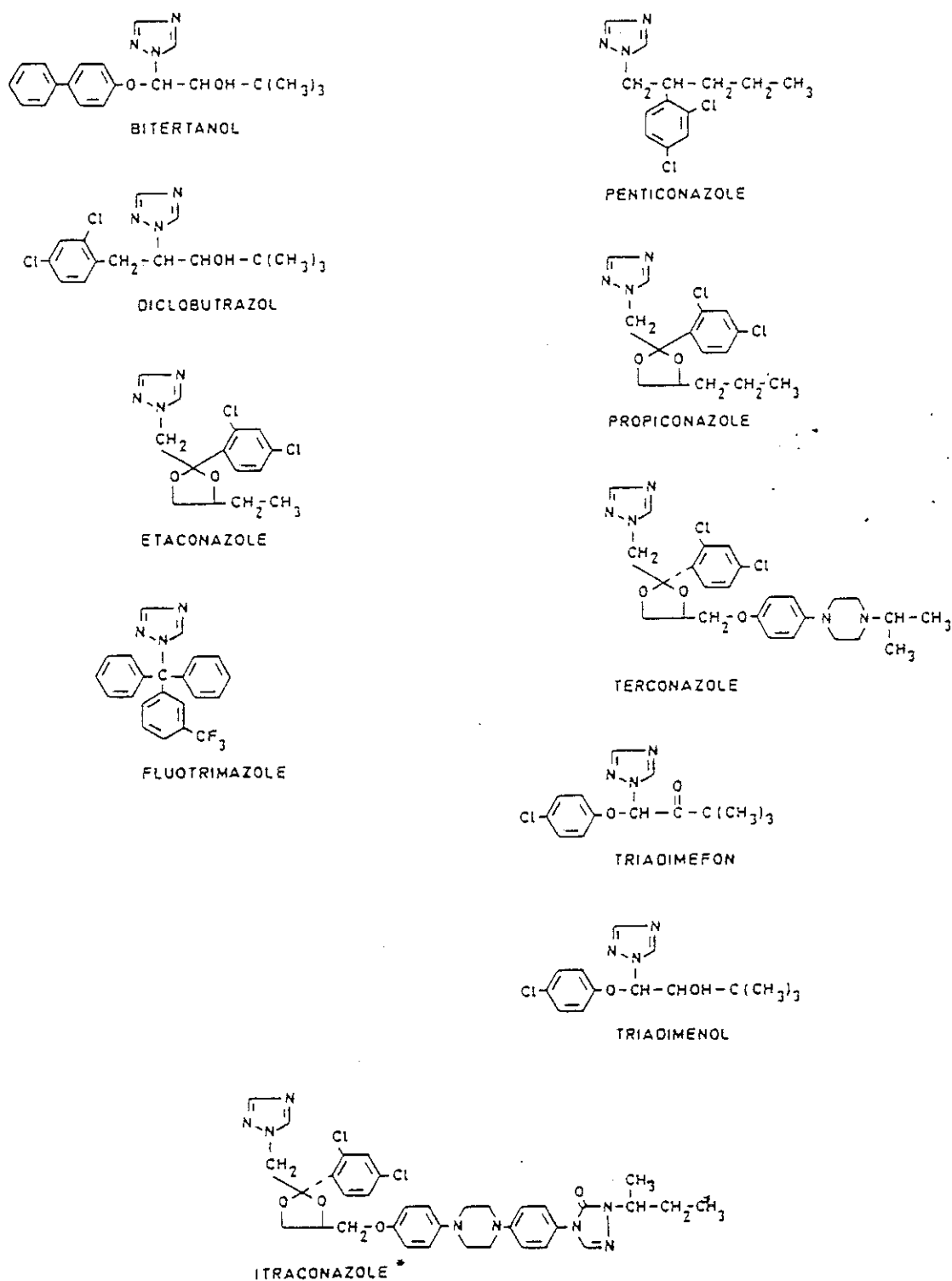


Fig.13b. Structure des antifongiques triazolés N-substitués. D'après H. VANDEN BOSSCHE (67)

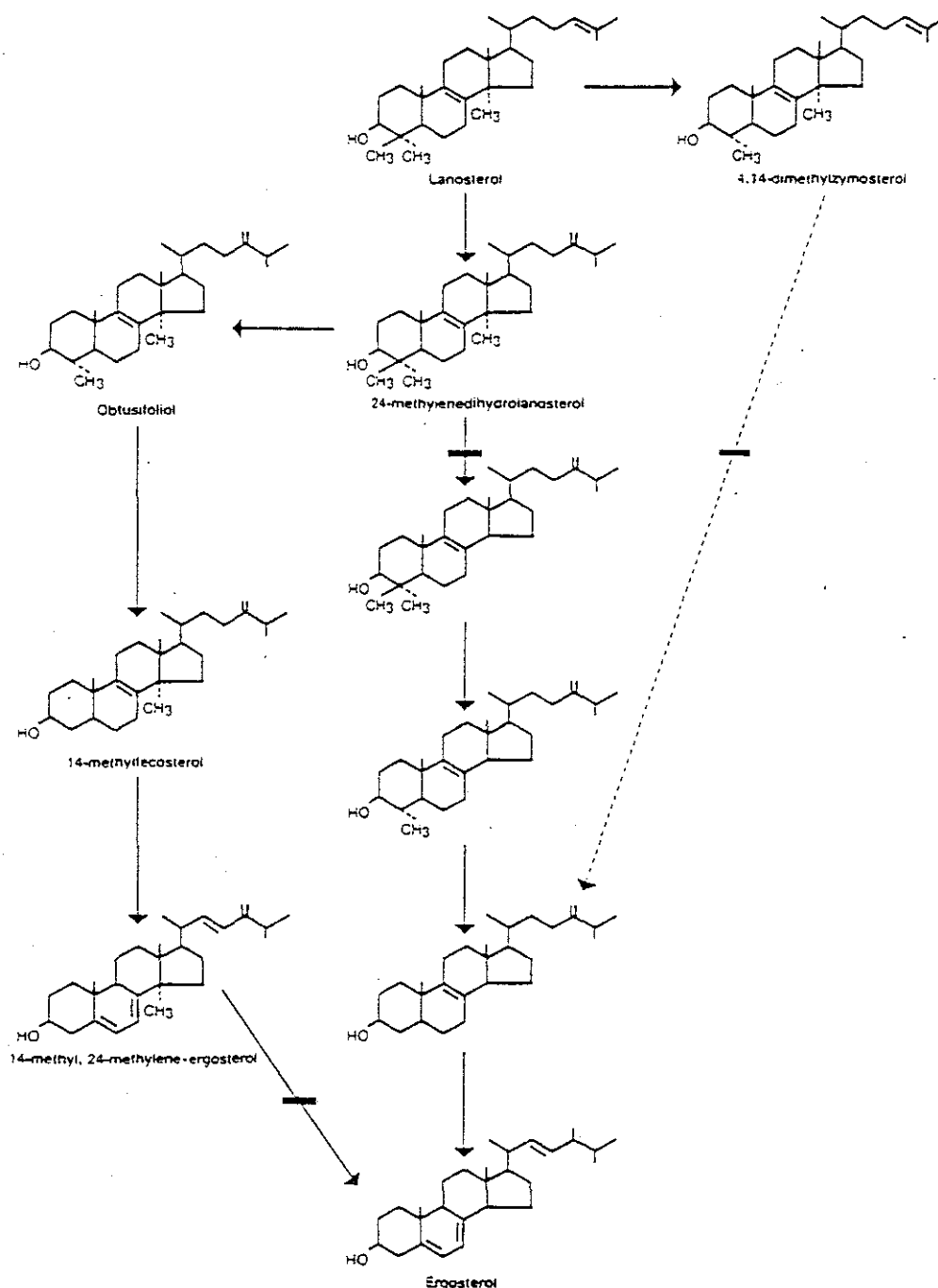


Fig. 14a. Voies de synthèse simplifiées de l'ergostérol chez la levure. Les étapes inhibées par les dérivés azolés sont indiquées (—) et sont reprises de façon plus détaillée sur la fig. 14b. Le mécanisme moléculaire de ces inhibitions est, quant à lui, décrit sur la fig. 14c. D'après H. VANDEN BOSSCHE (67)

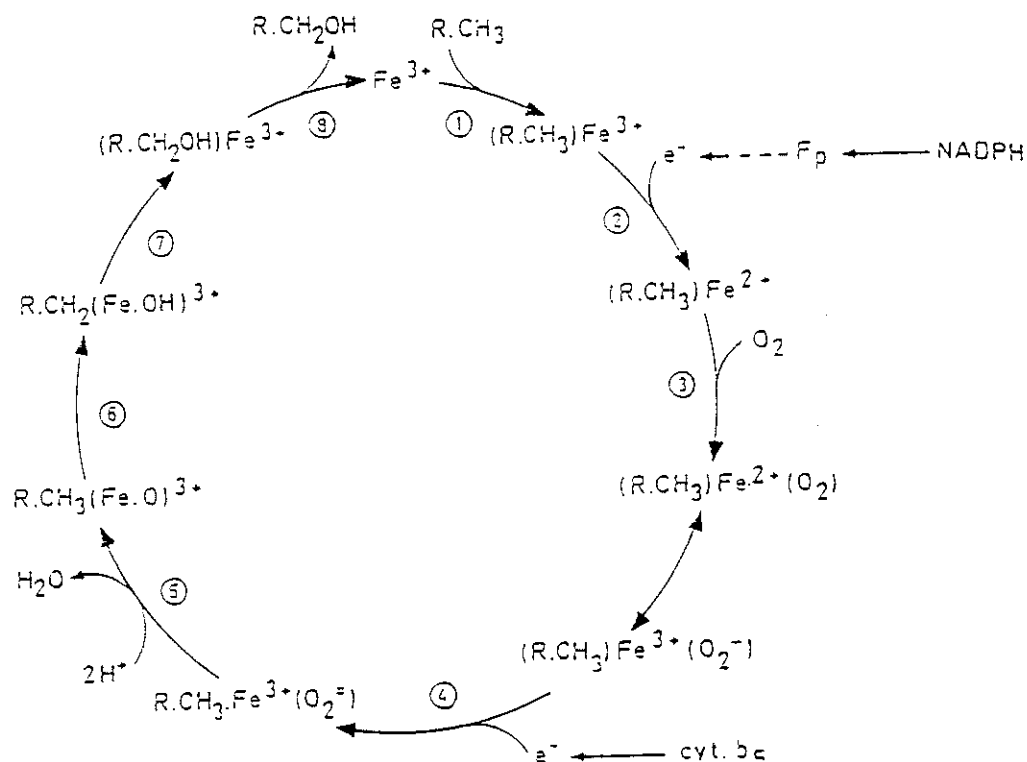


Fig. 14b. Schéma de la réaction d'hydroxylation cytochrome P-450 dépendante, inhibée par les azolés. Dans une première étape 1 le substrat (14 α -méthylstérol) se lie au site de l'enzyme. Au cours de la deuxième étape 2 se produit une réduction par un électron du cytochrome P-450 (l'électron provient du NADPH). Après réduction 3, l'hème se lie à l'oxygène, donnant naissance à un complexe dioxygène ferreux. Une deuxième réduction 4 (au cours de laquelle l'électron est fourni par le cytochrome b-5) provoque la rupture de la liaison oxygène-oxygène. Un atome d'oxygène devient "oxygène activé" 5, l'autre est éliminé sous forme d'eau. Les étapes 6 et 7 correspondent à l'insertion de l'oxygène activé dans le substrat et à la dissociation de complexe alcool primaire - cytochrome P-450. L'étape 8 régénère le cytochrome P-450 (Fe^{3+}). D'après H. VANDEN BOSSCHE (67)

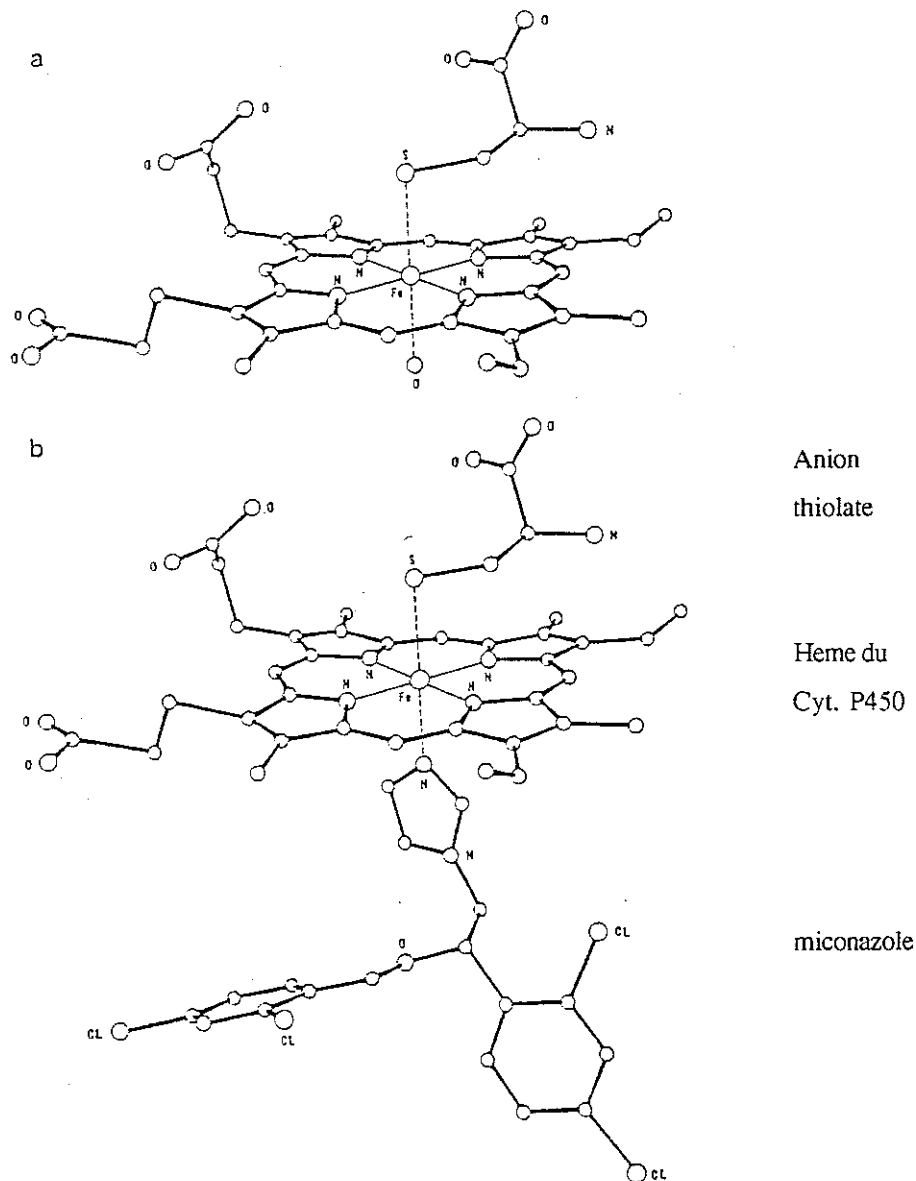


Fig. 14c. Mécanisme moléculaire de l'inhibition du cytochrome P-450 par les azolés.

Représentation a : la cinquième liaison de coordinence est occupée par un anion thiolate apporté par un résidu cystéine du polypeptide. La sixième liaison de coordinence est occupée par une molécule de dioxygène.

Représentation b : l'association d'un azolé (miconazole) avec le cytochrome P-450 conduit à un spectre de type II. Cela signifie que l'interaction de l'azote hétérocyclique avec le cytochrome P-450 est due à une liaison entre l'azote non substitué (N3 dans l'imidazole, N4 dans le triazole) et le fer héminique au site occupé par la sixième liaison de coordinence. Il ne peut plus y avoir formation d'un complexe "oxygène activé" indispensable à l'hydroxylation du 14 α -méthylstérol. Il en résulte une diminution de la synthèse d'ergostérol et donc l'accumulation du 14 α -méthylstérol. D'après H. VANDEN BOSSCHE (67)

♦ Points faibles

- Toxicité (58)

Bien que la toxicité des dérivés azolés soit nettement plus faible que celle des polyènes, elle peut néanmoins constituer, dans certains cas, une limite à leur utilisation. Par exemple, le clotrimazole ne peut faire l'objet d'une administration systémique, en raison de son caractère inducteur des enzymes microsomales, qui a pour conséquence non seulement d'augmenter le catabolisme de ce principe actif et partant de rendre inefficace le traitement au bout de deux à trois jours, mais également d'engendrer une hépatotoxicité, dont on notera toutefois le caractère exceptionnel (1 cas sur 15.000). Parmi les effets indésirables de ce dérivé azolé, signalons les interactions médicamenteuses qu'ils peuvent présenter avec d'autres molécules telles la warfarine, la rifampicine, la cyclosporine, mais aussi la testostérone et le cortisol. Notons également, l'existence de réactions anaphylactiques caractérisées par de l'urticaire et des dyspnées, observées dès la première dose de kétoconazole. Quant au terconazole, son utilisation dans les infections fongiques topiques se trouve très limitée, en raison de ses propriétés de photosensibilisation.

♦ Résistance (63)

Les souches de *C. albicans* résistantes aux dérivés azolés sont non seulement rares, donc d'accès restreint, mais aussi difficiles à maintenir en vie au laboratoire. Depuis l'introduction de ces médicaments, moins de dix souches résistantes ont été isolées. L'examen de celles-ci a montré que le caractère résistant était associé à un blocage du passage du médicament à travers l'enveloppe cellulaire pour atteindre sa cible. Au contraire, l'absorption du triazole ICI-153,066 par la levure, étant plus rapide chez la souche résistante que chez la souche sensible, doit faire appel à un autre mécanisme pour expliquer le phénomène de résistance à ce principe actif.

1.3.23. Autres antifongiques

♦ 5-fluorocytosine (cf. Fig. 15) (68)

C'est le seul médicament des candidoses systémiques dont on connaît les bases moléculaires du mécanisme d'action. La molécule est transportée à travers la membrane plasmique par une cytosine-perméase. Elle est alors métabolisée, par une enzyme de la voie de synthèse des pyrimidines, en 5-fluorouridine triphosphate (précurseur aberrant de l'ARN) et en 5-fluorodéoxyuridylate (inhibiteur puissant de la thymidylate synthétase et donc de la synthèse de l'ADN). Il est malheureux que pour ce médicament non toxique, l'existence de souches résistantes de *C. albicans* constitue un réel problème (63). Effectivement, approximativement 40 à 50 % de souches isolées en clinique sont partiellement résistantes à la 5-fluorocytosine alors que 5 % le sont totalement. Ce

phénomène de résistance s'explique par une mutation hétérozygote sur le gène codant pour l'UMP - phosphoribosyltransférase (enzyme responsable de la synthèse de l'uridylate). Elle peut également avoir pour origine la perte de la cytosine perméase ou de la cytosine déaminase.

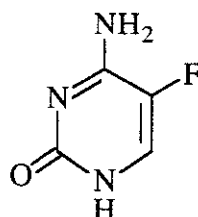


Fig. 15. La 5-fluorocytosine.

♦ Allylamines (cf. Fig. 16) (69)

Les dérivés allylamines constituent une nouvelle classe d'agents antifongiques à large spectre, incluant les dermatophytes, les levures et les fungi dimorphiques. Ces molécules bloquent la synthèse de l'ergostérol en inhibant la squalène-époxydase (enzyme transformant le squalène en squalène époxyde) sans affecter le cytochrome P-450. La naftifine, qui est la première allylamine, découverte en 1974, est plus efficace que le clotrimazole et que l'econazole dans le traitement des dermatophytoses, mais équivalente aux premiers de ceux-ci dans le traitement des candidoses. La terbinafine (analogue 2, 2-diméthylbut-3-ynyle de la naftifine) se caractérise par une activité orale topique, intéressante dans le traitement des candidoses, et plus encore dans celui des dermatophytoses.

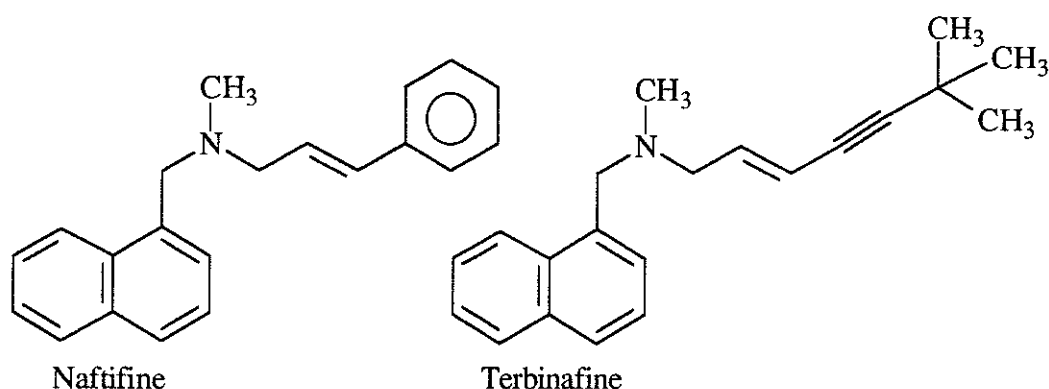


Fig. 16. La naftifine et la terbinafine sont, à l'heure actuelle, les deux seuls composés représentatifs de la classe des allylamines. *D'après A. STUTZ (69)*

♦ Extraits d'ail (*Allium sativum*) (70,71)

L'allicine (Fig. 17), molécule responsable de l'odeur de l'ail (*Allium sativum*) est connue depuis très longtemps pour son activité antimicrobienne, incluant diverses espèces de *Candida*, dont ils inhibent la synthèse lipidique (70). D'autre part, Ghammoun et al. (71) ont montré que l'activité antifongique des extraits d'ail (dont le constituant clé est l'allicine) était antagonisée par des thiols (glutathion, cystéine). Cette observation amène ces auteurs à conclure que l'allicine doit probablement ses propriétés antifongiques à une inactivation des groupements thiols des protéines essentielles de *C. albicans*.

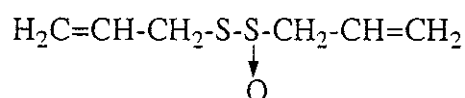
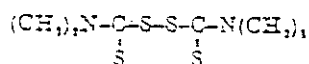


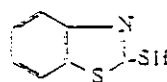
Fig. 17. L'allicine, qui donne aux extraits d'ail (extraits garliques) leurs propriétés antifongiques, est un composé soufré. D'après F.E BARONE et Al (70)

♦ Synoptique de quelques autres antifongiques commerciaux

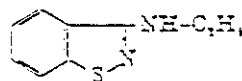
Thiame



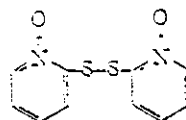
Mercapto-2-benzothiazole
(Dénomination chimique)



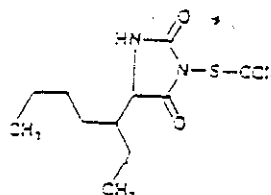
Etisazole



Dipyridione



Chlorodantoiné



(*) Ce dernier est le seul thiol commercialisé comme antifongique (dermacid ®)

1.3.3. Conclusion (68)

L'arsenal thérapeutique antifongique n'est pas, en dépit de sa diversité et de son importance numérique, totalement satisfaisant. La 5-fluorocytosine est dépourvue de toxicité, mais son utilisation est limitée, notamment par l'existence de souches résistantes. L'amphotéricine B est toxique mais reste le médicament de choix pour le traitement des patients atteints de mycoses systémiques. L'avancée thérapeutique la plus significative procède de l'introduction des dérivés azolés en clinique. Ces composés exercent de nombreux effets sur le métabolisme cellulaire de la levure, allant d'une altération des fonctions membranaires à la biosynthèse des stérols. Les enzymes de cette biosynthèse sont également la cible des allylamines, qui constituent à l'heure actuelle la plus récente classe d'antifongiques mise sur le marché.

Le problème majeur du contrôle prophylactique, en amont de l'infectiologie fongique, est l'absence de médicaments adaptés à une administration chez les patients à risque. Aucun des composés actuellement commercialisés ne peut être administré à ce titre. De plus, il serait intéressant de disposer d'antimycosiques aussi peu toxiques que possible et adaptés à une administration prolongée chez les sujets immunodéficients. Par conséquent, il apparaît nécessaire de s'orienter plutôt vers la recherche de médicaments capables de prévenir l'installation du processus infectieux (72) que vers la création de composés dont le rôle est de neutraliser le champignon chez un patient déjà infecté.

1.4. MOLECULES PRESENTANT UNE ACTIVITE INHIBITRICE DE L'ADHESION

La découverte, au début des années 1980, du rôle joué par l'adhésion de *C. albicans* dans le processus infectieux à tout naturellement conduit les chercheurs à étudier l'impact de certaines molécules (généralement des antifongiques ou antibactériens commerciaux) sur ce processus.

1.4.1. Antifongiques utilisés en thérapeutique

L'évaluation de l'inhibition de l'adhésion de *C. albicans*, par les antifongiques classiques (amphotéricine B, dérivés azolés, flucytosine), semble procéder de deux préoccupations principales. Premièrement, déterminer si ces molécules introduites en clinique, en raison de leur caractère antibiotique à l'égard de la levure, ne doivent pas en partie leur activité antifongique à leur capacité à empêcher l'adhésion de *C. albicans* à la surface de l'hôte. Deuxièmement, la toxicité de certains antifongiques commerciaux ayant conduit à étudier leur impact sur la levure à des concentrations "sub-inhibitrices", il est possible, qu'à ces posologies, on observe une diminution de la pathogénicité du champignon, qui peut alors être éliminé plus facilement par les défenses naturelles de l'hôte. C'est précisément, dans ces conditions, que Anderson et al. (73) ont constaté que

le prétraitement de *Candida albicans* par des antifongiques commerciaux réduit sa capacité d'adhésion aux cellules épithéliales vaginales. En 1989, Brenciaglia (57) a constaté que l'amphotéricine B et la flucytosine inhibaient, respectivement de 100 % et 70 %, la germination de *C. albicans* après 72 h. d'exposition, alors que le kétoconazole et le myconazole n'avaient pas d'action significative. S'il est vrai que tous ces antifongiques inhibent l'adhésion de la levure à des cellules sanguines, seule l'amphotéricine B inhibe l'adhésion de *C. albicans* à une concentration inférieure à la C.M.I (sub-inhibitrice). Par ailleurs, Vuddhakul et al. (74) ont étudié l'inhibition de l'adhésion de *C. albicans* sur des surfaces synthétiques (film de dacron) après une période variable d'incubation de la levure en présence d'antifongiques classiques (amphotéricine B, dérivés azolés, 5-fluorocytosine). Cette étude fait apparaître que pour une période d'incubation brève (inférieure à 2 h.) l'inhibition de l'adhésion par l'amphotéricine B et les dérivés azolés est dose-dépendante. Par contre, certains antifongiques nécessitent plus de temps pour agir, notamment la 5-fluorocytosine qui doit subir une incorporation métabolique pour agir. Après une période d'incubation de durée variable (2 h., 18 h. et 24 h.), il a été constaté que l'amphotéricine B et les dérivés azolés provoquent une diminution de l'adhésion de *C. albicans* dès la 2^{ème} h., alors qu'elle n'apparaît qu'au bout de 24 h. pour la 5-fluorocytosine. Signalons enfin, une étude de Darwazeh et al. (75) réalisée chez des patients de services odontologiques. Il a été observé une réduction très sensible de l'adhésion *in vitro* de *C. albicans* aux cellules épithéliales issues de sujets préalablement traités au fluconazole (50 mg/7 jours) par rapport aux sujets non traités. Selon les auteurs, le fluconazole, sécrété à une forte concentration au niveau de la muqueuse buccale, interférerait avec la synthèse ou la structure des récepteurs situés sur les cellules épithéliales buccales, qui permettent l'adhésion de *C. albicans*.

1.4.2. Les extraits d'ail (*Allium sativum*)

Comme nous l'avons souligné précédemment, les extraits d'ail sont dotés d'une activité antifongique qui justifie dans certains pays leur prescription dans le traitement des mycoses. Cependant leur utilisation dans les pays occidentaux étant très marginale, il nous est apparu nécessaire de les traiter séparément de l'arsenal thérapeutique précédent. L'étude de l'inhibition de l'adhésion de *C. albicans* par les extraits d'ail est due pour l'essentiel à Ghannoum (76). Cet auteur a montré en 1990 qu'une préincubation des cellules épithéliales buccales avec des concentrations d'extraits d'ail de 0,4 mg/ml (C.M.I. de 0,8 mg/ml) réduisait proportionnellement la capacité d'adhésion de *C. albicans* (qui en présence de ces extraits végétaux n'élabore pas de tubes germinatifs). Cette propriété anti-adhésive des extraits d'ail pouvant être antagonisée par différents thiols (L-cystéine, 2-mercaptoéthanol, glutathion). Compte tenu que l'activité anti-candidosique des extraits d'ail est probablement liée à une oxydation de thiols protéiques

essentiels et que ces mêmes extraits altèrent la surface cellulaire de la levure, Ghannoum explique l'effet inhibiteur de l'adhésion des extraits d'ail par l'oxydation d'un groupement thiol engagé dans la synthèse d'une adhésine.

1.4.3. Autres principes antifongiques

◆ Noxythioline

La noxythioline (N-méthyl-N'-hydroxyméthyl thiourée) est un antiseptique non antibiotique à large spectre. Une étude de Gorman et al. (77) a montré que le pré-traitement de *C. albicans* par ce composé réduisait l'adhérence du champignon aux cellules épithéliales vaginales, mais à ce jour, le mécanisme de ce phénomène reste encore inconnu.

◆ Composés à fonction thiol

Un certain nombre de composés porteurs d'une fonction thiol (cystéine, 2-mercaptoéthanol) se sont révélés inhibiteurs de l'adhésion de *C. albicans*. Ainsi Kimura et Pearsall (45) ont constaté que la cystéine inhibait la germination et l'adhésion de *C. albicans* aux cellules épithéliales buccales. Il en est de même pour le dithioérythritol et le glutathion, qui sont des inhibiteurs de l'aggrégation des tubes germinatifs. (78)

1.5. CONCLUSION

Les recherches menées, depuis la fin des années 1970, ont permis de progresser considérablement dans la compréhension des mécanismes régissant l'infection candidosique. Ainsi le rôle de l'adhésion de *C. albicans* est-il apparu comme une étape déterminante dans le processus de la pathogénèse. L'adhésion est un phénomène complexe pouvant mettre en jeu des interactions non spécifiques (interactions hydrophobes, ioniques) ou spécifiques (interaction adhésine-récepteur). Parallèlement, cette seconde moitié du XXème siècle a vu une augmentation considérable du nombre d'infections à *Candida*. Cet accroissement est la rançon des progrès en antibiothérapie, en chirurgie et dans le domaine de l'exploration fonctionnelle. Elle est aussi liée au nombre grandissant de sujets immunodéficients (SIDA, toxicomanie). Face à cette recrudescence des candidoses, la thérapeutique dispose d'un large éventail de médicaments dont les polyènes et les azolés constituent les deux classes principales. Cependant il n'existe pas de pharmacomolécules (ou d'associations médicamenteuses) idéales, car beaucoup sont toxiques et mal adaptées au traitement des candidoses systémiques. Enfin il n'existe pas à notre connaissance de molécules pouvant être administrées à titre prophylactique, permettant de prévenir l'infection de sujets à risque.

2

CHIMIE

2.1. SYNTHÈSE DES MONO ET DITHIOLS INSATURES : OBTENTION DES PRÉCURSEURS **IA,C** **IIA-E** ET DES DITHIOLS **ID,E** (*)

2.1.1. Objectifs pharmacochimiques

Une étude préliminaire (79) effectuée dans notre laboratoire sur 33 composés polyfonctionnels dérivés par homologie, isostérie... du glutathion, a permis de mettre en évidence le pouvoir antiagrégant (**) du groupement fonctionnel thiol. Cette activité biologique a été optimisée (80) en associant ce groupement thiol (idéalement ω dithiols) à un environnement lipophile. La prise en compte de ces deux observations nous a conduit à réaliser la synthèse de dérivés comportant la fonction thiol et un enchaînement hydrophobe, induit par la présence d'une insaturation aliphatique ou aromatique. Nous avons tout d'abord recherché à introduire deux fonctions thiols associées à une insaturation aliphatique, mais malheureusement ce type de molécule n'est pas suffisamment stable pour permettre la détermination de caractéristiques physico-chimiques et la mesure d'une activité biologique. Les composés **Ia**, **Ib**, **Ic** obtenus sont les précurseurs immédiats de telles molécules. Par contre les composés **Id** et **Ie** possèdent deux fonctions thiol associées à une composante lipophile constituée par des noyaux aromatiques. Dans ces molécules le remplacement d'une insaturation aliphatique (composés **Ia**, **Ib**, **Ic**) par un noyau aromatique permet d'accroître nettement la stabilité des dithiols obtenus autorisant la détermination de leurs activités biologiques. Enfin la série **II** rassemble des dithiocarbonates précurseurs de structures qui devaient comporter outre la fonction thiol et une insaturation aliphatique, vectrice de lipophilie, un noyau phénoxy p. ou o.p., substitué par 1 ou 2 atomes d'halogène, présent dans plusieurs antifongiques commerciaux. Malheureusement, à nouveau ces composés présentent une très grande instabilité et nous n'avons pas été en mesure de déterminer leur activité biologique.

2.1.2. Stratégie de synthèse

2.1.2.1. Principales voies d'accès à la fonction thiol

Dans le schéma 1 nous avons rassemblé les principales voies d'accès aux thiols aliphatiques.

(**) Nous avons retenu comme modèle d'adhérence "*C. albicans*-cellule cible", l'autoagrégation des tubes germinatifs de cette levure, cultivée sur milieu 199 (cf. partie expérimentale biologique) : Le pouvoir antiagrégant nous apparaissant comme un indicateur fiable de la potentialité antiadhérente.

(*) La stéréochimie E des composés des séries **I-VI** et **VIII** est justifiée p. 141.

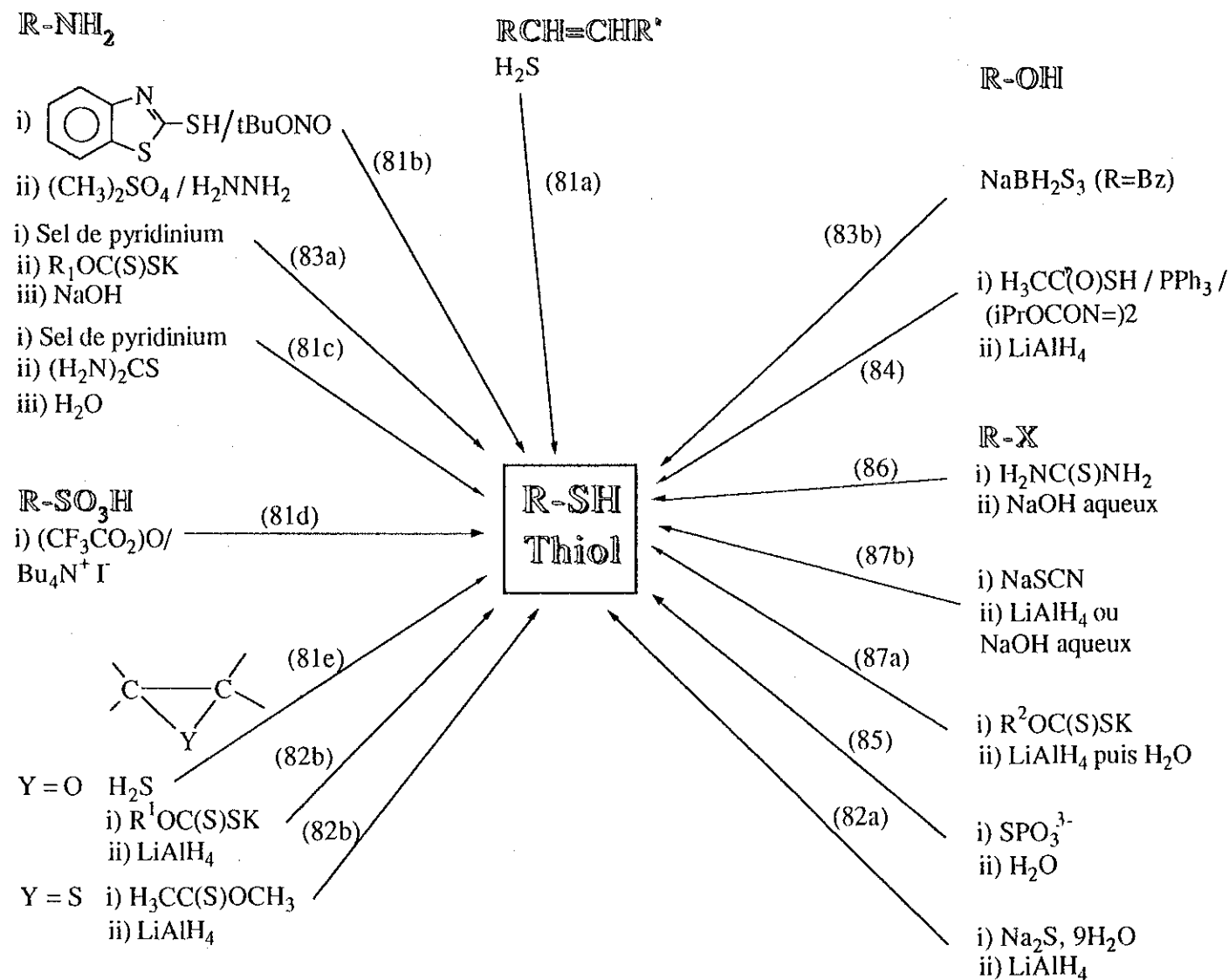


Schéma 1. Obtention des thiols aliphatiques.

Comme l'indique ce synoptique la synthèse des thiols aliphatiques peut être envisagée principalement à partir des amines, alcènes, alcools, halogénures d'alcoyle, cétones, d'acides sulfoniques, ou par ouverture d'hétérocycles (oxiranne, thirane). En outre on peut concevoir cette synthèse de 2 façons :

- soit en une étape, au départ de H_2S qu'il suffit d'alcoyler (81a), mais on court le risque d'une polyalcoylation conduisant à des dialcoylsulfures voir même des sels de sulfonium. Mais par un contrôle attentif des conditions expérimentales, on peut obtenir divers thiols par réaction de l'hydrogènesulfure de potassium (KSH) avec un bromoalcane.
- soit en plusieurs étapes : dans ce cas la préparation de thiols passe par la création d'une liaison C-S par déplacement nucléophile (d'un sel de pyridinium lorsque la synthèse est envisagée à partir d'un alcool (84) ou tout simplement d'un halogénure d'alcoyle) (85, 86, 87a,b,) suivie de la transformation de l'intermédiaire réactionnel en thiol.

2.1.22. Choix des méthodes retenues

Le choix des méthodes de synthèse des thiols ou de leurs précurseurs **I** et **II** a été guidé par des considérations prenant en compte la structure de la molécule finale attendue et les propriétés pharmacologiques recherchées. Nous avons donc retenu trois voies d'accès à la fonction thiol.

♦ Voie des xanthates (87a) : obtention des précurseurs **Ia-b** et **IIa-e**.

Notre choix s'est porté sur cette méthode en raison d'une part de la facilité d'accès aux composés de départ (halogénures d'alcoyle) et d'autre part des excellents rendements qu'elle fournit (80%). L'hydrogénolyse des dithiocarbonates **Ia-b** et **IIa-e** ne conduit pas aux dithiols attendus mais à un mélange polymérisé.

♦ Voie des thiouroniums : obtention du dithiol **Id**.

Le composé précurseur de **Id** étant insoluble dans l'éthanol nous avons préféré substituer à la méthode utilisant l'ion xanthogénate celle faisant intervenir un déplacement de l'halogénure d'alcoyle par la thiourée dans le diméthylformamide (86).

♦ Voie des thioesters : obtention du précurseur **Ic** et du dithiol **Ie**.

Pour les deux composés **Ic** et **Ie** notre plan de synthèse comporte le passage par un diol (respectivement **2** et **9**). Plutôt que de transformer ces diols en halogénure d'alcoyle puis en thiol nous avons utilisé la méthode de Mitsunobu (88) modifiée par Volante (84) qui permet, par l'intermédiaire d'un thioester, au départ d'un alcool, d'obtenir le thiol attendu en une seule étape.

2.1.23. Plan de synthèse

2.1.231. Synthèse du 1,4-bis (dithiocarbonato-O-méthyl-S-)but-2-yne **Ia** et du 1,4-bis (dithiocarbonato-O-méthyl-S-)but-2-ène **Ib** (schéma 2)

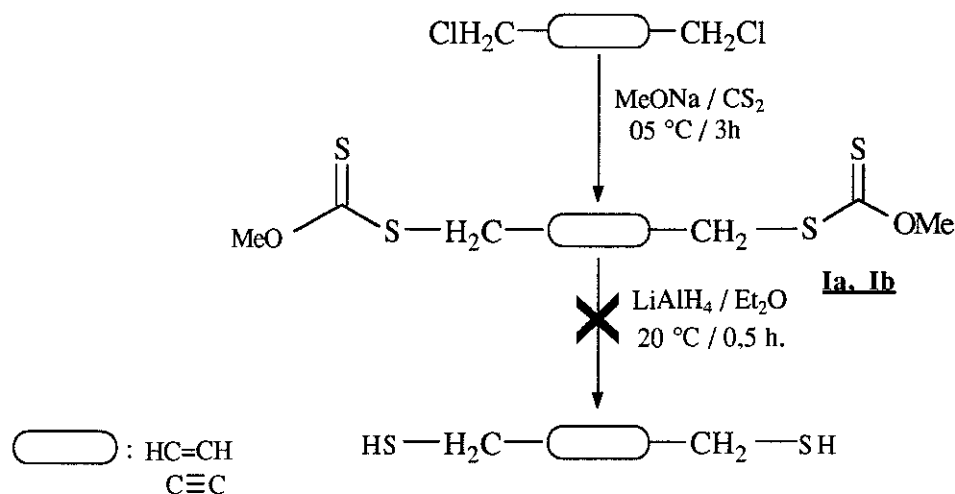


Schéma 2. Synthèse des composés **Ia** et **Ib**.

Les composés **Ia** et **Ib** sont obtenus respectivement à partir du 1,4-dichlorobut-2-yne et du 1,4-dichlorobut-2-ène traités en milieu alcoolique par le xanthogénate de sodium.

L'hydrogénolyse des composés **Ia** et **Ib** par le tétrahydruroaluminate de lithium dans le THF ou par l'éthylènediamine (**87a**) devrait normalement conduire aux dithiols correspondants. En fait, on obtient un mélange de composés dont l'examen en spectroscopie infra-rouge fait apparaître la fonction thiol (raie à 2560 cm^{-1}) mais dont la spectroscopie R.M.N indique la formation d'un polymère (probablement par oxydation des groupements thiols en disulfures).

2.1.232. Synthèse du 1,6-diacétylthiohex-3-ène **Ic** (cf schéma 3).

La réduction directe de l'acide but-2-ène-1,4-dioïque en diol **2** donne des rendements assez faibles (environ 40%) probablement en raison de sa faible solubilité en milieu organique. Pour cette raison, dans une première étape nous avons transformé l'acide but-2-ène-1,4-dioïque en diester **1** qui par simple réduction fournit le 1,6-dihydroxyhex-3-ène **2** avec un rendement global de 64%. Pour transformer le diol **2** en 1,6-diacétylthiohex-3-ène **Ic** avec un rendement de 67% nous avons utilisé un protocole expérimental (**84**) dérivant de la méthode de Mitsunobu (**88**) (cf schéma 4). Comme pour les composés **Ia** et **Ib**, l'hydrogénolyse de **Ic** en 1,6-dimercaptohex-3-ène conduit à un mélange de type polymère.

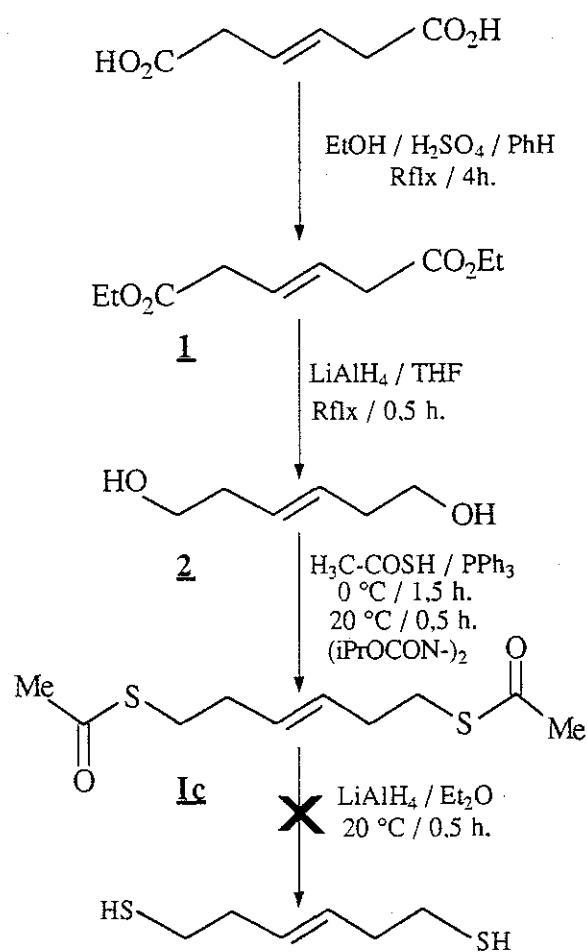


Schéma 3. Synthèse du composé **Ic**

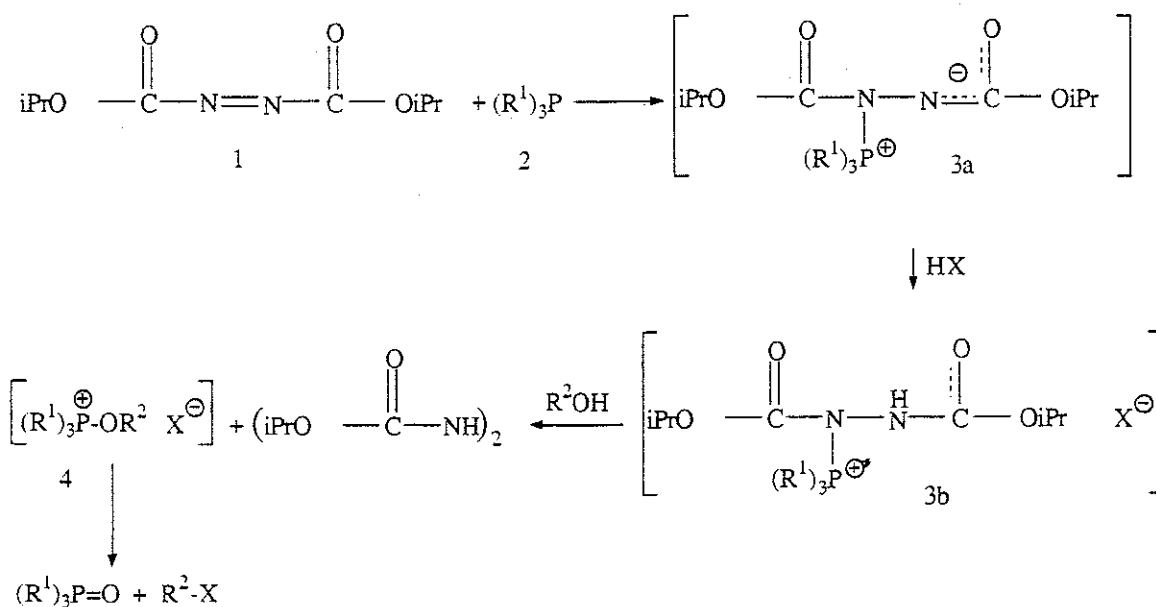


Schéma 4. Principe de la réaction de Mitsunobu (88) appliquée à la transformation d'un alcool (R^2OH) en dérivé acetylthio (R^2-X , avec $\text{X} : -\text{SC}(\text{O})\text{CH}_3$).

L'addition de la triphénylphosphine ($\text{R}^1 = \text{Ph}$) [2] sur l'azodicarboxylate de

disopropyle [1] conduit à la formation d'un sel de phosphonium quaternaire [3a]. L'addition d'acide thiolacétique (HX) entraîne la protonation du sel de phosphonium quaternaire [3b] et l'addition d'alcool (R²OH) conduit à un sel d'alcoylphosphonium [4] qui par une réaction de déplacement de type S_N2 conduit au dérivé thioacétylé attendu (R²-X). Par conséquent le système azodicarboxylate / triphénylphosphine donne lieu à une réaction de type rédox dans laquelle la triphénylphosphine est oxydée en oxyde de triphénylphosphine et l'azodicarboxylate réduit en N,N'-hydrazinodicarboxylate de diisopropyle.

2.1.233. Synthèse du 1,2-bis (4-mercaptométhylphényl) éthylène

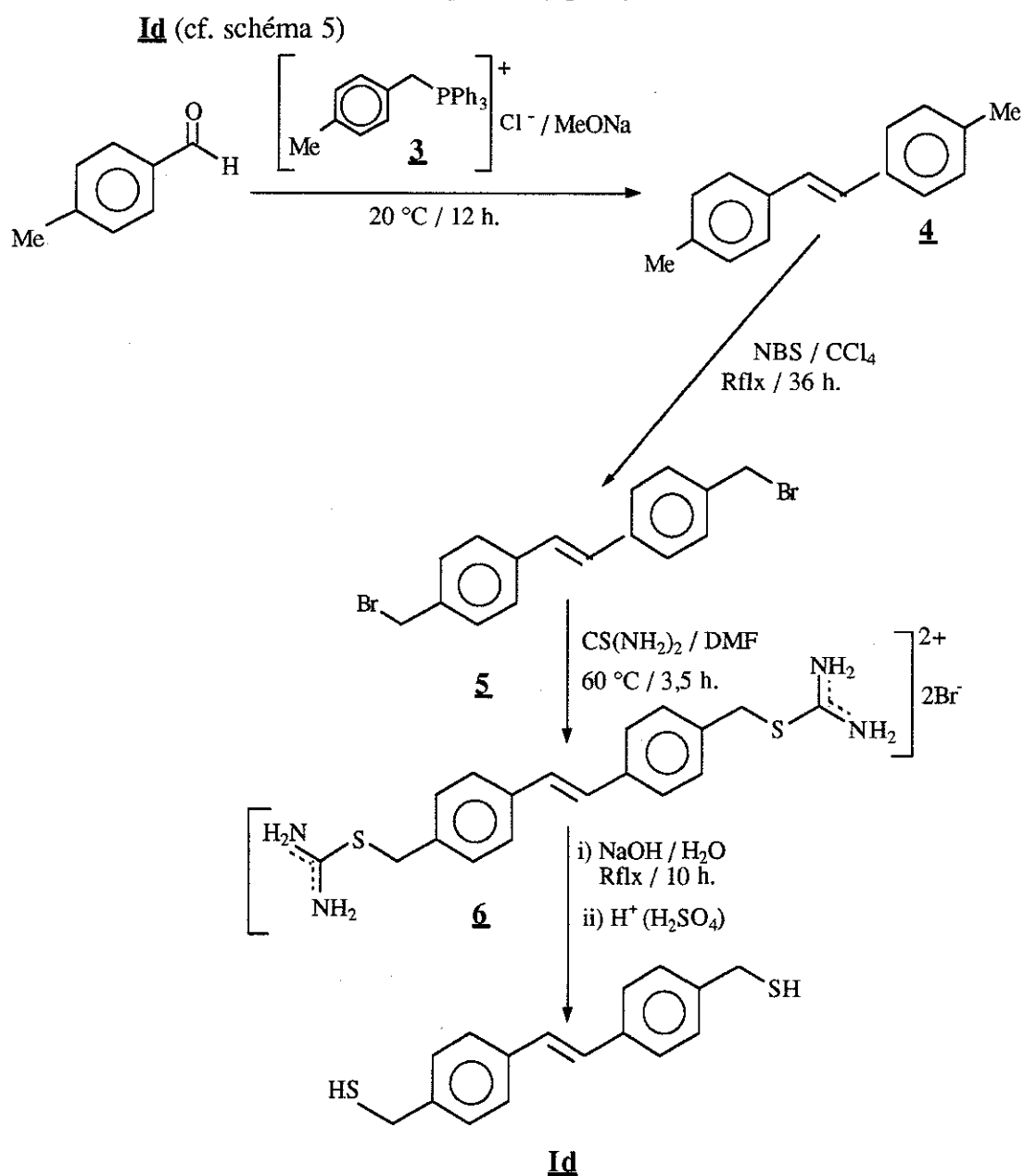


Schéma 5. Synthèse du composé **Id**

Le chlorhydrate de 4-méthylbenzyltriphénylphosphonium **3** est obtenu avec un rendement de 93 % par condensation du 4-chlorométhyl-1-méthylbenzène et de la triphénylphosphine dans le xylène selon le protocole habituel (89). Une réaction de Wittig effectuée en milieu alcoolique (90) permet d'obtenir le 1,2-bis (p-tolyl)éthylène **4** par opposition du sel de phosphonium **3** au 4-méthylbenzaldehyde avec un rendement de 68%. Le 1,2-bis (p-bromométhylphényl)éthylène **5** est obtenu par une réaction radicalaire de **4** avec le NBS (rendement 57%). Pour obtenir le 1,2-bis (p-mercaptométhylphényl)éthylène **Id** nous sommes passés par l'intermédiaire du sel de thiouronium (la voie d'accès utilisant le dérivé dithiocarbonate donnant un rendement plus faible). Donc, par traitement du 1,2-bis (p-bromométhylphényl) éthylène **5** avec la thiourée dans le DMF (86) on obtient l'intermédiaire **6** (91%) qui par réaction en milieu basique puis acide conduit au 1,2-bis (p-mercaptométhylphényl) éthylène **Id** (72%).

2.1.234. Synthèse du 1,2-bis (4-mercaptométhylstyryl)benzène **Ie** (cf. schéma 6)

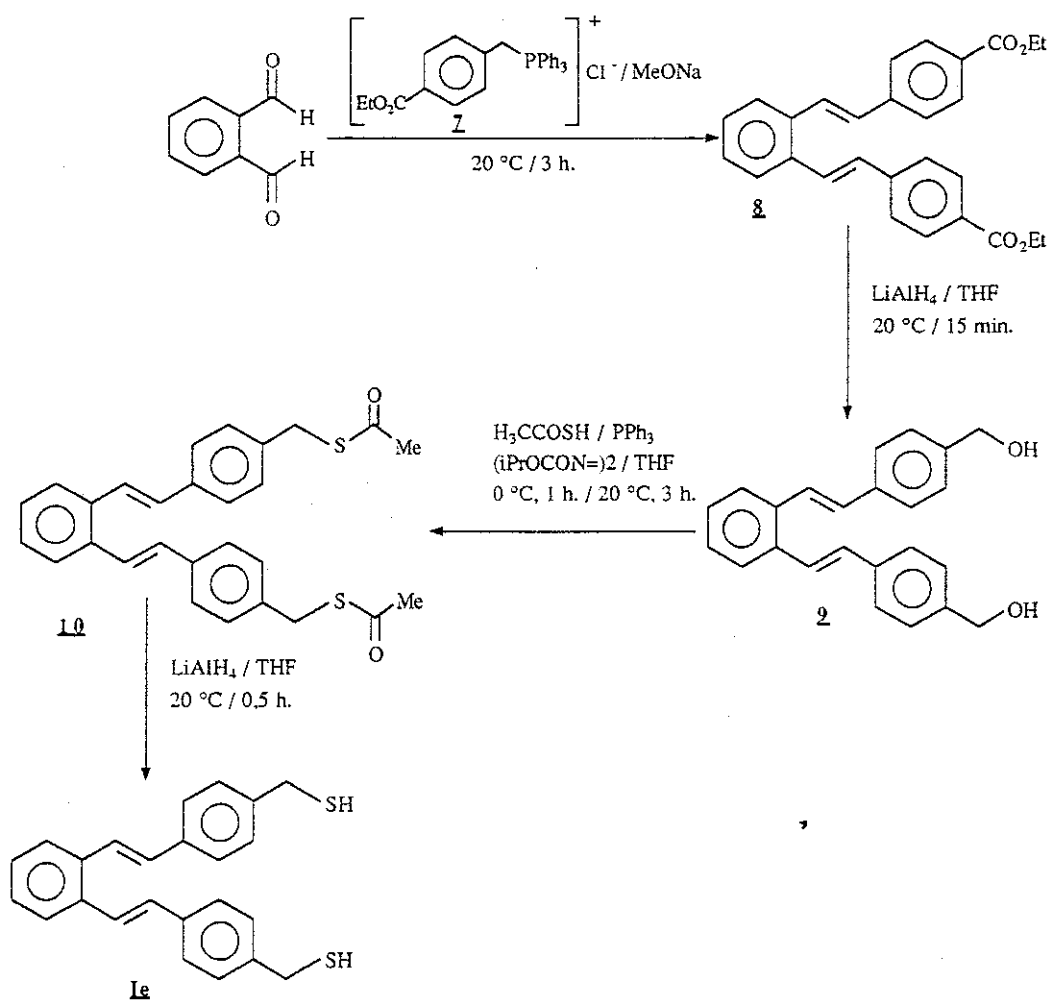


Schéma 6. Synthèse du composé **Ie**

L'opposition du 4-chlorométhylbenzoate d'éthyle à la triphénylphosphine dans le xylène conduit au chlorhydrate de 4-éthoxycarbonylbenzyltriphénylphosphonium **7** avec un rendement de 82%. Le traitement de ce sel de phosphonium par le dialdéhyde phtalique en milieu alcoolique basique selon le protocole de Hauser (**90**) conduit au 1,2-bis (p.éthoxycarbonystyryl)benzène **8** avec un rendement de 64%. Pour obtenir le dithiol **1e**, nous avons à nouveau choisi d'utiliser la réaction de Mitsunobu (**84, 88**) en raison de sa facilité de mise en oeuvre et surtout de son excellent rendement. Une autre voie de synthèse consisterait à synthétiser le 1,2-bis (4.méthylstyryl)benzène par une réaction de Wittig et à effectuer sur celui-ci une bromation radicalaire. Malheureusement, cette étape conduit à plusieurs dérivés bromés (polybromation radicalaire).

Le 1,2-bis (p.éthoxycarbonystyryl)benzène **8** donc est dans une première étape réduit par le tétrahydruroaluminate de lithium en 1,2-bis (p.hydroxyméthylstyryl)benzène **9** (Rdt = 91,2%). L'alcool est alors transformé, selon la méthode de Mitsunobu, en 1,2-bis (p.acétylthiostyryl)benzène **10** avec un rendement de 66%. Le 1,2-bis (4.mercaptométhylstyryl)benzène **1e** est obtenu par hydrogénolyse du dérivé thioacétylé **10**.

2.1.235. Synthèse des dithiocarbonates de O-éthyle et de S-4-aroxybut -2-èn-1-yle

II.(cf. schéma 7)

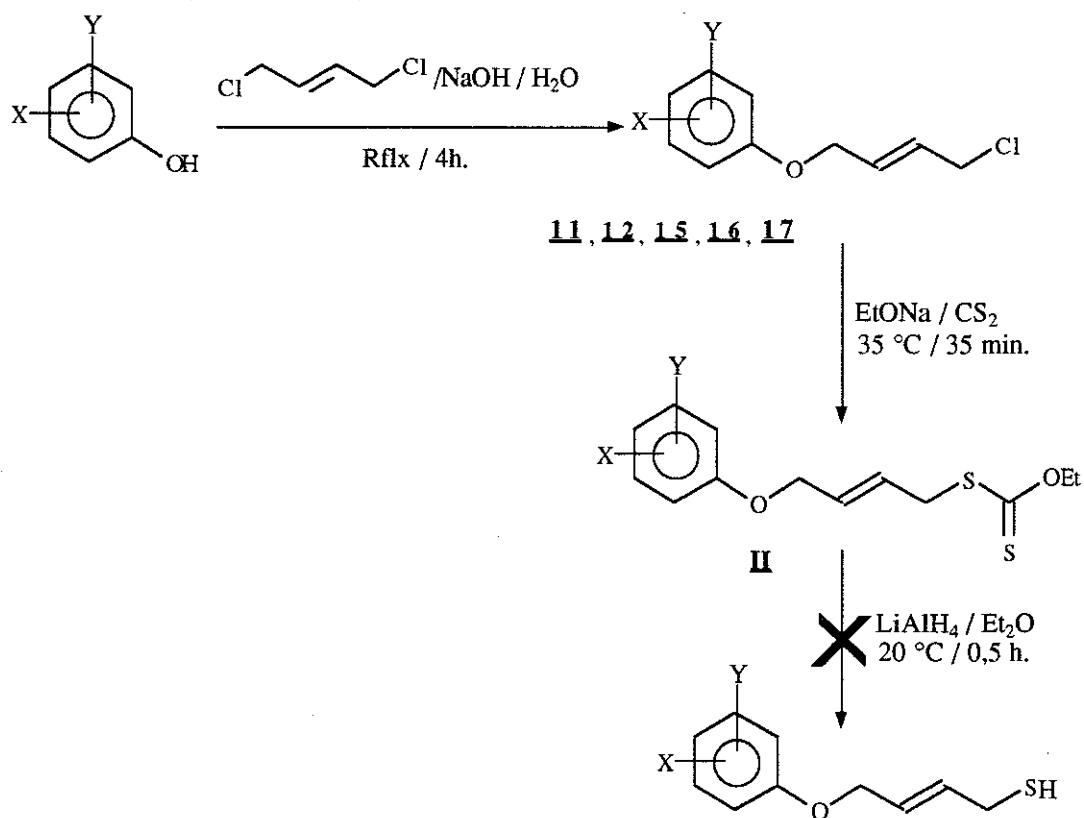
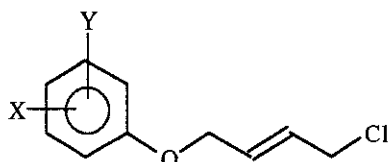
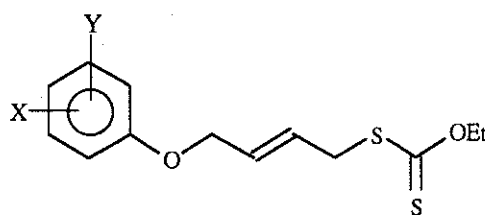


Schéma 7. Synthèse des dérivés **II**.



11-17

N°	X	Y	Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract.physico-chimiques
11	4-Cl	H	37	cf. p.153	cf. p.154
12	4-Cl	2-Cl	44	"	154
13	4-Br	H	22	"	155
14	4-Br	2-Br	35	"	155
15	4-F	H	20	"	156
16	4-Cl	3-Me	29	"	156
17	-2,3-C ₆ H ₄		30	"	157



II

N°	X	Y	Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract.physico-chimiques
a	4-Cl	H	90	cf. p.157	cf. p.157
b	4-Cl	2-Cl	80	"	158
c	4-F	H	82	"	159
d	4-Cl	3-Me	84	"	159
e	-2,3-C ₆ H ₄		68	"	160

Les dérivés 4-aroxy-1-chlorobut-2-ène-(E) **11-12, 15-17** sont obtenus par condensation d'un phénol avec le 1,4-dichlorobut-2-ène-(E). Cette réaction est effectuée en milieu aqueux en présence de soude selon un protocole dérivant de celui de Besage (**91**) qui fournit des rendements moyens de 35%. Les différents dithiocarbonates de O-éthyle et de S-4-aroxybut-2-én-1-yle **II** sont synthétisés par la méthode de Tschugaeff (*in* **87a**) c'est-à-dire par action du sel de l'acide xanthogénique sur les différents 4-aroxy-1-chlorobut-2-ènes **11-12, 15-17** (rendement de 80%). L'hydrogénolyse des différents xanthates **II** ne permet pas d'obtenir les 4-aroxy-1-mercaptobut-2-ènes correspondants en raison de leur grande instabilité.

2.1.24. Intérêts des thiols

Les thiols jouent un rôle fondamental dans le domaine de la biochimie. Il existe par exemple, un grand nombre d'enzymes appelées protéinases à cystéine dont l'activité enzymatique repose sur la présence de la cystéine au niveau du site actif (92). C'est ce même amino-acide qui, engagé dans des ponts disulfures, participe à la structure tridimensionnelle de nombreuses protéines. Le tripeptide glutathion, qui contient également un résidu cystéine, joue un rôle déterminant dans les mécanismes d'oxydo-réduction et de captation des radicaux libres.

Les thiols interviennent également dans les différents mécanismes : détoxification, photosynthèse et métabolisme des mitochondries. En effet les thiols sont produits comme métabolites par certains micro-organismes (les bactéries coréneformes dégradent la méthionine en méthanthiol) mais leur rapide oxydation en disulfures pourrait expliquer leur rareté dans le monde vivant. Enfin, parmi les thiols présentant un intérêt dans le domaine pharmaceutique citons le Captolane®/Lopril® (antihypertenseur par inhibition de l'enzyme de conversion) et le Dermacid® (antifongique). Les thiols sont en outre de puissants radioprotecteurs ayant fait l'objet de plusieurs programmes d'étude de l'armée américaine.(93).

2.2. SYNTHÈSE DES THIOCYANATES DE 4-AROXYBUT-2-EN-1-YLE.III (cf. schéma 8)

2.2.1. Objectifs pharmacochimiques

Ces molécules associent trois pôles pharmacophores :

- un groupement phénoxy halogéné ou non (pharmacophore antifongique),
- une insaturation assurant la lipophilie,
- un groupement thiocyanate chimiquement plus stable que le groupement thiol et qui a révélé un pouvoir anti-adhérent et antifongique intéressant.

En outre une publication récente (94) a montré que le thiocyanate de méthyle produit par *L. acidophilus*, cultivé sur milieu MRS, en présence de *C. albicans*, inhibe la croissance de ce dernier champignon. De même le thiocyanate de 3-(4-bromophénoxy)prop-1-yle (Robumycon®) et un antifongique commercial

2.2.2. Stratégie de synthèse

2.2.2.1. Principales voies d'accès à la fonction thiocyanate (95)

Dans le schéma 8, nous avons rassemblé les principales voies d'accès aux thiocyanates aliphatiques.

La méthode la plus commune pour obtenir un thiocyanate aliphatique consiste à opposer un halogénure d'alcoyle à l'ion thiocyanate (le contre ion étant très varié : sodium, potassium, cuivre, argent, mercure, plomb, ammonium) (96a, 96b).

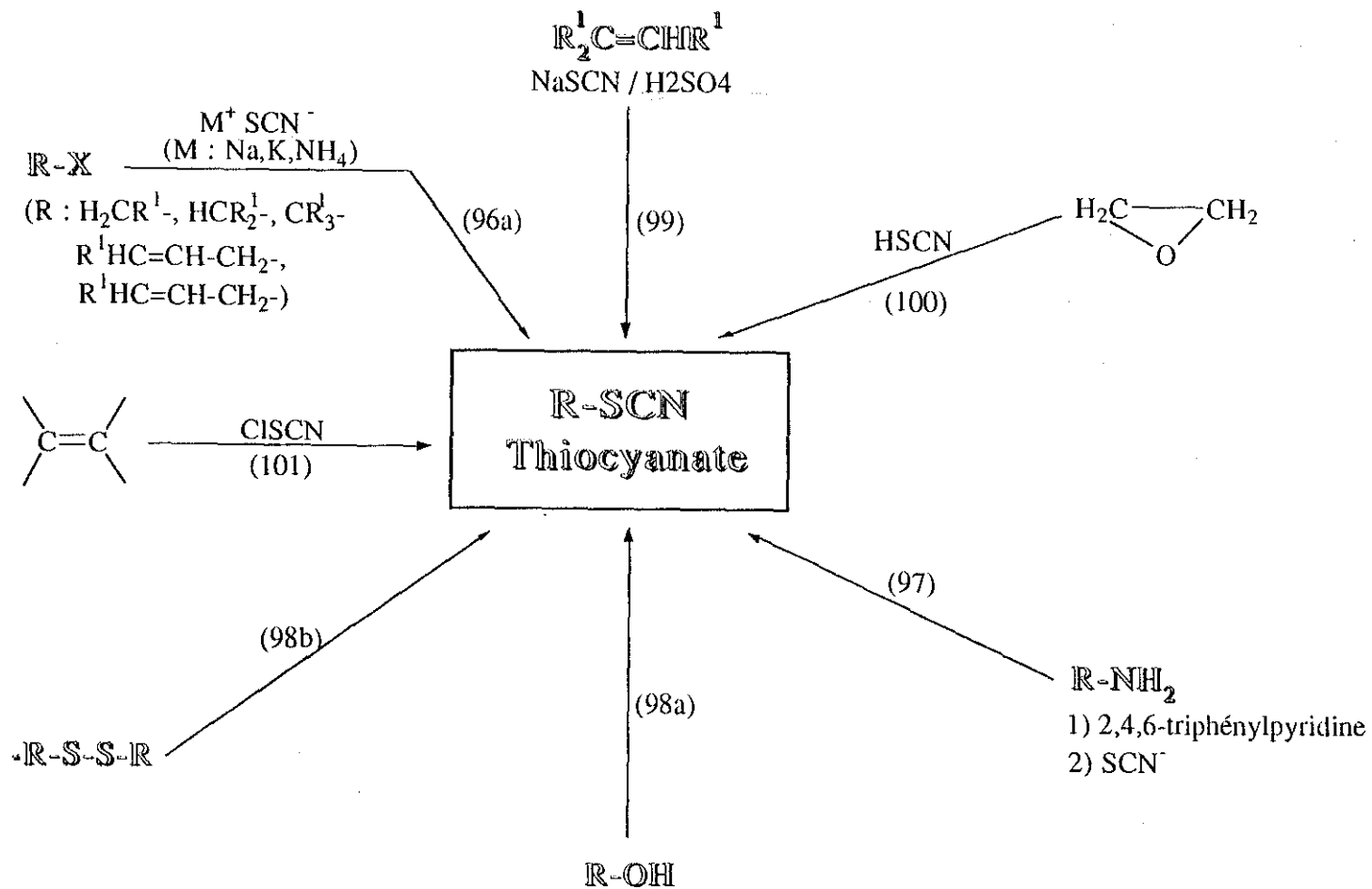


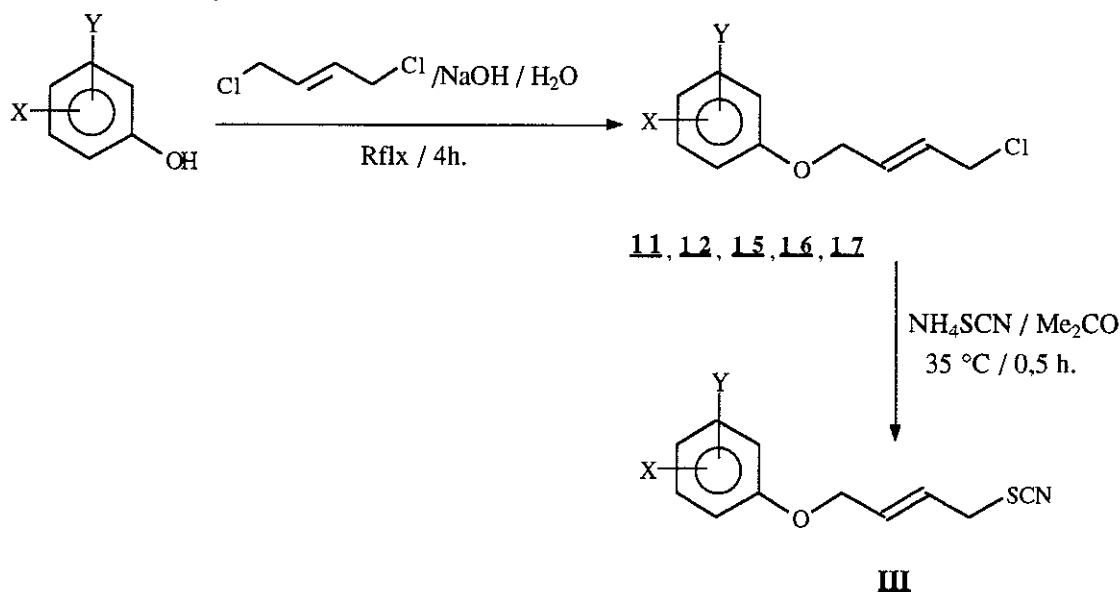
Schéma 8. Principales voies d'accès aux thiocyanates aliphatiques.

On peut également obtenir ces composés à partir d'une amine ou d'un alcool respectivement par déplacement d'un sel de pyridinium, (97) ou de phosphonium (98a), par l'ion thiocyanate. Signalons également l'addition de l'acide thiocyanique (régiosélective; Markovnikov) (99) ou du chlorure de thiocyanogène (101) sur une oléfine.

2.2.22. Choix de la méthode retenue

La voie d'accès utilisée pour obtenir les composés **III** a été choisie en fonction de la nature de leurs précurseurs. Ceux-ci étant des halogénures d'alcoyle, nous avons utilisé tout naturellement la méthode la plus directe, d'échange des ions.

2.2.23. Plan de synthèse (cf. schéma 9)



N°	X	Y	Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract.physico-chimiques
a	4-Cl	H	37	cf. p. 160	cf. p. 160
b	4-Cl	2-Cl	30	"	161
c	4-F	H	35	"	162
d	4-Cl	3-Me	23	"	162
e	-2,3-C ₆ H ₄		26	"	163

Schéma 9. Plan de synthèse et composés obtenus dans la série **III**.

On traite les différents halogénures d'alcoyle **11-12, 15-17** par le thiocyanate d'ammonium. L'utilisation de thiocyanates de sodium ou de potassium est moins performante en raison de leur médiocre solubilité dans l'acétone qui constitue le meilleur solvant de cette réaction. Les rendements obtenus sont cependant faibles (en moyenne 35%) car l'apparition très rapide d'un produit supplémentaire (isothiocyanate) oblige à

interrompre précocement la réaction alors que le milieu réactionnel contient encore de l'halogénure d'alcoyle de départ.

Une étude en RMN du proton et en spectroscopie infra-rouge permet de préciser que lors de la réaction, il se forme à côté du thiocyanate de 4-aroxybut-2-èn-1-yle **III** attendu, un isothiocyanate de structure allylique. Par ailleurs, une fois formé et isolé le thiocyanate **III** se transforme en isothiocyanate de structure allylique identique à celui obtenu précédemment comme produit secondaire de la réaction initiale. Nous proposons dans le schéma 10 une interprétation possible de ce phénomène tenant compte de ces différentes observations.

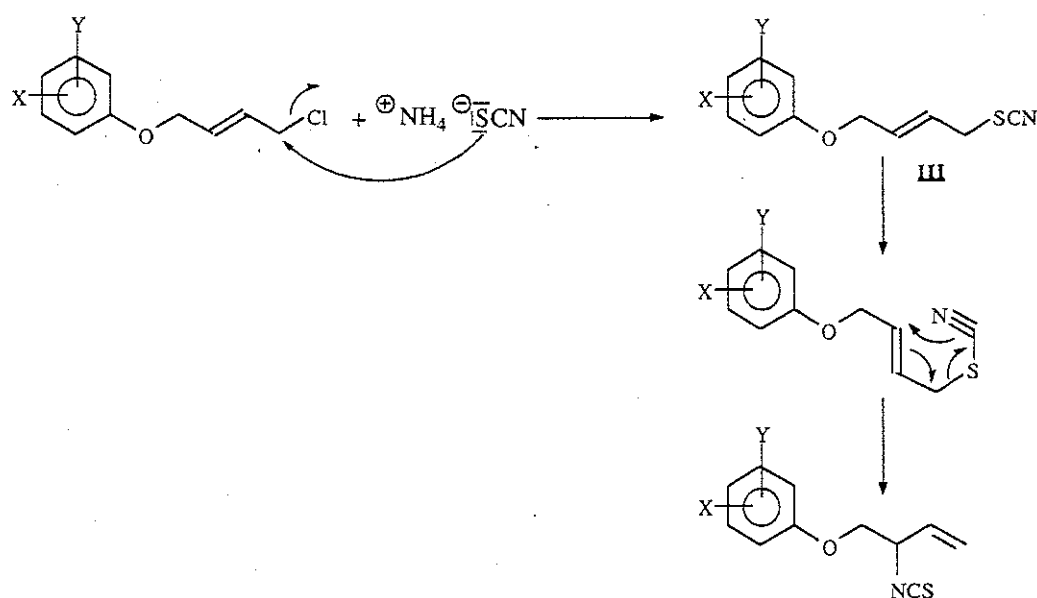


Schéma 10. Schéma de formation de l'isothiocyanate de structure allylique lors de la synthèse des thiocyanates de 4-aroxybut-2-èn-1-yle **III**. La formation de ces isothiocyanates de structure allylique peut être attribuée à un réarrangement de type Cope (95).

2.3. SYNTHÈSE DES 4-AROXY-1-(2-MERCAPTOBENZOTHIAZOLYL)BUT-2-ÈNES ET 4-AROXY-1-(2-MERCAPTOBENZOXAZOLYL)BUT-2-ÈNES. **IV**

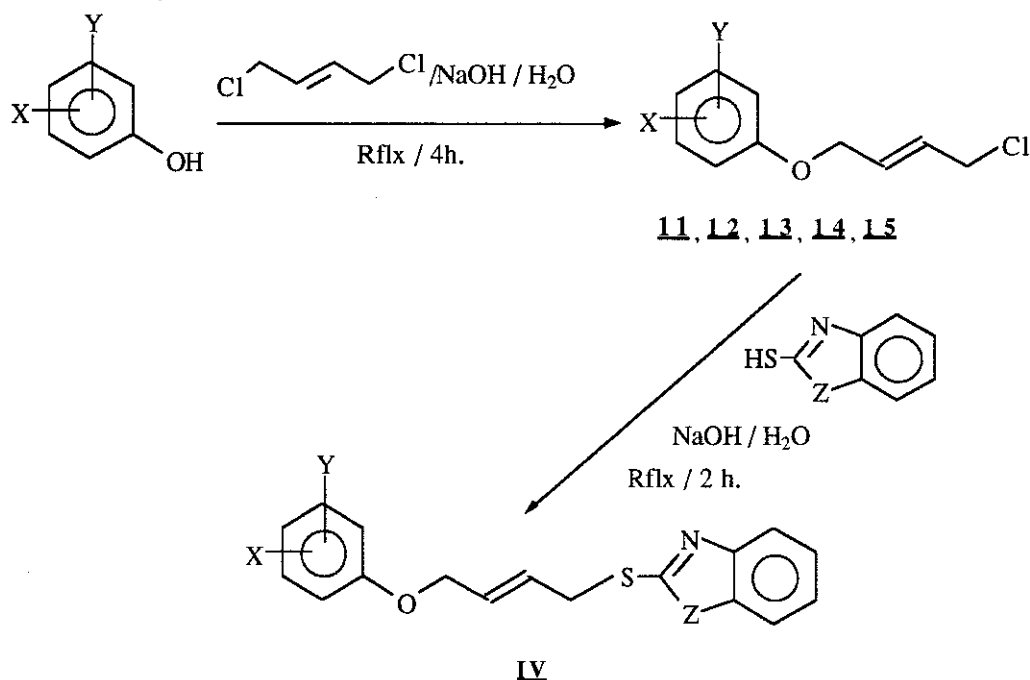
2.3.1. Objectif pharmacochimique.

Ces composés reprennent deux des éléments structuraux déjà présents dans les séries **II** et **III** auxquels est associé par un groupement thioéther un hétérocycle benzothio(ox)azolique :

- un noyau aroxy p. et o.p.- substitué par 1 ou 2 atomes d'halogène ;
- une insaturation : vecteur de lipophilie ;
- un chaînon thioéther unissant les précédents groupements à un noyau benzothiazole ou benzoxazole.

Le noyau benzothiazole apporte outre un incrément de lipophilie par le cycle benzénique, un deuxième atome de soufre inclus dans un hétérocycle. Le noyau benzoxazole permettra de savoir si l'atome de soufre intracyclique du benzothiazole augmente l'activité anti-adhérente. Rappelons que le 2-mercaptobenzothiazole est commercialisé sous le nom de Dermacid® comme antifongique topique (cf. formule p. 49).

2.3.2. Plan de synthèse (cf. schéma 11)



X	Y	N°	Z = S			N°	Z = O		
			Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract.physico-chimiques		Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract.physico-chimiques
4-Cl	H	a	49	cf. p. 163	cf. p. 163	f	67	cf. p. 163	cf. p. 167
4-Cl	2-Cl	b	24	"	164	g	48	"	168
4-Br	H	c	82	"	165	h	82	"	169
4-Br	2-Br	d	41	"	166	i	35	"	169
4-F	H	e	47	"	166	j	65	"	170

Schéma 11. Plan de synthèse et composés obtenus dans la série **IV**.

Pour cette synthèse, nous avons mis à profit la nucléophilie du groupement thiol, en traitant le 4-aryloxy-1-chloro-but-2-ène **11-15** par une solution aqueuse de soude contenant le 2-mercaptobenzothiazole ou le 2-mercaptobenzoxazole. Les rendements sont variables selon la nature et l'importance de la substitution : élevés avec le 4-(p.bromophénoxy)-1-but-2-ène (82 %), médiocres avec les isologues o,p.-dihalogénés (35 à 48%).

2.4. SYNTHÈSE DES N-BIS(4-AROXYBUT-2-ÈN-1-YL) N'-(4-CHLOROPHENYL, 1-NAPHTYL, 1-ALLYL) THIOURÉES. V

2.4.1. Objectifs pharmacochimiques

Ces composés associent outre les groupements 4-aroxybut-2-ène, la présence d'un groupement thiourée intéressant à double titre pour l'activité biologique recherchée :

– Premièrement nos composés présentent un équilibre tautomérique permettant de dévoiler le groupement SH (**102a**) (cf. schéma 12) ;



Schéma 12. Équilibre tautomérique en série thiourée.

- Deuxièmement une étude récente (**77,104**) a montré que la noxythioline (N-hydroxyméthyl N'-méthyl thiourée) est porteuse d'une activité inhibitrice de l'adhésion de *C. albicans* à la surface des cellules épithéliales. En outre le choix de thiourées 1,1,3-trisubstituées permet d'obtenir des composés dont la stabilité est supérieure à celle de la noxythioline (composé se dégradant partiellement en solution aqueuse en donnant de la N-méthylthiourée et du formaldéhyde).

Signalons enfin que certaines thiourées (allylthiourée, butylthiourée) inhibent le développement de *Cryptococcus neoformans* (**105**).

2.4.2. Stratégie de synthèse

2.4.2.1. Principales voies d'accès aux thiourées trisubstituées (cf. schéma 13)

Comme le montre le schéma 13, il existe principalement trois voies d'accès aux thiourées 1,3,3-trisubstituées. Tout d'abord, le traitement d'une amine primaire par du disulfure de carbone (**102a**) conduit intermédiairement à un dithiocarbonate d'ammonium [1] qui, condensé à une autre amine secondaire, conduit à la thiourée attendue. Cette réaction est influencée par l'usage d'un catalyseur tel que le soufre, le peroxyde d'hydrogène, l'iode, la pyridine, l'hydroxyde de sodium ou de potassium. Une deuxième méthode (**102b**) consiste à traiter une amine secondaire par le thiophosgène pour obtenir un chlorure de thiocarbamoyle [2] qui, par opposition à une amine primaire, conduira à la 1,3,3, thiourée. Mais, en raison des difficultés d'utilisation du thiophosgène, cette méthode est généralement réservée à l'obtention de dérivés inaccessibles par les autres méthodes, notamment pour la conversion d'amines aromatiques substituées par des groupements fortement électronégatifs ainsi que pour des amines secondaires à

transformer en thiourées symétriques correspondantes. La méthode de synthèse de thiourées la plus généralement utilisée (102c) est basée sur la réaction d'isothiocyanate d'alcoyle ou d'aryle avec une amine (primaire ou secondaire). Par cette réaction on peut obtenir outre les thiourées 1,1,3-trisubstituées, les isologues di (-1,3) et monosubstitués. Les larges potentialités de cette réaction sont illustrées par la très grande variété des thiourées synthétisées au départ d'alcoyle ou d'arylamines (à chaînes ouvertes ou cycliques) de cétimines, énamines, hydroxylamines, iminoesters et amidines.

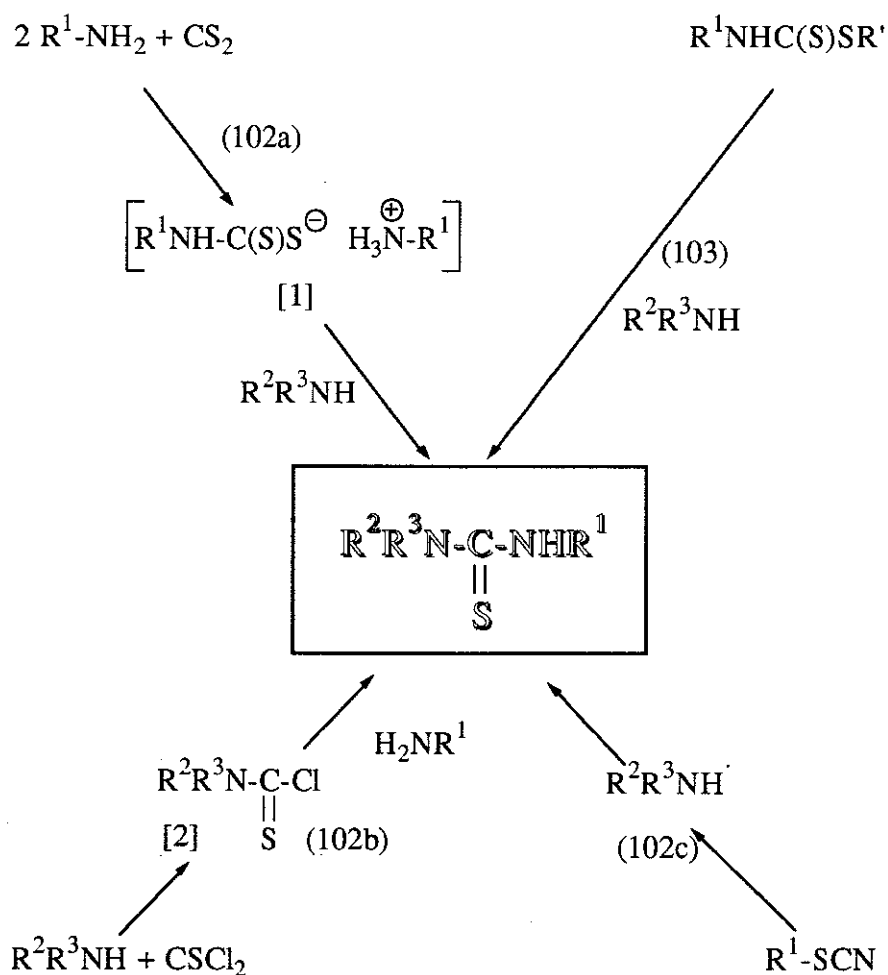


Schéma 13. Principales voies d'accès aux thiourées trisubstituées.

2.4.22. Choix de la méthode retenue

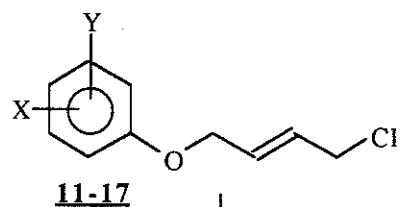
Pour la préparation des thiourées 1,1,3-trisubstituées de la série **V**, nous avons utilisé la voie des isothiocyanates pour deux raisons : d'une part sa facilité de mise en oeuvre dans le cadre de notre synthèse (l'opposition des amines secondaires **24-29** à un isothiocyanate est exothermique) et d'autre part son caractère très général. En effet, une grande variété d'isothiocyanates peut être opposée aux amines précédentes permettant une pharmacomodulation importante.

2.4.23. Plan de synthèse (cf. schéma 14)

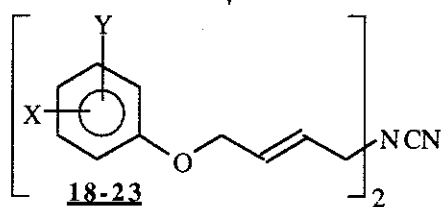
Soulignons que les amines secondaires symétriques **24-29** comportent le motif 4-aroxybut-2-ène déjà rencontré dans les séries **II**, **III** et **IV**. La voie de synthèse de telles amines au départ d'halogénures d'alcoyle **11-17** consiste à traiter ces derniers par le cyanamide, puis à effectuer une hydrolyse suivie d'une décarboxylation. Cette méthode a été retenue car permettant d'éviter une contamination par les amines primaires et tertiaires.

Dans une première étape le traitement d'un excès (2,5 eq.) d'halogénure d'alcoyle **11-17** par le cyanamide en solution dans la soude à 50% et en présence d'un agent de transfert de phase l'Aliquat 336[®](1) conduit aux différents bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)cyanamines **18-23** (**106**). Les rendements sont de l'ordre de 55%. Dans une deuxième étape, le traitement de ces dialcoylcyanamines **18-23** par l'acide sulfurique concentré puis par la soude en solution aqueuse fournit les bis (4-aroxybut-2-èn-1-yl) amines **24-29** avec des rendements de 80 %. Le protocole suivi est celui décrit pour l'obtention de la diallylamine (**107**). Les différentes N-bis (4-aroxybut-2-èn-1-yl) N'-(4-chlorophényl, 1-naphtyl, allyl) thiourées **V** sont obtenues par simple condensation des amines secondaires **24-29** avec l'isothiocyanate respectivement de 4-chlorophényle, de 1-naphtyle ou d'allyle dans l'acétone (rendement : 80 %). La réaction des amines secondaires **24-29** sur les isothiocyanates aromatiques est avantageuse à double titre : elle est thermodynamiquement favorable puisque on observe une augmentation de température (entre 5 et 10°C) et d'autre part, la réaction est particulièrement rapide (entre 15 et 30 min.). Cette réactivité importante peut s'expliquer par un état de transition analogue à ceux imaginés par Satchell (**108**) pour décrire la condensation d'un isocyanate avec une amine primaire ou secondaire (cf. schéma 15).

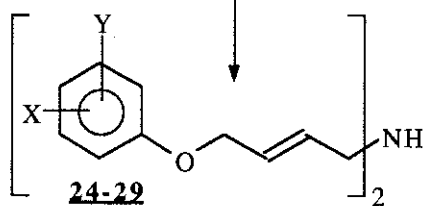
(1) Nom commercial d'un conditionnement technique du chlorure de tricaprilylméthylammonium.



$\text{H}_2\text{CN} / \text{NaOH}$
 $\text{H}_2\text{O} / \text{Aliquat 336}$
 $55^\circ\text{C} / 3\text{h.}$



i) $\text{H}_2\text{SO}_4 / \text{H}_2\text{O}$
 Rflx / 4h.
 ii) $\text{NaOH} / \text{H}_2\text{O}$
 $20^\circ\text{C} / 5\text{ min.}$



$\text{R-NCS} / (\text{Me})_2\text{CO}$
 $20^\circ\text{C} / 0,5\text{ h.}$

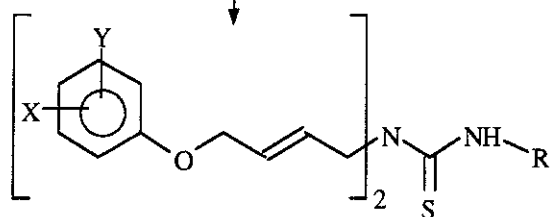


Schéma 14. Plan de synthèse des composés de la série **V**

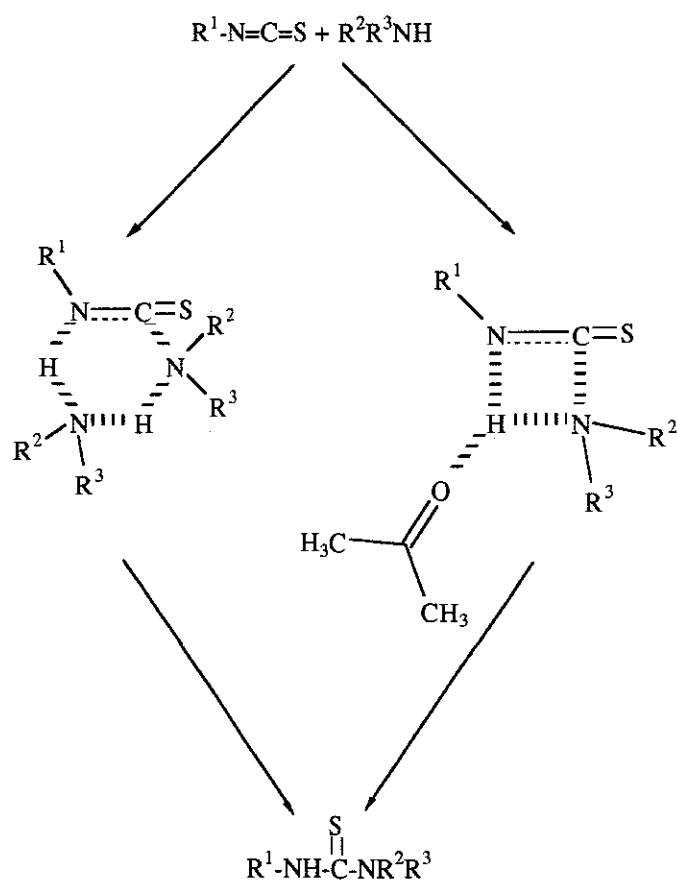
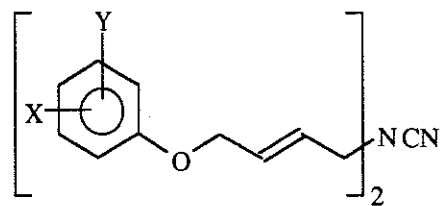
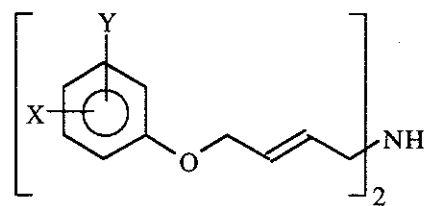


Schéma 15. Selon Satchell (108) il est possible de concevoir deux états de transition possibles lors de la condensation des amines secondaires **24-29** (R'_2NH) avec les isothiocyanates (R^1NCS).

2.4.24. Composés obtenus

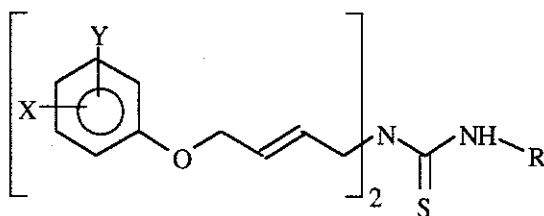


N°	X	Y	Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract. physico- chimiques
18	4-Cl	H	64	cf. p. 171	cf. p. 171
19	4-Cl	2-Cl	60	"	172
20	4-Br	H	62	"	172
21	4-Br	2-Br	44	"	173
22	4-F	H	52	"	173
23	4-Cl	3-Me	73	"	174



24-29

N°	X	Y	Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract.physico- chimiques
24	4-Cl	H	93	cf. p. 174	cf. p. 174
25	4-Cl	2-Cl	81	"	175
26	4-Br	H	92	"	175
27	4-Br	2-Br	81	"	176
28	4-F	H	78	"	176
29	4-Cl	3-Me	70	"	177



Y

N°	X	Y	R	Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract.physico- chimiques
a	4-Cl	H	4-Cl phényl	74	cf. p. 177	cf. p. 178
b	4-Cl	2-Cl	"	73	"	179
c	4-Br	H	"	44	"	180
d	4-Br	2-Br	"	56	"	181
e	4-F	H	"	77	"	181
f	4-Cl	3-Me	"	84	"	182
g	4-Cl	H	1-naphtyl	95	"	183
h	4-Cl	2-Cl	"	68	"	183
i	4-Br	H	"	63	"	184
j	4-Br	2-Br	"	50	"	185
k	4-F	H	"	84	"	185
l	4-Cl	3-Me	"	97	"	186
m	4-Cl	H	1-allyl	73	"	187
n	4-Cl	2-Cl	"	96	"	187
o	4-Br	H	"	98	"	188
p	4-Br	2-Br	"	64	"	188
q	4-F	H	"	78	"	189
r	4-Cl	3-Me	"	75	"	190

2.4.25. Intérêt industriel des thiourées (102a)

Depuis leur découverte aux environs de 1870, les dérivés de la thiourée ont fait l'objet d'abondantes recherches tant sur le plan de la synthèse chimique (ce sont d'importants synthons d'accès aux hétérocycles) que dans celui de leur application dans le domaine industriel. Le motif thiourée présente des propriétés biologiques, mises autrefois à profit dans certaines molécules antituberculeuses, hypnotiques, antihelminthiques et antibactériennes. A l'heure actuelle seuls subsistent quelques médicaments antithyroïdiens et inducteurs de l'anesthésie. On utilise également ces thiourées dans l'industrie phytosanitaire (insecticide et raticide), textile et dans celle des films photographiques.

2.5. SYNTHESE DES 2-(BIS-(4-AROXYBUT-2-EN-1-YL)AMINO-4-(4-CHLORO-PHENYL)THIAZOLES IVA-E ET 2-(BIS(4-AROXY-BUT-2-EN-1-YL)AMINO)-4-(1-NAPHTYL)THIAZOLES VIG-L.

2.5.1. Objectifs pharmacochimiques

Ces composés ont une structure chimique qui découle directement de celle des N-bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)-N'-(4-chlorophényl, 1-naphtyl)thiourée V par insertion du motif thiourée dans un cycle thiazole selon le schéma 16.

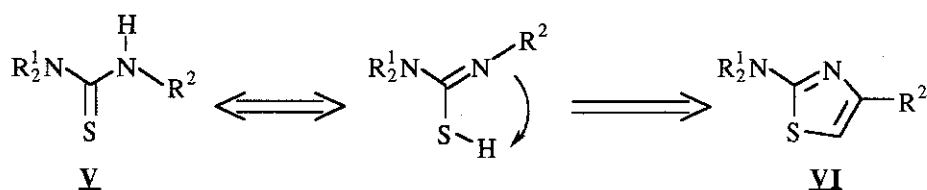


Schéma 16. Filiation de la structure V ("cycle ouvert") à VI "fermeture de cycle".

Signalons en outre que certains thiazoles en particulier le thiabendazol ou 2-(4-thiazolyl)-benzimidazole) (cf. schéma 20, p. 78, composé e) témoigne d'une activité fongicide. De même les dérivés du type 4-aminothiazoline-2-thione possèdent une activité antifongique inhibant le développement de *Xanthomonas oryzae* (109) (cf. schéma 20, p. 78, composé f).

2.5.2. Stratégie de synthèse

2.5.21. Principales voie d'accès aux 2-dialcoylaminothiazoles (Cf. schéma 17)

Le 2-dialcoylaminothiazole peut être obtenu directement selon la méthode de Hantzsch (in 110) par opposition d'une cétone α -halogénée [2], à une 1,1-dialcoyl amino thiourée [1]. La cétone α -halogénée [2] transformée en dérivé thiocyanato-éthan-2-one [3] obtenu conduit directement à l'hétérocycle recherché par condensation en milieu

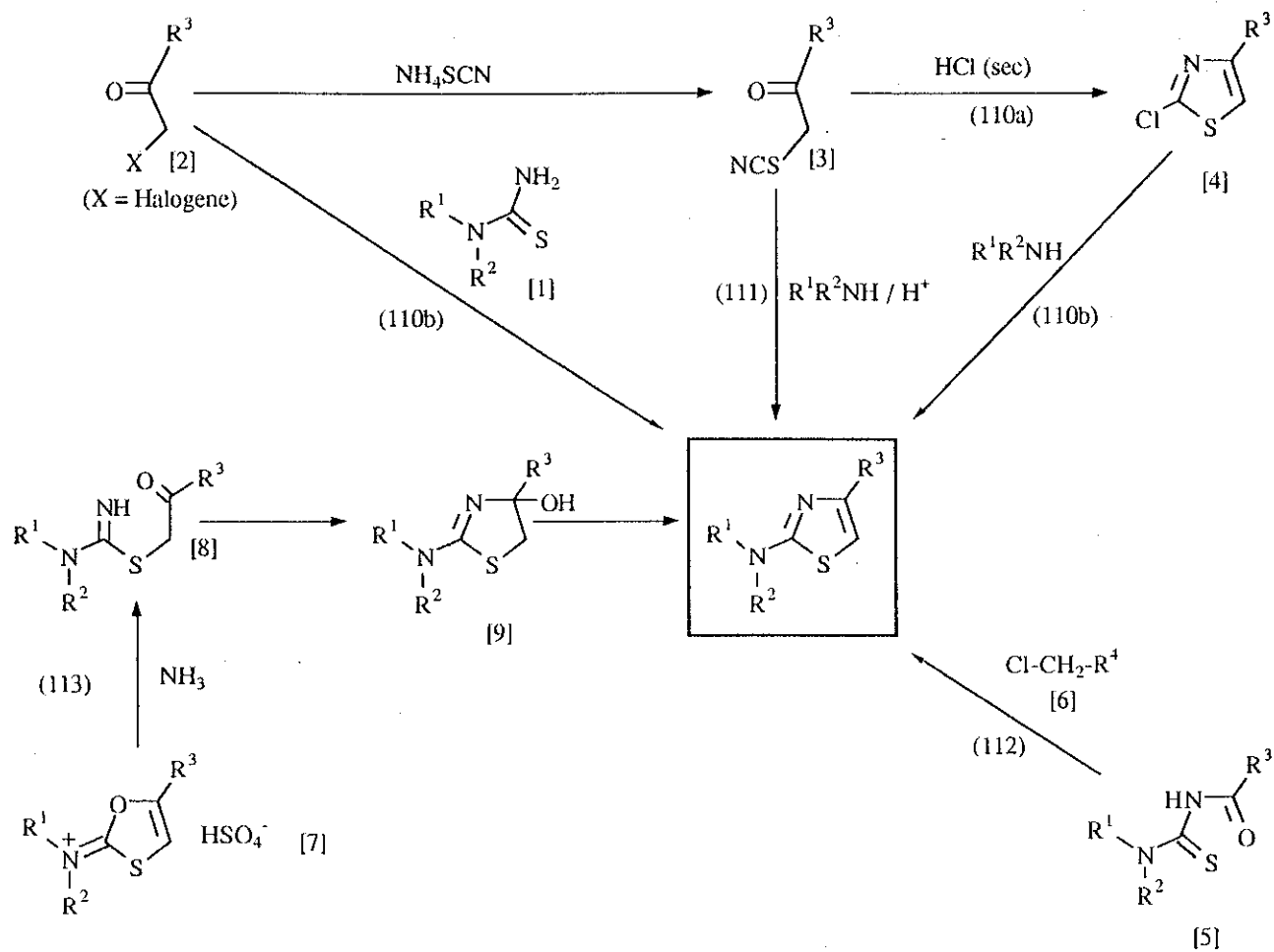


Schéma 17. Principales voies d'accès aux 2 aminothiazoles N,N'-disubstitués.

. Une synthèse des 2-aminothiazoles analogue à celle des thiophènes et mettant en jeu un halogénure d'alcoyle [6] opposé à une N-acylthiourée [5] en milieu basique a été proposée par Leibscher et Hartmann (112). Signalons également qu'un sel de 1,3-oxathiazol-2-ylidène-N,N'-diméthyliminium [7] réagit avec l'ammoniac pour fournir un intermédiaire [8], en équilibre avec une 4-hydroxy- 2-thiazoline [9] qui se déshydrate pour donner l'aminothiazole recherché (113).

2.5.22. Choix de la méthode retenue

Compte tenu de l'objectif pharmacologique défini précédemment (synthèse de thiazoles dérivés des thiourées **V** par cyclisation), il nous est apparu judicieux d'utiliser les amines secondaires symétriques **24-29** comme synthons de départ dans cette synthèse. Par ailleurs, l'obtention des dérivés thiocyanatoéthane-2-one [3] étant aisée, la voie d'accès la plus directe nous a semblé être celle récemment développée en 1990 par Teller et Dehne (111).

2.5.23. Plan de synthèse (cf. schéma 18)

La synthèse de ces molécules a nécessité préalablement la préparation des 4-chlorophényléthane-2-one-1-thiocyanate **31** et 1-naphtyléthane-2-one-1-thiocyanate **32** à partir des précurseurs bromés correspondants et du thiocyanate d'ammonium. Par la suite l'acétate de chacune des amines **24-29** est traité par un des thiocyanates **31** et **32** en milieu alcoolique. On obtient les différents 2-(bis-4-aroxybut-2-èn-1-yl)) amino-4-(4-chlorophényl) thiazoles et 2-(bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)) amino-4-(1-naphtyl) thiazoles **VI** avec des rendements de 45 %. Nous proposons (schéma 19) deux des mécanismes réactionnels d'obtention du thiazole nous semblant les plus probables.

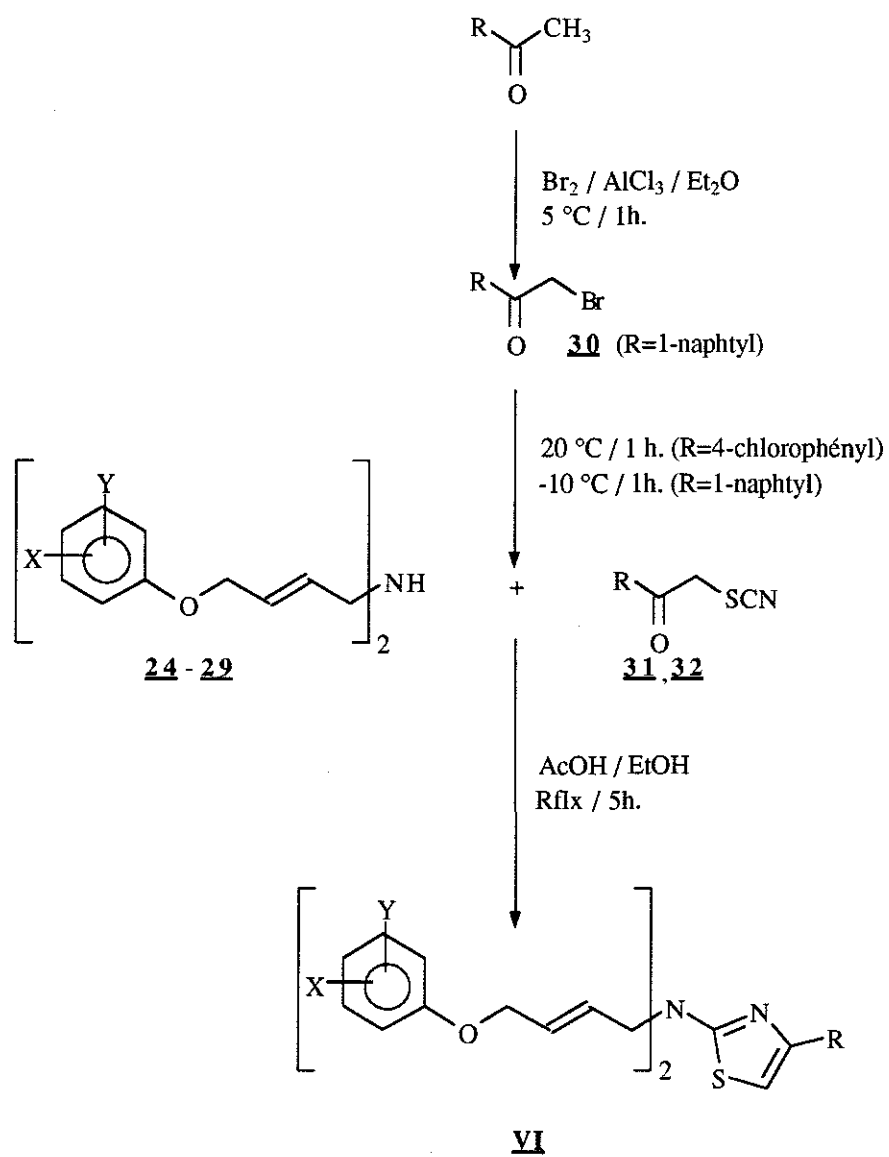
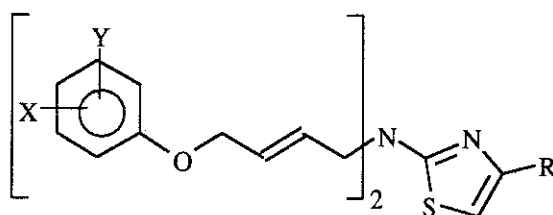


Schéma 18. Plan de synthèse des composés **VI**

Nous proposons également (schéma 21) une fragmentation basée sur les données de spectrométrie de masse des 2-dialcoylaminothiazoles **VI**.

2.5.24. Composés obtenus.



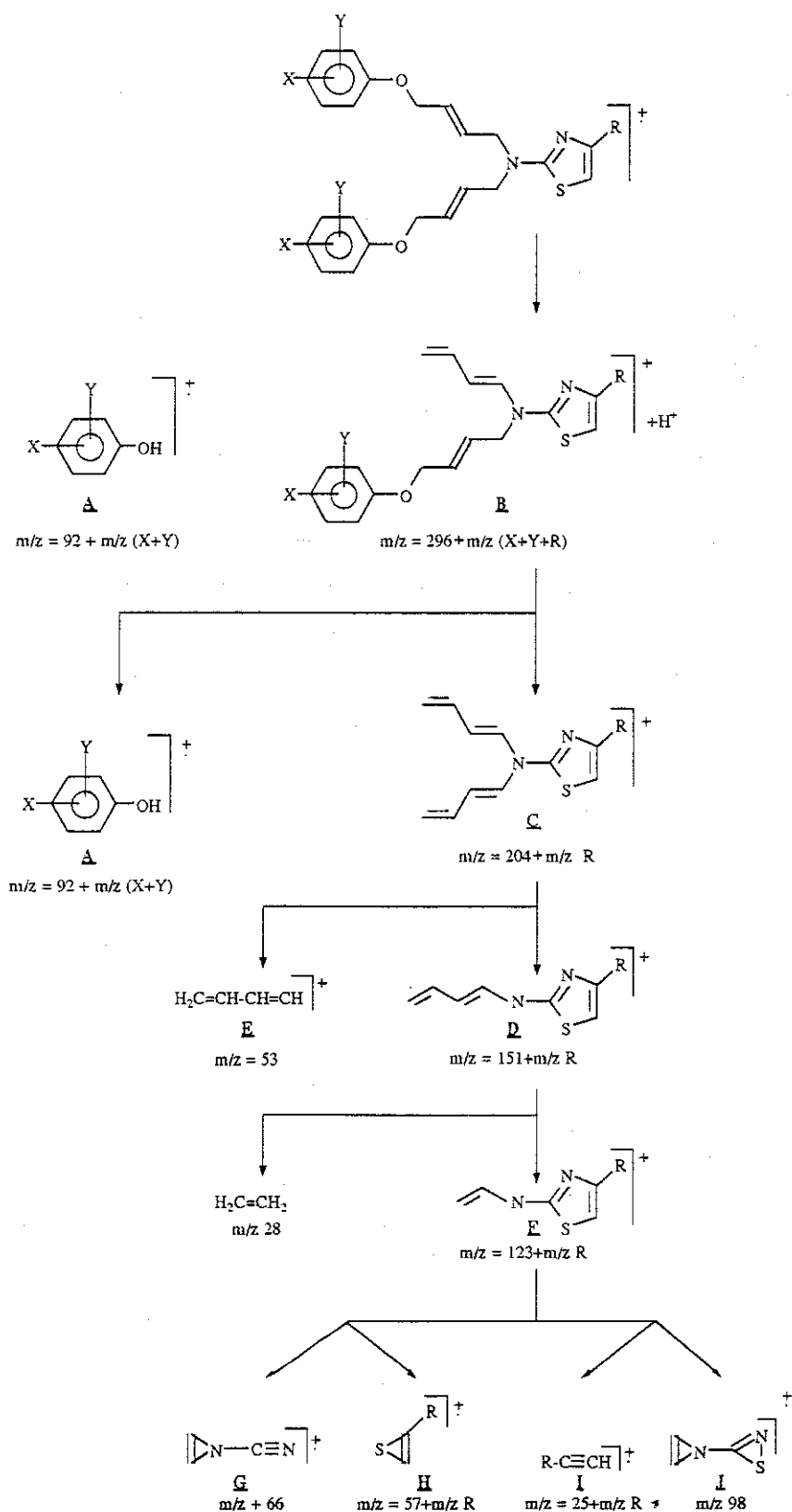
VI

N°	X	Y	R	Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract.physico-chimiques
a	4-Cl	H	4-Cl-phényl	84	cf. p. 193	cf. p. 193
b	4-Cl	2-Cl	"	52	"	194
c	4-Br	H	"	30	"	195
d	4-Br	2-Br	"	36	"	195
e	4-F	H	"	46	"	196
f	4-Cl	3-Me	"	58	"	197
g	4-Cl	H	1-naphtyl	44	"	197
h	4-Cl	2-Cl	"	31	"	198
i	4-Br	H	"	40	"	199
j	4-Br	2-Br	"	48	"	200
k	4-F	H	"	35	"	200
l	4-Cl	3-Me	"	30	"	201

3.5.5. Intérêt industriel des thiazoles (**114**) (cf. schéma 20)

Un des premiers médicaments de synthèse contenant un noyau thiazolique est sans doute le sulfathiazol (a) (sulfanilamido-2-thiazole), un antiinfectieux de la classe des sulfamides (Elendron®). Parmi les pharmacomolécules plus récentes citons l'acide 2-(p.chlorophényl)thiazol-4-ylacétique (b) possédant des propriétés anti-inflammatoires, et le niridazole (c) : 1-(5-nitro-2-thiazolyl)-2-imidazolidinone qui est un remarquable antibilharzien (Ambilhar®). Signalons enfin que la benazoline (d) : acide-4-chloro-2-oxo-benzothiazoline-3-ylacétique est utilisée dans la préparation d'herbicides.

Schéma 20. Quelques dérivés du thiazole porteur d'une activité d'intérêt industriel.



N°	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
g*	171	503	331	278	53	250	66	184	152	98
e*	111	427	315	262	53	234	66	168	136	98

*e : X : H, Y : 4-F, R : 4-Cl-phényl

*g : X : H, Y : 4-Cl, R : 1-naphtyl

Schéma 21. Proposition d'un schéma de fragmentation en spectrométrie de masse des composés de la série **VI**

2.6. SYNTHÈSE DES DERIVES 5-ALCOYL-4-ARYL-3-MERCAPTO-1,2,4-TRIAZOLES VII

2.6.1. Objectifs pharmacochimiques

Les composés de cette série comportent :

- un pôle hydrophobe constitué par une chaîne saturée en C7, C9, C11 ou insaturée (C10) à motif dec-9-èn-1-yle porteur d'une activité antifongique (l'acide undec-10-énoïque est un principe actif antifongique dont les sels de sodium et de zinc sont utilisés en clinique dermatologique) ;
- un pôle hydrophile constitué par le noyau triazole qui apporte à la fois une hydrosolubilité et une potentialité antifongique. Dans le schéma 22, nous indiquons quelques triazolés intéressants notamment le fluconazole (a) antifongique mis sur le marché en 1989, et le 4-butyltriazole qui est un fongicide dont la toxicité nécessite son utilisation sous forme de complexe (b). Quand au triazole (c) il bénéficie d'une double activité : antifongique et antiparasitaire. L'orientation actuelle des recherches nous paraît se focaliser vers une structure triazolinone phosphorylée.
- un groupement thiol, dont nous avons présenté antérieurement le rôle déterminant qu'il joue dans l'activité antiadhérente.

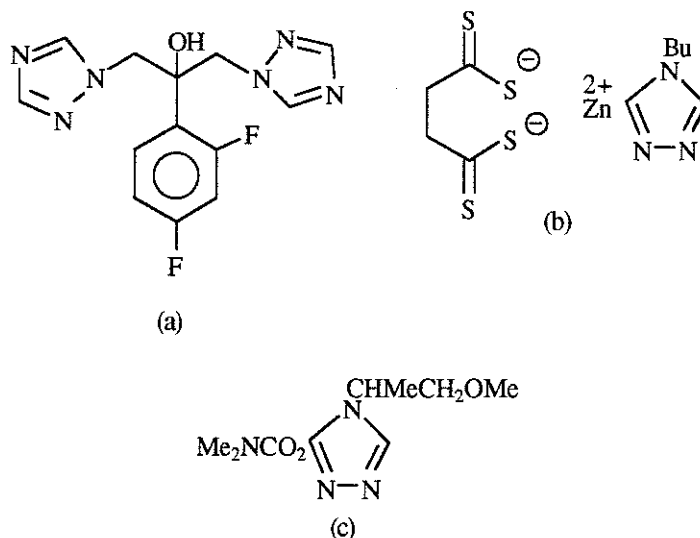


Schéma 22. Quelques triazolés à activité antifongique.

2.6.2. Stratégie de synthèse

2.6.21. Principales voies d'accès aux 3-mercapto-1,2,4-triazoles (cf. schéma 23)

Marckwald (*in* 115) a pour la première fois rapporté la synthèse du 4,5-diphényl-3-mercapto-1,2,4-triazole à partir d'un benzoylthiosemicarbazide [3], lui même résultant de l'acylation de [5], alors que l'isologue acétylé correspondant conduit au 2-anilino-5-phényl-1,3,4-thiadiazole. Plus récemment, Reynolds (116) a proposé une variante de cette synthèse en opposant le même synthon de départ [5] à l'orthopropionate d'éthyle [6]. Une autre voie de synthèse consiste à condenser un hydrazide [2] avec un

isothiocyanate [1] pour former le thiosemicarbazide [3] dont la cyclisation donne naissance au 3-mercapto-1,2,4-triazole recherché (115-117). Ce schéma prend également en compte, la voie de Coburn (118) qui fournit accessoirement le triazole attendu (*), à côté de 2-alkoylamino-1,3,4-thiadiazole.

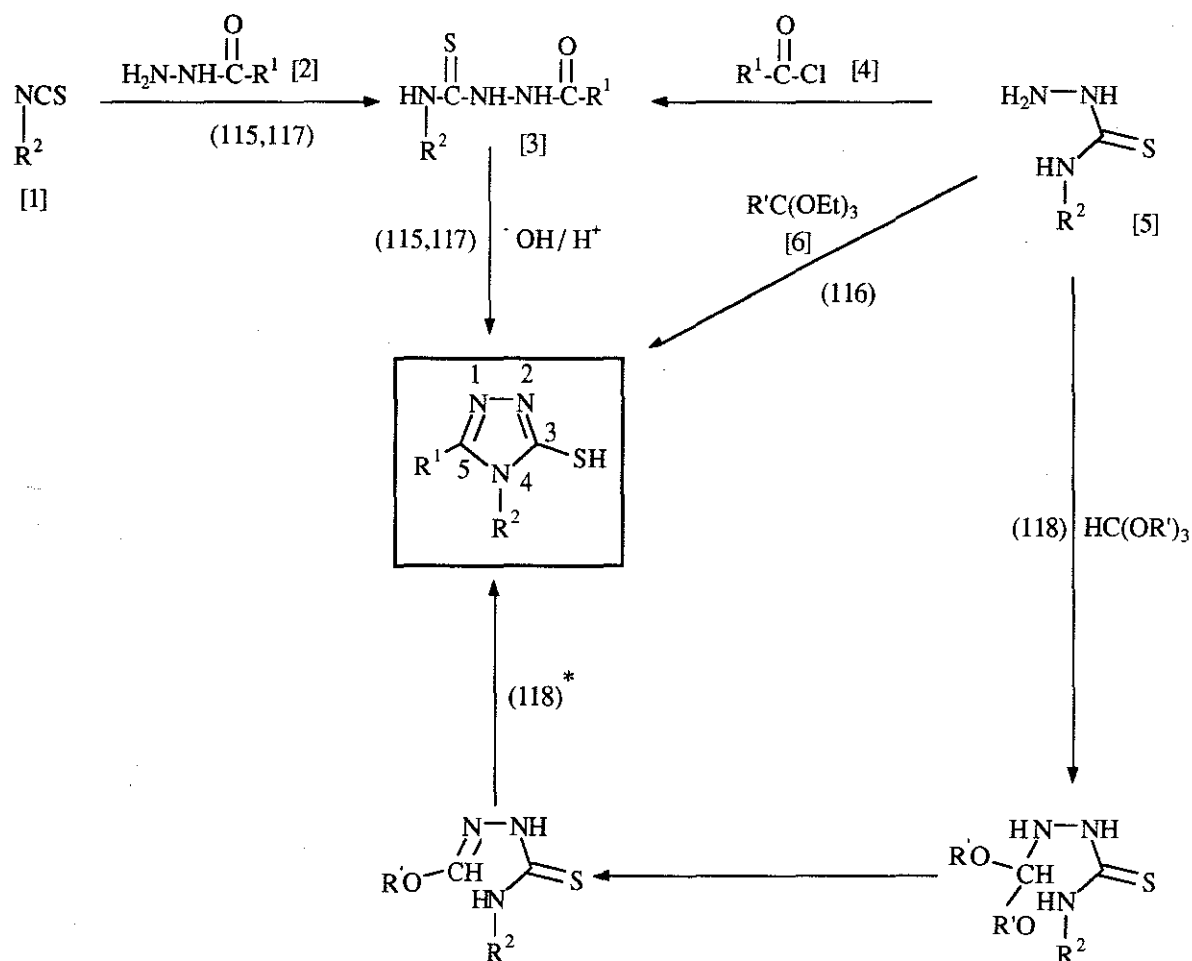


Schéma 23. Principales voies d'accès aux 3-mercapto-1,2,4-triazoles.

* Conduit aux 3-mercapto-1,2,4-triazoles non substitués en position -5 ($R'=R^1=H$)

2.6.22. Choix de la méthode retenue

Pour la synthèse des 5-alkoyl-3-mercapto-1,2,4-triazoles **VII**, nous avons retenu la méthode de Wikel (115). Grâce à la variété de synthons de départ (acylhydrazide, thiocyanate) cette méthode permet d'envisager une bonne pharmacomodulation sur les positions 4 et 5 du noyau 3-mercapto-1,2,4-triazole.

2.6.23. Plan de synthèse (cf. schéma 24)

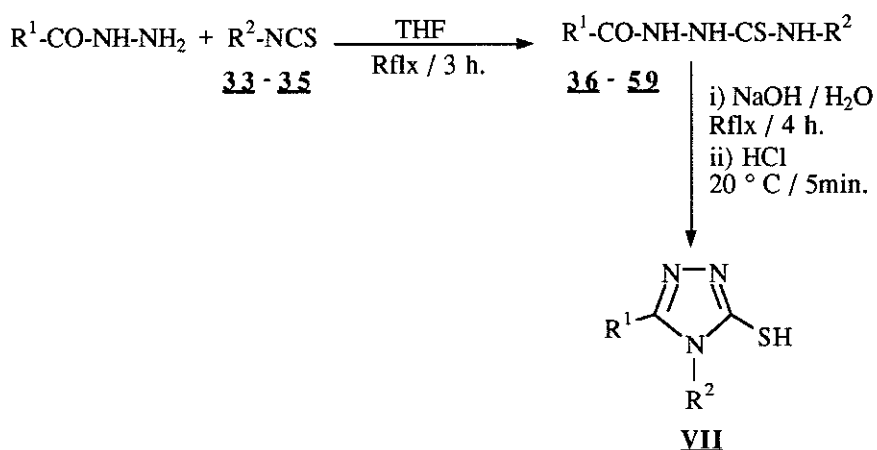


Schéma 24. Plan de synthèse des 5-alcyl-4-aryl-3-mercapto-1,2,4-triazoles.

La méthode de synthèse retenue nous a conduit à préparer préalablement différents isothiocyanates aromatiques et aliphatiques. Nous rapportons dans le schéma 25 les principales voies d'accès à cette fonction. La méthode habituelle d'obtention de ces composés consiste à traiter une amine par le thiophosgène, en formant intermédiairement un chlorure de thiocarbamoyle [1] Ils peuvent également être obtenus au départ d'un dithiocarbonate [2] (préparé par action d'une amine sur du disulfure de carbone en présence d'hydroxyde de sodium) traité par des sels de métaux lourds (120), de l'oxytrichlorophosphore (121) ou du chloroformiate d'éthyle (122). Un isothiocyanate aromatique peut être directement obtenu par traitement d'une amine par CS₂ dans la pyridine en présence du dicyclohexylcarbodiimide [3] (124). Signalons enfin deux méthodes applicables à la synthèse des isothiocyanates aromatiques ou aliphatiques : celle de Katritzky (125) utilisant un organomagnésien traité successivement par le (triphenylphosphoroylideneaminométhyl) benzotriazole [4] puis le disulfure de carbone et celle de Staab (126) procédant d'une amine et de thiocarbonyldimidazole [5] Dans le cadre de notre travail nous avons utilisé deux de ces méthodes selon la nature (aromatique ou aliphatique) de l'isothiocyanate considéré. La préparation des isothiocyanates de 4-biphényle **33** et de 4-tertiobutylphényle **34**, a été réalisée en condensant les amines correspondantes avec le disulfure de carbone dans la pyridine en présence de dicyclohexylcarbodiimide. Par contre, l'isothiocyanate de 2-(4 chlorophényl)-1-éthyle **35** résulte du traitement de l'amine correspondante par le thiocarbonyldiimidazole dans le chloroforme. Les thiosemicarbazides **36-59** sont obtenus par opposition des différents isothiocyanates à l'un des 4-acylhydrazides. La réaction est effectuée à reflux dans le THF. Les triazoles **VII** sont préparés par traitement des différents thiosemicarbazides à reflux dans une solution aqueuse à 4 % d'hydroxyde de sodium. Le temps de chauffage varie de 3h à 5h. selon la longueur de la chaîne hydrocarbonée (3h pour un résidu heptyle, 5h pour un résidu undécyle).

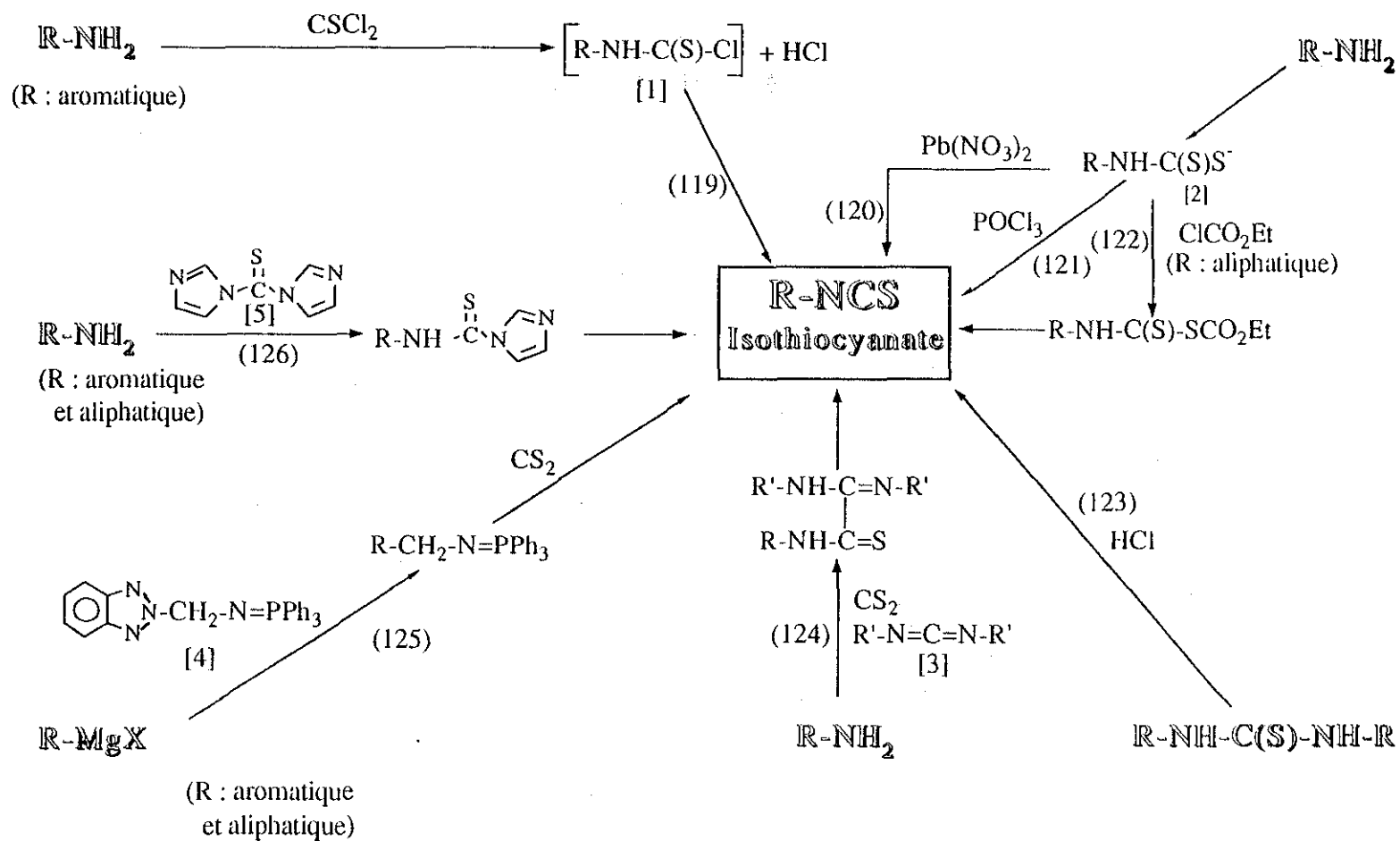


Schéma 25. Principales voies d'accès aux isothiocyanates aromatiques et aliphatiques.

Le pH est ensuite ajusté à 6, ce qui provoque la précipitation du composé attendu (les rendements varient de 30 à 90 %).

Nous proposons dans le schéma 26 un mécanisme réactionnel expliquant la formation des différents triazoles à partir des thiosemicarbazides.

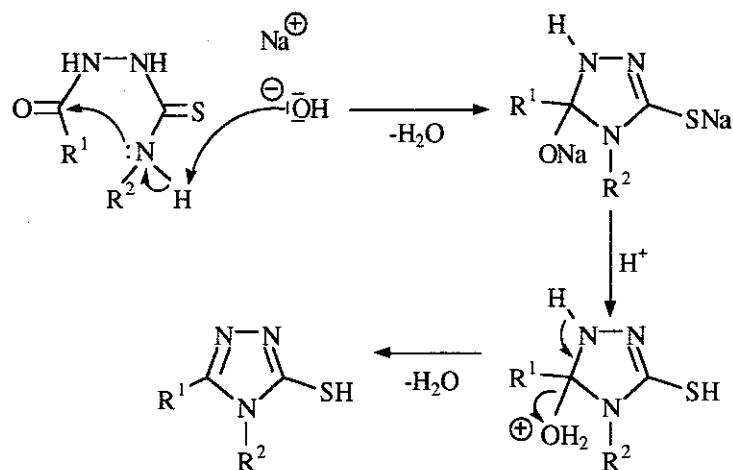


Schéma 26. Mécanisme réactionnel de formation du noyau triazole à partir d'un thiosemicarbazide.

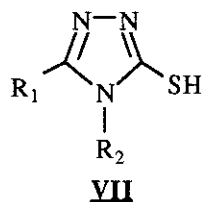
Nous indiquons p. 85 et 86, les structures d'une part des acylthiosemicarbazides **36-59** intermédiairement formés et les 3-mercapto-1,2,4-triazoles **VIIa-x** auxquels ils donnent naissance.

Nous proposons également dans le schéma 27 une filiation de fragmentométrie de masse des triazoles de la série **VII** (cf. p. 87)

2.6.24. Composés obtenus.



N°	R ¹	R ²	Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract.physi- co-chimiques
36	n-hexyl	4-Chlorophényl	43	cf. p. 204	cf. p. 204
37	"	4-fluorophényl	39	"	204
38	"	1-naphtyl	66	"	205
39	"	4-biphényl	53	"	205
40	"	4-tertiobutylphényl	58	"	206
41	n-nonyl	4-Chlorophényl	47	"	207
42	"	4-fluorophényl	49	"	207
43	"	1-naphtyl	31	"	208
44	"	4-biphényl	48	"	208
45	"	4-tertiobutylphényl	44	"	209
46	n-undécyl	4-Chlorophényl	58	"	210
47	"	4-fluorophényl	39	"	210
48	"	1-naphtyl	77	"	211
49	"	4-biphényl	53	"	211
50	"	4-tertiobutylphényl	59	"	212
51	dec-9-èn-1yl	4-Chlorophényl	40	"	213
52	"	4-fluorophényl	52	"	213
53	"	1-naphtyl	39	"	214
54	"	4-biphényl	53	"	214
55	"	4-tertiobutylphényl	68	"	215
56	n-hexyl	4-chlorophénéthyl	76	"	206
57	n-nonyl	"	88	"	209
58	n-undécyl	"	73	"	221
59	dec-9-èn-1yl	"	72	"	215



N°	R ¹	R ²	Rdt(%)	Methode. de synthèse	Caract.physi- co-chimiques
a	n-hexyl	4-Chlorophényl	37	cf. p. 216	cf. p. 216
b	"	4-fluorophényl	67	"	217
c	"	1-naphtyl	79	"	217
d	"	4-biphényl	73	"	218
e	"	4-tertiobutylphényl	62	"	219
f	n-nonyl	4-Chlorophényl	59	"	220
g	"	4-fluorophényl	73	"	221
h	"	1-naphtyl	81	"	221
i	"	4-biphényl	40	"	222
j	"	4-tertiobutylphényl	76	"	223
k	n-undécyl	4-Chlorophényl	61	"	224
l	"	4-fluorophényl	58	"	225
m	"	1-naphtyl	86	"	225
n	"	4-biphényl	86	"	226
o	"	4-tertiobutylphényl	36	"	227
p	dec-9-èn-1yl	4-Chlorophényl	55	"	228
q	"	4-fluorophényl	83	"	228
r	"	1-naphtyl	79	"	229
s	"	4-biphényl	72	"	230
t	"	4-tertiobutylphényl	82	"	231
u	n-hexyl	4-chlorophénéthyl	89	"	219
v	n-nonyl	"	86	"	223
w	n-undécyl	"	83	"	227
x	dec-9-èn-1yl	"	87	"	231

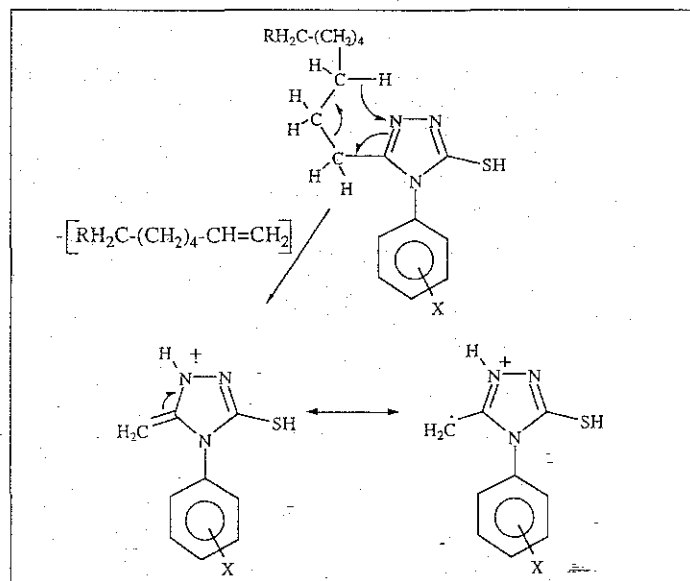
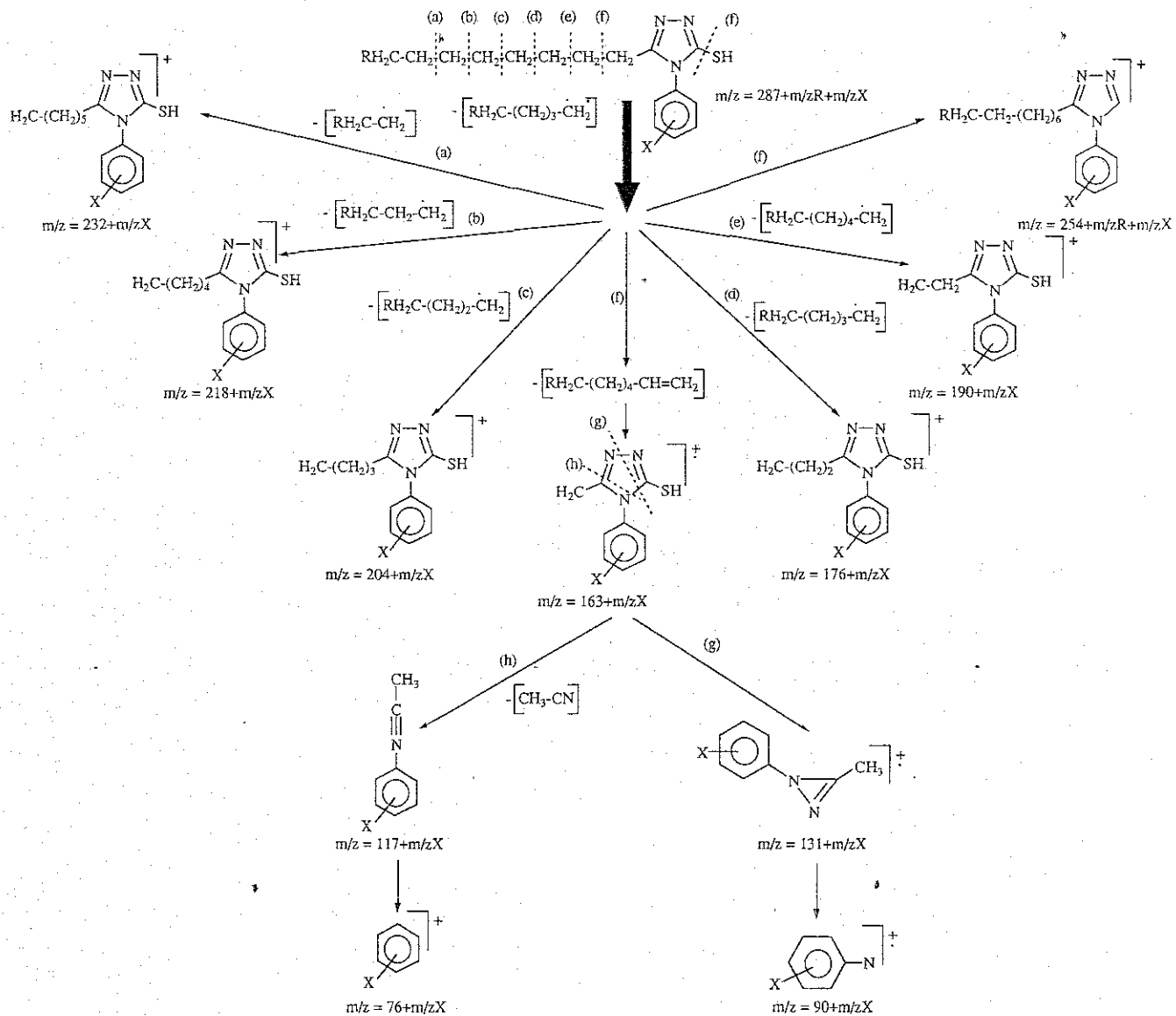


Schéma 27. fragmentation de masse des composés de la série VII

2.7. SYNTHÈSE DES 1-THIOALCENYL-2-ANILIDYLMIDAZOLES VIII

2.7.1. Objectifs pharmacochimiques.

Les composés de la série **VIII** dérivent des structures **II**, **III**, **IV** par insertion d'un noyau imidazole (schéma 28) qui permet de moduler la lipophilie des composés obtenus. De plus, nous avons systématiquement envisagé la synthèse des vinylogues dans lesquels l'insaturation aliphatique (groupe vinyle) est remplacée par un noyau benzénique (3 groupes vinyles) (schéma 28).

Les composés de la série **VIII** comportent donc :

- Un noyau aromatique non substitué ou substitué en position para par un atome de fluor.
- Un noyau imidazole relié au noyau aromatique par une fonction amide.
- Un chaînon insaturé, aliphatique ou aromatique.
- Un groupement soufré : thiocyanate, xanthate, 2-mercaptobenzothiazole.

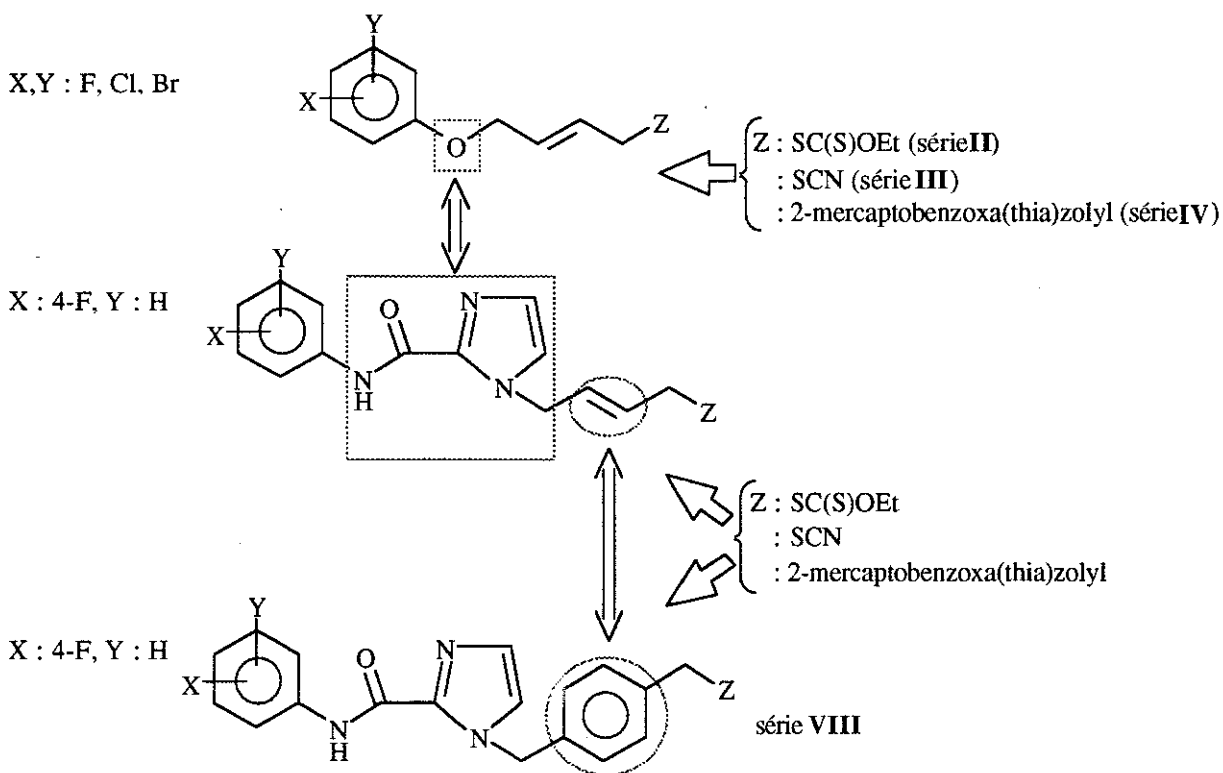


Schéma 28. Analogie entre les séries **II**, **III**, **IV** et **VIII**.

2.7.2. Stratégie de synthèse et plan de synthèse.(schéma 29)

Le traitement de l'imidazole par l'isocyanate de phényle ou de 4-fluorophényle à reflux dans un solvant à haut point d'ébullition (nitrobenzène) donne respectivement le 2-anilidyylimidazole **60** et le 2-(4-fluoroanilidyl)imidazole **61** avec un rendement de 60%.⁽¹²⁷⁾ La N-alcoylation de l'imidazole par le 1,4-dichlorobut-2-ène le 1,4-dichlorométhylbenzène est effectuée dans le DMF en milieu basique. Le choix de la base conditionnant le rendement de cette étape, nous avons choisi d'utiliser de l'hydroxyde de potassium finement broyé en adaptant le protocole dérivant de Kikugawa ⁽¹²⁸⁾. Avec cette méthode nous obtenons les différents 1-(4-chlorobut-2-èn-1-yl)-2-anilidyylimidazoles **62**, **63** et 1-(4-chloroxyl-1-yl)-2-anilidyylimidazoles **64**, **65** avec des rendements moyens de 60% . A partir de ces intermédiaires nous avons obtenu les différents thiocyanates **VIIIa-d**, xanthates **VIIIe-h** et dérivés du benzothiazole. **VIIIi-l**

2.7.21. Plan de synthèse (schéma 29)

♦ Synthèse des 1-(4-thiocyanatobut-2-èn-1-yl)-2-anilidyylimidazoles **VIIIa,b** 1-[4-thiocyanatoxyl-1-yl]-2-anilidyylimidazoles. **VIIIc,d**

Nous avons repris la méthode de synthèse utilisée pour obtenir les composés de la série **III**. On traite les dérivés halogénés **62-65** par le thiocyanate d'ammonium à 40°C dans l'acétone (rendements respectifs de 46% et 54% pour les composés **VIII a,b** ; 84% et 90% pour les composés **VIIIc,d**).

♦ Synthèse des dithiocarbonates de O-éthyle et de S-[1-(4-but-2-èn-1-yl)-2-anilido]imidazolyle **VIII e,f** et dithiocarbonates de O-éthyle et de S-[1-(4-xyl-1-yl)-2-anilido]imidazolyle. **VIII g,h**

Nous avons repris la méthode utilisée pour la synthèse des composés de la série **II**. Le xanthate de sodium (obtenu par traitement de l'ethanoate de sodium par le disulfure de carbone) est opposé aux différents 1-(4-dichlorobut-2-èn-1-yl)-2-anilidyylimidazoles **62,63** et 1-(4-chlorophénylxyl-1-yl)-2-anilidyylimidazoles. **64,65**

♦ Synthèse des 1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-èn-1-yl]-2-anilidyylimidazoles **VIII i,j** et 1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl)xyl-1-yl]-2-anilidyylimidazoles. **VIIIk,l**

Ces composés sont obtenus par opposition du 2-mercaptobenzothiazole (sous forme de sel de potassium) aux 1-(4-chlorobut-2-èn-1-yl)-2-anilidyylimidazoles **62,63** ou aux 1-(4-chloroxyl-1-yl)-2-anilidyylimidazoles **64,65** à 40 °C dans le DMF (rendement de 62% à 83%).

♦ Nous proposons dans les schémas 30 et 31 (p. 92 et 93) une fragmentation de masse des composés de la série **VIII**.

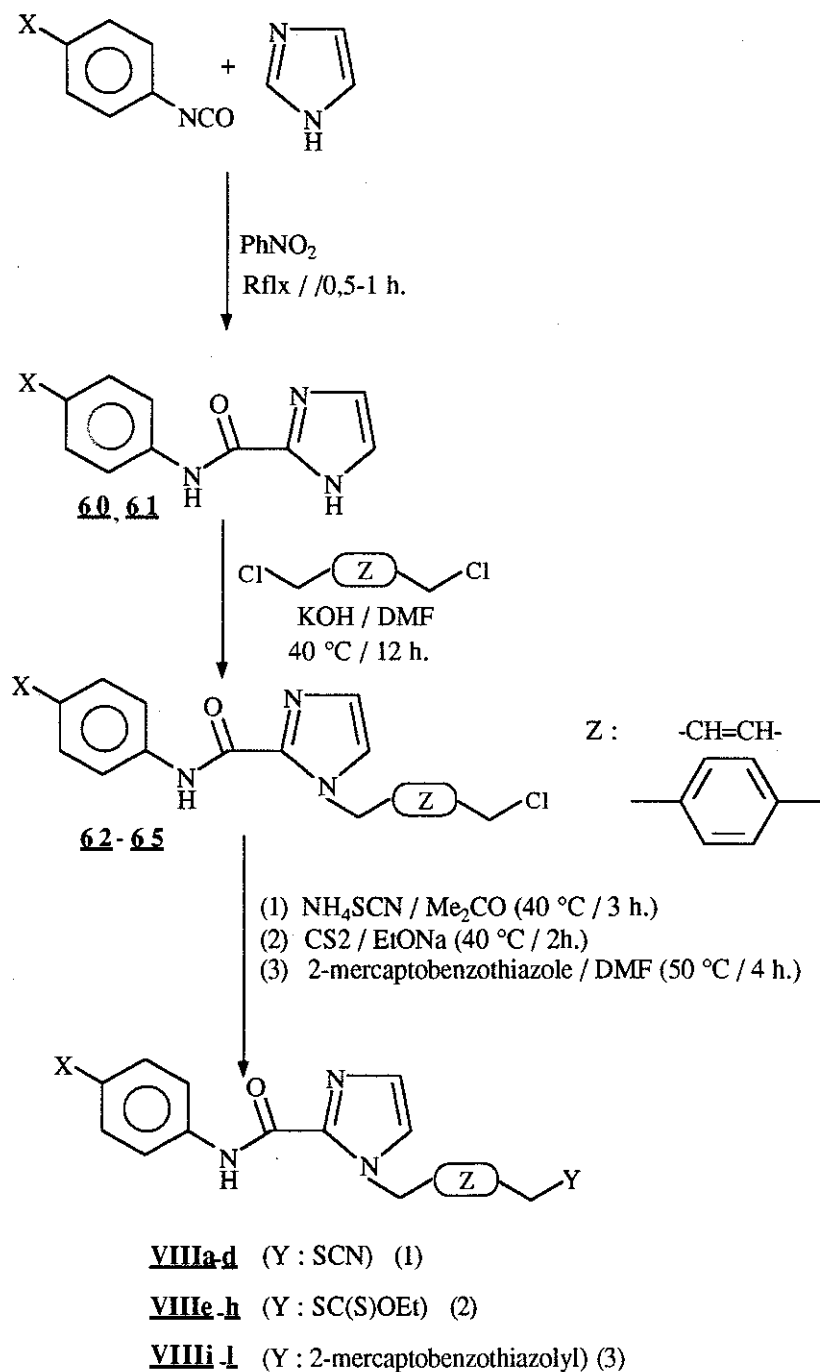
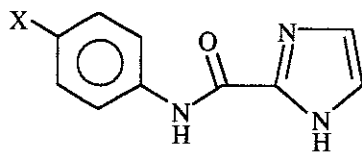


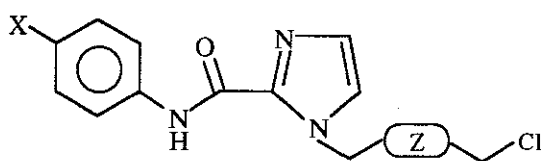
Schéma 29. Plan de synthèse des composés **VIII**

2.7.22. Composés obtenus.



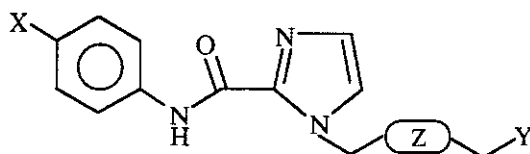
60, 61

N°	X	Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract. physico-chimiques
60	H	61	cf. p. 232	cf. p. 232
61	F	58	"	233



62-65

N°	X	Z	Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract. physico-chimiques
62	H	1	51	cf. p. 233	cf. p. 234
63	F	1	32	"	234
64	H	2	35	cf. p. 235	235
65	F	2	83	"	236



VIII

N°	X	Y	Z	Rdt (%)	Méthode de synthèse	Caract. physico-chimiques
a	H	-SCN	1	46	cf. p. 236	cf. p. 237
b	F	"	1	54	"	238
c	H	"	2	84	"	238
d	F	"	2	90	"	239
e	H	-SC(S)OEt	1	78	cf. p. 240	240
f	F	"	1	63	"	241
g	H	"	2	89	"	241
h	F	"	2	83	"	242
i	H	2-mercaptobenzothiazole	1	62	cf. p. 243	243
j	F	"	1	67	"	244
k	H	"	2	83	"	244
l	F	"	2	77	"	245

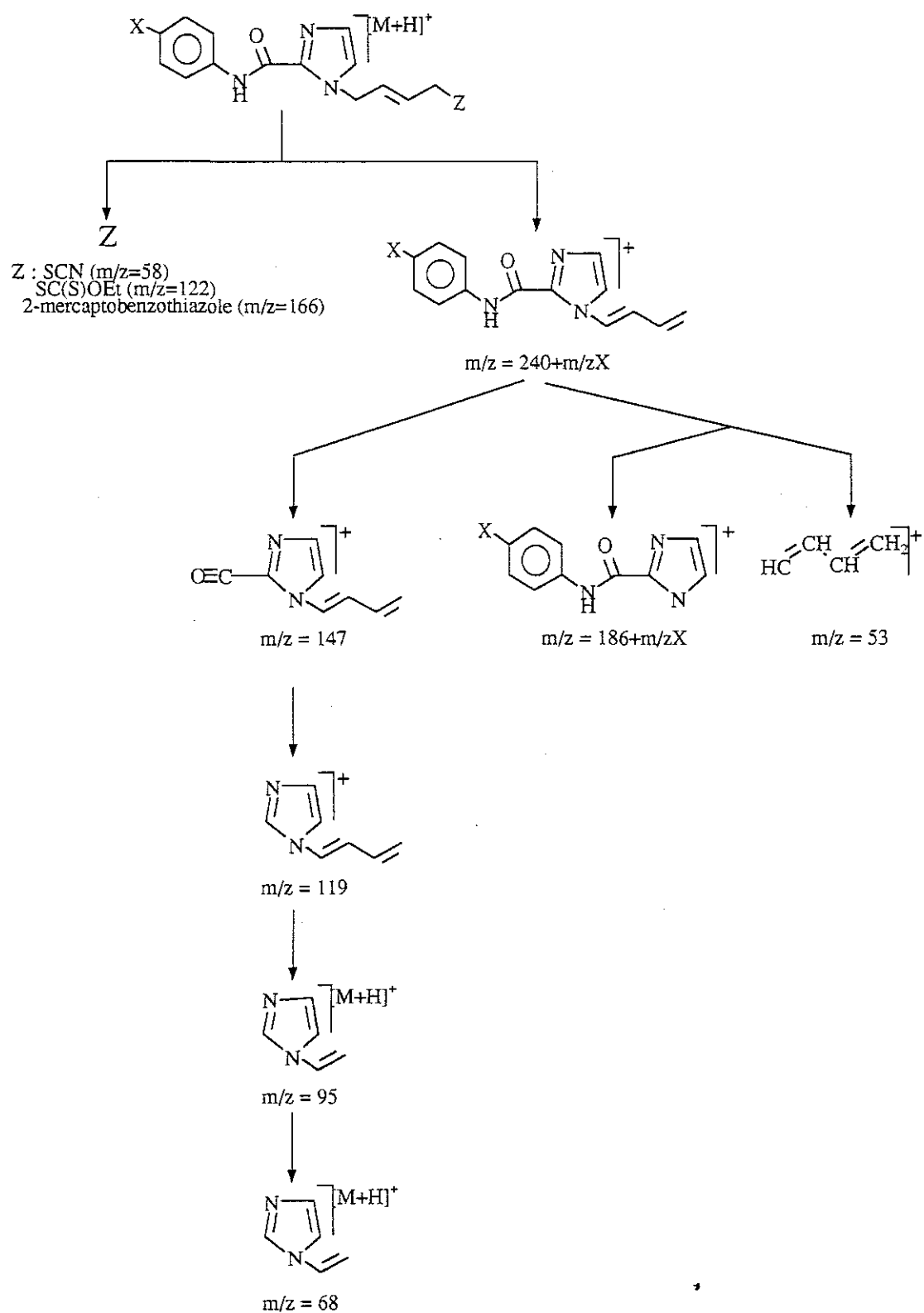
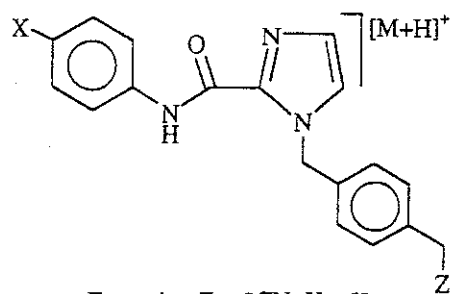


Schéma 30. Fragmentation de masse des composés de la série VIII porteurs d'une double liaison.



m/z	Abondance relative (%)	Formule brute	Fragment
348	12	C ₁₉ H ₁₆ N ₄ OS	
290	100	C ₁₈ H ₁₆ N ₃ O	
197	45	C ₁₁ H ₉ N ₂	
104	54	C ₈ H ₈	
91	19	C ₇ H ₇	

Schéma 31. Fragmentation de masse des composés de la série VIII porteurs d'un noyau aromatique.

3

ACTIVITE BIOLOGIQUE

3.1. INTRODUCTION.

Parmi les 91 composés finaux obtenus (structures générales **I** - **VIII**) nous avons sélectionné certains d'entre eux pour déterminer :

- l'activité antiadhérente c'est à dire la capacité du produit à inhiber l'adhésion de la levure à sa cellule hôte. En utilisant le modèle *in vitro* développé par Rahary et al. (80) nous avons déterminé le pouvoir antiadhérent (PA) qui rend compte de cette propriété.
- l'activité antifongique qui traduit la capacité du produit à détruire la levure (fongicide) ou à inhiber sa prolifération (fongistatique). Nous avons évalué le pouvoir antibiotique en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI).

3.2. ACTIVITE ANTIADHERENTE.

3.2.1. Méthodologie: autoagrégation des tubes germinatifs de *C. albicans* (modèle d'étude de l'adhérence).

3.2.11. Principe.

C. albicans, cultivé dans certaines conditions, est capable d'émettre des tubes germinatifs susceptibles de s'associer spontanément les uns aux autres selon un processus appelé autoagrégation (129, 130).

Lors d'études préliminaires (80a), l'un d'entre nous a montré l'analogie entre l'attachement de *C. albicans* à une cellule hôte et l'autoagrégation des tubes germinatifs de cette levure. De ce fait nous avons utilisé cette autoagrégation comme modèle de l'adhérence et donc la détermination de l'activité antiadhérente correspond très sensiblement à la mesure de l'inhibition de l'autoagrégation. Ce modèle présente les avantages d'une facilité de mise en oeuvre et permet l'obtention de résultats reproductibles et quantifiables.

3.1.12. Pouvoir antiadhérent (PA).

Pour quantifier l'activité antiadhérente de chaque composé nous avons déterminé le pouvoir antiadhérent (PA), qui répond à la définition :

$$PA = \frac{I \%}{[C]} \frac{1}{100}$$

I % est le pourcentage d'inhibition de l'autoagrégation des tubes germinatifs ($I \% = P_o - P$), P_o et P étant respectivement le nombre de cellules libres rapporté au nombre total de cellules présentes dans le milieu témoin et dans le milieu contenant le composé testé.

[C] est la concentration exprimée en mmol.l⁻¹ du composé à tester dans le milieu.

$\frac{1}{100}$ est un facteur de "comodité" évitant l'obtention de chiffres trop grands.

3.2.2. Résultats.

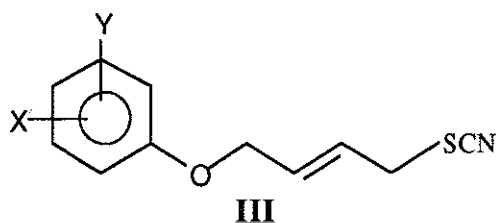
Nous rapportons dans le tableau XIII les pouvoirs antiadhérents du dithioérythritol, de la cystéine, du 1,6-dimercaptohexane et du miconazole (à la concentration de [C] = 0,0067 mM) à l'égard de *Candida albicans* (souche VW 32). Ces quatre composés constituent nos références de l'activité antiadhérente permettant de situer le niveau d'activité des composés testés.

- ♦ Tableau XIII. Pouvoir antiadhérent (PA) des composés de référence déterminé à la concentration de [C] = 0,0067 mM.

Composé	PA
dithioérythritol	0,008
cystéine	1,7
1,6-dimercaptohexane	260
miconazole	1,95

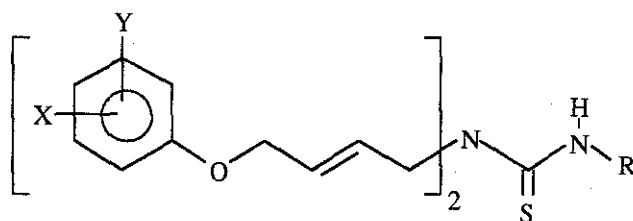
Nous rapportons les pouvoirs antiadhérents pour les composés des séries **III**, **V**, **VI**, **VII**, **VIII** (tableau XIV à XVIII) déterminés sur *Candida albicans* (souche VW 32).

- ♦ Tableau XIV. Pouvoir antiadhérent (PA) des thiocyanates de 4-aroxybut-2-èn-1-yle. **III** déterminé à la concentration de [C] = 0,0067 mM.



N°	X	Y	PA
IIIa	4 Cl	H	70,5
IIIb	4 Cl	2 Cl	55,5
IIIc	4 F	H	64,5
IIId	3 Me	4 Cl	144,0
IIIe	-2-3-Ph		N.D

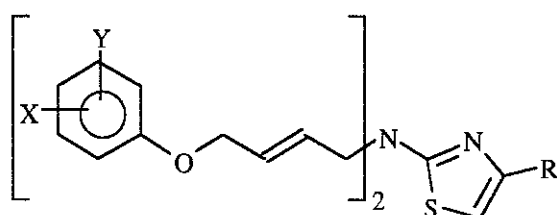
- ♦ Tableau XV. Pouvoir antiadhérent (PA) des N-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]-N'-[4-chlorophényl] thiourées, des N-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]-N'-[1-naphtyl]thiourées, et des N-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]-N'-[1-allyl]thiourées V déterminé à la concentration de [C] = 0,0067 mM.



V

		R=4-Chlorophényl		R = 1-naphtyl		R = allyl	
X	Y	N°	PA	N°	PA	N°	PA
4-Cl	H	a	53,9	g	49,4	m	20,04
4-Cl	2-Cl	b	30,5	h	30,5	n	7,0
4-Br	H	c	N.D	i	N.D	o	39,4
4-Br	2-Br	d	N.D	j	N.D	p	56,3
4-F	H	e	N.D	k	N.D	q	5,0
4-Cl	4-Me	f	84	l	91,5	r	56,25

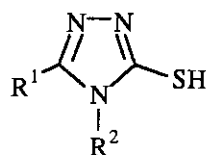
- ♦ Tableau XVI. Pouvoir antiadhérent (PA) des 2-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)amino]-4-[4-chlorophényl] thiazoles et des 2-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)amino]-4-[1-naphtyl]thiazoles **VI** déterminé à la concentration de [C] = 0,0067 mM.



VI

X	Y	R=4-chlorophényl		R=1-naphtyl	
		N°	PA	N°	PA
4-Cl	H	a	ND	g	3,3
4-Cl	2-Cl	b	22,5	h	5,25
4-Br	H	c	ND	i	ND
4-Br	2-Br	d	ND	j	ND
4-F	H	e	ND	k	ND
4-Cl	3-Me	f	ND	l	ND

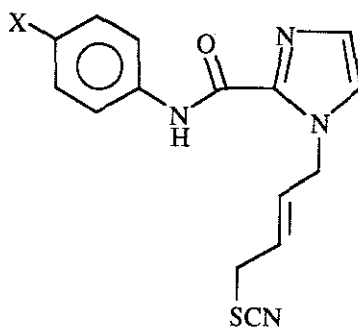
- ♦ Tableau XVII. Pouvoir antiadhérent (PA) des 5-alcoyl-4-aryl-3-mercapto-1,2,4-triazoles **VIIb,g,l,p,q,s,t,x** déterminé à la concentration de $[C] = 0,0067 \text{ mM}$.



VII

N°	R ₁	R ₂	PA
b	H ₃ C-(CH ₂) ₆ -	4-fluorophényl	2,7
g	H ₃ C-(CH ₂) ₈ -	"	2,6
l	H ₃ C-(CH ₂) ₁₀ -	"	2,9
q	H ₂ C=CH-(CH ₂) ₈ -	"	3,35
p	"	4-chlorophényl	1,35
n	"	4-biphényl	3,75
t	"	4-tBu.phényl	3,3
x	"	4-Bz-CH ₂ -	2,75

- ♦ Tableau XVIII. Pouvoir antiadhérent du 1-(4-thiocyanato-2-én-1-yl)-2-anilidyldimidazoles **VIIIa**, et du 1-(4-thiocyanato-2-én-1-yl)-2-(4-fluoroanilidyldimidazoles. **VIIIb** déterminé à la concentration de $[C] = 0,0067 \text{ mM}$.



VIII

N°	X	PA
VIIIa	H	2,6
VIIIb	F	Inhibiteur de la germination

3.3. ACTIVITE ANTIFONGIQUE.

3.2.1. Méthodologie : détermination des CMI, première approche du spectre antifongique.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) exprimée en mg/l est la concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de colonie visible . La présence d'une à trois colonies n'est pas prise en compte. Ces valeurs ont été déterminées par rapport à six levures de métabolisme varié: *Candida albicans* (C.a), *Torulopsis glabrata* (T.g), *Trichosporium cutaneum* (T.c), *Saccharomyces cerevisiae* (S.c), *Kluyveromyces bulgaricus* (K.b), *Citeromyces matritensis* (C.m).

3.2.2. Résultats.

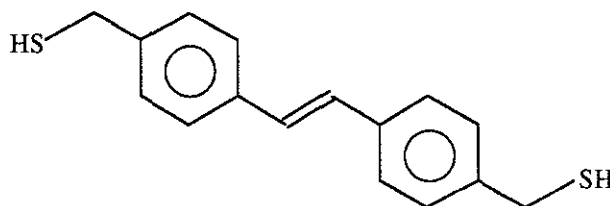
Nous rapportons les concentrations minimales inhibitrices :

- des produit antifongiques de référence : miconazole, amphotericine B (tableau XIX)
- des composés relatifs aux séries **I** à **VIII** et celles des intermédiaires de synthèse **18** à **23** (tableau XIX à XXIX).

♦ Tableau XIX. CMI (mg/l) du miconazole (mic.) et de l'amphotericine B (amp. B)

Souche	C.a	T.g	T.c	S.c	K.b	C.m
mic.	5	6,25	5	5	2,5	5
amp. B	7,5	>20	0,63	>20	>20	>20

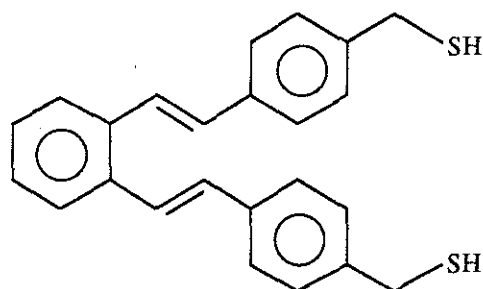
♦ Tableau XX. CMI (mg/l) du 1,2-bis(4-mercaptométhylphényl)éthylène. **Id**



Id

Souche	C.a	T.g	T.c	S.c	K.b	C.m
CMI	128	>128	64	>128	>128	>128

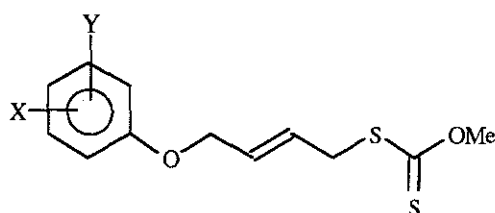
♦ Tableau XXI. CMI (mg/l) du 1,2-bis(4-mercaptométhylstyryl)benzène. **Ie**



Ie

Souche	C.a	T.g	T.c	S.c	K.b	C.m
CMI	128	>128	32	>128	>128	64

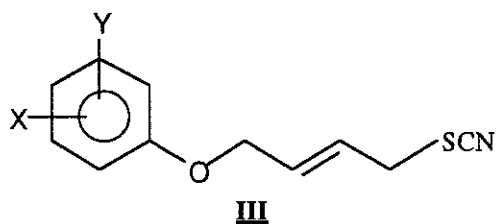
♦ Tableau XXII. CMI (mg/l) des dithiocarbonates de O-éthyle et de S-4-aroxybut -2-èn-1-yle. **II**



II

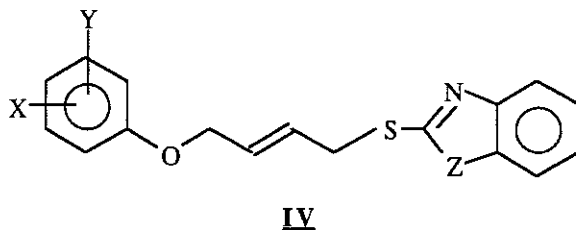
N°	X	Y	Batterie de souches fongiques
			C.a / T.c / S.c / K.b / C.m
11	4-Cl	H	Aucun des produits 11 à 17 n'a révélé, par rapport à toutes ces souches, une CMI < 128 mg/l
12	4-Cl	2-Cl	
13	4-Br	H	
14	4-Br	2-Br	
15	4-F	H	
16	4-Cl	3-Me	
17	-2-3-C ₆ H ₄		

♦ Tableau XXIII. CMI (mg/l) des thiocyanates de 4-aroxybut-2-èn-1yl. **III**



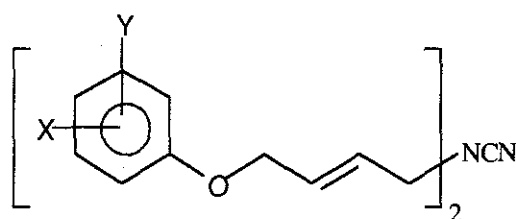
N°	X	Y	C.a	T.g	T.c	S.c	K.b	C.m
a	4-Cl	H	8	N.D	2	4	8	1
b	4-Cl	2-Cl	16	N.D	2	8	8	1
c	4-F	H	8	N.D	2	4	2	1
d	4-Cl	3-Me	16	N.D	2	16	8	1
e	-2-3-C ₆ H ₄		8	N.D	2	16	8	1

♦ Tableau XXIV. CMI (mg/l) des 4-aroxy-1-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-ènes et 4-aroxy-1-(2-mercaptobenzoxazolyl)but-2-ènes. **IV**



N°	X	Y	Z	Batterie de souches fongiques
				C.a / T.c / S.c / K.b / C.m
a	4-Cl	H	S	Aucun des produits a à j n'a révélé, par rapport a toutes ces souches, une CMI < 128 mg/l
b	4-Cl	2-Cl	S	
c	4-Br	H	S	
d	4-Br	2-Br	S	
e	4-F	H	S	
f	4-Cl	H	O	
g	4-Cl	2-Cl	O	
h	4-Br	H	O	
i	4-Br	2-Br	O	
j	4-F	H	O	

♦ Tableau XXV. CMI (mg/l) des bis(4-aroxybut-2-èn-1yl)cyanamides. **18-23**
(intermédiaires de synthèse des composés de la série **V**).



18-23

N°	X	Y	C.a	T.g	T.c	S.c	K.b	C.m
18	4-Cl	H	32	32	32	32	32	32
19	4-Cl	2-Cl	32	32	32	32	32	32
20	4-Br	H	32	32	32	32	32	32
21	4-Br	2-Br	32	32	32	32	32	32
23	4-F	H	32	32	32	32	32	64
24	4-Cl	3-Me	32	32	32	32	32	32

N.B. : Signification des abréviations.

C.a : *Candida albicans*

T.g : *Torulopsis glabrata*

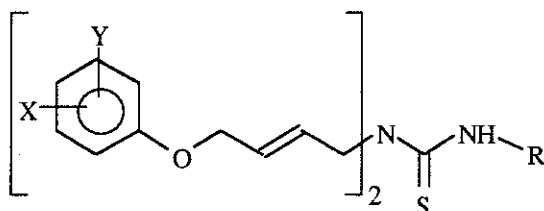
T.c : *Trichosporium cutaneum*

S.c : *Saccharomyces cerevisiae*

K.b : *Kluyveromyces bulgaricus*

C.m : *Citeromyces matritensis*

♦ Tableau XXVI. CMI (mg/l) des N-bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl) N'-(4-chlorophényl, 1-naphtyl 1-allyl) thiourées. V



V

N°	X	Y	R	Batterie de souches fongiques
				C.a / T.c / S.c / K.b / C.m
a	4-Cl	H	4-Cl phényl	Aucun des produits a à r n'a révélé, par rapport à toutes ces souches, une CMI < 128 mg/l
b	4-Cl	2-Cl	"	
c	4-Br	H	"	
d	4-Br	2-Br	"	
e	4-F	H	"	
f	4-Cl	3-Me	"	
g	4-Cl	H	1-naphtyl	
h	4-Cl	2-Cl	"	
i	4-Br	H	"	
j	4-Br	2-Br	"	
k	4-F	H	"	
l	4-Cl	3-Me	"	
m	4-Cl	H	1-allyl	
n	4-Cl	2-Cl	"	
o	4-Br	H	"	
p	4-Br	2-Br	"	
q	4-F	H	"	
r	4-Cl	3-Me	"	

N.B. : Signification des abréviations.

C.a : *Candida albicans*

T.g : *Torulopsis glabrata*

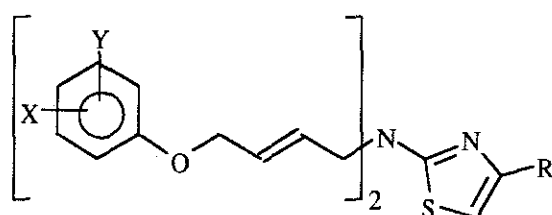
T.c : *Trichosporium cutaneum*

S.c : *Saccharomyces cerevisiae*

K.b : *Kluyveromyces bulgaricus*

C.m : *Citeromyces matritensis*

♦ Tableau XXVII. CMI (mg/l) des 1-[bis-(4-aroxybut-2-èn-1-yl)amino]-4-(4-chloro-phényl) thiazoles **IVa-f** et 1-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)amino]-4-(1-naphtyl) thiazoles. **VIg-l**



VI

N°	X	Y	R	Batterie de souches fongiques C.a / T.c / S.c / K.b / C.m
a	4-Cl	H	4-Cl-phényl	Aucun des produits a à l n'a révélé, par rapport à toutes ces souches, une CMI < 128 mg/l
b	4-Cl	2-Cl	"	
c	4-Br	H	"	
d	4-Br	2-Br	"	
e	4-F	H	"	
f	4-Cl	3-Me	"	
g	4-Cl	H	1-naphtyl	
h	4-Cl	2-Cl	"	
i	4-Br	H	"	
j	4-Br	2-Br	"	
k	4-F	H	"	
l	4-Cl	3-Me	"	

N.B. : Signification des abréviations.

C.a : *Candida albicans*

T.g : *Torulopsis glabrata*

T.c : *Trichosporium cutaneum*

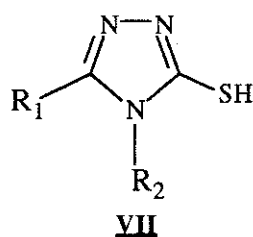
S.c : *Saccharomyces cerevisiae*

K.b : *Kluyveromyces bulgaricus*

C.m : *Citeromyces matritensis*

- ♦ Tableau XXVIII. CMI (mg/l) des 5-alcoyl-4-aryl-3-mercapto-1,2,4-triazoles **VIIa-t** et 5-alcoyl-4-[2(4-chlorophényl)éthyl]-3-mercapto-1,2,4-triazoles **VIIu-x** à l'égard de *Trichosporium cutaneum* (T.c) ⁽¹⁾.

(1). Pour les 5 autres souches les CMI sont toutes supérieures à 128 mg/l.



R ₁ ⇒	H ₃ C-(CH ₂) ₆ -		H ₃ C-(CH ₂) ₈ -		H ₃ C-(CH ₂) ₁₀ -		H ₂ C=CH-(CH ₂) ₈ -	
R ₂ ↓	N°	CMI	N°	CMI	N°	CMI	N°	CMI
4-Cl Ph	a	3	f	3	k	>128	p	3
4-F Ph	b	3	g	>128	l	>128	q	3
1-napht	c	>128	h	>128	m	>128	r	>128
4,-Ph-Ph	d	>128	i	>128	n	>128	s	>128
4-t.Bu Ph	e	>128	j	>128	o	>128	t	>128
4-Cl Bz-CH ₂ -	u	>128	v	>128	w	>128	x	>128

N.B. : Signification des abréviations.

C.a : *Candida albicans*

T.g : *Torulopsis glabrata*

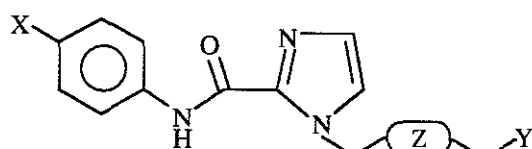
T.c : *Trichosporium cutaneum*

S.c : *Saccharomyces cerevisiae*

K.b : *Kluyveromyces bulgaricus*

C.m : *Citeromyces matritensis*

- ♦ Tableau XXIX. CMI (mg/l) des 1-(4-thiocyanatobut-2-èn-1-yl)-2-anilidyimidazoles **VIIIa,b**, 1-(4-thiocyanatoxyl-1-yl)-2-anilidyimidazoles **VIIIc,d**, dithiocarbonates de O-éthyle et de S-[1-(4-but-2-èn-1-yl)-2-anilido]imidazolyle **VIIIe,f**, dithiocarbonates de O-éthyle et de S-[1-(4-xyl-1-yl)-2-anilido]imidazolyle **VIIIg,h**, 1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-èn-1-yl]-2-anilidyimidazoles **VIIIi,j**, 1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl) xyl-1-yl]-2-anilidyimidazoles. **VIIIk,l**



VIII

N°	X	Y	Z	Batterie de souches fongiques				
				C.a	T.c	S.c	K.b	C.m
a	H	-SCN	(a)	>128	16	>128	16	16
b	F	"	(a)	>128	16	>128	16	25
c	H	"	(b)	Aucun des produits a à l n'a révélé, par rapport à toutes ces souches, une CMI < 128 mg/l				
d	F	"	(b)					
e	H	-SC(S)OEt	(a)					
f	F	"	(a)					
g	H	"	(b)					
h	F	"	(b)					
i	H	2-mercaptobenzothiazolyl	(a)					
j	F	"	(a)					
k	H	"	(b)					
l	F	"	(b)					

(a) : but-2-èn-1-

(b) : xyl-1-yl

4

**CORRELATION "STRUCTURE CHIMIQUE -
ACTIVITE BIOLOGIQUE"**

4.1. PRESENTATION DES METHODES UTILISEES POUR L'ETABLISSEMENT D'UNE CORRELATION "STRUCTURE CHIMIQUE-ACTIVITE BIOLOGIQUE"

4.1.1. Introduction

Dans le but de déterminer les éléments structuraux qui, à l'intérieur d'une série de composés, modulent l'activité biologique (évaluée par le pouvoir antiadhérent (PA) et la concentration minimale inhibitrice (CMI), nous avons effectué une étude QSAR (Quantitative Structure Activity Relationships) sur trois séries de molécules parmi les huit familles que nous avons synthétisées. Ces études et les informations qu'elles nous fourniront nous permettront d'orienter de façon rationnelle la suite de nos recherches.

Les méthodes QSAR procèdent de diverses approches que l'on peut classer en deux groupes selon que les paramètres utilisés sont de type moléculaire électronique ou physico-chimique. Dans le premier cas, leur détermination résulte des propriétés électroniques de la structure moléculaire, alors que dans le deuxième, ce sont des observations expérimentales qui permettent leur détermination.

Nous nous proposons d'exposer en premier lieu les modèles fondés sur les propriétés physico-chimiques de la molécule. Dans une deuxième étape nous aborderons ceux basés sur la structure moléculaire.

4.1.2. Modèles fondés sur les propriétés physico-chimiques de la molécule.

4.1.2.1. La méthode de Hansch

La méthode Hansch (131) se fonde sur l'idée que les modifications de l'effet biologique sont reliées aux descripteurs physico-chimiques de la molécule. A partir de données thermodynamiques et cinétiques, Hansch a calculé la variation d'énergie libre du système "Pharmacomolécule-récepteur", qui est traduite par la réponse biologique (R.b) exprimée traditionnellement par $1/C$ (C =concentration nécessaire pour déclencher un niveau de réponse biologique).

La variation d'énergie libre (ΔG) du système considéré peut être analysée en trois composantes :

- d'une part celle attribuable aux facteurs de lipophilie (π),
- d'autre part celle liée aux facteurs électroniques (E) (répartition des charges), traduisant la réactivité de la molécule,
- enfin celle associée à la géométrie moléculaire (facteurs stériques : S).

L'approche de Hansch fait donc appel à plusieurs types de paramètres que l'on peut relier entre eux par l'équation.

$$\log(I/C)=a\pi+b\pi^2+cE+dS+cst^e$$

Une analyse de régression multiple basée sur la méthode des moindres carrés permet de déterminer les coefficients a, b, c, d. Des tests statistiques sont alors réalisés pour connaître la validité de l'équation obtenue.

a) Paramètres hydrophobes

♦ Coefficient de partage

On définit généralement le coefficient de partage comme le rapport de la concentration molaire d'une substance en milieu organique à sa concentration molaire en phase aqueuse. Pour les études QSAR le système n-octanol / eau s'est révélé être celui qui convenait le mieux à la mesure des coefficients de partage du fait de sa ressemblance avec les systèmes biologiques. Comme le n-octanol, les membranes sont en effet constituées de chaînes alcoyles hydrophobes et de groupements polaires.

$$P_X = C_{RX_{oct}} / C_{RX_{eau}}$$

P_X étant le coefficient de partage d'un composé R-X, mesuré dans le système octanol/eau.

$C_{RX_{oct}}$ et $C_{RX_{eau}}$ sont les concentrations molaires de R-X respectivement dans le n-octanol et l'eau.

Le paramètre π dérive du log P :

$$\pi_X = \log P_X - \log P_H = \log P_X / P_H \quad (1)$$

P_H étant le coefficient de partage d'un composé de référence, R-H et mesuré lui aussi dans le système octanol/eau.

Classiquement, une quantité de substance convenablement choisie est dissoute dans la phase aqueuse ou la phase organique selon ses caractères de solubilité. Une agitation mécanique ou manuelle pendant un temps approprié permet d'atteindre l'équilibre de partage. Elle est suivie d'une centrifugation d'autant plus nécessaire que la valeur du coefficient de partage est élevée. On mesure les concentrations des produits dans les deux phases par une méthode appropriée souvent spectrophotométrique ou chromatographique, parfois titrimétrique. La détermination expérimentale de ce coefficient présente cependant quelques difficultés pratiques, en particulier, lorsqu'un produit de la série à corrélérer est insoluble dans l'une des phases. C'est la raison pour laquelle un autre paramètre rendant compte de la lipophilie a été développé.

♦ Paramètre chromatographique

Au lieu de mesurer le coefficient de partage par la méthode précédente Boyce et Milborrow (132) ont proposé d'utiliser les résultats de la chromatographie de partage pour exprimer le caractère lipophile des molécules. Un des paramètres les plus fréquemment utilisé est le R_m défini par Bate-Smith et Westall (133)

$$R_m = \log(1/R_f - 1)$$

Dans cette équation, R_f désigne le rapport frontal, rapport de la distance parcourue par le front du solvant (C.C.M.). Le R_m est une propriété constitutive de la molécule au même titre que le coefficient de partage.

♦ Calcul du coefficient de partage

Le coefficient de partition d'un soluté distribué entre l'eau et une phase lipidique non miscible peut être calculé à l'aide des constantes π . De plus, tant que les concentrations en soluté reste faibles, le processus de partition peut être considéré comme n'importe quel équilibre gouverné par l'énergie libre (thermodynamique) de Gibbs. La valeur de $\log P$ peut de ce fait être calculée par la sommation des éléments structuraux appropriés d'une molécule, on parle alors de "méthode des fragments".

Nys et Rekker (134) ont réalisé dès 1973 une étude statistique des données disponibles à cette époque en vue de développer une série de valeurs de fragments utilisables suivant un mode additif.

$$\log P = \sum_1^n a_n \cdot f_n$$

a : nombre de fois où se retrouve le fragment f de type structural n .

A l'origine, cette équation avait pour but la détermination de l'hydrophobicité "moyenne" de l'hydrogène dans une variété de situations structurales.

D'autre part :

$$\pi_X = \log P_{(H-X)} - \log P_{(H-H)} \quad (1)$$

$$\text{----->} \quad f_X = \log P_{(H-X)} - f_H \quad (2)$$

$$\text{----->} \quad 2f_H = \log P_{(H-H)} \quad (3)$$

$$\text{----->} \quad f_X = \pi_X + f_H \quad (4)$$

Par exemple, connaissant les log P de CH₄ et de H₂ (données expérimentales) il est possible de calculer π_{CH_3} et f_{CH_3} .

$$\text{--> d'après (1) : } \pi_{\text{CH}_3} = \log P(\text{H-CH}_3) - \log P(\text{H-H}) = 1,09 - 0,45 = 0,64$$

$$\text{--> d'après (2) et (3) : } f_{\text{CH}_3} = \log P(\text{H-CH}_3) - f_{\text{H}} = 1,09 - 1/2(0,45) = 0,87$$

$$\text{--> d'après (4) : } f_{\text{CH}_3} = \pi_{\text{CH}_3} + f_{\text{H}} = 0,64 + 0,23 = 0,87$$

En partant de valeurs du log P connues pour un grand nombre de molécules, Nys et Rekker ont utilisé une approche "réductionniste" pour calculer -CH₃, -CH₂, -CH etc.... Par contre, Hansch et Leo sont partis de mesures très soigneuses sur des structures simples ne contenant pas d'interactions inattendues, ce qui confère à leur méthode un caractère "constructionniste".

Ainsi, à partir de mesures très soigneuses effectuées sur l'hydrogène moléculaire (log P_{H₂} = 0,45 et donc $f_{\text{H}} = +0,23$), sur le méthane et l'éthane (log P_{CH₄} = 1,09 et log P_{CH₃} = 1,81), il est possible de déduire :

$$\text{-----> } f_{\text{CH}_3} = 0,89 \quad \text{d'après } 1/2 \log P_{\text{CH}_3\text{-CH}_3}$$

$$\text{-----> } f_{\text{CH}} = 0,43 \quad \text{d'après } f_{\text{CH}_3} - 2f_{\text{H}}$$

$$\text{-----> } f_{\text{C}} = 0,20 \quad \text{d'après } f_{\text{CH}_3} - 3f_{\text{H}}$$

La méthode de Hansch et Léo tient compte **(131)** :

- 1) des valeurs des constantes pour les éléments structuraux symbolisés par la lettre f ,
- 2) d'autres facteurs affectant l'équilibre de répartition dans les solutés plus complexes pour lesquels la seule sommation des fragments conduit à des valeurs erronées (F).

L'équation de Nys et Nekker peut alors être généralisée :

$$\log P = \sum_1^n a_n \cdot f b_n + \sum_1^n b_m \cdot F_m$$

b) Paramètres électroniques **(135)** : ,

Il existe deux catégories de paramètres moléculaires. La première rassemble les paramètres directement liés à la structure moléculaire et la plupart du temps issus des calculs de mécanique quantique. Parmi ceux-ci citons la densité électronique, la répartition de charge et le moment dipolaire. Le second groupe est représenté par des paramètres empiriques tel le pK_a, la constante d'équilibre de réaction, les constantes de substituants qui sont en relation avec la répartition des électrons dans la molécule.

C'est à Hammett que revient le mérite d'avoir le premier défini une constante décrivant les effets électroniques d'un substituant X, constante qu'il dénomme σ

La substitution d'un atome d'hydrogène (H) par un groupement dans une molécule à l'état fondamental provoque des déplacements électroniques que l'on peut schématiquement répartir en deux catégories :

- les effets polaires : effet inductif, effet de champ,
- les effets de résonnance.

La constante de Hammett, dont Hansch s'est inspiré pour son paramètre π , tente de rendre compte de ce double effet. Elle se définit de la façon suivante :

$$\log (K_X / K_H) = \rho \sigma$$

K_X étant la constante de dissociation de la molécule portant le substituant X. K_H est la constante de dissociation de la molécule pour laquelle X est le substituant. ρ mesure la susceptibilité de la réaction à l'effet électronique de X.

c) Paramètres stériques

Bien qu'introduits plus tardivement dans les équations QSAR, les paramètres stériques ne jouent pas pour autant un rôle négligeable. Ils doivent rendre compte en fait d'un double phénomène : les effets inter et intramoléculaires. Il s'agit là d'une des plus grande difficulté rencontrée dans l'établissement de corrélation "structure-activité" que l'on élude souvent en regroupant les composés de même encombrement stérique. Comme les paramètres hydrophobes et électroniques précédemment décrits, certains sont en relation avec la molécule entière alors que d'autres traduisent les interactions stériques dues aux substituants.

◆ Paramètres en relation avec la molécule entière

Des paramètres physico-chimiques expérimentaux sont plus fréquemment utilisés. Citons, le volume molaire (VM), la réfraction molaire (RM) ou le parachor (P_r)

$$VM = M/d \qquad RM = (n^2 - 1 / n^2 + 2).M /d \qquad Pr = \gamma^{1/4}.M /d$$

Dans ces équations, M représente la masse molaire; d la densité; n l'indice de réfraction et γ la tension superficielle.

Ces trois paramètres traduisent des propriétés constitutives et additives des molécules au même titre que le coefficient de partage. La réfraction molaire et le parachor

peuvent être considérés comme des volumes molaires corrigés. De plus, ils sont en relation étroite avec le coefficient de partage dans le cas des substances apolaires.

♦ Constantes de substituants :

Le paramètre stérique, E_s de Taft, est défini à partir de l'hydrolyse acide d'acétates substitués. Le groupement méthyle a été choisi par Taft comme substituant de référence, donc $E_{sCH_3} = 0$

En conclusion la connaissance des paramètres hydrophobes, électroniques et stériques associés à une mesure de la réponse biologique permet d'établir l'équation de régression ou la discriminante reliant l'activité manifestée à la structure de la série chimique considérée. Cette équation constitue un élément de prévision des propriétés biologiques des autres molécules de la même famille.

4.1.22. Modèles basés sur la structure moléculaire.

a) Théorie de Free et Wilson (méthode semi-empirique) (*in* 135)

Cette méthode s'appuie sur l'hypothèse fondamentale suivante : <<Il y a additivité des contributions de chaque morceau de la molécule à l'activité totale>>(principe de Free et Wilson)

L'activité biologique de la molécule est égale par conséquent à la somme des contributions des différentes parties constitutives, des divers substituants et du "squelette" commun. Par substituant, il faut entendre : un groupement chimique dont la nature et la position sur le squelette est parfaitement connue.

On se retrouve face à un nombre variable d'équations à plusieurs inconnues dont la résolution se fait par la méthode des régressions multiples. L'avantage de la méthode est de fournir des renseignements précis sur les différentes parties de la molécule. Son principal défaut est son caractère non général : les paramètres utilisés sont empiriquement déterminés pour une famille structurale définie. Un deuxième inconvénient réside dans l'absence d'un terme d'interaction entre les différents constituants (représentatifs de la liaison hydrogène ou de phénomènes d'encombrement stérique).

b) Méthode de Bocek et Kopecky (135)

C'est également un modèle mathématique qui utilise des constantes de substituants empiriques. La démarche est la même que celle de Free et Wilson, mais chaque groupement fonctionnel est caractérisé par deux types de constantes (additivité + interactions possibles).

Cette méthode est peu développée à l'heure actuelle. Cela peut paraître étonnant dans la mesure où les modèles mathématiques sont assez attrayants et évitent la détermination parfois peu aisée de paramètres physico-chimiques caractéristiques.

c) Méthode quantique. (136)

La chimie quantique offre l'avantage de pouvoir décrire les effets électroniques de façon plus précise. Elle peut être appliquée aux méthodes QSAR à condition de développer des descripteurs électroniques directement traités à partir de la fonction d'onde moléculaire. Ces indices globaux ou locaux peuvent être "observables" à partir de la molécule ou peuvent être constitués par des grandeurs théoriques qui caractérisent au mieux la structure électronique ou la réactivité de la molécule. La chimie théorique offre une grande variété d'indices et plusieurs études de relation structure-activité ont été développées sur la base de telles grandeurs. Par exemple, des corrélations entre des descripteurs empiriques (log P de Hansch, constante de Hammett) et des descripteurs quantiques (somme des valeurs absolues des charges nettes et somme des superdélocalisabilités électrophiles) ont été établies par la méthode de Hückel. Des descripteurs tels que les charges nettes sur les atomes ou groupes d'atomes, l'énergie de la plus haute orbitale moléculaire occupée (HOMO) et de la plus basse orbitale vacante (LUMO) sont couramment utilisés. Les méthodes semi-empiriques largement utilisées par les chimistes fournissent rapidement une image très réaliste de la molécule qui est la représentation la plus exacte de l'évolution de la structure électronique dans une série présentant divers substituants.

Le problème majeur lors de l'établissement d'une relation structure-activité reste le choix, parmi les nombreuses possibilités offertes par la chimie quantique, d'une série limitée des meilleurs descripteurs pour une activité donnée et d'éviter l'utilisation de variables qui apparaîtraient mutuellement et étroitement corrélées.

4.2. APPLICATION DES METHODES QSAR A NOS TRAVAUX.

4.2.1. Méthodologie

Nous avons établi des équations de corrélation par analyse de régression multiple ou par discriminante.

Ces équations relient l'activité anti-adhérente (log PA) ou l'activité antifongique (log CMI) aux paramètres :

- physico-chimiques : R_m , log P
- structuraux : descripteurs électroniques

4.2.2. Détermination des paramètres intervenant dans les corrélations.

4.2.2.1. Détermination expérimentale du R_m

Nous avons déterminé le facteur R_f (dont dépend le paramètre R_m) par chromatographie sur couche mince :

- support : gel de silice 60F₂₅₄ (Merck)

- éluant: éther de pétrole-éther : 1-1,5 (série **III**)

éther de pétrole-éther : 1-2 (série **V**)

éther de pétrole-éther : 1-2,5 (série **VII**)

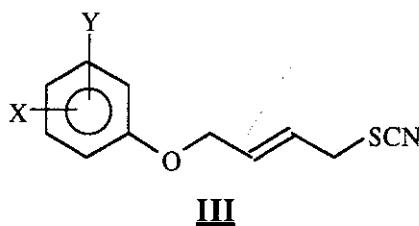
- produit à chromatographier : celui-ci est dissous dans le chloroforme, puis déposé sur le support, selon la technique habituelle. Après développement de la chromatographie et séchage à l'air libre du chromatogramme celui-ci est révélé en lumière ultra-violette à 254 nm.

La valeur des R_f retenue pour calcul des R_m est issue de la moyenne de trois mesures. Par application de la relation de Boyce et Milborrow (132) :

$$R_m = \log (1/R_f - 1)$$

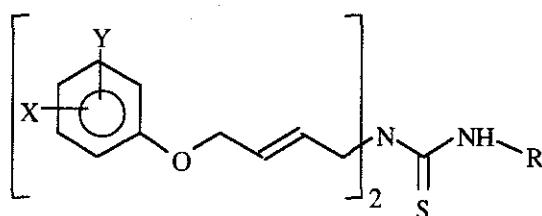
Nous avons obtenu les valeurs suivantes :

→ pour la série **III**:



N°	X	Y	R_f	R_m
a	4-Cl	H	0,500	0
b	4-Cl	2-Cl	0,271	0,429
c	4-F	H	0,340	-0,288
d	4-Cl	3-Me	0,500	0
e	-2-3-C ₆ H ₄		0,278	0,171

→ pour la série V :

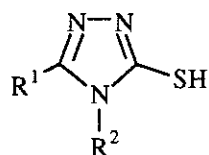


V

N° (1)	X	Y	Z	R _f	R _m
m	4-Cl	H	-H ₂ C-CH=CH ₂	0,47	0,052
n	"	2-Cl	"	0,41	0,158
o	4-Br	H	"	0,46	0,069
p	"	2-Br	"	0,38	0,213
q	4-F	H	"	0,53	-0,052
r	4-Cl	3-Me	"	0,56	-0,105
a	"	H	4-chlorophényl	0,39	0,194
b	"	2-Cl	"	0,28	0,410
f	"	3-Me	"	0,41	0,158
g	"	H	1-naphtyl	0,41	0,158
h	"	2-Cl	"	0,21	0,575
k	"	3-Me	"	0,57	-0,122
e	4-F	H	"	0,42	0,140

(1). La colonne N°, de ce tableau présente une liste alphabétique non chronologique de désignation des molécules, en raison du codage arbitraire (m : ML01, n : ML02, ..., ML13) retenu dans le programme GEOMOS (cf. p. 121)

→ pour la série **VII** :



VII

N°	R ₁	R ₂	R _f	R _m
a	H ₃ C-(CH ₂) ₆	4-chlorophényl	0,67	-0,307
b	"	4-fluorophényl	0,72	-0,41
c	"	1-naphtyl	0,54	-0,069
d	"	4-biphényl	0,74	-0,454
e	"	4-tBu.phényl	0,74	-0,454
f	H ₃ C-(CH ₂) ₈	4-chlorophényl	0,66	-0,288
g	"	4-fluorophényl	0,63	-0,231
h	"	1-naphtyl	0,71	-0,388
i	"	4-biphényl	0,58	-0,14
j	"	4-tBu.phényl	0,70	-0,368
k	H ₃ C-(CH ₂) ₁₀	4-chlorophényl	0,718	-0,407
l	"	4-fluorophényl	0,72	-0,41
m	"	1-naphtyl	0,66	-0,288
n	"	4-biphényl	0,73	-0,432
o	"	4-tBu.phényl	0,74	-0,454
p	H ₂ C=CH-(CH ₂) ₈	4-chlorophényl	0,64	-0,575
q	"	4-fluorophényl	0,74	-0,454
r	"	1-naphtyl	0,70	-0,368
s	"	4-biphényl	0,67	-0,708
t	"	4-tBu.phényl	0,70	-0,368
u	H ₃ C-(CH ₂) ₆	4-chlorophénéthyl	0,74	-0,454
v	H ₃ C-(CH ₂) ₈	"	0,76	-0,50
w	H ₃ C-(CH ₂) ₁₀	"	0,60	-0,176
x	H ₂ C=CH-(CH ₂) ₈	"	0,78	-0,550

4.2.22. Calcul du logP selon Hansch-Léo

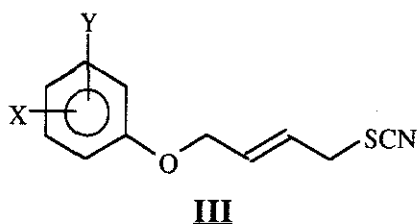
Par application de la formule :

$$\log P = \sum_1^n a_n \cdot f b_n + \sum_1^m b_m \cdot F_m$$

nous avons déterminé le log P des molécules appartenant aux trois séries envisagées.

Série **III**

Nous détaillons le calcul du log P relatif au composé **IIIa** à partir duquel celui des autres composés de la série **III** peut être facilement déduit.



pour **IIIa** (X = 4-Cl, Y=H)

$$\log P(\text{IIIa}): f_{C_6H_4} + f_{Cl}^\phi + f_O^\phi + 4f_{CH_2} + f_{SCN} + F_\pi + (5-1)F_b$$

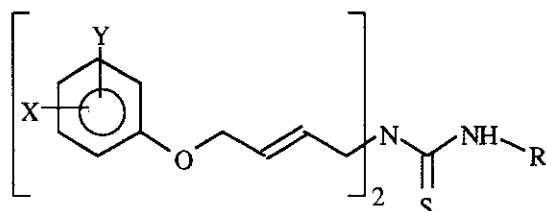
$$1,67 + 0,94 + (-0,61) + 4 (0,66) + 0,64 + (-0,55) + 4 (-0,12) = 4,13$$

Les valeurs du log P pour les autres composés de la série **III** sont les suivantes :

N°	X	Y	logP
a	4-Cl	H	4,13
b	4-Cl	2-Cl	4,84
c	4-F	H	3,56
d	4-Cl	3-Me	4,79
e	-4-5-Ph		4,54

Série V

Nous détaillons le calcul du log P pour les composés Va, Vg et Vm à partir duquel celui des autres composés de la série V est facilement accessible.



V

pour Va (X = Cl, Y = H, Z = 4-chlorophényl)

$$\begin{aligned}\log P(\underline{\text{Va}}) &= 2f_{\text{C}_6\text{H}_4} + 2f_{\text{Cl}}^\varnothing + 2f_{\text{O}}^\varnothing + 8f_{\text{CH}_2} + 2F_{=} + 2(5-1)F_b + f_{-\text{N}} + f_{\text{C}(\text{S})\text{NH}} \\ &\quad + f_{\text{C}_6\text{H}_4} + f_{\text{Cl}}^\varnothing \\ &= 2(1,67) + 2(0,94) + 2(-0,61) + 8(0,66) + 2(-0,55) + 2[4(-0,12)] \\ &\quad + (-2,18) + 0,37 + 1,67 + 0,94 = 8,02\end{aligned}$$

pour Vg (X = Cl, Y = H, Z = 1-naphtyl)

$$\begin{aligned}\log P(\underline{\text{Vg}}) &= 2f_{\text{C}_6\text{H}_4} + 2f_{\text{Cl}}^\varnothing + 2f_{\text{O}}^\varnothing + 8f_{\text{CH}_2} + 2F_{=} + 2(5-1)F_b + f_{-\text{N}} + f_{\text{C}(\text{S})\text{NH}} \\ &\quad + 7f_{\text{CH}} + f_{\text{C}} + f_{\text{C}} \\ &= 2(1,67) + 2(0,94) + 2(-0,61) + 8(0,66) + 2(-0,55) + 2[4(-0,12)] \\ &\quad + (-2,18) + 0,37 + 7(0,35) + 0,13 + 2(0,22) = 8,43\end{aligned}$$

pour Vm (X = Cl, Y = H, Z = 1-allyl)

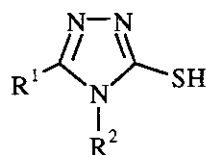
$$\begin{aligned}\log P(\underline{\text{Vm}}) &= 2f_{\text{C}_6\text{H}_4} + 2f_{\text{Cl}}^\varnothing + 2f_{\text{O}}^\varnothing + 8f_{\text{CH}_2} + 2F_{=} + 2(5-1)F_b + f_{-\text{N}} + f_{\text{C}(\text{S})\text{NH}} \\ &\quad + 2f_{\text{CH}_2} + f_{\text{CH}_3} + (3-1)F_b + F_{=} \\ &= 2(1,67) + 2(0,94) + 2(-0,61) + 8(0,66) + 2(-0,55) + 2[4(-0,12)] \\ &\quad + (-2,18) + (-0,67) + 2(0,66) + 0,87 + 2(-0,12) + (-0,55) = 6,39\end{aligned}$$

Les valeurs du logP pour les autres composés de la série **V** sont les suivantes :

N°	X	Y	Z	logP
m	4-Cl	H	-H ₂ C-CH=CH ₂	6,39
n	"	2-Cl	"	7,81
o	4-Br	H	"	8,41
p	"	2-Br	"	8,87
q	4-F	H	"	5,25
r	4-Cl	3-Me	"	7,71
a	"	H	4-chlorophényl	8,02
b	"	2-Cl	"	9,44
f	"	3-Me	"	9,34
g	"	H	1-naphtyl	8,43
h	"	2-Cl	"	9,85
k	"	3-Me	"	9,75
e	4-F	H	"	7,39

Série **VII**

Nous détaillons le calcul du log P relatif aux composés **VIIa**, **VIIg**, **VIIm**, **VIIs** à partir duquel celui des autres composés de la série VII peut être facilement déduit.



VII

pour **VIIa** (R₁ = CH₃-(CH₂)₆-, R₂ = 4-chlorophényl)

$$\begin{aligned}
 \log P(\text{VIIa}) &= f_{\text{CH}_3} + 6f_{\text{CH}_2} + f_{\text{Cl}}^{\emptyset} + f_{\text{C}_6\text{H}_4} + f_{\text{SH}}^{\emptyset} + 2f_{\text{-N=}}^{\emptyset} + f_{\text{-N}}^{\emptyset} + 2f_{\text{-C}}^{\emptyset} + (7-1)F_b \\
 &\quad + 2F_{\text{Pl}}^{\emptyset} (f_{\text{-N}}^{\emptyset} + f_{\text{-N=}}^{\emptyset}) + F_{\text{Pl}} (f_{\text{-N}}^{\emptyset} + f_{\text{SH}}^{\emptyset}) + F_{\text{Pl}} (f_{\text{SH}}^{\emptyset} + f_{\text{-N=}}^{\emptyset}) \\
 &= 0,89 + 6 (0,66) + (0,94) + 1,67 + 0,62 + 2 (-1,12) + (-0,56) + 2 \\
 &\quad (0,13) + 6 (-0,12) + 2 (-0,16) [-0,56 + (-1,12)] + (-0,32) (-0,56 \\
 &\quad + 0,62) + (-0,32) (0,62 (-1,12)) = 5,23
 \end{aligned}$$

pour **VIIg** (R₁ = CH₂-(CH₂)₈-, R₂ = 4-fluorophényl)

$$\begin{aligned}
\log P(\text{VIIg}) &= f_{\text{CH}_3} + 8f_{\text{CH}_2} + f_{\text{F}}^{\varnothing} + f_{\text{C}_6\text{H}_4} + f_{\text{SH}}^{\varnothing} + f_{\text{N}=\text{}}^{\varnothing} + f_{\text{N}}^{\varnothing} + 2f_{\text{C}}^{\varnothing} + (9-1)F_{\text{b}} \\
&\quad + 2F_{\text{P1}}^{\varnothing} (f_{\text{N}}^{\varnothing} + f_{\text{N}=\text{}}^{\varnothing}) + F_{\text{P1}} (f_{\text{N}}^{\varnothing} + f_{\text{SH}}^{\varnothing}) + F_{\text{P1}} (f_{\text{SH}}^{\varnothing} + f_{\text{N}=\text{}}^{\varnothing}) \\
&= 0,89 + 8 (0,66) + (0,37) + 1,67 + 0,62 + 2 (-1,12) + (-0,56) + 2 \\
&\quad (0,13) + 8 (-0,12) + 2(-0,16) [-0,56 + (-1,12)] + (-0,32) (-0,56 + \\
&\quad 0,62) + (0,32) (0,62 + (-1,12)) = 5,74
\end{aligned}$$

pour **VIIIm** (R₁ = CH₃-(CH₂)₁₀-, R₂ = 1-naphtyl)

$$\begin{aligned}
\log P(\text{VIIIm}) &= f_{\text{CH}_3} + 10f_{\text{CH}_2} + f_{\text{CH}}^{\varnothing} + f_{\text{C}}^{\varnothing} + f_{\text{C}}^{\varnothing} + f_{\text{SH}}^{\varnothing} + 2f_{\text{N}=\text{}}^{\varnothing} + f_{\text{N}}^{\varnothing} + 2f_{\text{C}}^{\varnothing} \\
&\quad + (11-1)F_{\text{b}} + 2F_{\text{P1}}^{\varnothing} (f_{\text{N}}^{\varnothing} + f_{\text{N}=\text{}}^{\varnothing}) + F_{\text{P1}} (f_{\text{N}}^{\varnothing} + f_{\text{SH}}^{\varnothing}) + F_{\text{P1}} (f_{\text{SH}}^{\varnothing} + f_{\text{N}=\text{}}^{\varnothing}) \\
&= 0,89 + 10 (0,66) + 7 (0,35) + 0,13 + 2 (0,22) + (-0,56) + 2 (0,13) + \\
&\quad 8 (-0,12) + 2(-0,16) [-0,56 + (-1,12)] + (-0,32) (-0,56 + 0,62) \\
&\quad + (0,32) (0,62 + (-1,12)) = 7,77
\end{aligned}$$

pour **VIIIs** (R₁ = CH₂ = CH-(CH₂)₈-, R₂ = 4'-biphényl)

$$\begin{aligned}
\log P(\text{VIIIs}) &= f_{\text{CH}_3} + 9f_{\text{CH}_2} + f_{\text{C}_6\text{H}_5} + f_{\text{C}_6\text{H}_4} + f_{\text{SH}}^{\varnothing} + 2f_{\text{N}=\text{}}^{\varnothing} + f_{\text{N}}^{\varnothing} + f_{\text{C}}^{\varnothing} + (10-1)F_{\text{b}} \\
&\quad + F_{\text{=}} + F_{\text{P1}} (f_{\text{N}}^{\varnothing} + f_{\text{N}=\text{}}^{\varnothing}) + F_{\text{P1}} (f_{\text{N}=\text{}}^{\varnothing} + f_{\text{SH}}^{\varnothing}) + F_{\text{P1}} (f_{\text{SH}}^{\varnothing} + f_{\text{N}=\text{}}^{\varnothing}) \\
&= 0,89 + 9 (0,66) + 1,90 + 1,67 + 0,67 + (-0,56) + 2 (0,13) + \\
&\quad 9 (-0,12) + (-0,55) + (-0,16) (-0,56 + (-1,12)) + (-0,32) (-0,56 + 0,62) \\
&\quad + (0,32) (0,62 + (-1,12)) = 7,26
\end{aligned}$$

Les valeurs du log P pour les autres composés de la série **VII** sont les suivantes :

N°	R ₁	R ₂	logP
a	H ₃ C-(CH ₂) ₆	4-chlorophényl	5,23
b	"	4-fluorophényl	4,66
c	"	1-naphtyl	5,64
d	"	4-biphényl	6,19
e	"	4-tBu.phényl	7,16
f	H ₃ C-(CH ₂) ₈	4-chlorophényl	6,31
g	"	4-fluorophényl	5,74
h	"	1-naphtyl	6,72
i	"	4-biphényl	7,27
j	"	4-tBu.phényl	8,27
k	H ₃ C-(CH ₂) ₁₀	4-chlorophényl	7,36
l	"	4-fluorophényl	6,79
m	"	1-naphtyl	7,77
n	"	4-biphényl	8,32
o	"	4-tBu.phényl	9,29
p	H ₂ C=CH-(CH ₂) ₈	4-chlorophényl	6,30
q	"	4-fluorophényl	5,73
r	"	1-naphtyl	6,71
s	"	4-biphényl	7,26
t	"	4-tBu.phényl	8,23
u	H ₃ C-(CH ₂) ₆	4-chlorophénéthyl	6,55
v	H ₃ C-(CH ₂) ₈	"	7,63
w	H ₃ C-(CH ₂) ₁₀	"	8,71
x	H ₂ C=CH-(CH ₂) ₈	"	7,62

4.3.23. Calcul des descripteurs électroniques (136).

En principe n'importe quelle méthode semi-empirique peut être utilisée. Mais lorsqu'une méthode est choisie celle-ci doit être utilisée pour toutes les molécules appartenant à une série donnée. Nos calculs ont été effectués avec le programme GEOMOS QCPE 584 (du laboratoire de Chimie Théorique de l'université de Nancy I) utilisant la méthode semi-empirique PM3*. Dans une première étape le programme recherche la géométrie correspondant au minimum énergétique, la fonction d'onde correspondant à ce minimum est alors utilisée pour le calcul des descripteurs ci-après.

* STEWART J.J.P., J.Comp.Chem,1989, 10, 109

♦ Liste et définition des différents descripteurs électroniques calculés :

CHAR = Somme des valeurs absolues des charges nettes sur l'ensemble des atomes de la molécule. Ce descripteur rend compte de la déformation permanente du nuage électronique. Plus la valeur de CHAR est grande moins chaque élément constitutif de la molécule est neutre.
(CH-R, CH-X, CH-Y, CH-Z sont les CHAR respectivement pour les groupements R, X, Y, Z)

DIPO = Moment dipolaire de la molécule (Debye)

$$\mu = \sqrt{X^2 + Y^2 + Z^2}$$

où X, Y, Z sont les valeurs propres du moment dipolaire en projection sur les axes x, y, z du système de référence.

Q = Somme des charges (valeur algébrique) des atomes constituant le fragment dont on calcule Q
(Q-R, Q-X, Q-Y, Q-Z, sont respectivement les charges portées par les fragments R, X, Y, Z.)

HOMO = Valeur absolue de l'énergie de la plus haute orbitale moléculaire occupée.

LUMO = Valeur absolue de l'énergie de la plus basse orbitale moléculaire vacante.

HMLM = Valeur absolue de la différence d'énergie, entre la plus haute orbitale moléculaire occupée et la plus basse orbitale moléculaire vacante.

POLM = Polarisabilité de la molécule.
(PL-R, PL-X, PL-Y, PL-Z sont les POLM respectivement pour les groupements R, X, Y, Z)

$$\alpha = 1/3(\alpha_{xx} + \alpha_{yy} + \alpha_{zz}).$$

ANIS = Anisotropie de la polarisabilité.

$$B = \sqrt{1/2[(\alpha_{xx} - \alpha_{yy})^2 + (\alpha_{yy} - \alpha_{zz})^2 + (\alpha_{zz} - \alpha_{xx})^2]}$$

α_{xx} , α_{yy} , α_{zz} représentent les 3 composantes principales du tenseur de polarisabilité.

SDEL = Valeur absolue de la somme des superdélocalisabilités électrophiles pour l'ensemble des atomes de la molécule.

$$S_{E,l} = \sum_j \sum_{m=1}^{N_l} (C_{jm}^l)^2 / \epsilon_j$$

La somme sur j est appliquée sur les orbitales occupées, N_l est le nombre d'orbitales de valence du $l^{\text{ème}}$ atome, ε_j est l'énergie de l'orbitale j et C_{jm}^l le coefficient de l'orbitale atomique m de l'atome l dans l'orbitale atomique j . Ce descripteur rend compte du caractère électrophile de la molécule (Plus la valeur absolue de SDEL est grande plus le caractère électrophile de la molécule est marqué). (SD-X, SD-Y, SD-Z sont les SDEL respectivement pour les groupes X, Y, Z)

SDMO = Valeur absolue de la superdélocalisabilité calculée sur la HOMO

$$S_{E,l} = \sum_l \sum_{m=1}^{N_l} (C_{HOMO}^l)^2 / \varepsilon_{HOMO}$$

(SDHR, SDHZ, sont les SDMO respectivement pour les groupements R, Z)

SAPO = Valeur absolue de la somme des autopolarisabilités atomiques pour l'ensemble des atomes de la molécule :

$$4 \sum_i \sum_a \sum_{P=1}^{N_l} \sum_{r=1}^{N_l} \frac{C_{pi}^l C_{pa}^l C_{ri}^l C_{ra}^l}{\varepsilon_i - \varepsilon_a} \quad (1)$$

où les sommes sur i et a sont respectivement appliquées pour les orbitales moléculaires occupées et non occupées. SAPO décrit l'autopolarisabilité atomique produite sur l'atome par lui même et permet donc de préciser la présence de pôles à forte polarisabilité. (SP-X, SP-Y, SP-Z sont les SAPO, calculées seulement respectivement pour les groupements X, Y, Z)

SPHL = SAPO calculée sur HOMO et LUMO uniquement. La formule (1) devient donc :

$$\sum_l (4 \sum_{P=1}^{N_l} \sum_{r=1}^{N_l} \frac{C_{pHOMO}^l C_{pLUMO}^l C_{rHOMO}^l C_{rLUMO}^l}{\varepsilon_{HOMO} - \varepsilon_{LUMO}})$$

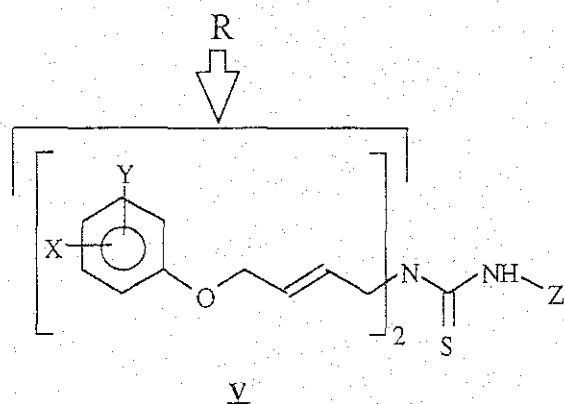
(SHLR, SHLX, SHLY, SHLZ sont les HMLM respectivement pour les groupements R, X, Y, Z)

VDW = Volume de Van der Waals de la molécule.

FORM = Facteur de forme définie comme bc / a^2 où a, b et c sont les moments principaux d'inertie obtenus par remplacement des masses atomiques par leur numéro atomique.

X, Y, Z = désignent les différents substituants des molécules MLO1, ..., ML13 (cf. schéma 32)

R désigne la partie aroxybut-2-èn des molécules MLO1, ..., ML13 (cf. schéma 32)



N°	Code	X (1)	Y (1)	Z
m	ML01	4-Cl	H	-H ₂ C-CH=CH ₂
n	ML02	"	2-Cl	"
o	ML03	4-Br	H	"
p	ML04	"	2-Br	"
q	ML05	4-F	H	"
r	ML06	4-Cl	3-Me	"
a	ML07	"	H	4-chlorophényl
b	ML08	"	2-Cl	"
f	ML09	"	3-Me	"
g	ML10	"	H	1-naphtyl
h	ML11	"	2-Cl	"
l	ML12	"	3-Me	"
k	ML13	4-F	H	"

(1) exemple : ML02, X désigne en fait deux atomes de Cl donc pour le calcul de CHAR on a : $\underline{\text{CH-X}} = 2$
 $\underline{\text{CH-Cl}}$ de même pour Y (désigne deux atomes de Cl) $\text{CH-Y} = 2 \text{ CH-Cl}$.

Schéma 32. Signification des fragments R, X, Y, Z dont les descripteurs électroniques ont été calculés.

◆ Resultats obtenus:

	LGPA	LOGP	LGP2	R_F	R_M	R_M2	HOMO	LUMO	DIPO	SAPO
ML01	1.126	6.39	40.83	0.47	0.032	0.0027	-.3109	-.01715	.0058	-190.66
ML02	1.541	7.81	60.99	0.41	0.158	0.0249	-.3137	-.02264	.8091	-191.96
ML03	1.419	8.41	70.73	0.46	0.069	0.0048	-.3118	-.01864	.9435	-191.05
ML04	1.574	8.87	78.68	0.38	0.213	0.0492	-.3144	-.02304	.6932	-192.65
ML05	0.526	5.25	27.56	0.53	-0.052	0.0027	-.3122	-.01925	.0119	-188.55
ML06	1.574	7.71	59.44	0.56	-0.105	0.0109	-.3105	-.01715	.0506	-206.56
ML07	1.566	8.62	74.30	0.39	0.194	0.0377	-.3052	-.03575	.2416	-208.96
ML08	1.308	10.04	100.80	0.28	0.410	0.1682	-.3056	-.03645	.5090	-210.36
ML09	1.748	9.94	98.80	0.41	0.158	0.0250	-.3045	-.03505	.4837	-224.87
ML10	1.518	9.03	81.54	0.41	0.158	0.0250	-.3019	-.03534	.7978	-233.97
ML11	1.308	10.45	109.20	0.21	0.575	0.3311	-.3032	-.03634	.9513	-235.37
ML12	1.785	10.35	107.12	0.57	-0.122	0.0150	-.3015	-.03494	.9364	-249.87
ML13	1.362	7.89	62.25	0.42	0.140	0.0196	-.3034	-.03664	.7609	-231.97

	LGPA	CHAR	SDEL	FORM	VVDW	POL	ANIS	SP_X	SP_Y	SP_Z
ML01	1.126	6.0777	-275.7	.23256	190.33	68.599	31.956	-3.53	-2.57	-23.35
ML02	1.541	6.1622	-296.0	.24724	238.96	71.588	34.345	-3.55	-3.58	-23.36
ML03	1.419	5.9140	-276.9	.22536	232.72	78.418	33.230	-3.77	-2.56	-23.36
ML04	1.574	5.8939	-298.7	.24230	252.31	91.354	36.928	-3.77	-3.76	-23.35
ML05	0.526	5.9410	-269.4	.23894	209.65	63.414	29.029	-2.41	-2.56	-23.34
ML06	1.574	6.3030	-296.5	.24311	229.68	74.419	32.457	-3.55	-18.53	-23.34
ML07	1.566	6.8440	-305.2	.18677	286.36	76.678	44.246	-3.53	-2.57	-41.43
ML08	1.308	6.8830	-325.9	.21621	321.86	79.720	46.086	-3.55	-3.58	-41.45
ML09	1.748	7.0649	-326.1	.20180	242.23	82.460	44.750	-3.55	-18.52	-41.44
ML10	1.518	7.2692	-325.6	.19318	304.03	84.349	50.058	-3.53	-2.57	-66.44
ML11	1.308	7.3284	-346.2	.21658	343.52	87.319	52.195	-3.55	-3.58	-66.46
ML12	1.785	7.4997	-346.5	.20465	329.12	90.109	50.605	-3.55	-18.52	-66.45
ML13	1.362	7.1276	-319.2	.19909	289.40	79.038	46.773	-2.41	-2.56	-66.46

	LGPA	SP_R	SHLZ	SHLR	CH_X	CH_Y	CH_Z	CH_R	Q_X	Q_Y
ML01	1.126	-161.1	-.0005	-.0404	0.1311	0.2356	0.7569	4.9541	0.1311	0.2356
ML02	1.541	-161.4	-.0004	-.0398	0.1478	0.2063	0.7790	5.0291	0.1478	0.2063
ML03	1.419	-161.3	-.0005	-.0404	0.0085	0.2370	0.7595	4.9091	0.0085	0.2370
ML04	1.574	-161.7	-.0002	-.0357	0.0271	0.1027	0.7977	4.9665	0.0271	0.1027
ML05	0.526	-160.2	-.0005	-.0405	0.1847	0.2381	0.7618	4.7563	0.1847	0.2381
ML06	1.574	-161.0	-.0005	-.0395	0.1317	0.4841	0.7589	4.9283	0.1317	0.1722
ML07	1.566	-161.4	-.0103	-.0626	0.1352	0.2430	1.3425	5.1234	0.1352	0.2430
ML08	1.308	-161.7	-.0109	-.0651	0.1494	0.2097	1.3431	5.1808	0.1494	0.2097
ML09	1.748	-161.3	-.0103	-.0619	0.1372	0.4861	1.3421	5.0995	0.1372	0.1743
ML10	1.518	-161.4	-.0586	-.0593	0.1339	0.2439	1.7593	5.1321	0.1339	0.2439
ML11	1.308	-161.7	-.0591	-.0606	0.1523	0.2122	1.7611	5.2029	0.1523	0.2122
ML12	1.785	-161.3	-.0588	-.0578	0.1362	0.4854	1.7616	5.1164	0.1362	0.1732
ML13	1.362	-160.5	-.0616	-.0602	0.1822	0.2368	1.7608	4.9478	0.1822	0.2369

	LGPA	Q_Z	Q_R	Q_R2	SD_X	SD_Y	SD_Z	SD_R	SDHZ	SDHR
ML01	1.126	0.0940	-0.461	0.2125	-25.56	-2.811	-28.46	-218.8	-0.130	-6.433
ML02	1.541	0.0835	-0.438	0.1918	-25.29	-25.49	-28.47	-216.8	-0.121	-6.255
ML03	1.419	0.0927	-0.338	0.1142	-27.71	-2.827	-28.44	-218.0	-0.129	-6.286
ML04	1.574	0.0809	-0.211	0.0445	-27.38	-27.45	-28.47	-215.4	-0.123	-6.239
ML05	0.526	0.0923	-0.515	0.2652	-21.61	-2.806	-28.42	-216.5	-0.128	-6.277
ML06	1.574	0.0921	-0.396	0.1568	-25.63	-23.14	-28.49	-219.2	-0.129	-6.312
ML07	1.566	-0.0638	-0.314	0.0986	-25.46	-2.800	-60.59	-216.4	-1.209	-5.345
ML08	1.308	-0.0631	-0.296	0.0876	-25.21	-25.40	-60.57	-214.7	-1.219	-5.325
ML09	1.748	-0.0642	-0.247	0.0610	-25.53	-23.08	-60.65	-216.9	-1.211	-5.357
ML10	1.518	-0.0572	-0.321	0.1030	-25.52	-2.832	-80.00	-217.2	-1.402	-5.224
ML11	1.308	-0.0577	-0.307	0.0942	-25.25	-25.45	-79.93	-215.5	-1.378	-5.218
ML12	1.785	-0.0590	-0.250	0.0625	-25.58	-23.11	-80.07	-217.7	-1.397	-5.238
ML13	1.362	-0.0577	-0.361	0.1303	-21.57	-2.793	-79.85	-215.0	-1.391	-5.200

	LGPA	PL_X	PL_Y	PL_Z	PL_R
ML01	1.126	14.898	2.759	8.208	28.996
ML02	1.541	14.771	11.477	8.192	25.598
ML03	1.419	19.002	2.737	8.218	27.511
ML04	1.574	18.949	14.168	8.206	23.788
ML05	0.526	4.059	2.809	8.165	34.891
ML06	1.574	14.470	9.599	8.347	26.374
ML07	1.566	16.838	2.439	17.714	27.347
ML08	1.308	16.737	10.545	17.826	24.417
ML09	1.748	15.604	9.969	18.028	24.692
ML10	1.518	17.543	2.309	21.636	27.298
ML11	1.308	17.369	10.118	21.802	24.629
ML12	1.785	16.267	10.070	21.991	24.418
ML13	1.362	4.914	2.354	21.623	34.958

4.2.3. Elaboration des équations de corrélation.

♦ Méthodologie.

Les calculs effectués avec le programme REGRE - A.D.D.A.D. nous ont permis d'établir les équations de corrélation en nous limitant à des fonctions mono, bi ou triparamétriques du premier ou du second degré.

Pour chacune de ces équations nous avons utilisé les paramètres statistiques traditionnels à savoir :

Erreur standard : valeur mentionnée entre parenthèses dans l'équation . Dans le cas d'une corrélation monoparamétrique elle rend compte de l'erreur sur la "pente" (coefficient de direction) de la droite de régression.

- r : coefficient de corrélation. Cette valeur permet d'apprécier la linéarité de la relation entre les différents paramètres corrélés autrement dit leur degré de dépendance.

- s : écart type.

- n : nombre de mesures soumises à la corrélation, n = 13 dans notre étude.

- Coefficient de corrélation partielle (valeurs indiquées entre crochets). Ils mesurent le degré de dépendance entre deux paramètres intervenant dans une équation multiparamétrique. Une valeur de ce coefficient supérieure à 0,7 indique une forte dépendance entre les deux paramètres imposant le rejet de la corrélation envisagée.

De plus, la significativité de la régression est obtenue par une analyse de variance de la régression $F_{\text{régression}}^{\text{résiduel}}$.

Le degré de confiance (α) à 5%, que l'on peut accorder au paramètre F_{α} (137), conduisant à une corrélation significative est donné par F_{α} selon la loi de Snedecor (1) :

- Si $F < F_{\alpha}$ La corrélation n'est pas significative.
- Si $F > F_{\alpha}$ La corrélation est significative.

(1) La détermination de F_{α} est effectuée à l'aide d'une table de valeur numérique donnant la distribution de F (Snedecor). Pour entrer dans cette table il faut préalablement déterminer les degrés de liberté :

- de la variance expliquée par la régression (numérateur) noté γ ,
- de la variance résiduelle (dénominateur) noté γ' .
- a) Pour une équation monoparamétrique $\gamma = 1$ et $\gamma' = n$ (n étant le nombre de couples de valeurs utilisées pour l'établissement de la corrélation)
- b) Pour une équation multiparamétrique $\gamma = p-1$ (p étant le nombre de paramètres utilisés pour l'établissement de la corrélation) et $\gamma' = n-p-1$.

F_{α} est donc déterminé en recherchant dans la table la valeur de $F_{\gamma, \gamma'}^{\alpha}$.

◆ Résultats

Nous donnons les différentes équations de corrélation obtenues entre le logPA (logarithme décimal du pouvoir antiadhérent) et les différents paramètres calculés :

- paramètres hydrophobes (log P, le Rf, le Rm)
- paramètres électroniques (descripteurs électroniques).

a) Corrélation du logPA avec un seul paramètre.

$$\rightarrow \log PA = a \log P + b \quad (I)$$

$$\log PA = 0,148 (+/-0,044) \log P + 0,148$$

$$n = 13 \quad r = 0,710 \quad s = 0,237$$

$$F_{11}^1 = 2,02 \quad (F_{\alpha} = 4,84)$$

$$\rightarrow \log PA = a Q-R + b \quad (II)$$

$$\log PA = 2,637 (+/- 0,742) Q-R + 2,315$$

$$n = 13 \quad r = 0,731 \quad s = 0,230$$

$$F_{11}^1 = 2,15 \quad (F_{\alpha} = 4,84)$$

$$\rightarrow \log PA = \alpha Q-R^2 + b \quad \{Q-R^2 = (Q-R)^2\} \quad (III)$$

$$\log PA = -3,788 (+/- 0,960) Q-R^2 + 1,88471$$

$$n = 13 \quad r = 0,860 \quad s = 0,217$$

$$F_{11}^1 = 2,42 \quad (F_{\alpha} = 4,84)$$

Pour les trois équations (I, II, III) la valeur du coefficient de Fischer (F_{11}^1) calculé est inférieure à F_{α} . Ces trois relations Q.S.A.R.monoparamétriques ne peuvent donc pas être retenues et nous ont amené à envisager la formulation d'équations biparamétriques.

b) Corrélation du logPA avec deux paramètres.

$$\rightarrow \log PA = a Q-R^2 + b SD-R + c \quad (IV)$$

$$\log PA = -4,452 (+/- 0,919) Q-R^2 - 0,095 (+/- 0,039) SD-R - 18,571$$

$$n = 13 \quad r = 0,86 \quad s = 0,180 \quad [Q-R^2, SD-R : 0,325]$$

$$F_{10}^1 = 3,83 \quad (F_{\alpha} = 4,96)$$

$$\rightarrow \log PA = a \log P + b \log P^2 + c \quad (V)$$

$$\log PA = 1,191 (+/- 0,289) \log P - 0,065 (+/- 0,018) \log P^2 - 3,904$$

$$n = 13 \quad r = 0,887 \quad s = 0,163 \quad [\log P, \log P^2 : 0,994]$$

$$F_{10}^1 = 4,67 \quad (F_{\alpha} = 4,96)$$

$$\rightarrow \log PA = a \log P + b R_m + c \quad (VI)$$

$$\log PA = 0,237 (+/- 0,044) \log P - 1,391 (+/- 0,449) R_m - 0,353$$

$$n = 13 \quad r = 0,864 \quad s = 0,178 \quad [\log P, R_m : 0,653]$$

$$F_{10}^1 = 3,95 \quad (F_{\alpha} = 4,96)$$

$$\rightarrow \log PA = a \log P + b R_m^2 + c \quad (VII)$$

$$\log PA = 0,219 (+/- 0,037) \log P - 2,153 (+/- 0,608) R_m^2 - 0,335$$

$$n = 13 \quad r = 0,883 \quad s = 0,166 \quad [\log P, R_m^2 : 0,541]$$

$$F_{10}^1 = 4,55 \quad (F_{\alpha} = 4,96)$$

A nouveau pour ces quatre équations (IV, V, VI, VII) la valeur du coefficient de Fischer (F_{10}^1), calculé est inférieure à F_{α} . Ces trois relations Q.S.A.R.biparamétriques ne peuvent donc pas être retenues et nous ont amené à envisager la formulation d'équations triparamétriques.

c) Corrélation du logPA avec trois paramètres :

$$\rightarrow \log PA = a \log P + b \log P^2 + c R_f + d \quad (\text{VIII})$$

$$\log PA = 1,211 (+/- 0,191) \log P - 0,063 (+/- 0,012) \log P^2 + 1,323 (+/- 0,355) R_f - 4,746$$

$$n = 13 \quad r = 0,957 \quad s = 0,108 \quad [\log P, \log P^2 : 0,994]$$

$$[\log P, R_f : 0,507] \quad [\log P^2, R_f : 0,507]$$

$$F_9^2 = 11,89 \quad (F_\alpha = 4,26)$$

$$\rightarrow \log PA = a \log P + b \log P^2 + c SP-Y + d \quad (\text{IX})$$

$$\log PA = 1,261 (+/- 0,171) \log P - 0,071 (+/- 0,011) \log P^2 - 0,019 (+/- 0,004) SP-Y - 4,168$$

$$n = 13 \quad r = 0,966 \quad s = 0,096 \quad [\log P, \log P^2 : 0,994]$$

$$[\log P, SP-Y : 0,333] \quad [\log P^2, SP-Y : 0,344]$$

$$F_9^2 = 14,91 \quad (F_\alpha = 4,26)$$

$$\rightarrow \log PA = a \log P + b \log P^2 + c CH-Y + d \quad (\text{X})$$

$$\log PA = 1,280 (+/- 0,202) \log P - 0,71 (+/- 0,012) \log P^2 + 0,945 (+/- 0,274) CH-Y - 4,434$$

$$n = 13 \quad r = 0,953 \quad s = 0,113 \quad [\log P, \log P^2 : 0,994]$$

$$[\log P, CH-Y : 0,217] \quad [\log P^2, CH-Y : 0,232]$$

$$F_9^2 = 10,84 \quad (F_\alpha = 4,26)$$

Pour les trois équations VIII, IX, et X la valeur du coefficient de Fischer calculé est supérieure à F_α autorisant à retenir ces corrélations. Néanmoins chacune de ces relations fait intervenir trois paramètres dont deux ($\log P$, $\log P^2$) sont nécessairement étroitement dépendants obligeant au rejet de celles-ci.

$$\rightarrow \log PA = a SDEL + b SDHZ + c FORM + d \quad (\text{XI})$$

$$\log PA = - 0,0334 (+/- 0,0053) SDEL + 2,0649 (+/- 0,3747) SDHZ - 35,183 (+/- 6,8241) FORM + 0,4156$$

$$n = 13 \quad r = 0,916 \quad s = 0,150 \quad [SDEL, FORM : 0,600]$$

$$[SDEL, SDHZ : 0,873] \quad [FORM, SDHZ : 0,884]$$

$$F = 6,20 \quad (F_\alpha = 4,26)$$

$$\rightarrow \log PA = a SD-Y + b Q-Z + c FORM + d \quad (\text{XII})$$

$$\log PA = - 0,04489 (+/- 0,00713) SD-Y + 9,6901 (+/- 2,1181) Q-Z - 45,606 (+/- 8,388) FORM + 10,6624$$

$$n = 13 \quad r = 0,917 \quad s = 0,148 \quad [FORM, Q-Z : 0,884]$$

$$\begin{array}{ll} [\text{FORM}, \text{SD-Y} : 0,330] & [\text{Q-Z}, \text{SD-Y} : 0,075] \\ F = 6,31 & (F_{\alpha} = 4,26) \end{array}$$

La même raison invoquée pour le rejet des équations VIII, IX, X c'est à dire une trop forte dépendance entre deux des paramètres de la corrélation (FORM et Q-Z) conduit à l'élimination des relations XI, et XII.

$$\rightarrow \log \text{PA} = a \text{ SP-X} + b \text{ SDEL} + c \text{ R}_m^2 + d \quad (\text{XIII})$$

$$\log \text{PA} = -0,4395 (+/- 0,0994) \text{ SP-X} - 0,00954 (+/- 0,00205) \text{ SDEL} - 2,012 (+/- 0,563) \text{ R}_m^2 - 2,916$$

$$\begin{array}{llll} n = 13 & r = 0,913 & s = 0,152 & [\text{R}_m^2, \text{SDEL} : 0,549] \\ & [\text{R}_m^2, \text{SP-X} : 0,178] & [\text{SDEL}, \text{SP-X} : 0,168] & \\ & F_9^2 = 6,03 & (F_{\alpha} = 4,26) & \end{array}$$

$$\rightarrow \log \text{PA} = a \text{ SD-X} + b \text{ SDEL} + c \text{ R}_m^2 + d \quad (\text{XIV})$$

$$\log \text{PA} = -0,1095 (+/- 0,0245) \text{ SD-X} - 0,01047 (+/- 0,00203) \text{ SDEL} - 1,892 (+/- 0,557) \text{ R}_m^2 - 4,467$$

$$\begin{array}{llll} n = 13 & r = 0,915 & s = 0,151 & [\text{R}_m^2, \text{SDEL} : 0,549] \\ & [\text{R}_m^2, \text{SD-X} : 0,057] & [\text{SDEL}, \text{SD-X} : 0,018] & \\ & F_9^2 = 6,12 & (F_{\alpha} = 4,26) & \end{array}$$

Pour les relations XIII et XIV la valeur du coefficient de Fischer calculé est supérieure à F_{α} . Comme part ailleurs aucun coefficient de corrélation partielle n'est supérieur à 0,7 (indépendance des différents paramètres) nous avons retenu ces deux relations.

De ces deux corrélations XIV est la plus significative car le coefficient de Fischer ($F_9^2 = 6,12$) et le coefficient de corrélation ($r = 0,915$) sont plus grands que pour XIII ($F_9^2 = 6,03$, $r = 0,913$).

4.2.4. Analyse discriminante.

◆ Principe.

Pour les série III et IV on constate que l'activité antifongique se limite à un très petit nombre de valeurs possibles : la CMI est de 8 ou 16 mg/l à l'égard de *C. albicans* pour les composés de la série III et de 3 ou 128 mg/l à l'égard de *T. cutaneum* pour ceux de la série VII (cf. tableau XXIII et XXVIII resp.). Par conséquent à l'intérieur de chacune de

ces deux séries il est possible de classer chaque composé dans l'un ou l'autre des groupes suivants:

- un premier groupe, "bon groupe", rassemblant les composés dont l'activité antifongiques, à l'égard du germe considéré est intéressante (molécules dont la CMI = 2 mg/l; série III et CMI = 3 mg/l ; série VII).
- un deuxième groupe, "mauvais groupe" rassemblant les composés dont l'activité antifongique est plus faible voir même inexistante (molécules dont la CMI = 16 mg/l, série III ou CMI > 128 mg/l). Face à une telle situation il n'est pas possible d'effectuer une analyse de régression mono ou multivariable, par contre une analyse discriminante peut se révéler bien adaptée. Ce type d'analyse a pour but de savoir si la valeur d'un paramètre soigneusement sélectionné⁽¹⁾ (ou variable) calculé pour chaque molécule de la série permet de déterminer l'appartenance de ces molécules au "bon" ou au "mauvais groupe".

(1) Dans notre analyse il s'agissait du R_m calculé, selon Boyce et Milborrow, à partir du R_f déterminé expérimentalement et du log P, calculé selon Hancsh-Léo (cf. respectivement p. 114 et 117)

Méthode.

♦ L'analyse discriminante est effectuée à l'aide d'une méthode procédant pas à pas : à chaque étape la variable donnant la plus forte contribution à la séparation en groupes est additionnée à la fonction discriminante (une variable, déjà additionnée et donnant la plus faible contribution, peut être rejetée si la prise en compte ultérieure d'une autre variable diminue cette contribution). De même les variables ne contribuant que faiblement à la séparation en groupes ne sont pas prises en compte dans la fonction discriminante.

Après détermination de la fonction discriminante une vérification montre que seulement 40% et 60% des molécules (resp. pour la série VII et la série III) sont reclassées dans le groupe auquel elles appartiennent effectivement (c'est à dire soit le groupe rassemblant les composés à forte activité antifongique soit l'autre). Par conséquent la fonction discriminante établie ne peut être retenue.

DISCUSSION

5.1. Activité antiadhérente.

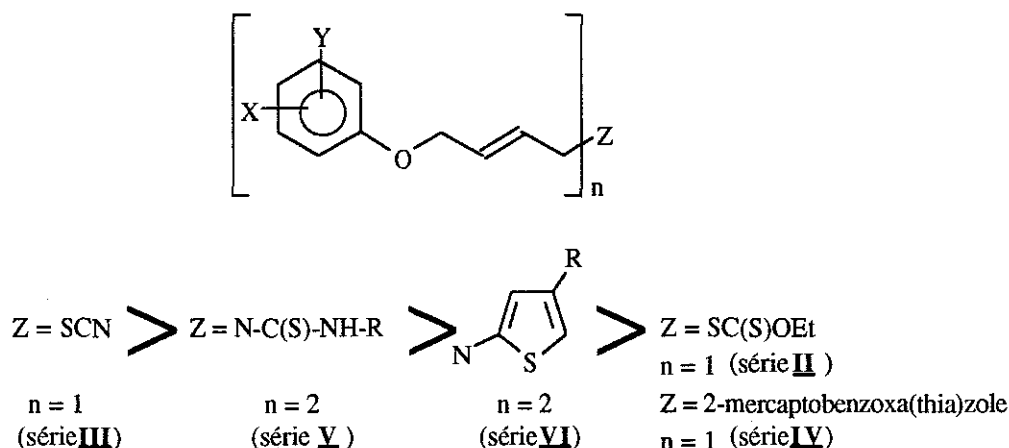
La détermination expérimentale du pouvoir antiadhérent (PA) étant assez longue (cf. principe de la méthode p. 94 et mode opératoire p. 246), nous n'avons pas eu la possibilité de mesurer le pouvoir antiadhérent de tous les composés synthétisés. Pour cette raison nous avons programmé et réalisé cette étude en deux étapes.

- Une première étape au cours de laquelle un "screening" préliminaire (mesure de l'activité antiadhérente d'un petit nombre de composés choisis dans chacune des séries **I** à **VIII**) nous a permis de situer et de classer chacune de ces séries les unes par rapport aux autres comparativement à 4 produits de référence). Cette première approche nous a permis de constater plus particulièrement l'émergence des séries **III** et **V**.
- Au cours d'une deuxième étape nous avons entrepris une détermination systématique du pouvoir antiadhérent de la totalité des molécules des séries **III** et **V** afin de préciser les éléments structuraux qui, à l'intérieur de chacune d'entre elles, contribuent à accroître cette propriété biologique.

5.1.1. Screening préliminaire⁽¹⁾.

(1). Toutes les activités antiadhérentes déterminées sont rassemblées p. 95-98 tableaux XIII-XVIII.

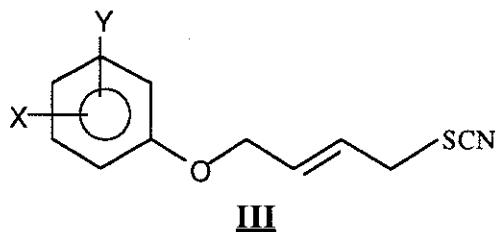
La mesure du pouvoir antiadhérent de quelques composés à l'intérieur de chaque série nous permet de proposer la classification suivante.



Il ressort de cette proposition de classification (bien entendu la détermination du pouvoir antiadhérent de toutes les molécules serait nécessaire pour confirmer tout à fait celle-ci) que les composés porteurs d'une fonction thiocyanate (série **III**) ou thiourée (série **V**) revèlent l'activité antiadhérente la plus intéressante, en moyenne respectivement 35 et 25 fois plus actifs que le miconazole (antifongique commercial).

5.1.2. Thiocyanates de 4-aroxybut-2-èn-1-yle **III** ⁽¹⁾

(1). Pour faciliter la lecture de cette discussion de nos travaux nous mentionnons à nouveau les résultats obtenus pour cette série ainsi que ceux des composés utilisés comme référence.



N°	X	Y	PA
IIIa	4 Cl	H	70,5
IIIb	4 Cl	2 Cl	55,5
IIIc	4 F	H	64,5
IIId	3 Me	4 Cl	144
IIIe	-2-3-C ₆ H ₄		N.D
Composés de référence			PA
dithioérythritol			0,08
1,6-dimercaptohexane			260
cystéine			1,7
miconazole			1,95

Les composés de cette série sont dotés d'un pouvoir antiadhérent relativement élevé. Ainsi celui du composé **IIId** (PA = 144) est respectivement supérieur de 84 fois et 74 fois à celui de la cystéine (PA = 1,7) et du miconazole (PA = 1,95). Malgré tout, celui-ci reste inférieur (1,8 fois) à celui du dimercaptohexane (PA = 260) qui est le composé le plus actif que nous connaissions (**78**). L'activité antiadhérente des composés **III** semble fortement liée à la présence de la fonction thiocyanate puisque le remplacement de celle-ci par un groupement dithiocarbonate (série **II**) ou 2-mercaptobenzoxa(thia)zole (série **IV**) conduit à des composés dont l'activité antiadhérente est beaucoup plus faible.

Par ailleurs lorsqu'on examine la variation du pouvoir antiadhérent en fonction de la nature des substituants X, Y portés par le noyau aromatique les observations suivantes peuvent être relevées :

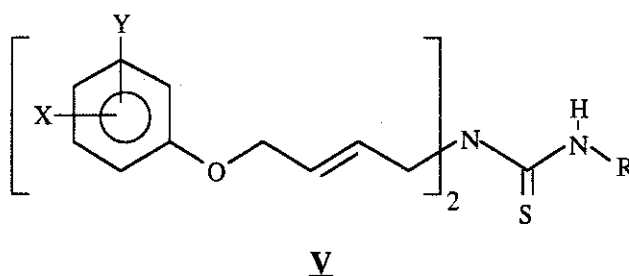
- Premièrement une augmentation significative du PA pour le composé **IIId** porteur d'un substituant méthyle en position méta sur le cycle benzénique. Cette exaltation du PA est retrouvée dans la série **V**. Dans cette dernière on notera le doublement du groupement phénoxybutényle soulignant l'importance de l'environnement hydrophobe.

- Deuxièmement la présence de deux atomes de chlore (en position ortho et para) dans le composé **IIIb** diminue l'activité antiadhérente d'un facteur 1,2 par rapport au composé **IIIa** porteur d'un seul atome de chlore en position para.

De ces deux observations il apparaît qu'en série **III** l'accumulation de groupements électron-attracteurs sur le noyau aromatique (plusieurs halogènes) est défavorable à la manifestation d'un pouvoir antiadhérent. Par contre la présence de groupements électron-donneurs (méthyle par exemple) serait plutôt favorable.

5.1.3. N-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]-N'-[4-chlorophényl, 1-naphtyl, 1-allyl) thiourée **V** (1)

(1). Pour faciliter la lecture de cette discussion de nos travaux nous mentionnons à nouveau les résultats obtenus pour cette série ainsi que ceux des composés utilisés comme référence.



		R=4-Chlorophényl		R = 1-naphtyl		R = allyl	
X	Y	N°	PA	N°	PA	N°	PA
4-Cl	H	a	53,92	g	49,4	m	20,04
4-Cl	2-Cl	b	30,50	h	30,52	n	7,04
4-Br	H	c	N.D	i	N.D	o	39,37
4-Br	2-Br	d	N.D	j	N.D	p	56,26
4-F	H	e	N.D	k	N.D	q	5,04
4-Cl	4-Me	f	84	l	91,5	r	56,25
Composés de référence			PA	Composés de référence			PA
dithioérytritol			0,08	cystéine			1,7
1,6-dimercaptohexane			260	miconazole			1,95

♦ Ces composés ont également révélé une activité antiadhérente intéressante, ainsi le dérivé **VI** est respectivement 54 et 47 fois plus actif que la cystéine et le miconazole. L'activité antiadhérente de ces composés demeure cependant inférieure d'un facteur 2,8 à celle du 1,6-dimercaptohexane.

♦ L'activité antiadhérente des composés **V** est donc liée à la présence du motif thiourée-1,1,3-trisubstitué. En effet les dérivés **VI** ont une activité antiadhérente plus faible que celle des composés de la série **V** dont ils diffèrent par le remplacement du motif thiourée par un noyau thiazole.

♦ Influence de la nature de R.

Quelque soit la nature des substituants X, Y du noyau benzénique, le PA est toujours plus faible lorsque R est le groupement allyle. Il semble donc que la présence d'un noyau aromatique associé au groupement thiourée soit, dans cette série, favorable à l'expression de l'activité biologique recherchée.

♦ Influence de la nature de X et Y.

De façon générale, les observations faites dans la série **III** (thiocyanate) peuvent également être notées pour les thiourées **V**. Ainsi la présence d'un groupement méthyle en position méta accroît le pouvoir antiadhérent. Toutefois à la lecture des résultats obtenus pour le composé disubstitué par le brome, il convient de nuancer la conclusion apportée lors de l'étude des dérivés thiocyanates de la série **III**. Effectivement, alors que la disubstitution ortho+para du noyau aromatique par le chlore diminue l'activité antiadhérente par rapport au dérivé monochloré, l'effet inverse est observé avec le brome. Dans ces conditions il apparaît que la polysubstitution du noyau aromatique par des groupements électron-attracteurs de petite taille, "dur" d'après le concept de Pearson (*in* **138**) (chlore, fluor), semble défavorable à l'activité recherchée. Au contraire la polysubstitution par des groupements électron-attracteurs de grande taille, "mou" ou "limite" (iode et brome respectivement), ainsi que la présence de groupements électron-donneurs (méthyl, éthyl, etc...) auraient l'effet inverse.

♦ Exploitation de l'équation de corrélation.

Une analyse de régression mono et multivariable effectuée pour cette série de molécules (cf. p.127-131) nous a conduit, compte tenu des exigences introduites par les paramètres statistiques, à retenir une seule équation que nous rappelons :

$$\log PA = a \text{ SD-X} + b \text{ SDEL} + c R_m^2 + d$$

$$\log PA = - 0,1095 (+/- 0,0245) \text{ SD-X} - 0,01047 (+/- 0,00203) \text{ SDEL}$$

$$- 1,892 (+/- 0,557) R_m^2 - 4,467$$

$$n = 13 \quad r = 0,915 \quad s = 0,151 \quad [R_m^2, \text{SDEL} : 0,549]$$

$$[R_m^2, \text{SD-X} : 0,057] \quad [\text{SDEL}, \text{SD-X} : 0,018]$$

$$F_9^2 = 6,12 \quad (F_\alpha = 4,26)$$

SDEL = Valeur absolue de la somme des superdélocalisabilités électrophiles pour l'ensemble des atomes de la molécule.

$$S_{E,l} = \sum_j \sum_{m=1}^{N_l} (C_{jm}^l)^2 / \epsilon_j$$

La somme sur j est appliquée sur les orbitales occupées, N_l est le nombre d'orbitales de valence du $l^{\text{ème}}$ atome, ε_j est l'énergie de l'orbitale j et C_{jm}^l le coefficient de l'orbitale atomique m de l'atome l dans l'orbitale atomique j . Ce descripteur rend compte du caractère électrophile de la molécule (Plus la valeur absolue de SDEL est grande plus le caractère électrophile de la molécule est marqué)

SD-X = SDEL pour le groupes X

R_m^2 = carré de $R_m = \log (1/R_f - 1)$ où R_f désigne le rapport frontal (valeur déterminée expérimentalement)

Dans cette équation la valeur de la contribution relative (poids) de chaque paramètre est donnée par son ordre d'introduction dans celle-ci (SD-X à le plus de "poids" puis vient SDEL et en dernier R_m^2).

De cette équation il ressort que :

-a) Plus la valeur algébrique de SD-X est négative meilleur est le pouvoir antiadhérent :

composé	q (ML05)	m (ML01)	o (ML04)
nature de X	4-F	4-Cl	4-Br
valeur de SDX	-21,61	-25,56	-27,38
valeur du PA	3,36	13,36	26,25

Ces résultats confirment l'hypothèse précédemment avancée : la présence d'un halogène fortement électronégatif (et de rayon covalent faible) est défavorable.

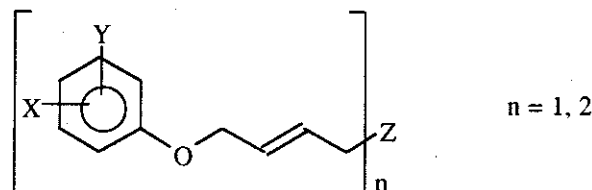
-b) Plus la valeur de SDEL est négative (traduisant une superdélocalisabilité plus marquée) plus le PA est grand. Par suite il apparaît que la présence de(s) pôle(s) fortement aromatique(s) substituant(s) le groupement thiourée des dérivés **V** est de nature à exalter l'activité antiadhérente recherchée. Cette hypothèse de recherche procède du constat précédemment établi à savoir que le remplacement du groupement allyle par un noyau 4-chlorophényle, 1-naphtyle, augmente le PA :

composé	r (ML06)	f (ML09)	l (ML12)
Z	allyl	4-chlorophényle	1-naphtyle
X,Y	4-Cl, 3-Me	4-Cl, 3-Me	4-Cl, 3-Me
SDEL	-296,5	-326,1	-346,5
PA	56,25	84,00	91,50

- c) Plus la valeur de R_m^2 est élevée, plus le PA est élevé. Par conséquent, il convient de modérer la lipophilie globale des molécules, en limitant l'hydrophobicité du substituant Z

(log $P_{\text{naph}} : 3,04$, log $P_{4\text{-ClPh}} = 2,61$, log $P_{\text{allyl}} = 1,42$) par la substitution des cycles naphthyle et 4-Cl phényle par des groupements OH, COOH, SO₃H...

En résumé l'ensemble des études concernant l'activité antiadhérente des composés de formule générale :



nous permet d'énoncer les conclusions suivantes afin d'améliorer le pouvoir antiadhérent des composés testés :

- 1) Z, comme groupement soufré, doit être une fonction thiocyanate (SCN) ou thiourée du type (-N-C(S)NH-R) pour laquelle il est préférable que R soit aromatique.
- 2) X ou X et Y, comme substituants du noyau aroxy, peuvent être :
 - un atome d'halogène du type brome ou iode. La présence de chlore et de fluor est moins favorable; une multihalogénéation par ces deux derniers atomes est à proscrire.
 - un groupement alcoyle (méthyle, éthyle, etc...) Ce type de substituants semble très favorable.
- 3) Il faut cependant veiller à ne pas concevoir des molécules dont la lipophilie serait trop marquée car ce paramètre peut aller à l'encontre de l'activité biologique recherchée.

5.2. Activité antifongique.

Seules deux séries de molécules ont révélé une activité antifongique relativement intéressante ; les thiocyanates de 4-aroxybut-2-èn-1-yle **III** et certains 5-alcoyl-4-aryl-3-mercaptop-1,2,4-triazoles **VII**. Toutes les autres molécules présentent une CMI supérieure à 128 mg/l (128 mg/l nous apparaissant comme la valeur limite extrême de recherche d'une activité fongistatique).

5.2.1. Thiocyanates de 4-aroxybut-2-èn-1-yle **III** (1).

(1). L'activité antifongique de ces composés est donnée p.101 tableau XXIII

Ces composés témoignent d'une activité antifongique intéressante sur toutes les souches. Il semble par ailleurs que l'ordre suivant puisse être avancé : *C. matritensis* (CMI = 1 mg/l) est le plus sensible, puis viennent *T. cutaneum*, *S. cerevisiae*, *K. bulgaricus* et enfin *C. albicans* pour lequel les molécules **III** ont une CMI de 8 ou 16 mg/l.

Une analyse discriminante a été effectuée, mais n'étant pas significative elle ne permet pas d'apporter de précisions concernant les relations structure-activité pour cette série de dérivés thiocyanates.

Comme pour l'activité antiadhérente, on constate que les dithiocarbonates **II** (remplacement de la fonction thiocyanate par un groupement dithiocarbonate de O éthyle) sont inactifs, suggérant que l'activité antifongique des dérivés **III** est due à la présence de la fonction thiocyanate. Les bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)cyanamines **18-23** présentent également une activité antifongique intéressante (CMI = 32 mg/l : cf. p.102 tableau XXV) suggérant que celle-ci, comme d'ailleurs celle des thiocyanates de 4-aroxybut -2-èn-1-yle **III**, est partiellement liée à la présence du groupement cyano (CN). Cependant la présence du soufre (groupement SCN en série **III**; 1mg/l<CMI<16mg/l, cf. p. 101 tableau XXIII) améliore l'activité biologique recherchée par rapport à leurs homologues azotés (groupement NCN en série **18, 23**; CMI = 23mg/l, cf. p. 102 tableau XXV).

5.2.2. 5-alcoyl-4-aryl-3-mercapto-1,2,4-triazoles VII (1).

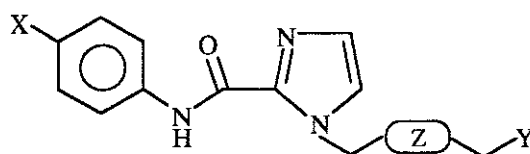
(1). L'activité antifongique de ces composés est donnée P.105 tableau XXVIII

Sur les 24 composés synthétisés, tous ont une CMI supérieure à 128 mg/l sauf cinq d'entre eux (CMI = 3mg/l) qui sont actifs uniquement sur la souche *Trichosporum cutaneum*. Comme précédemment une analyse discriminante s'est révélée non significative, ne permettant pas de préciser les relations structures activité dans cette série.

5.2.3. Dérivés 1-thioalcényl-2-anlidylimidazoles VIII (1).

(1). L'activité antifongique de ces composés est donnée p.106 tableau XXIX.

Parmi les dérivés de la série **VIII**, seuls les composés associant une fonction thiocyanate et un groupement but-2-èn-1-yle (composés **VIIIa,b**) sont actifs :



VIII

N°	X	Y	Z	Batterie de souches fongiques				
				C.a	T.c	S.c	K.b	C.m
a	H	-SCN	(a)	>128	16	>128	16	16
b	F	"	(a)	>128	16	>128	16	25

(a) : but-2-èn-1-

(b) : xyl-1-yl

Les autres composés porteurs d'une fonction thiocyanate associée à un noyau xylyl ne sont pas antifongiques. Il ressort de cette observation que c'est l'association d'une fonction thiocyanate avec une chaîne alcényle qui confère l'activité fongistatique. (cette observation est confirmée par les bonnes activités fongistatique de la série **III** associant également la fonction thiocyanate avec un groupement alcényle). Enfin, notons que contrairement à ces derniers composés les 1-(4-thiocyanatobut-12-èn-1-yl)-2-anilidoimidazoles **VIIIa,b** ne sont pas actifs sur *C. albicans*. Cette inactivité pourrait être due à l'absence chez ces composés du pharmacophore antifongique halogénophénoxy du squelette **III**.

5.2.4. Relation entre activité antiadhérente, inhibition de la germination et activité antifongique.

Il est clairement établi (57) que, pour un composé donné, la concentration nécessaire pour annihiler ou inhiber la prolifération de *C. albicans* est supérieure à celle empêchant la germination, elle-même supérieure à celle s'opposant à l'adhésion. Cette séquence peut être résumée de la façon suivante :

$$\begin{array}{ccccc} \text{Concentration} & & \text{Concentration} & & \text{Concentration} \\ \text{inhibitrice} & & \text{inhibitrice} & & \text{minimale} \\ \text{de l'adhésion} & < & \text{de la germination} & < & \text{inhibitrice (CMI)} \end{array}$$

♦ Relation entre la CMI et l' inhibition de la germination.

Pour apprécier de façon significative l'activité inhibitrice d'un composé vis-à-vis de l'autoaggrégation des tubes germinatifs (modèle de l'activité antiadhérente), il est nécessaire d'obtenir un taux de germination supérieur à 90 %. Un tel niveau de germination est obtenu pour les thiocyanates **III** et pour les thiourées **V** en opérant à une concentration maximale de 0,0067 mM (cf. protocole expérimental p. 248). Or dans le cas des thiourées, cette concentration est nettement inférieure à celle de la CMI (CMI>128mg/l soit 0,21mM). Une situation encore plus marquée est observée pour le composé **VIIIb** (cf. p. 98 tableau XVIII) qui est inhibiteur de la germination à la concentration de 0,0067 mM, alors que sa CMI est supérieure à 128 mg/l soit 0,4mM

Ces résultats :

- confirment le fait que l'inhibition de la germination se produit à une concentration inférieure à la CMI.
- montrent que le composé **VIIIb**, malgré une CMI élevée, est cependant intéressant puisqu'il est inhibiteur de la germination.

♦ Relation entre la CMI et l'inhibition de l'adhésion.

Dans cette étude nous avons identifié trois cas de figure :

- premièrement pour les dérivés **III** l'activité antiadhérente apparaît à une concentration de 0,0067 mM sensiblement identique à la CMI (8 mg/l soit 0,0033 mM < CMI < 16 mg/l soit 0,0067 mM).
- deuxièmement, le miconazole (antifongique commercialisé), dont la CMI est très faible (5 mg/l soit 0,021 mM), présente un pouvoir antiadhérent négligeable (1,3 à la concentration de 0,0067 mM).
- enfin pour les thiourées **V** l'activité antiadhérente (46 fois plus élevée que celle du miconazole) se manifeste à la concentration de 0,0067 mM, concentration largement inférieure à celle de la CMI (128 mg/l soit 0,21 mM).

De ces trois constats nous pensons pouvoir conclure que pour les séries considérées :

1) Il n'y a pas de relation entre le pouvoir antiadhérent et la concentration minimale inhibitrice. Cependant, dans le cas des thiocyanates (série **III**), la présence simultanée d'activité antifongique et antiadhérente *in vitro* particulièrement intéressantes n'exclue pas une relation entre ces deux propriétés biologiques. En effet dans cette série, on peut concevoir que l'activité antiadhérente procède tout ou partie du même mécanisme que l'activité antifongique pour laquelle elle aurait alors un caractère prédictif.

2) Les composés de structure thiourée **V**, qui sont dépourvus d'activité antifongique (CMI > 128 mg/l) bénéficient d'un bon pouvoir antiadhérent. Au vu de ces constatations, nous confirmons :

- l'absence de relation PA / CMI,
- la manifestation d'une activité antiadhérente à une concentration sub-inhibitrice,
- la possibilité de concevoir des antifongiques la seule base d'une activité antiadhérente.

Remarque. Il nous apparaît important de souligner que les activités antifongiques et antiadhérentes ont été déterminées sur deux souches différentes de C. albicans (respectivement CBS-562 et VW 32). Ce fait ne modifie pas de façon significative les résultats obtenus et les conclusions qui en ont été tirées.

III

PARTIE EXPERIMENTALE

1

CHIMIE

- ♦ Les points de fusion sont déterminés soit à l'aide d'un Banc de Köfler et ne sont pas corrigés soit à l'aide de l'appareil Mettler FP1.
- ♦ Les spectres infra-rouges sont réalisés sur un appareil Pye Unicam SP 1000, en film pour les liquides et en dispersion dans le nujol ou en solution dans CCl₄ pour les solides.
- ♦ Les spectres RMN du proton sont effectués sur appareil Hitachi, Perkin-Elmer R24 B (60 MHz) et Bruker AC 200 (200 MHz) en solution dans un solvant deutéré (Aldrich Chimie). Les déplacements chimiques sont exprimés en p.p.m. par rapport au tétraméthylsilane (T.M.S.).
- ♦ Les spectres de masse sont obtenus sur appareil NERMAG R10.10 en ionisation chimique (I.C.) ou en impact électronique (I.E).
- ♦ Les indices de refraction sont déterminés à l'aide d'un réfractomètre OPL. à 25°C.
- ♦ Les rapports frontaux (R_f) sont déterminés sur support gel de silice Merk 60F₂₅₄ sur feuille plastique avec un mélange d'élution approprié (Cf. Partie expérimentale : chimie)
- ♦ Les proportions de solvants d'élution ou de recristallisation sont exprimées en vol./vol.
- ♦ Le cours des réactions chimiques est contrôlé par chromatographie sur couche mince (CCM) (support : gel de silice Merk60F₂₅₄ sur feuille plastique, éluant : mélange approprié de solvants) par révélation en lumière ultra-violette à 254 nm à l'aide d'un appareil Desaga MinUVIS.
- ♦ Les séparations par chromatographie sont de type "Flash" et réalisées sur colonne de gel de silice (Merk gel de silice 60 granulométrie 0,063-0,200).

Note sur la stéréoisomérie Z-E.

- ♦ Les composés des Séries **II**, **III**, **IV**, **V**, **VI**, **VIII** sont obtenus à partir du 1,4-dichlorobut-2-ène - (E), qui a été rectifié et dont la pureté est contrôlée par CPG (> 98%) Par conséquent les composés finaux sont également des stéréoisomères E
- ♦ Le composé **Id** est de stéréoisomérie (E), comme le confirme son spectre RMN-¹H ainsi que celui de tous ses intermédiaires de synthèse.
- ♦ La stéréoisomérie du produit Id n'a pas été confirmée par RMN-¹H mais deux arguments favorisent l'hypothèse d'une stéréoisomérie E :
 - 1) Une gêne stérique, pour l'état de transition conduisant au stéréoisomère cis, supérieure à celle de l'état de transition trans qui dans le cas d'un contrôle cinétique (auquel correspondent les conditions opératoires mises en oeuvre pour cette synthèse : température de la réaction de 20 °C) conduit donc préférentiellement au stéréoisomère E.
 - 2) Le produit de la réaction de Wittig (*ie* **8**, cf. p. 150) est chauffé dans le benzène en présence d'un cristal d'iode de façon à provoquer l'isomérisation vers le stéréoisomère thermodynamiquement le plus stable (celui pour lequel les deux liaisons doubles sont de configuration E) (**90**)

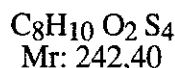
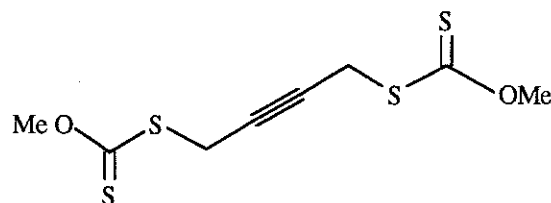
Obtention du 1,4-bis (dithiocarbonato-O-méthyl -S-) but -2-yne. *Ia*

♦ Méthode de synthèse

150 m at.g (3,45g) de sodium sont introduits dans 100 ml de méthanol. Après réaction complète du sodium et retour à température ambiante, on additionne en une seule fois 160 mmol (15,5 ml) de disulfure de carbone. Au bout de 20 min. le mélange est refroidi entre 0 et 5° C. On additionne alors goutte à goutte 50 mmol (6,15 g) de 1,4 -dichlorobut-2-yne. Le mélange réactionnel est abandonné 3 h entre 0 et +5°C puis additionné de 800 ml d'eau. On extrait par 3 fois 75 ml d'éther. Les phases étherées sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous vide. A la liqueur résiduelle obtenue on ajoute un mélange éther - éther de pétrole: 5-1 et ce mélange est abandonné quelques heures au réfrigérateur. Les cristaux jaune paille obtenus sont essorés sur Büchner et lavés à l'éther de pétrole. On obtient 10,06 g du composé attendu. Un échantillon est recristallisé dans un mélange éther-éther de pétrole : 5/1.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1,4-bis (dithiocarbonato-O-méthyl-S-)but -2-yne. *Ia*



Cristaux de couleur jaune

paille F (°C): 50-52

Rdt : 83 %

Après plusieurs semaines le composé se colore en rouge, ce qui témoigne de sa relative instabilité.

IR (Nujol)

ν (cm ⁻¹)	1080	ν C=S
---------------------------	------	-----------

RMN ¹ H (60MHz / CCl₄)

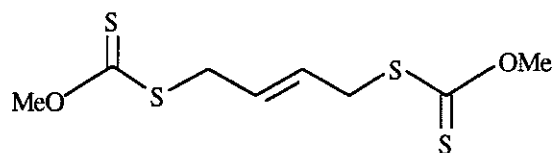
δ (ppm)	3,80	s	4H	-CH ₂ -
	4,10	s	6H	-CH ₃

Obtention du 1,4-bis (dithiocarbonato-O-méthyl-S-)but -2-ène *Ib*.

♦ Méthode de synthèse

150m at-g (3,45 g) de sodium sont additionnés à 100 ml de méthanol. Lorsque le sodium a entièrement réagi et après retour à la température ambiante, on ajoute en une seule fois 160 mmol (12,18 g) de disulfure de carbone. On ajoute alors goutte à goutte 50 mmol (6,25 g) de 1,4 -dichlorobut-2-ène. Le mélange réactionnel est abandonné 4 h. à température ambiante puis additionné de 800 ml d'eau. Les phases étherées (de 3 extractions successives réalisées avec 75 ml d'éther) sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium, décolorées au noir animal puis concentrées sous vide. L'addition d'une petite quantité d'éther de pétrole suivie d'un séjour au froid provoque la cristallisation du composé attendu. Par essorage sur Büchner on obtient 10,52 g de *Ib*.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques
1,4-bis (dithiocarbonato-O-méthyl-S-)but-2-ène. Ib



$C_6H_{12}O_2S_4$
 Mr: 244,92

Cristaux de couleur jaune paille

F (°C): 35-40

Rdt : 86,0 %

I.R (Film)

ν (cm ⁻¹)	1170	ν CO
	1080	ν C=S

RMN-¹H (60 MHz/CCl₄)

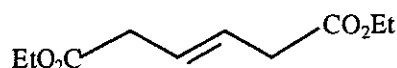
δ (ppm)	3,75	m	4H	-CH ₂ -
	4,10	s	6H	-CH ₃
	5,85	m	2H	=C-H

Obtention du 1,4-diéthoxycarbonylbut-2-ène. I

♦ Méthode de synthèse

69 mmol (10,00 g) d'acide but-2-èn-1,4-dioïque 0,5 ml d'acide sulfurique concentré et 100 ml d'éthanol sont portés au reflux durant 8 h. Le milieu réactionnel est alors concentré sous vide et additionné de 100 ml d'eau. On effectue une extraction par 3 fois 50 ml d'éther. Les phases étherées sont réunies, lavées par 100 ml d'une solution aqueuse à 10 % de carbonate de potassium, séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous vide. Après rectification sous pression réduite de l'huile résiduelle, on obtient 12,46 g de l'ester attendu.

♦ Caractéristiques physicochimiques et spectroscopiques
1,4-diéthoxycarbonyl-but-2-ène I



$C_{10}H_{16}O_4$
 Mr: 200,23

Huile incolore d'odeur agréable.

Eb₃₅: 160-162°C

Rdt : 89,7 %

I.R (Film)

ν (cm ⁻¹)	980	ν CH (E)
	3010	ν CH (E)
	1755	ν C = O

RMH-1H (60MHz / CCl₄)

δ (ppm)	1,25	t	6H	-CH ₃
	3,10	m	4H	-CH ₂ -C(O)-O-
	4,15	q	4H	-C(O)-O-CH ₂ -
	5,7	m	2H	= CH-

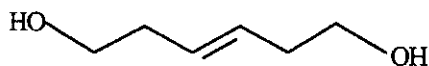
Obtention du *1,6-dihydroxyhex-3-ène*. 2

♦ Méthode de synthèse

121 mmol (4,58 g) de tétrahydroaluminate de lithium sont mises en suspension dans 100 ml de tétrahydrofurane anhydre. On ajoute goutte à goutte 60 mmol (12,10 g) de 1,4 diéthoxycarbonylbut -2-ène en solution dans 10 ml de tétrahydrofurane anhydre. Le mélange est ensuite porté à reflux durant 0,5 h. pour compléter la réaction. Après refroidissement à 5°C par un bain de glace on additionne avec précautions 40 ml d'une solution aqueuse d'acide sulfurique (25 %). Le mélange est ensuite concentré sous vide puis repris par 100 ml de chloroforme. Après agitation à reflux pendant 15 min., filtration sur Büchner, séchage du filtrat sur sulfate de magnésium et enfin évaporation du solvant sous vide. L'huile résiduelle obtenue est distillée sous pression réduite. On récolte ainsi 5,00 g du diol attendu.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques

1,6-dihydroxyhex-3-ène. 2



C₆H₁₂O₂
Mr: 116,16

Huile incolore est inodore.

Eb₁₉: 240°C

Rdt: 71 %

IR (Film)

ν (cm ⁻¹)	980	ν CH(E)
	3020	ν CH(E)
	3360	ν OH

RMN ¹H (60 MHz / CCl₄)

δ (ppm)	2,30	m	4H	-CH ₂ - (a)
	3,60	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,50	m	2H	= CH-

Obtention du *1,6-diacetylthiohex-3-ène*. 1c

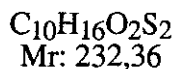
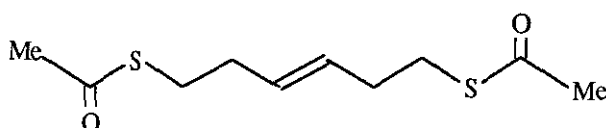
♦ Méthode de synthèse

103 mmol (27,00 g) de triphénylphosphine sont dissoutes dans 250 ml de tétrahydrofurane. Le mélange étant maintenu à 0 °C on ajoute goutte à goutte 103 mmol (21,51 g) d'azodicarboxylate diisopropyle. Dès la fin de l'addition, il se forme un précipité blanc très abondant. Après 0,5 h. et toujours à 0 °C, on additionne goutte à goutte 103 mmol (7,85 g) d'acide thiolacétique et 25,80 mmol (3,00 g) de 1,6-dihydroxyhex-3-ène 1 en solution dans 125 ml de tétrahydrofurane. Le milieu

réactionnel est abandonné 1,5 h. à 0°C puis 4 h. à 20 °C. En fin de réaction la solution translucide de couleur jaune est concentrée sous vide pour chasser le tétrahydrofurane. L'addition de 100 ml d'éther à la liqueur obtenue suivie d'un séjour au froid provoque la précipitation massive de l'oxyde de triphénylphosphine qui est éliminé par essorage sur Büchner. Le filtrat est concentré sous vide puis chromatographié sur colonne de silice (éluant : chloroforme - éther de pétrole : 2-1). Le bis thioester obtenu est rectifié sous pression réduite conduisant à 4,0 g de 2.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1,6-diacétylthiohex-3-ène. 1c



Liquide orange. Eb₂₁ (°C): 182-183 Rdt: 67 %

IR (Film)

ν (cm ⁻¹)	980	ν CH(E)
	1710	ν CO
	3015	ν CH (E)

RMN ¹H (60MHz / CCl₄)

δ (ppm)	2,2	m	8H	-CH ₂ -CH ₂ -
	2,8	s	6H	-CH ₃
	5,35	m	2H	= CH-

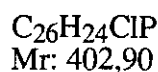
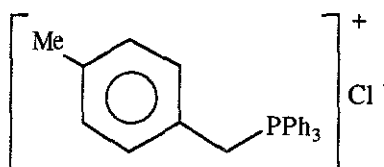
Obtention du chlorhydrate de 4-méthylbenzyltriphénylphosphonium. 3

♦ Méthode de synthèse

100 ml de xylène, 85 mmol (23,35 g) de triphénylphosphine et 71 mmol (10,00g) de chloroéthyl-4-méthylbenzène sont portées à reflux pendant 12 h. Le précipité blanc formé, est essoré sur Büchner, lavé soigneusement à l'éther puis séché à l'étuve durant 12 h. à 100 °C. On obtient ainsi 26,49g du produit attendu.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Chlorhydrate de 4-méthylbenzyltriphénylphosphonium. 3



Poudre blanche inodore.

F(°C) >300°C

Rdt = 92,6 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹)

1445

ν C-P (P-Ph)

RMN ¹H (60MHz / CDCl₃)

δ (ppm)

2,25

s

3H

-CH₃

5,25

d

2H

-CH₂-

6,80

m

4H

protons benz. 1,4-disubstitué

7,80 - 7,90

m

15H

protons PPh₃

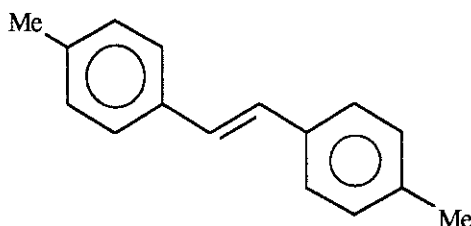
Obtention du 1,2-bis (4-méthylphényl)éthylène. 4

♦ Méthode de synthèse.

La réaction est effectuée sous azote. A un mélange de 49 mmol (5,95 g) de 4-méthylbenzaldéhyde et 50 mmol (20g) de chlorure de 4-méthylbenzyltriphenylphosphonium 3 dans 150 ml de méthanol anhydre on additionne goutte à goutte 150 ml d'une solution méthanolique de méthanolate de sodium 0,4 M. On observe progressivement l'apparition d'un précipité blanc. La réaction est interrompue au bout de 12 h. Le solvant est concentré sous vide aux trois quart et la liqueur obtenue est abandonnée 2 h. au froid. Le précipité formé est essoré, lavé avec 100 ml de méthanol à 40 % dans l'eau puis séché 2 h. à 45 °C à pression réduite. La pureté du composé obtenu (évaluée par CCM / éluant : éther de pétrole - éther: 2-1) est suffisante pour effectuer la suite de la synthèse. Un échantillon est recristallisé dans un mélange acétone-méthanol: 4-1.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1,2-bis(4-méthylphényl)éthylène. 4



C₁₆H₁₆
Mr: 208,30

Cristaux blancs inodores.

F (°C): 172

Rdt: 68%

CCM:

.Support: gel de silice 60 F 254 (Feuille de plastique)

.Eluant: éther de pétrole - éther: 4-1

.R_f: 0,76

IR (Nujol)

ν (cm⁻¹)

975

γ CH (E)

3025

ν CH (E)

RMN ^1H (200MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	2,35	s	6H	$-\text{CH}_3$
	7,17	s	2H	$=\text{CH}-$
	7,17-7,47	m	8H	protons aromatiques

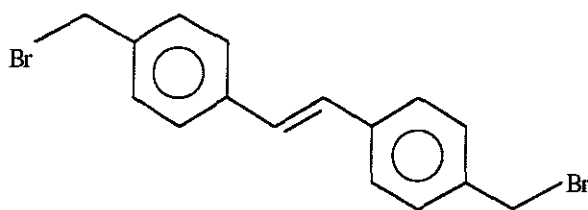
Obtention du 1,2-bis (4-bromométhylphényl)éthylène. 5

♦ Méthode de synthèse.

Par un léger chauffage 28 mmol (5,87 g) de 1,2-bis(4-méthylphényl) éthylène **4** sont solubilisées dans 100ml de tétrachlorure de carbone. On ajoute ensuite 69 mmol (12,35g) de N-bromosuccinimide et 100 mg de peroxyde de benzoyle. Le mélange est porté au reflux durant 36 h. Le milieu réactionnel est ensuite filtré à chaud et on lave le succinimide ainsi retenu par 50 ml de tétrachlorure de carbone bouillant. Le filtrat, couleur jaune paille, est concentré à moitié sous vide. Un bref séjour au froid fournit par précipitation le dérivé dibromé. Une recristallisation dans un mélange acétone - chloroforme: 5-1 fournit 5,84 g du composé attendu.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques

1,2-bis (4-bromométhylphényl)éthylène. 5.



$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{Br}_2$
Mr: 366,09

Cristaux ocre-blanc.

F ($^{\circ}\text{C}$): 175,8

Rdt: 57%

CCM:

.Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique).

.Eluant: heptane - éther: 2-1

.R_f: 0,72.

IR (nujol)

ν (cm⁻¹)

970

γ CH (E)

RMN ^1H (60 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)

4,40

4H

$-\text{CH}_2-$

6,80-7,60

10H

$=\text{CH}-$ et protons aromatiques.

Obtention du bromhydrate de 1,2-bis (thiouroniumméthylphényl) éthylène. 6

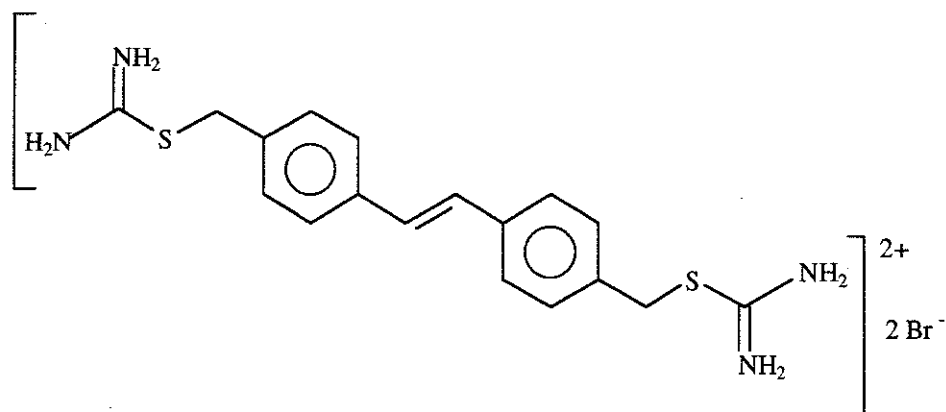
*Méthode de synthèse.

Dans 40 ml de diméthylformamide on met en solution 19,5 mmol (1,49 g) de thiourée puis 6,80 mmol (2,50 g) de 1,2-bis (4-bromométhylphényl) éthylène **5**. On chauffe à

65 °C durant 3,5 h. Après refroidissement le milieu réactionnel (couleur rouge sombre) est additionné de 30 ml d'éthanol puis versé goutte à goutte dans 500 ml d'éther fortement agité. Le sel précipite immédiatement sous forme d'un composé floconneux de couleur jaune vif. Il est alors essoré sur Büchner et soigneusement lavé à l'éther. Après séchage plusieurs jours à température ambiante, on obtient 3,20 g du composé attendu.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques

1,2-bis (thiouroniumméthylphényl)éthylène. 6



$C_{18}H_{22}Br_2N_4S_2$
Mr: 517,94

Poudre jaune vif.

F (°C): >300

Rdt: 91%

I.R (nujol).

ν (cm⁻¹) 3140-3250 ν NH₂

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,35	4H	-CH ₂ -
	6,70-7,50	10H	=CH- et protons aromatiques.

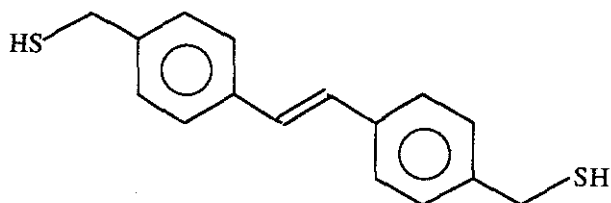
Obtention du *1,2-bis (4-mercaptométhylphényl)éthylène. Id*

♦ Méthode de synthèse.

Dans 60 ml d'eau on dissout successivement 46 mmol (1,85 g) d'hydroxyde de sodium et 5,8 mmol (3,00 g) de sel de thiouronium **6**. Ce mélange réactionnel est porté à reflux durant 12h. Après refroidissement entre 5 et 10 °C on ajoute goutte à goutte une solution d'acide sulfurique dilué (20%) jusqu'à acidification du milieu (pH=2). Le solide blanc obtenu est essoré puis lavé abondamment à l'eau (jusqu'à neutralisation du filtrat). Le composé est séché à l'étuve durant 12 h. (50 °C) puis recristallisé dans l'acétone.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1,2-bis (4-mercaptométhylphényl)éthylène. Id



$C_{16}H_{16}S_2$
Mr: 272,43

Cristaux jaunes sombres.

F (°C): 174

Rdt: 53%

Test à l'acétate de plomb (détection de la fonction SH): positif.

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	2570	ν SH
---------------------------	------	----------

RMN ¹H (60MHZ / CDCl₃)

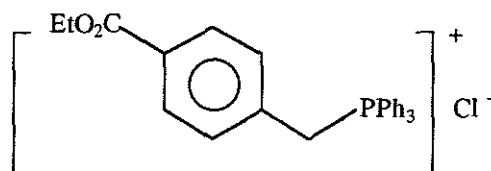
δ (ppm)	3,70	d	4H	-CH ₂ -
	6,90	s	2H	=CH-
	7,00-7,50	m	8H	protons aromatiques.

Obtention du chlorhydrate de 4-éthoxycarbonylbenzyltriphénylphosphonium. 7

♦ Méthode de synthèse.

On chauffe à reflux pendant 24h. un mélange de 80 mmol (21,00 g) de triphénylphosphine, 43 mmol (8,40 g) de 4-chlorométhylbenzoate d'éthyle dans 80 ml de xylène. Le solide formé est essoré à chaud sur Büchner puis lavé successivement par 40 ml de xylène bouillant et 150 ml d'éther. Un séjour de 12 h. à 80 °C donne 15,70 g du produit attendu dont un échantillon est recristallisé dans le chloroforme.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.



chlorhydrate de 4-éthoxycarbonylbenzyltriphénylphosphonium. 7

$C_{28}H_{26}ClO_2P$
Mr: 460,65

Poudre blanche.

F (°C): 242

Rdt: 80,4 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1125	P-Ph
	1730	ν CO

RMN ¹H (60 MHz / CD₃OD)

δ (ppm)	1,25	t	3H	-CH ₂ -
	4,25	q	2H	-CH ₃
	5,60	d	2H	-CH ₂ -P
	7,1	m	4H	protons benz. 1,4-disubstitué
	7,5	m	15H	protons PPh ₃

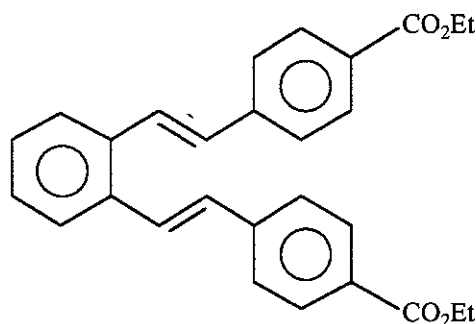
Obtention du 1,2-bis (4-éthoxycarbonylstyryl)benzène. 8

♦ Méthode de synthèse.

La réaction est effectuée sous courant d'azote. A un mélange de 54 mmol (25,00 g) de chlorhydrate de 4-éthoxycarbonylbenzyltriphenylphosphonium 7 et de 27 mmol (3,62 g) de dialdéhyde-o-phthalique dans 150 ml de méthanol anhydre, on ajoute goutte à goutte 150 ml d'une solution méthanolique de méthanolate de sodium (0,38 M). La solution prend immédiatement une couleur jaune et il se forme progressivement un précipité blanc. Au bout de 2,5 h. la réaction est interrompue et le solide formé, essoré sur Büchner et séché 2 h. à 60 °C. Après traitement 1h. à reflux dans le benzène en présence d'un cristal d'iode le composé est recristallisé dans un mélange éther - acétone: 9-1, on récolte 7,37 g du composé attendu.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1,2-bis (4-éthoxycarbonylstyryl)benzène. 8



C₂₈H₂₆O₄
Mr: 426,51

Poudre blanche.

F (°C): 106

Rdt: 64 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1730	ν CO
---------------------------	------	----------

RMN ¹H (60 MHz / CCl₄)

δ (ppm)	1,45	t	6H	-CH ₃
	4,35	q	4H	-CH ₂ -
	6,50-8,00	m	16H	protons éthyléniques et aromatiques.

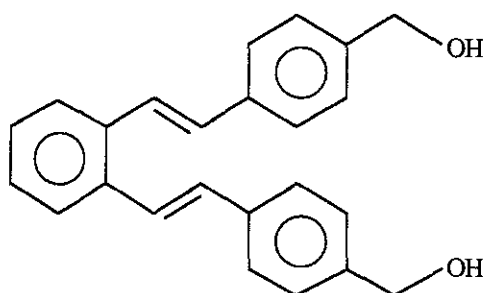
Obtention du 1,2-bis (4-hydroxyméthylstyryl)benzène. 9

♦ Méthode de synthèse.

A une suspension de 18 mmol (680 mg) de tétrahydruure d'aluminium et de lithium dans 25 ml de tétrahydrofurane anhydre on introduit goutte à goutte 17,2 mmol (7,36 g) de 1,2-bis(4-éthoxycarbonylstyryl)benzène **8**. On abandonne ce mélange réactionnel 15 min à température ambiante. Après refroidissement entre 0 et 5 °C on introduit goutte à goutte 20 ml d'acide chlorhydrique à 15 %. On effectue une extraction par 3 fois 40 ml d'éther. Les phases étherées sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées sous vide. L'addition d'un mélange éther de pétrole - acétone: 10-1 provoque la précipitation du diol attendu qui est recristallisé dans le mélange éther de pétrole - éther: 10-1.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1,2-bis (4-hydroxyméthylstyryl)benzène. **9**



$C_{24}H_{22}O_2$
Mr: 342,44

Fines aiguilles blanches.

F (°C): 78

Rdt: 91,2 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 3400 ν OH

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	2,07	s	1H	OH
	4,51	s	4H	=CH-
	4,65	d		
	6,50-7,71	m	16H	protons aromatiques

Obtention du 1,2-bis (4-acétylthiométhylstyryl)benzène. **10**

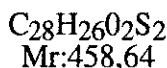
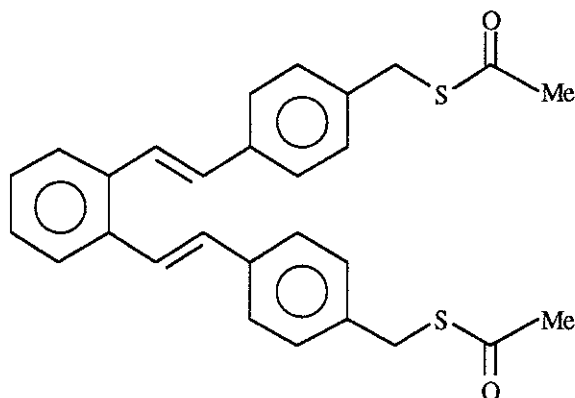
♦ Méthode de synthèse.

A une solution de 40 mmol (10,50 g) de triphénylphosphine dans 100 ml de tétrahydrofurane maintenue à 0 °C on ajoute goutte à goutte 40 mmol (8,33 g) d'isopropylazodicarboxylate. Dès la fin de l'addition il se forme un précipité blanc très abondant. Le milieu réactionnel est maintenu 0,5 h. supplémentaire à 0 °C puis, toujours à cette température, on ajoute goutte à goutte 10 mmol (3,42 g) de 1,2-bis (4-hydroxyméthylstyryl) benzène **9** et 40 mmol (3,04 g) d'acide thiolacétique en solution dans 50 ml de tétrahydrofurane. Après abandon 1 h. à 0 °C puis 2 h. à 20 °C, le milieu réactionnel limpide et jaune est concentré sous vide. On additionne la liqueur obtenue de 50 ml d'éther. Un séjour au froid de 2 h. provoque la précipitation d'une grande partie de l'oxyde de triphénylphosphine qui est éliminé par filtration. Le filtrat est concentré sous vide puis chromatographié sur silice (Eluant: chloroforme - éther de pétrole: 2-1). On

obtient après concentration et addition d'un mélange éther de pétrole - acétone: 10-1 le dérivé attendu dont la recristallisation dans un mélange éther de pétrole - éther: 10-1 fournit 3,03 g de 10.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1,2-bis (4-acétylthiométhylstyril)benzène. 10



Cristaux blanc-cassé.

F (°C): 66

Rdt: 64 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 1700 ν CO

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	2,34	m	6H	-CH ₃
	4,02	d	4H	-CH ₂
	6,47-7,80	m	protons aromatiques et éthyléniques	

SM (E.I)

m/z 458 (26 %), 382 (15 %), 341 (22 %), 307 (10 %), 279 (39 %), 217 (10 %), 204 (13 %), 179 (7 %).

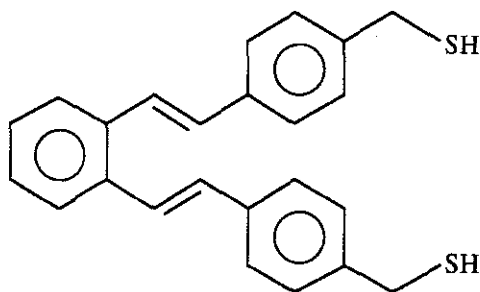
Obtention du 1,2-bis (4-mercaptométhylstyril)benzène. 11e

♦ Méthode de synthèse.

A une suspension de 13 mmol (490 mg) de tétrahydroaluminate de lithium dans un mélange de 10 ml de tétrahydrofurane anhydre et 20 ml d'éther anhydre, on ajoute goutte à goutte une solution de 5,67 mmol (2,60 g) de 1,2-bis (4-acétylthiométhylstyril) benzène 10 dans 15 ml d'éther anhydre. Le mélange réactionnel est abandonné 10 min. à température ambiante puis refroidi à 0 °C. On ajoute alors 10 ml d'acide chlorhydrique à 15 %. On extrait par 2 fois 30 ml d'éther. Les phases étherées sont réunies, séchées sur un mélange sulfate de magnésium et carbonate de potassium puis concentrées sous vide. On obtient 1,92 g d'une masse pâteuse qui ne cristallise pas.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1,2-bis (4-mercaptopéthylstyril)benzène **1e**



$C_{24}H_{22}S_2$
Mr: 374,57

Composé pâteux.

Rdt: 95% (brute)

Test à l'acétate de plomb (détection de la fonction thiol): positif.

IR (film)

ν (cm ⁻¹)	2520	ν SH
---------------------------	------	----------

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,55-3,65	d	4H	-CH ₂
	6,50-7,80	m		protons aromatiques et éthyléniques

SM (I.E)

m/z 374 (66 %), 341 (16 %), 294 (43 %), 237 (83 %), 217 (32 %),
204 (54 %), 183 (43 %), 154 (39 %), 137 (36 %), 105 (28 %), 91 (63 %).

Obtention des 4-aroxy-1-chlorobut-2-ènes. 11-16 (*)

♦ Méthode de synthèse.

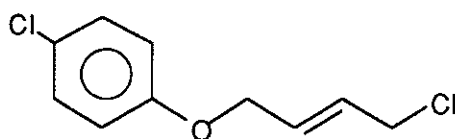
Le protocole opératoire étant identique pour ces six composés nous ne décrivons que celui du 4-(4-chlorophénoxy)-1-chlorobut-2-ène. **11**

A une solution de 100 ml d'eau contenant 180 mmol (23 g) de 4-chlorophénol et 230 mmol de 1,4-dichlorobut-2-ène-(E) portée à reflux, on additionne goutte à goutte 170 mmol (7,00 g) d'hydroxyde de sodium en solution dans 25 ml d'eau. Le mélange est maintenu 7 h. à reflux puis refroidi et est extrait par 3 fois 50 ml d'éther. Les phases étherées sont réunies, lavées par 100 ml d'une solution aqueuse à 10 % de carbonate de potassium, séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous vide. Le résidu obtenu est rectifié sous vide donnant naissance à 13,40 g d'une huile légèrement colorée en jaune.

(*) Tous ces composés sont de stéréoisométrie E (cf. p141)

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

4-(4-chlorophénoxy)-1-chlorobut-2-ène. 11



$C_{10}H_{10}Cl_2O$
Mr: 217,09

Huile jaune. Eb₃₈ (°C): 172-174 n_D^{25} : 1,5539

Rdt: 37 %

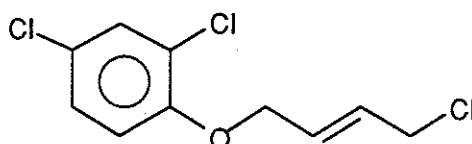
IR (film)

ν (cm⁻¹) 680 ν CCl

RMN ¹H (60 MHz / CCl₄)

δ (ppm)	4,05	m	2H	-CH ₂ -Cl
	4,45	m	2H	-CH ₂ -O-
	5,90	m	2H	=CH-
	6,70-7,25	m	4H	protons aromatiques

4-(2,4-dichlorophénoxy)-1-chlorobut-2-ène. 12



$C_{10}H_9Cl_3O$
Mr: 254,54

Huile jaune. Eb₃₈ (°C): 170-175 n_D^{25} : 1,5689

Rdt: 44 %

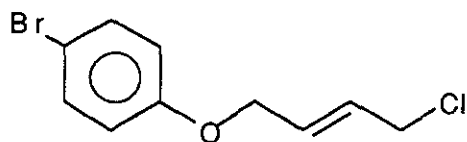
IR (film)

ν (cm⁻¹) 680 ν CCl
920 γ CH (E)

RMN ¹H (60 MHz / CCl₄)

δ (ppm)	4,10	m	2H	-CH ₂ -Cl
	4,50	m	2H	-CH ₂ -O-
	5,95	m	2H	=CH-
	6,65-7,40	m	3H	protons aromatiques

4-(4-bromophénoxy)-1-chlorobut-2-ène. 13



$C_{10}H_{10}BrClO$
Mr: 264,54

Huile jaune.

Eb₃₈ (°C): 146-148.

n_D^{25} : 1,5835

Rdt: 22 %

IR (film)

ν (cm⁻¹)

680

ν CCl

RMN ¹H (60 MHz / CCl₄)

δ (ppm)

4,15

m

2H

-CH₂-Cl

4,45

m

2H

-CH₂-O-

5,90

m

2H

=CH-

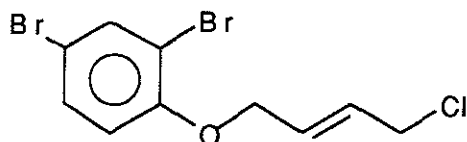
6,55-7,70

m

4H

protons aromatiques

4-(2,4-dibromophénoxy)-1-chlorobut-2-ène. 14



$C_{10}H_9Br_2ClO$
Mr: 343,44

Huile vert-jaune.

Eb₃₈ (°C): 164-167

n_D^{25} : 1,5726

Rdt: 35 %

IR (film)

ν (cm⁻¹)

680

ν CCl

RMN ¹H (60 MHz / CCl₄)

δ (ppm)

4,05

m

2H

-CH₂-Cl

4,50

m

2H

-CH₂-O-

5,90

m

2H

=CH-

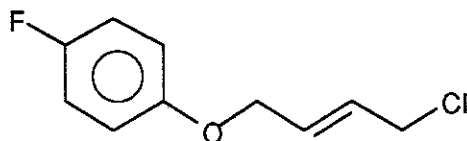
6,55-7,70

m

3H

protons aromatiques

4-(4-fluorophénoxy)-1-chlorobut-2-ène. 15



$C_{10}H_{10}ClFO$
Mr: 200,64

Huile jaune. Eb₃₈ (°C): 142-144. n_D^{25} : 1,5723
Rdt: 20,4 %

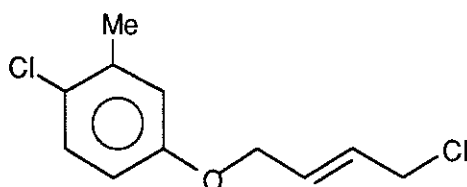
IR (film)

ν (cm ⁻¹)	680	ν CCl
	965	γ CH (E)

RMN ¹H (60 MHz / CCl₄)

δ (ppm)	4,05	m	2H	-CH ₂ -Cl
	4,45	m	2H	-CH ₂ -O-
	5,90	m	2H	=CH-
	6,60-7,10	m	4H	protons aromatiques

4-(4-chloro-3-méthylphénoxy)-1-chlorobut-2-ène. 16



$C_{11}H_{12}Cl_2O$
Mr: 231,13

Huile jaune. Eb₄₀ (°C): 180-182 n_D^{25} : 1,5512 Rdt: 29,4 %

IR (film)

ν (cm ⁻¹)	690	ν CCl
	965	γ CH

RMN ¹H (60 MHz / CCl₄)

δ (ppm)	2,35	s	3H	-CH ₃
	4,15	m	2H	-CH ₂ -Cl
	4,55	m	2H	-CH ₂ -O-
	6,00	m	2H	=CH-
	6,55-7,40	m	3H	protons aromatiques

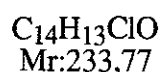
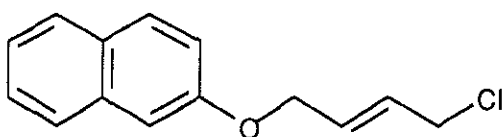
Obtention du 4-(2-naphthoxy)-1-chlorobut-2-ène. 17

♦ Méthode de synthèse.

Elle est identique à celle utilisée pour la préparation des 4-aroxy-1-chlorobut-2-ène **11-16**. Cependant le composé obtenu est purifié par chromatographie sur silice (Eluant: éther de pétrole - éther: 3-1).

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

4-(2-naphthoxy)-1-chlorobut-2-ène. 17



Huile jaune. n_D^{25} : 1,6105 Rdt: 20,1 %

IR (film)

ν (cm⁻¹) 690 ν CCl

RMN ¹H (60 MHz / CCl₄)

δ (ppm)	3,90	m	2H	-CH ₂ -Cl
	4,45	m	2H	-CH ₂ -O-
	5,85	m	2H	=CH-
	6,90-7,80	m	7H	protons aromatiques

Obtention des dithiocarbonates de O-éthyle et de S-4-aroxybut-2-èn-1-yle.

III (*)

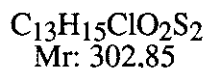
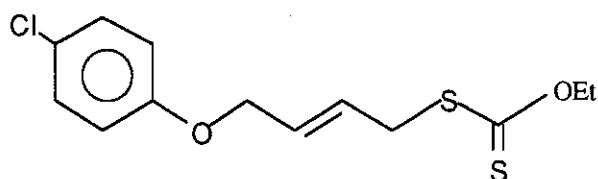
♦ Méthode de synthèse.

Le protocole de synthèse étant identique pour ces 5 composés nous décrivons uniquement celui du dithiocarbonate de O-éthyle et de S-[4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yle]. **IIa** 8,7 mmol (200 mg) de sodium sont introduites dans 20 ml d'éthanol. Après réaction totale du sodium et retour à température ambiante, on additionne en une seule fois 8,8 mmol (660 mg) de disulfure de carbone. Le milieu réactionnel, couleur jaune vif, est abandonné 20 min. puis chauffé à 30-35 °C. On additionne alors en une seule fois 6,0 mmol (1,30 g) de 4-(4-chlorophénoxy)-1-chlorobut-2-ène **11** et on observe la formation immédiate d'un précipité de chlorure de sodium. La réaction est interrompue au bout de 15 min. par addition de 30 ml d'eau suivie d'une extraction par 3 fois de 30 ml d'éther. Les phases étherées sont réunies, lavées par 30 ml d'eau saturée par du chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium et enfin concentrées sous vide. Une chromatographie sur silice (Eluant: éther de pétrole - éther: 8-2) conduit à 1,61 g du composé attendu.

(*) Tous ces composés sont de stéréoisométrie E (cf. p141)

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Dithiocarbonate de O-éthyle et de S-[4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yle]. IIa



Huile orange jaune. n_D^{25} : 1,5896 Rdt: 90,5 %

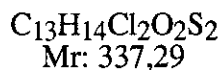
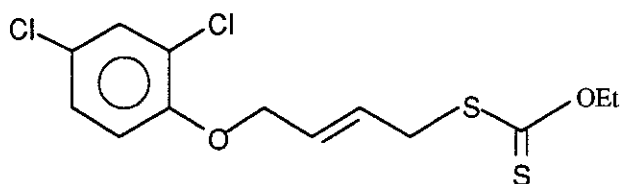
IR (film)

ν (cm ⁻¹)	1060	ν C-S
	1375	ν C=S

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,40	t	3H	-CH ₃
	3,85	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,50	m	2H	-CH ₂ -O-
	4,65	q	2H	-CH ₂ -
	5,95	m	2H	=CH-
	6,70-7,35	m	4H	protons aromatiques

Dithiocarbonate de O-éthyle et de S-[4-(2,4-dichlorophénoxy)but-2-èn-1-yle]. IIb



Huile orange-jaune. (se solidifie en dessous de 0 °C)

n_D^{25} : 1,6012 Rdt: 80,3 %

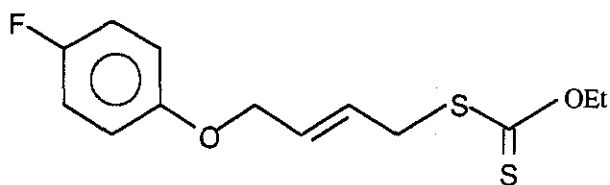
IR (film)

ν (cm ⁻¹)	1060	ν C-S
	1375	ν C=S

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,50	t	3H	-CH ₃
	3,90	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,60	m	2H	-CH ₂ -O-
	4,65	q	2H	-CH ₂ -
	6,00	m	2H	=CH-
	6,80-7,50	m	3H	protons aromatiques

Dithiocarbonate de O-éthyle et de S-[4-(4-fluorophénoxy)but-2-èn-1-yle]. IIc



$C_{13}H_{15}FO_2S_2$
Mr: 289,39

Huile orange-jaune.

n_D^{25} : 1,5652

Rdt: 82,2 %

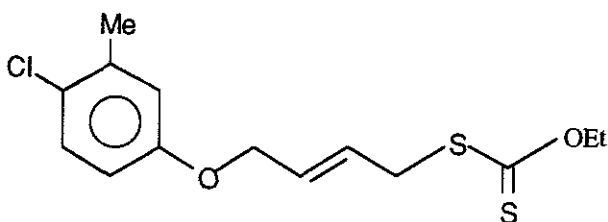
IR (film)

ν (cm ⁻¹)	1060	ν C-S
	1375	ν C=S

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,40	t	3H	-CH ₃
	3,85	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,50	m	2H	-CH ₂ -O-
	4,60	q	2H	-CH ₂ -
	5,95	m	2H	=CH-
	6,70-7,20	m	4H	protons aromatiques

Dithiocarbonate de-O-éthyle et de-S-[4-(4-chloro-3-méthylphénoxy)but-2-èn-1-yle]. II d



$C_{14}H_{17}ClO_2S_2$
Mr: 316,88

Huile orange-jaune.

n_D^{25} : 1,5809

Rdt: 84 %

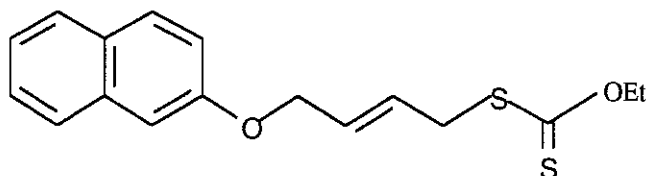
IR (film)

ν (cm ⁻¹)	1060	ν C-S
	1375	ν C=S

RMN ^1H (60 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	1,30	t	3H	$-\text{CH}_3$ (a)
	2,25	s	3H	$-\text{CH}_3$ (b)
	3,75	m	2H	$-\text{CH}_2-\text{S}-$
	4,40	m	2H	$-\text{CH}_2-\text{O}-$
	4,55	q	2H	$-\text{CH}_2-$
	5,85	m	2H	$=\text{CH}-$
	6,40-7,20	m	3H	protons aromatiques

Dithiocarbonate de O-éthyle et de S-[4-(2-naphtoxy)but-2-èn-1-yl]. **IIe**



$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{S}_2$
Mr: 307,45

Huile orange-jaune.

n_D^{25} : 1,6316

Rdt: 68 %

IR (film)

ν (cm^{-1})	1060	ν C-S
	1375	ν C=S

RMN ^1H (60 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	1,40	t	3H	$-\text{CH}_3$
	3,80	m	2H	$-\text{CH}_2-\text{S}-$
	4,60	m	2H	$-\text{CH}_2-\text{O}-$
	4,65	q	2H	$-\text{CH}_2-$
	6,00	m	2H	$=\text{CH}-$
	7,00-7,80	m	7H	protons aromatiques

Obtention des thiocyanates de 4-aroxybut-2-èn-1-yle. **III (*)**

(*) Tous ces composés sont de stéréoisomérisation *E* (cf. p141)

♦ Méthode de synthèse.

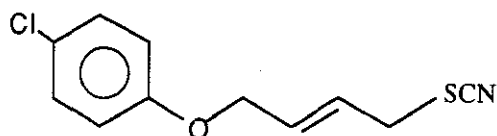
Le protocole opératoire étant identique pour toutes les molécules de la série **III** nous décrivons uniquement celui du thiocyanate de 4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yle. **IIIa**

19,4 mmol (1,48 g) de thiocyanate d'ammonium sont dissoutes dans un mélange contenant 20 ml d'acétone et 8 ml d'éthanol. Ce milieu réactionnel est porté à 55 °C puis additionné de 12,9 mmol (2,80 g) de 4-(4'-chlorophénoxy)-1-chlorobut-2-ène **11**. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (C.C.M.), (Eluant: éther de pétrole - éther: 2-1) et on observe au bout 30-35 min. l'apparition d'un composé en plus du thiocyanate attendu. Il s'agit d'un isothiocyanate (bande large à 2000 cm^{-1} en I.R.). La réaction est alors interrompue par refroidissement et ce mélange réactionnel additionné de 30 ml d'eau. On extrait par 3 fois 20 ml d'éther. Les phases étherées sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium puis le solvant est éliminé sous vide. La liqueur obtenue est chromatographiée sur silice (Eluant: éther de pétrole - éther: 2-1). Le thiocyanate ainsi obtenu est sensible à la chaleur et doit donc être conservé au froid (0

°C). Stocké à température ambiante on observe, en I.R., l'apparition d'une bande caractéristique de la fonction isothiocyanate en plus de celle relative à la fonction thiocyanate.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Thiocyanate de 4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yle. IIIa



$C_{11}H_{10}ClNOS$
Mr: 239,73

Huile jaune marron. n_D^{25} : 1,5675 Rdt: 37,5 %

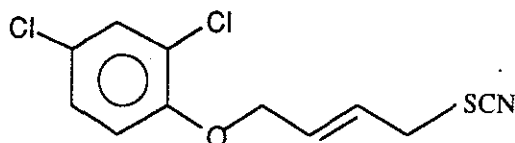
IR (film)

ν (cm⁻¹) 2080 ν CN (SCN)

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,60	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,55	m	2H	-CH ₂ -O-
	6,00	m	2H	=CH-
	6,70-7,50	m	4H	protons aromatiques

Thiocyanate de 4-(2,4-dichlorophénoxy)but-2-èn-1-yle. IIIb



$C_{11}H_9Cl_2NOS$
Mr: 274,17

Huile jaune marron. n_D^{25} : 1,5811 Rdt: 30,6 %

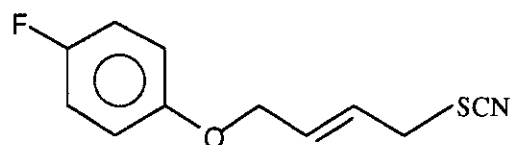
IR (film)

ν (cm⁻¹) 2070 ν CN (SCN)

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,60	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,60	m	2H	-CH ₂ -O-
	6,05	m	2H	=CH-
	7,10-7,40	m	3H	protons aromatiques

Thiocyanate de 4-(4-fluorophénoxy)but-2-èn-1-yle. **IIIc**



$C_{11}H_{10}FNOS$
Mr: 223,25

Huile jaune marron. n_D^{25} : 1,5430 Rdt: 35 %

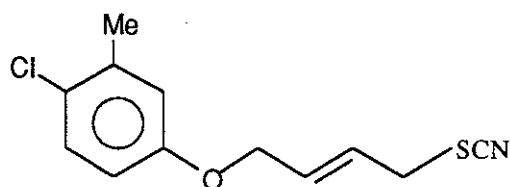
IR (film)

ν (cm⁻¹) 2070 ν CN (SCN)

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,50	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,45	m	2H	-CH ₂ -O-
	5,85	m	2H	=CH-
	6,60-7,05	m	4H	protons aromatiques

Thiocyanate de 4-(4-chloro-3-méthylphénoxy)but-2-èn-1-yle. **III d**



$C_{12}H_{13}ClNOS$
Mr: 253,75

Huile jaune marron. n_D^{25} : 1,5652 Rdt: 22,9 %

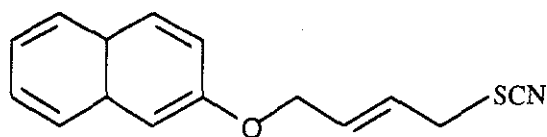
IR (film)

ν (cm⁻¹) 2075 ν CN (SCN)

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	2,00	d	3H	-CH ₃
	3,10	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,60	m	2H	-CH ₂ -O-
	5,80	m	2H	=CH-
	7,10-7,80	m	3H	protons aromatiques

Thiocyanate de 4-(2-naphthoxy)but-2-èn-1-yle IIIe.



C₁₅H₁₃NOS
Mr: 256,34

Huile jaune marron. n_D^{25} : 1,6084 Rdt: 26 %

IR (film)

ν (cm⁻¹) 2075 ν CN (SCN)

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,60	d	2H	-CH ₂ -S-
	4,70	d	2H	-CH ₂ -O-
	6,00	m	2H	=CH-
	7,10-7,80	m	7H	protons aromatiques

Obtention des 4-aroxy-1-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-ènes et 4-aroxy-1-(2-mercaptobenzoxazolyl)but-2-ènes. IV (*)

(*) Tous ces composés sont de stéréoisomérisation E (cf. p141)

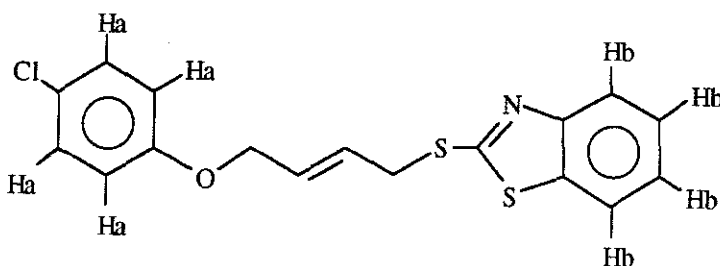
♦ Méthode de synthèse.

Le protocole opératoire étant le même pour les 10 composés de la série IV nous décrivons uniquement celui du 4-(4-chlorophénoxy)-1-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-ène. IVa

Un mélange contenant: 28,9 mmol (4,98 g) de 2-mercaptobenzothiazole, 22,9 mmol (4,97 g) de 4-(4-chlorophénoxy)-1-chlorobut-2-ène **11** et 15 ml d'eau est porté à reflux. On additionne alors selon un goutte à goutte lent 21,9 mmol (875 mg) d'hydroxyde de sodium dissous dans 5 ml d'eau. Le mélange est maintenu à reflux pendant 3 h. Après refroidissement on effectue une extraction par 3 fois de 10 ml d'éther. Les phases étherées sont réunies, lavées par 2 fois 15 ml d'une solution aqueuse à 10 % de carbonate de potassium, séchées sur sulfate de magnésium et abandonnées à 4 °C durant 2 h. Le précipité formé est essoré sur Büchner puis recristallisé dans l'éther de pétrole.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

4-(4-chlorophénoxy)-1-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-ène. IVa



C₁₇H₁₄ClNOS₂
Mr: 347,89
F (°C): 57

Cristaux jaune sombre.

Rdt: 49 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 2-1

R_f: 0,55

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	745	γ CH cycle benz (1,2-disubstitué)
	830	γ CH cycle benz (1,4-disubstitué)

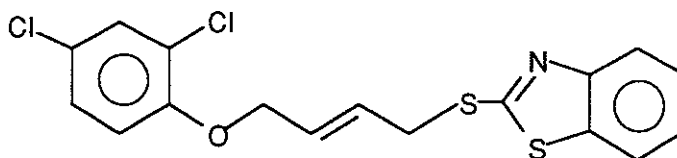
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,90	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,35	m	2H	-CH ₂ -O-
	5,90	m	2H	=CH-
	6,60-7,20	m	4H	protons aromatiques (a)
	7,20-7,90	m	4H	protons aromatiques (b)

Analyse : C₁₇H₁₄ClNOS₂.

	C %	H %	N %	S %	Cl %
Calc.	58,69	4,06	4,03	18,43	10,19
Tr.	58,64	3,93	4,21	18,12	10,27

4-(2,4-dichlorophénoxy)-1-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-ène. IVb



C₁₇H₁₃Cl₂NOS₂
Mr: 382,33

Cristaux blanchâtres

F (°C): 82,2

Rdt: 23,7 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 2-1

R_f: 0,66

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	745	γ CH cycle benz (1,2-disubstitué)
	815 et 880	γ CH cycle benz (1,2,4-trisubstitué)

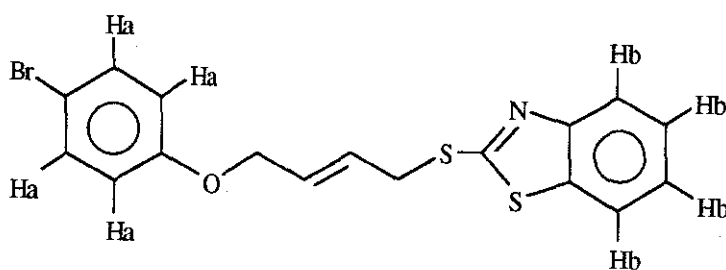
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,90	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,45	m	2H	-CH ₂ -O-
	5,90	m	2H	=CH-
	6,75-7,90	m	7H	protons aromatiques

Analyse : $C_{17}H_{13}Cl_2NOS_2$.

	C %	H %	N %	S %	Cl %
Calc.	53,40	3,43	3,66	16,77	18,54
Tr.	53,34	3,33	3,67	16,14	18,95

4-(4-bromophénoxy)-1-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-ène. IVc



$C_{17}H_{14}BrNOS_2$
Mr:392,34

Cristaux jaune sombre.

F (°C): 75,1

Rdt: 82 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 2-1

Rf: 0,42

IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 745 γ CH cycle benz (1,2-disubstitué)
830 γ CH cycle benz (1,4-disubstitué)

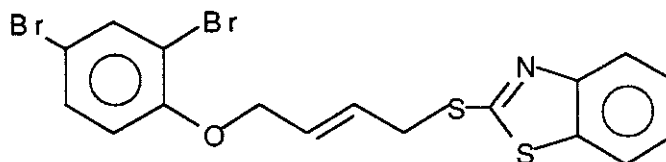
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm) 3,95 m 2H -CH₂-S-
4,40 m 2H -CH₂-O-
5,90 m 2H =CH-
6,60-6,85 m 2H protons aromatiques (a)
7,05-7,90 m 6H protons aromatiques (b)

Analyse : $C_{17}H_{14}BrNOS_2$.

	C %	H %	N %	S %	Br %
Calc.	52,04	3,59	3,57	16,35	21,37
Tr.	52,00	3,61	3,78	15,91	20,28

4-(2,4-dibromophénoxy)-1-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-ène. IVd



$C_{17}H_{13}Br_2NOS_2$
Mr: 471,25

Cristaux jaunes.

F (°C): 94,2

Rdt: 41 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 2-1

Rf: 0,61

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	745	γ CH cycle benz (1,2-disubstitué)
	805	γ CH cycle benz(1,2,4-trisubstitué)

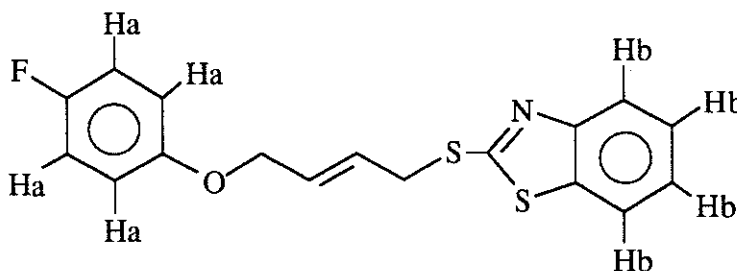
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,00	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,55	m	2H	-CH ₂ -O-
	6,00	m	2H	=CH-
	6,70-8,00	m	7H	protons aromatiques

Analyse : $C_{17}H_{13}Br_2NOS_2$

	C %	H %	N %	S %	Br %
Calc.	43,42	2,78	2,97	13,61	33,91
Tr.	43,58	2,78	3,49	12,99	33,29

4-(4-fluorophénoxy)-1-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-ène. IVe



$C_{17}H_{14}FNOS_2$
Mr: 331,42

Poudre blanche.

F (°C): 60,5

Rdt: 47 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 2-1

R_f: 0,78

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	745	γ CH cycle benz (1,2-disubstitué)
	825	γ CH cycle benz (1,4-disubstitué)

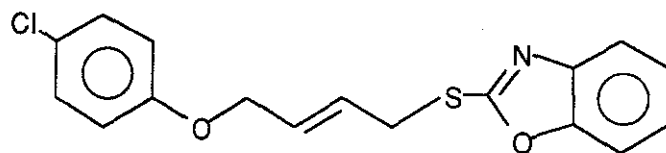
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,95	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,35	m	2H	-CH ₂ -O-
	5,90	m	2H	=CH-
	6,65-7,00	m	4H	protons aromatiques (a)
	7,00-7,95	m	4H	protons aromatiques (b)

Analyse : C₁₇H₁₄FNOS₂

	C %	H %	N %	S %	F %
Calc.	61,61	4,26	4,23	19,35	5,73
Tr.	61,90	4,26	4,23	18,55	5,49

4-(4-chlorophénoxy)-1-(2-mercaptobenzoxazolyl)but-2-ène. IVf



C₁₇H₁₄ClNO₂S
Mr: 331,83

Ecailles blanches.

F (°C): 57

Rdt: 67 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 2-1

R_f: 0,61

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	745	γ CH cycle benz (1,2-disubstitué)
	830	γ CH cycle benz (1,4-disubstitué)

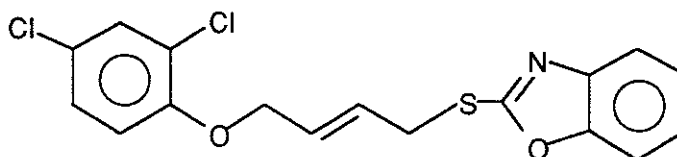
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,90	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,35	m	2H	-CH ₂ -O-
	5,95	m	2H	=CH-
	6,55-7,65	m	8H	protons aromatiques

Analyse : $C_{17}H_{14}ClNO_2S$

	C %	H %	N %	S %	Cl %
Calc.	61,63	4,83	4,23	9,67	10,57
Tr.	62,01	4,35	4,25	9,97	10,52

4-(2,4-dichlorophénoxy)-1-(2-mercaptobenzoxazolyl)but-2-ène. IVg



$C_{17}H_{14}Cl_2NO_2S$
Mr: 366,27

Fines aiguilles blanches.

F (°C): 77,4

Rdt: 48,4 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 2-1

R_f: 0,65

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	745	γ CH cycle benz (1,2-disubstitué)
	815 et 830	γ CH cycle benz (1,2,4-trisubstitué)

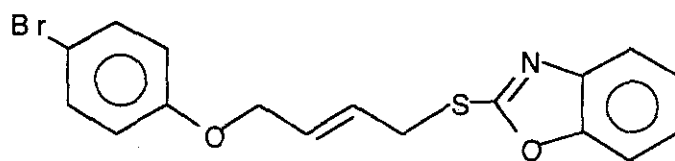
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,85	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,50	m	2H	-CH ₂ -O-
	5,95	m	2H	=CH-
	6,45-7,65	m	7H	protons aromatiques

Analyse : $C_{17}H_{14}Cl_2NO_2S$

	C %	H %	N %	S %	Cl %
Calc.	55,75	3,58	3,82	8,75	19,36
Tr.	55,911	3,55	3,79	8,63	19,16

4-(4-bromophénoxy)-1-(2-mercaptobenzoxazolyl)but-2-ène IVh.



$C_{17}H_{14}BrNO_2S$
Mr: 376,28

Ecaillés blanches.

F (°C): 75,1

Rdt: 35 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 2-1

R_f: 0,63

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	745	γ CH cycle benz (1,2-disubstitué)
	830	γ CH cycle benz (1,4-disubstitué)

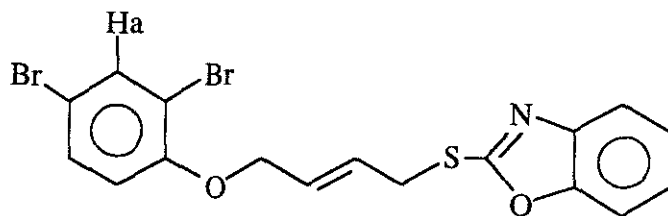
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,90	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,40	m	2H	-CH ₂ -O-
	6,00	m	2H	=CH-
	6,55-7,70	m	8H	protons aromatiques

Analyse : $C_{17}H_{14}BrNO_2S$

	C %	H %	N %	S %	Br %
Calc.	54,22	3,75	3,72	8,52	21,23
Tr.	54,34	3,57	3,68	8,36	21,26

4-(2,4-dibromophénoxy)-1-(2-mercaptobenzoxazolyl)but-2-ène. IVi



$C_{17}H_{13}Br_2NO_2S$
Mr: 455,19

Fines aiguilles blanches.

F (°C): 75,1

Rdt: 35 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 2-1

R_f: 0,63

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	745	γ CH cycle benz (1,2-disubstitué)
	805 et 875	γ CH cycle benz (1,2,4-trisubstitué)

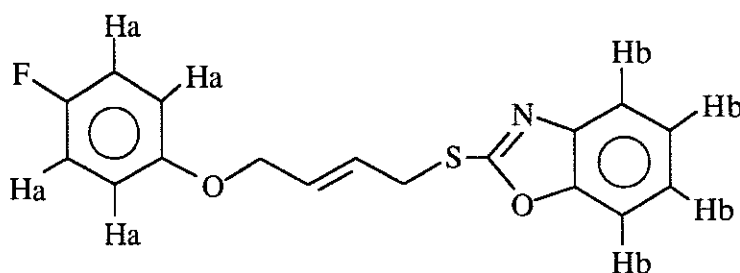
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,95	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,55	m	2H	-CH ₂ -O-
	6,10	m	2H	=CH-
	6,55-6,75	m	1H	protons aromatiques (Ha)
	7,10-7,70	m	6H	protons aromatiques

Analyse : C₁₇H₁₄Br₂NO₂S

	C %	H %	N %	S %	Br %
Calc.	44,89	2,85	3,24	6,91	34,98
Tr.	44,86	2,88	3,08	7,04	35,11

4-(4-fluorophénoxy)-1-(2-mercaptobenzoxazolyl)but-2-ène. IVj



C₁₇H₁₄FNO₂S
Mr: 315,37

Ecailles blanches.

F (°C): 52,3

Rdt: 65,3 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 2-1

R_f: 0,64

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	745	γ CH cycle benz (1,2-disubstitué)
	830	γ CH cycle benz (1,4-disubstitué)

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,90	m	2H	-CH ₂ -S-
	4,35	m	2H	-CH ₂ -O-
	5,95	m	2H	=CH-
	6,60-6,90	m	4H	protons aromatiques (a)
	7,00-7,60	m	4H	protons aromatiques (b)

Analyse : C₁₇H₁₄FNO₂S

	C %	H %	N %	S %	F %
Calc.	64,74	4,47	4,44	10,17	6,02
Tr.	64,97	4,52	3,68	10,25	6,12

Obtention des bis (4-phénoxybut-2-èn-1-yl)cyanamines. 18-23 (*)

(*) Tous ces composés sont de stéréoisomérisation E (cf. p141)

♦ Méthode de synthèse.

Le protocole opératoire étant le même pour ces 6 composés nous décrivons uniquement celui du bis [4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]cyanamine. **18**

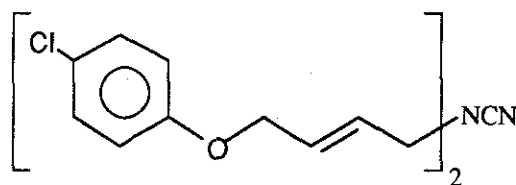
Dans une solution de 170 mmol (6,60 g) d'hydroxyde de sodium dans 13,5 ml d'eau, on ajoute successivement: 33 mmol (1,37 g) de cyanamide, 200 mg de Aliquat 336^R (1) et enfin 83 mmol (18,10 g) de 4-(4'-chlorophénoxy)-1-chlorobut-2-ène **11**. Le mélange est chauffé à 55 °C durant 3 h. Après retour à la température ambiante le milieu réactionnel est additionné de 50 ml d'eau puis est extrait par 3 fois 30 ml d'éther. Les phases étherées sont réunies, lavées par 100 ml d'eau saturée en chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées sous vide. Le résidu, pâteux, obtenu concentré est purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant comme éluants successifs: éther de pétrole, éther de pétrole - éther : 4-1 puis 1-1 (2). On obtient ainsi 10,80 g du composé attendu.

(1). Dénomination commerciale du chlorhydrate de tricaprylméthylammonium (Aldrich Chimie).

(2). Les mêmes éluants sont utilisés lors de la purification des composés **19, 22, 23**. Pour les composés **20, 21** les mélanges d'élution suivants ont été successivement utilisés: éther de pétrole; éther de pétrole - chloroforme; 1-1 et enfin chloroforme.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Bis [4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]cyanamine. 18



C₂₁H₂₀Cl₂N₂O
Mr: 403,30

Solide blanc amorphe.

F (°C): 35

Rdt: 64 %

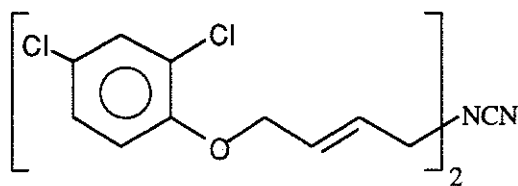
IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 2230 ν CN

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,70	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,60	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,90	m	4H	=CH-
	6,70-7,50	m	8H	protons aromatiques

Bis [4-(2,4-dichlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]cyanamine. 19



$C_{21}H_{18}Cl_4N_2O$
Mr: 472,00

Solide amorphe blanc.

F (°C): 45

Rdt: 60 %

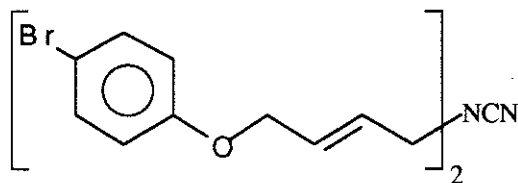
IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 2230 ν CN

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,60	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,45	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,85	m	4H	=CH-
	6,65-7,40	m	6H	protons aromatiques

Bis [4-(4-bromophénoxy)but-2-èn-1-yl]cyanamine. 20



$C_{21}H_{20}Br_2N_2O$
Mr: 492,22

Solide amorphe blanc.

F (°C): 45

Rdt: 62 %

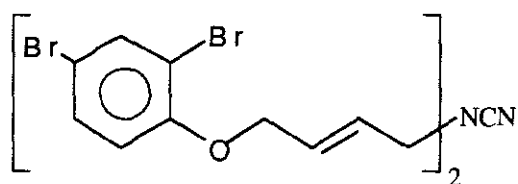
IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 2230 ν CN

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,65	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,50	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,85	m	4H	=CH-
	6,60-7,00	m	4H	protons aromatiques
	7,20-7,65	m	4H	protons aromatiques

Bis [4-(2,4-dibromophénoxy)but-2-èn-1-yl]cyanamine. 21



$C_{21}H_{18}Br_4N_2O$
Mr: 652,05

Solide amorphe blanc-cassé.

F (°C): 53

Rdt: 44,3 %

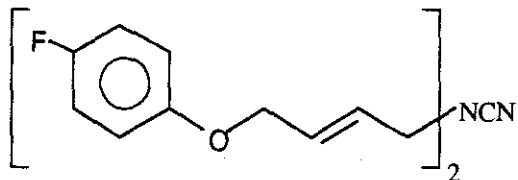
IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 2230 ν CN

RMN ¹H (60MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,60	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,45	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,80	m	4H	=CH-
	6,65-7,70	m	6H	protons aromatiques

Bis [4-(4-fluorophénoxy)but-2-èn-1-yl]cyanamine. 22



$C_{21}H_{20}F_2N_2O$
Mr: 370,40

Masse pâteuse.

F (°C): 35

Rdt: 52 %

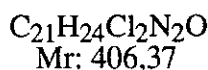
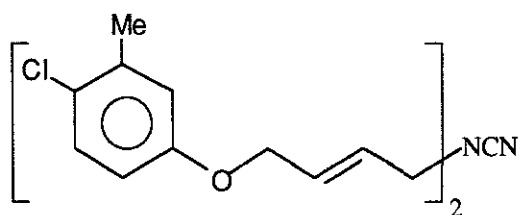
IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 2230 ν CN

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,50	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,35	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,70	m	4H	=CH-
	6,50-7,05	m	8H	protons aromatiques

Bis [4-(4-chloro-3-méthylphénoxy)but-2-èn-1-yl]cyanamine. 23



Masse pâteuse. Rdt: 73 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 2230 ν CN

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	2,20	s	6H	-CH ₃
	3,50	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,40	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,75	m	4H	=CH-
	6,40-7,20	m	6H	protons aromatiques

Obtention des bis (4-aroxybut-2-èn-1-yl)amines. 24-29 (*)

(*) Tous ces composés sont de stéréoisomérisation E (cf. p141)

♦ Méthode de synthèse.

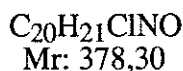
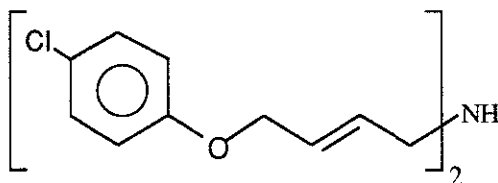
Le protocole opératoire étant le même pour ces 6 amines nous décrivons uniquement celle de la bis [4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]amine. 24

On porte au reflux durant 4h. 26,8 mmol (11,52 g) de bis [4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]cyanamine 18 par une solution de 12 ml d'eau contenant 39,4 mmol (4,02 g) d'acide sulfurique (d=1,84). Après refroidissement le mélange est additionné d'une solution de 150 mmol (6,32 g) d'hydroxyde de sodium dans 12 ml d'eau. Après saturation par du chlorure de sodium on effectue une extraction par 3 fois de 50 ml de chloroforme. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous vide. La pureté du composé obtenu est suffisante pour son utilisation ultérieure.

Pour chacune des amines secondaires 24-29 le chlorhydrate a été obtenu par passage d'un courant d'HCl gazeux sec dans une solution étherée de celle-ci.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Bis [4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]amine. 24



Solide amorphe orange.
F (°C) (Chlorhydrate): 162

F (°C): 58

Rdt: 93 %

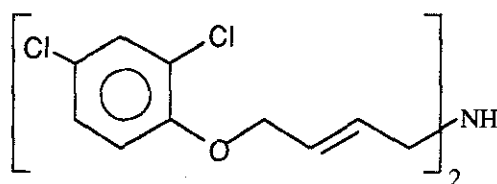
IR (CCl₄)

ν (cm⁻¹) 3360 ν NH

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,70	m	1H	-NH-
	3,30	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,50	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,85	m	4H	=CH-
	6,70-7,40	m	8H	protons aromatiques

Bis [4-(2,4-dichlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]amine. 25



C₂₀H₁₉Cl₄NO
Mr:447,19

Liquide très visqueux.
F (°C) (Chlorhydrate): 142

Rdt: 81 %

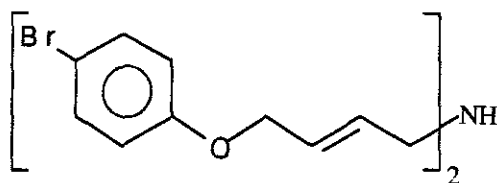
IR (CCl₄)

ν (cm⁻¹) 3360 ν NH

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,60	m	1H	-NH-
	3,30	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,55	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,85	m	4H	=CH-
	6,70-7,50	m	6H	protons aromatiques

Bis [4-(4-bromophénoxy)but-2-èn-1-yl]amine. 26



C₂₀H₂₁Br₂NO
Mr: 467,21

Solide amorphe blanc cassé.
F (°C) (Chlorhydrate): 184

F (°C): 56

Rdt: 93 %

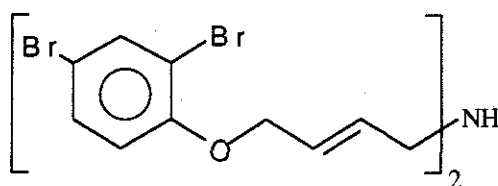
IR (CCl₄)

ν (cm⁻¹) 3360 ν NH

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,35	m	1H	-NH-
	3,25	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,40	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,75	m	4H	=CH-
	6,55-7,40	m	8H	protons aromatiques

Bis [4-(2,4-dibromophénoxy)but-2-èn-1-yl]amine. 27



C₂₀H₁₉Br₄NO
Mr: 627,04

Solide amorphe rouge.
F (°C) (Chlorhydrate): 156

Rdt: 82 %

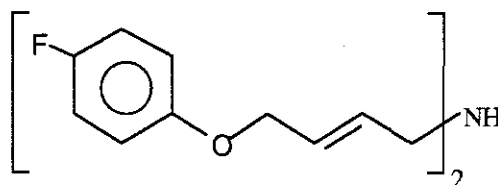
IR (CCl₄)

ν (cm⁻¹) 3360 ν NH

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,30	m	1H	-NH-
	3,10	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,35	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,70	m	4H	=CH-
	6,40-7,50	m	6H	protons aromatiques

Bis [4-(4-fluorophénoxy)but-2-èn-1-yl]amine. 28



C₂₀H₂₁F₂NO
Mr: 345,59

Liquide très visqueux de couleur rouge.
F (°C) (Chlorhydrate): 128

Rdt: 78 %

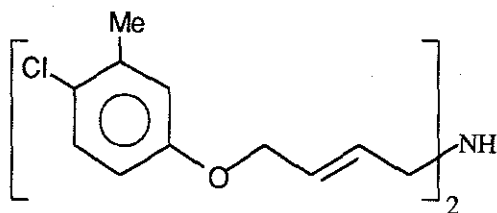
IR (CCl₄)

ν (cm⁻¹) 3360 ν NH

RMN ^1H (60 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	1,70	m	1H	-NH-
	3,20	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,40	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,75	m	4H	=CH-
	6,60-7,10	m	8H	protons aromatiques

Bis [4-(4-chloro-3-méthylphénoxy)but-2-èn-1-yl]amine. 29



$\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{NO}$
Mr: 406,37

Liquide très visqueux et orange.
F ($^{\circ}\text{C}$) (Chlorhydrate): 162

Rdt: 71 %

IR (CCl_4)

ν (cm^{-1})	3360	ν NH
----------------------------	------	----------

RMN ^1H (60 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	1,70	s	1H	-NH-
	2,30	s	3H	-CH ₃
	3,25	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,40	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,75	m	4H	=CH-
	6,40-7,30	m	6H	protons aromatiques

Obtention des *N*-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]-*N'*-[4-chlorophényl]thio-
urées, des *N*-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]-*N'*-[1-naphtyl]thiourées, et des
N-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]-*N'*-[1-allyl] thiourées. V (*)

(*) Tous ces composés sont de stéréoisomérisation *E* (cf. p141)

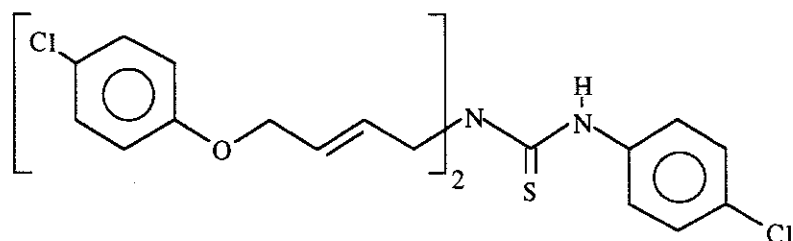
♦ Méthode de synthèse.

Le protocole opératoire étant le même pour ces 6 composés nous décrivons uniquement celui du *N*-{bis[4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-*N'*-{4-chlorophényl}thiourée. **Va**

Un mélange de 2,2 mmol (830 mg) de bis [4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]amine **24** et de 2,2 mmol (390 mg) de 4'-chlorophénylisothiocyanate dans 15 ml d'acétone est porté à 30-35 $^{\circ}\text{C}$ durant 15 min. L'acétone est ensuite évaporée sous vide et le résidu huileux obtenu est alors chromatographié sur colonne de silice avec comme éluant un mélange éther de pétrole - éther: 1-2.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

N-[bis[4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]]-*N'*-(4-chlorophényl)thiourée. *Va*



$C_{27}H_{25}Cl_3N_2O_2S$
Mr: 547,93

Cristaux blancs. F (°C): 102 Rdt: 74 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,39

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3430	ν NH

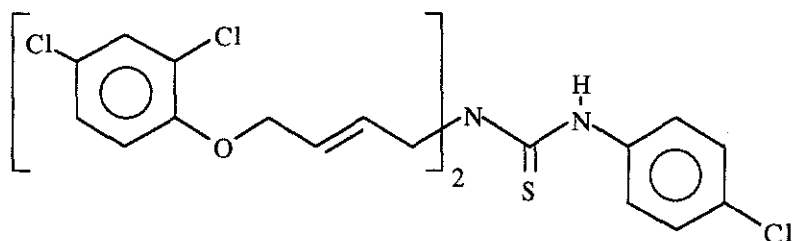
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,32	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,46	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,84	m	4H	=CH-
	6,55-7,40	m	12H	protons aromatiques.

Analyse : $C_{27}H_{25}Cl_3N_2O_2S$

	C %	H %	N %	S %	Cl %
Calc.	59,18	4,60	5,11	5,85	19,41
Tr.	59,01	4,56	5,44	5,61	19,48

N-{bis[4-(2,4-dichlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-*N'*-[4-chlorophényl]thiourée.
Vb



$C_{27}H_{23}Cl_5N_2O_2S$
Mr:616,82

Cristaux blancs.

F (°C): 107

Rdt: 73 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,28

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3430	ν NH

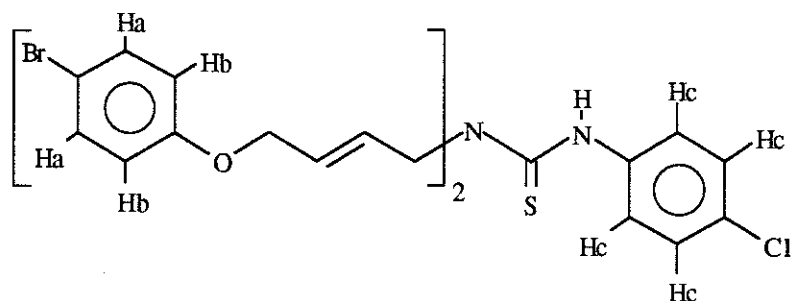
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,42	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,58	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,94	m	4H	=CH-
	6,70-7,45	m	10H	protons aromatiques.

Analyse : $C_{27}H_{23}Cl_5N_2O_2S$

	C %	H %	N %	S %	Cl %
Calc.	52,57	3,76	4,54	5,20	28,74
Tr.	52,17	3,75	4,17	4,98	28,85

N-{bis[4-(4-bromophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-*N'*-{4-chlorophényl}thiourée. Vc



$C_{27}H_{25}Br_2ClN_2O_2S$
Mr: 636,84

Cristaux blancs.

F (°C): 111

Rdt: 44 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,22

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3400	ν NH

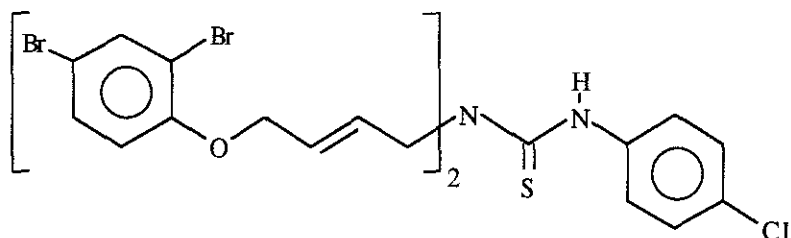
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,42	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,53	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,95	m	4H	=CH-
	6,67	m	4H	Ha
	7,17	m	4H	Hc
	7,28	m		
	7,37	m	4H	Hb

Analyse : $C_{27}H_{25}Br_2ClN_2O_2S$

	C %	H %	N %	S %	Cl %
Calc.	57,52	4,48	4,29	4,91	24,49
Tr.	57,08	4,40	4,22	4,50	24,33

N-{bis[4-(2,4-dibromophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-N'-(4-chlorophényl)thiourée. **Vd**



$C_{27}H_{23}Br_4ClN_2O_2S$
Mr: 796,67

Cristaux blancs.

F (°C): 138

Rdt: 56 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,26

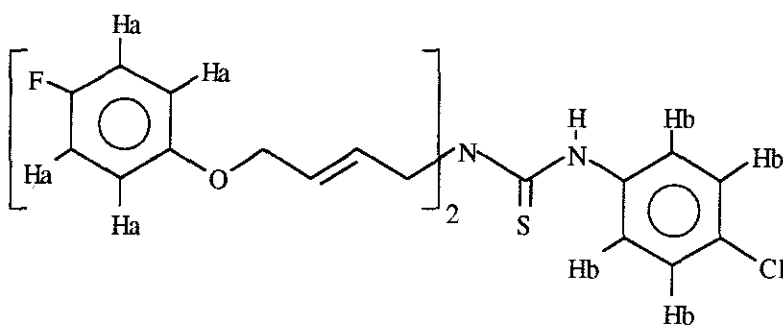
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3400	ν NH

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,46	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,62	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,98	m	4H	=CH-
	6,60-7,75	m	10H	protons aromatiques.

N-{bis[4-(4-fluorophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-N'-(4-chlorophényl)thiourée. **Ve**



$C_{27}H_{25}ClF_2N_2O_2S$
Mr: 515,22

Cristaux blancs.

F (°C): 93

Rdt: 77 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,40

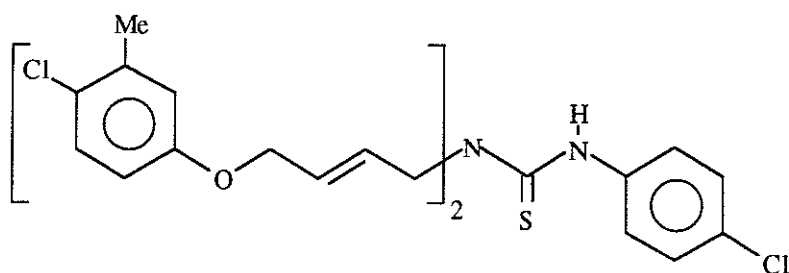
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3400	ν NH

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,38	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,50	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,90	m	4H	=CH-
	6,70-7,02	m	8H	Ha
	7,02-7,26	m	4H	Hb

N-{bis[4-(4-chloro-3-méthylphénoxy)but-2-èn-1-yl]}-N'-{4-chlorophényl}thiourée. Vf



C₂₉H₂₉Cl₂N₂O₂S

Mr: 576,00

Produit pâteux.

Rdt: 84 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,41

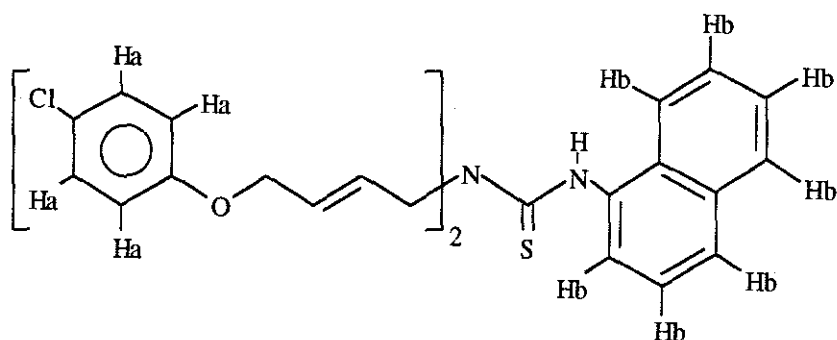
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3400	ν NH

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,32	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,46	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,84	m	4H	=CH-
	6,55-7,40	m	10H	protons aromatiques.

N-{bis[4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-*N'*-[1-naphtyl]thiourée. Vg



$C_{31}H_{26}Cl_2N_2O_2S$
Mr: 563,55

Cristaux blancs.

F (°C): 135

Rdt: 95 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,41

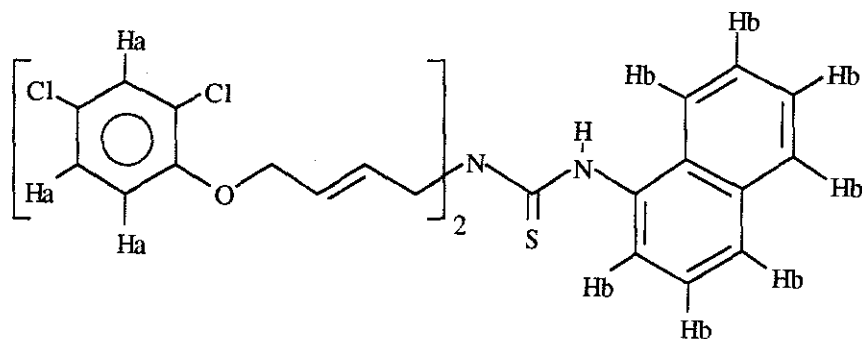
IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 3410 ν NH

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,40	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,68	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,97	m	4H	=CH-
	6,70-7,35	m	8H	Ha
	7,35-7,95	m	7H	Hb

N-{bis[4-(2,4-dichlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-*N'*-[1-naphtyl]thiourée. Vh



$C_{31}H_{26}Cl_4N_2O_2S$
Mr: 632,44

Cristaux blancs.

F (°C): 111

Rdt: 68%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,21

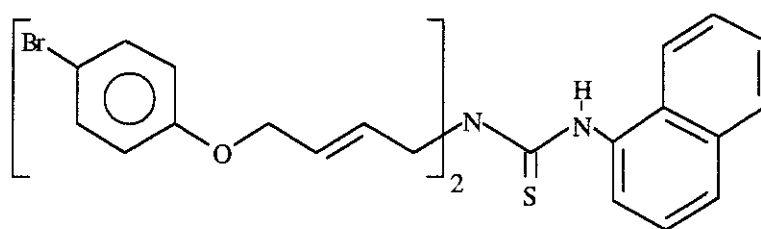
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3400	ν NH

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,51	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,63	m	4H	-CH ₂ -O-
	6,03	m	4H	=CH-
	6,78-7,40	m	6H	Ha
	7,40-7,88	m	7H	Hb

N-{bis[4-(4-bromophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-N'-(1-naphtyl)thiourée. Vi



C₃₁H₂₉Br₂N₂O₂S
Mr: 652,46

Cristaux blancs.

F (°C): 126

Rdt: 63 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,39

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3400	ν NH

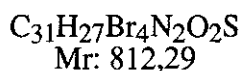
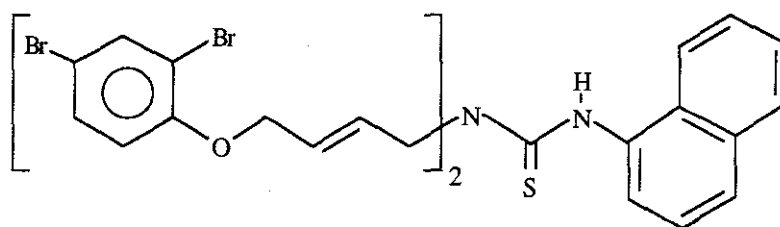
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,40	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,60	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,95	m	4H	=CH-
	6,55-7,95	m	8H	protons aromatiques

Analyse : C₃₁H₂₉Br₂N₂O₂S

	C %	H %	N %	S %	Cl %
Calc.	57,52	4,48	4,29	4,91	24,49
Tr.	57,08	4,40	4,22	4,50	24,33

N-{bis[4-(4-bromophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-N'-(1-naphtyl)thiourée. Vi



Cristaux blancs.

F (°C): 143

Rdt: 50 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,48

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3400	ν NH

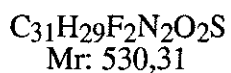
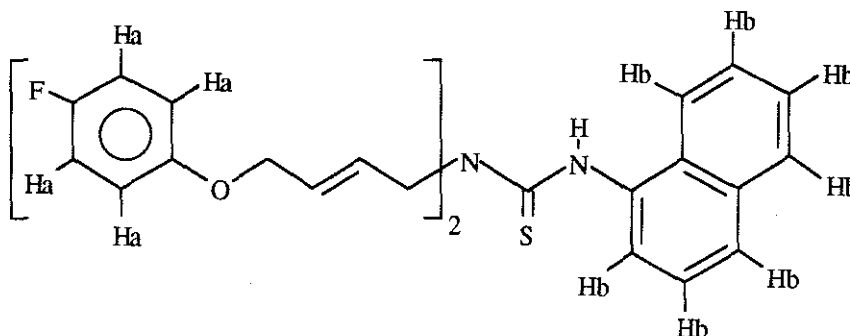
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,50	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,58	m	4H	-CH ₂ -O-
	6,00	m	4H	=CH-
	6,65-7,95	m	13H	protons aromatiques

Analyse : C₂₇H₂₇Br₄ClN₂O₂S

	C %	H %	N %	S %	Cl %
Calc.	45,83	3,23	3,45	3,95	39,35
Tr.	45,63	3,18	3,37	3,73	38,98

N-{bis[4-(4-fluorophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-N'-(1-naphtyl)thiourée Vk



Cristaux blancs.

F (°C): 126

Rdt: 84 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,42

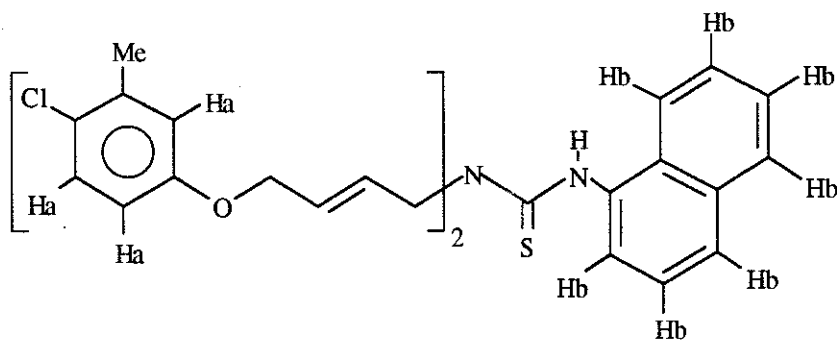
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1215	ν C=S
	3400	ν NH

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,35	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,62	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,94	m	4H	=CH-
	6,80-7,10	m	8H	Ha
	7,30-8,00	m	7H	Hb

N-[bis[4-(4-chloro-3-méthylphénoxy)but-2-èn-1-yl]]-N'-[1-naphtyl]thiourée.
VI



C₃₃H₃₂Cl₂N₂O₂S
Mr: 591,62

Cristaux blancs.

F (°C): 117

Rdt: 97 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,57

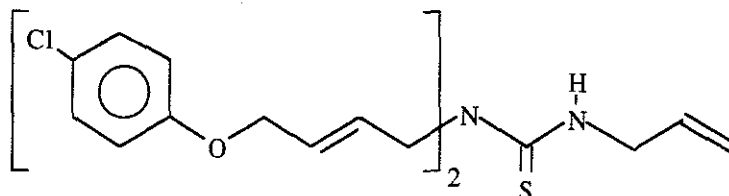
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3400	ν NH

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	2,30	s	6H	-CH ₃
	4,35	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,60	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,90	m	4H	=CH-
	6,50-7,30	m	6H	Ha
	7,30-7,90	m	7H	Hb

N-{bis[4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-*N'*-{1-allyl}thiourée. **Vm**



$C_{24}H_{26}Cl_2N_2O_2S$
Mr: 477,46

Produit pâteux.

Rdt: 73 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,47

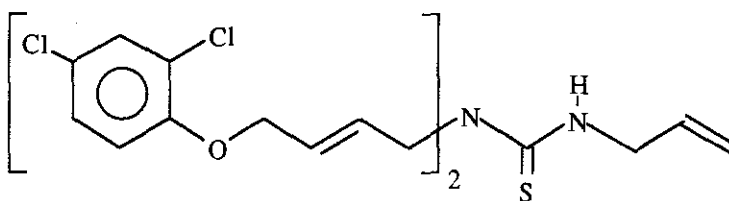
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3430	ν NH

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,28	m	2H	-CH ₂ -C=C-
	4,33	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,49	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,17-5,56	m	3H	-CH=CH ₂
	5,87	m	2H	=CH-
	6,77-7,28	m	8H	protons aromatiques

N-{bis[4-(2,4-dichlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-*N'*-{1-allyl}thiourée. **Vn**



$C_{24}H_{24}Cl_4N_2O_2S$
Mr: 546,35

Produit pâteux.

Rdt: 96,5 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,41

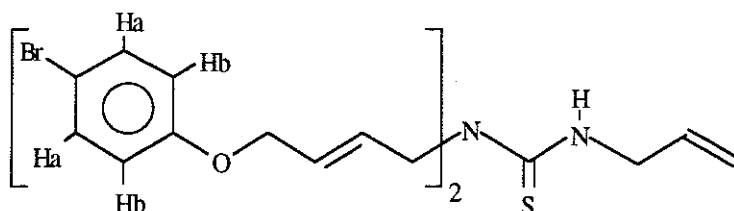
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3430	ν NH

RMN ^1H (200 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	4,30	m	2H	$-\text{CH}_2-\text{C}=\text{C}-$
	4,36	m	4H	$-\text{CH}_2-\text{N}-$
	4,57	m	4H	$-\text{CH}_2-\text{O}-$
	5,18-5,58	m	3H	$-\text{CH}=\text{CH}_2$
	5,95	m	4H	$=\text{CH}-$
	6,79-7,40	m	6H	protons aromatiques

N-{bis[4-(4-bromophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-N'-(1-allyl)thiourée. V_o



$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$
Mr: 566,37

Produit pâteux.

Rdt: 93 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,46

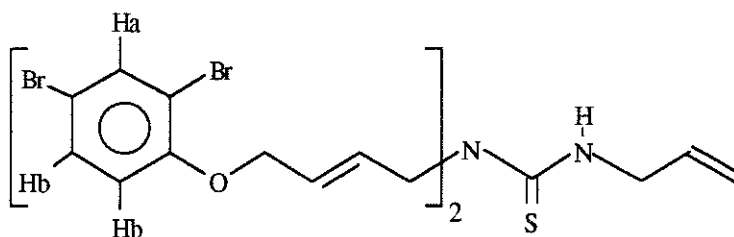
IR (nujol)

ν (cm^{-1})	1210	$\nu \text{ C}=\text{S}$
	3430	$\nu \text{ NH}$

RMN ^1H (200 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	4,28	m	2H	$-\text{CH}_2-\text{C}=\text{C}-$
	4,33	m	4H	$-\text{CH}_2-\text{N}-$
	4,48	m	4H	$-\text{CH}_2-\text{O}-$
	5,17-5,55	m	3H	$-\text{CH}=\text{CH}_2$
	5,85	m	2H	$=\text{CH}-$
	6,75	m	4H	Ha
	7,37	m	4H	Hb

N-{bis[4-(2,4-dibromophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-N'-(1-allyl)thiourée. V_p



$\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{Br}_4\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$
Mr: 726,20

Produit pâteux.

Rdt: 64 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,38

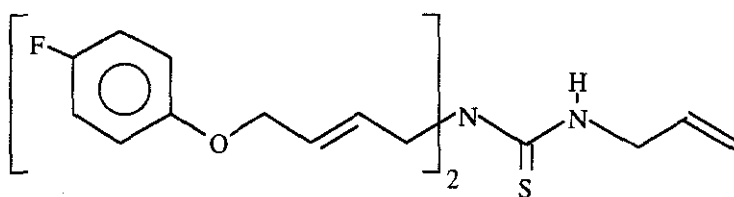
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3430	ν NH

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,29	m	2H	-CH ₂ -C=C-
	4,34	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,58	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,17-5,58	m	3H	-CH=CH ₂
	5,91	m	4H	=CH-
	7,32	m	2H	Ha
	7,68	m	4H	Hb

N-{bis[4-(4-fluorophénoxy)but-2-èn-1-yl]}-N'-[1-allyl]thiourée. Vq



C₂₄H₂₆F₂N₂O₂S
Mr: 444,55

Produit pâteux.

Rdt: 78 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,53

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3430	ν NH

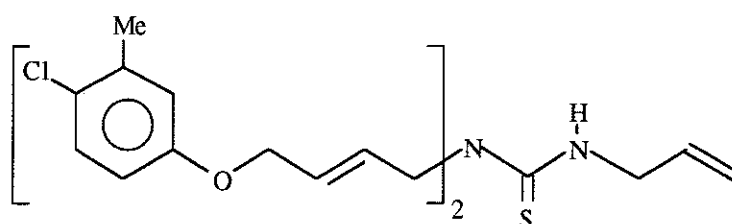
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,30	m	2H	-CH ₂ -C=C-
	4,34	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,48	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,17-5,58	m	3H	-CH=CH ₂
	5,86	m	4H	=CH-
	6,75-7,02	m	8H	protons aromatiques

Analyse : C₂₄H₂₆F₂N₂O₂S

	C %	H %	N %	S %	Cl %
Calc.	64,84	5,89	6,30	7,21	8,55
Tr.	65,21	5,94	6,21	7,28	8,44

N-{bis[4-(4-chloro-3-méthylphénoxy)but-2-èn-1-yl]}-N'-[1-allyl]thiourée. Vr



C₂₆H₃₀Cl₂N₂O₂S
Mr: 505,53

Produit pâteux..

Rdt: 75 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-2.

R_f: 0,56

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1210	ν C=S
	3430	ν NH

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	2,34	m	6H	-CH ₃
	4,34	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,48	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,16-5,58	m	3H	-CH=CH ₂
	5,86	m	4H	=CH-
	6,62-7,28	m	6H	protons aromatiques

Analyse : C₂₆H₃₀Cl₂N₂O₂S

	C %	H %	N %	S %	Cl %
Calc.	61,77	5,98	5,54	6,34	14,03
Tr.					

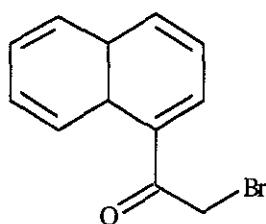
Obtention de la 2-(1-naphtyl)-1-bromoéthan-2-one. 30

♦ Méthode de synthèse.

240 mmol (42,00 g) de 1-acétonaphtone et 330 mg de trichlorure d'aluminium sont introduits dans 65 ml d'éther anhydre. Le mélange refroidi entre 5 - 10 °C est additionné au goutte à goutte de 240 mmol (12,77 g) de brome. L'addition dure environ 45 min.. et durant celle ci la température est maintenue en dessous de 10 °C. Lorsque l'addition est terminée l'éther et l'acide bromhydrique sont chassés sous vide. Le résidu huileux est additionné de 100 ml d'un mélange éther de pétrole - éther : 1-1 puis est extrait par 3 fois 50 ml d'éther. les phases étherées sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous vide. Le résidu huileux, réctifié à pression réduite, fournit 56,10 g du composé attendu.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

2-(1-naphtyl)-1-bromoéthan-2-one. 30



$C_{12}H_9BrO$

Mr: 249,10

Huile vert très clair.

E_b (°C): 176-178

Rdt: 92 %

IR (film)

ν (cm⁻¹) 1700 ν CO

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,49	s	2H	-CH ₂ -
	7,25-8,84	m	7H	protons aromatiques

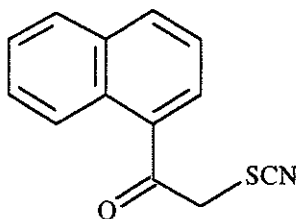
Obtention du 2-(1-naphtyl)-1-thiocyanatoéthan-2-one. 31

♦ méthode de synthèse.

120 mmol (9,16 g) de thiocyanate d'ammonium sont dissoutes dans 50 ml d'acétone (fraîchement distillée sur permanganate de potassium). Le mélange est refroidi à -10 °C et on additionne goutte à goutte 60 mmol de 2-(1-naphtyl)-1-bromoéthan-2-one 30. On observe immédiatement la formation d'un précipité de bromure d'ammonium. Après abandon du mélange réactionnel 1h. à -10 °C on chasse l'acétone sous vide. Le résidu pâteux obtenu, additionné de 100ml d'eau froide abandonne un solide qui est essoré sur Büchner puis mis en solution dans le minimum de dichlorométhane (40 ml). Après séchage de cette solution par du sulfate de magnésium et réduction de son volume par évaporation sous vide et enfin l'addition de 10 ml d'éther suivie d'un bref séjour au froid permet de collecter 7,64 g du composé attendu.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

2-(1-naphtyl)-1-thiocyanatoéthan-2-one. 31



C₁₃H₉NOS
Mr: 227,28

Cristaux légèrement roses.

F (°C): 56

Rdt: 56 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1665	ν CO
	2180	ν CN (SCN)

. RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,80	s	2H	-CH ₂ -
	7,60-8,80	m	7H	protons aromatiques

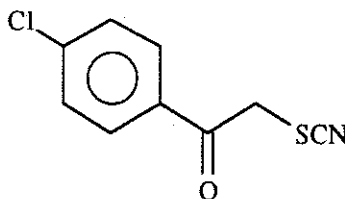
Obtention du 2-(4-chlorophényl)-1-thiocyanatoéthan-2-one. 32

♦ Méthode de synthèse.

0,13 mmol (10,00 g) de thiocyanate d'ammonium sont dissoutes dans 100 ml d'acétone (fraîchement distillée sur permanganate de potassium). On ajoute alors en une seule fois 65 mmol (15,00 g) de 2-(4-chlorophényl)-1-bromoéthan-2-one. On observe immédiatement une élévation de la température et la formation d'un précipité de bromure d'ammonium très important. Après 1h. à 20 °C l'acétone est éliminée sous vide et le résidu pâteux obtenu additionné de 100 ml d'eau glacée. Le composé obtenu est soigneusement essoré puis dissous dans 20 ml de dichlorométhane et séché sur sulfate de magnésium. La réduction à 10 ml du volume de dichlorométhane suivie de l'addition de 10 ml d'éther et enfin d'un séjour d'une nuit à 4 °C permet la précipitation de 9,81 g du composé attendu.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

2-(4-chlorophényl)-1-thiocyanatoéthan-2-one. 32



C₉H₆ClNOS
Mr: 207,73

Fines aiguilles blanches.

F (°C): 143

Rdt: 73 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1670	ν CO
	2170	ν CN (SCN)

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	5,10	2H	-CH ₂ -
	7,90	4H	protons aromatiques.

Obtention des 2-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)amino]-4-[4-chlorophényl]thiazoles et des 2-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)amino]-4-[1-naphtyl]thiazoles. VI (*)

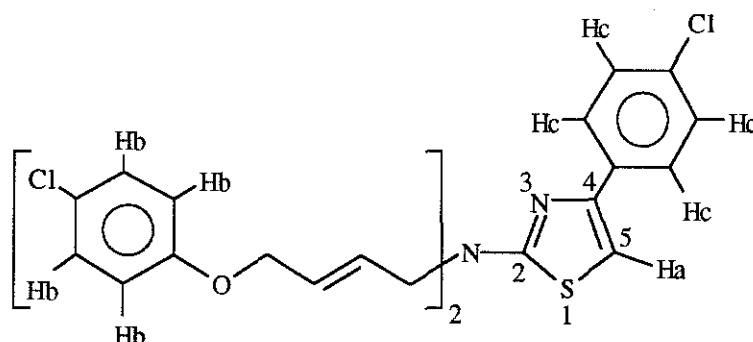
(*) Tous ces composés sont de stéréoisomérisation *E* (cf. p141)

♦ Méthode de synthèse

On prépare l'acétate d'amine par opposition d'une quantité équimolaire de 4,7 mmol (282 mg) de bis [4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]amine **24** dans 5 ml d'éthanol. On ajoute alors 4,7 mmol (994 mg) de 2-(4-chlorophényl)-1-thiocyanatoéthan-2-one **32** dans 1,5 ml d'éthanol. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 4,5 h. Après refroidissement et addition de 5 ml d'eau on extrait par 3 fois 5 ml de chloroforme. Les phases organiques sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium et réduites sous vide. Le résidu pâteux obtenu est purifié par chromatographie sur silice (éluant; éther de pétrole - éther: 8-1). On obtient ainsi 1,55 g du composé attendu.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

2-[bis[4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]amino]-4-[4-chlorophényl]thiazole.
VIa



C₂₉H₂₅Cl₃N₂O₂S
Mr: 568,00

Produit pâteux.

Rdt: 84 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique).

Eluant: acétone - éther de pétrole: 1-2

R_f: 0,42

IR (film / CCl₄)

ν (cm ⁻¹)	1550	ν C=N
---------------------------	------	-----------

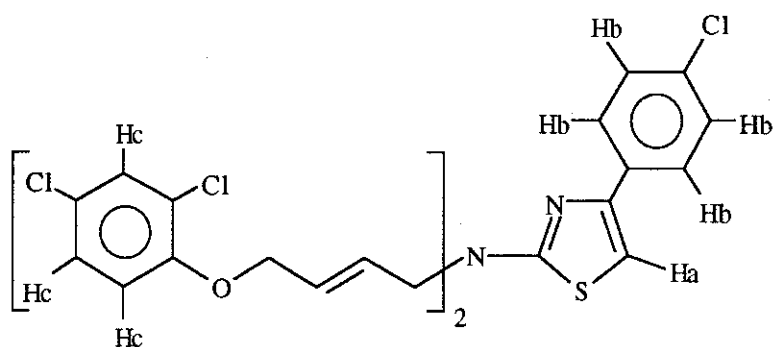
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,15	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,50	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,85	m	4H	=CH-
	6,70	s	1H	Ha
	6,80-7,80	m	8H	Hb
	7,30-7,80	m	4H	Hc

SM (I.E)

m/z	570 (9 %), 443 (100 %), 315 (9 %), 262 (77 %), 234 (28 %), 127 (48 %), 99 (68 %).
-----	---

2-{bis[4-(2,4-dichlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]amino}-4-{4-chlorophényl}thiazole.
VIb



C₂₉H₂₃Cl₅N₂O₂S

Mr: 636,80

Produit pâteux.

Rdt: 52 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille plastique).

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-1

R_f: 0,31

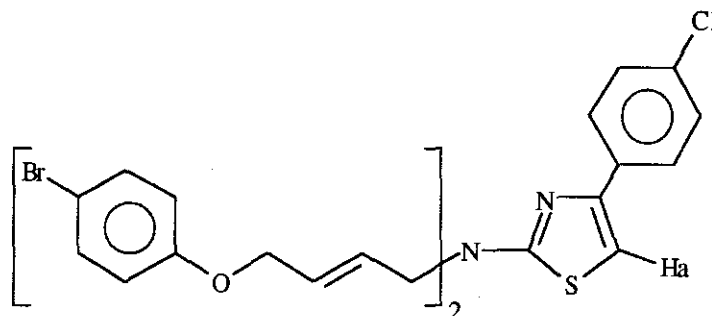
IR (film / CCl₄)

ν (cm ⁻¹)	1550	ν C=N
-----------------------	------	-------

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,15	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,55	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,90	m	4H	=CH-
	6,70	s	1H	Ha
	7,40-7,70	m	4H	Hb
	7,10-7,60	m	6H	Hc

2-[bis[4-(4-bromophénoxy)but-2-èn-1-yl]amino]-4-[4-chlorophényl]thiazole.
VIc



$C_{29}H_{25}Br_2ClN_2O_2S$
 Mr: 660,80

Produit pâteux.

Rdt: 30 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique).

Eluant: acétone - éther de pétrole: 1-2

Rf: 0,55

IR (CCl₄)

ν (cm⁻¹) 1550 ν C=N

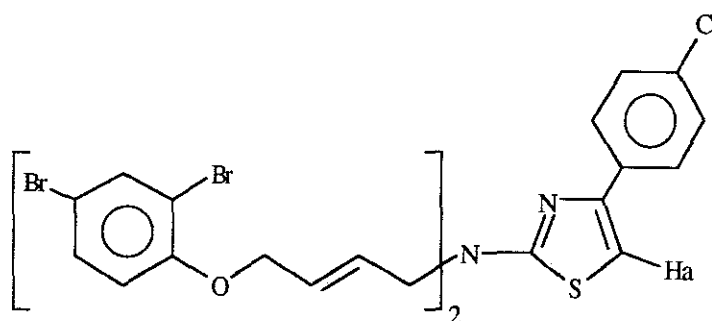
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,15	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,50	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,85	m	4H	=CH-
	6,70	s	1H	Ha
	6,72-7,92	m	12H	protons aromatiques

SM (I.E)

m/z 660 (12 %), 489 (100 %), 315 (11 %), 262 (57 %), 234 (26 %), 174 (58 %), 145 (41 %).

2-[bis[4-(2,4-dibromophénoxy)but-2-èn-1-yl]amino]-4-[4-chlorophényl]thiazole.
VIId



$C_{29}H_{23}Br_2ClN_2O_2S$
 Mr: 814,60

Produit pâteux.

Rdt: 36 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique).

Eluant: acétone - éther de pétrole: 1-2

R_f: 0,54

IR (film / CCl₄)

ν (cm⁻¹) 1550 ν C=N

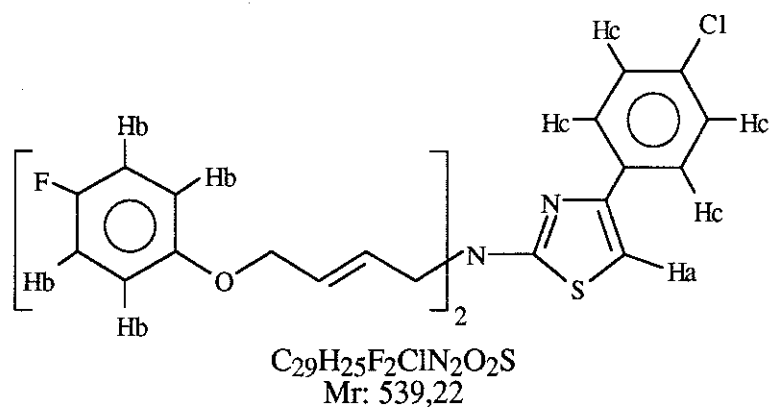
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,17	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,55	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,90	m	4H	=CH-
	6,70	s	1H	Ha
	6,72-7,84	m	13H	protons aromatiques

SM (I.E)

m/z 818 (4 %), 567 (17 %), 252 (62 %), 223 (29 %), 168 (14 %).

2-{bis[4-(4-fluorophénoxy)but-2-èn-1-yl]amino}-4-{4-chlorophényl}thiazole.
VIe



Produit pâteux.

Rdt: 46 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique).

Eluant: éther de pétrole - éther: 1-1

R_f: 0,54

IR (film / CCl₄)

ν (cm⁻¹) 1550 ν C=N

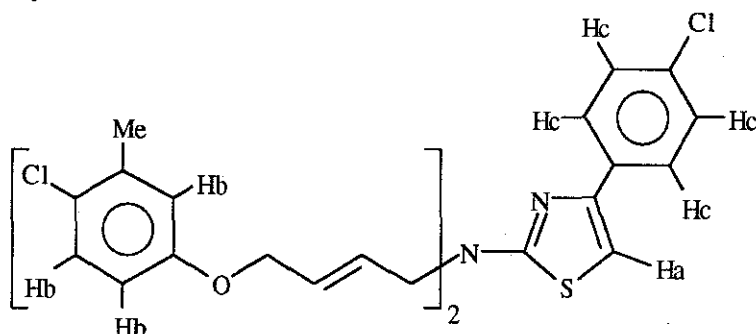
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,15	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,45	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,85	m	4H	=CH-
	6,70	s	1H	Ha
	6,80-7,10	m	8H	Hb
	7,25-7,90	m	4H	Hc

SM (I.E)

m/z 538 (39 %), 427 (100 %), 315 (7 %), 262 (74 %), 234 (30 %), 168 (14 %), 111 (97 %), 83 (81 %).

2-{bis[4-(4-chloro-3-méthylphénoxy)but-2-èn-1-yl]amino}-4-{4-chlorophényl}thiazole. VI f



$C_{31}H_{29}Cl_2N_2O_2S$
Mr: 596,05

Produit pâteux.

Rdt: 58%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique).

Eluant: acétone - éther de pétrole: 1-2

R_f: 0,62

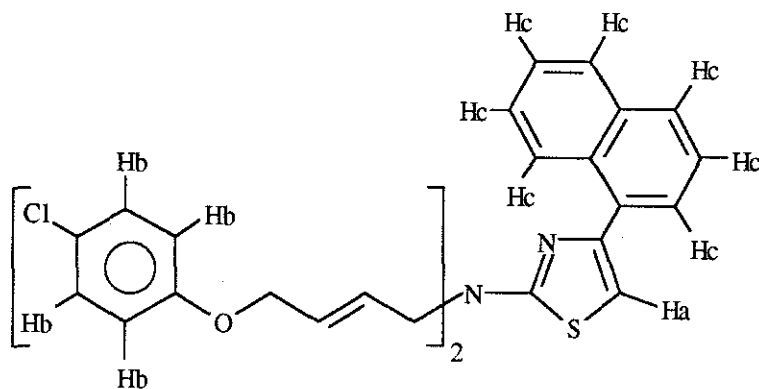
IR (film / CCl₄)

ν (cm⁻¹) 1550 ν C=N

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

d (ppm)				
2,30	s	6H	-CH ₃	
4,18	m	4H	-CH ₂ -N-	
4,50	m	4H	-CH ₂ -O-	
5,90	m	4H	=CH-	
6,65	s	1H	Ha	
6,70-7,40	m	6H	Hb	
7,30-7,80	m	4H	Hc	

2-{bis[4-(4-chlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]amino}-4-{1-naphtyl}thiazole. VI g



$C_{33}H_{28}Cl_2N_2O_2S$

Mr: 587,50

Produit pâteux.

Rdt: 44 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique).

Eluant: acétone - éther de pétrole: 1-2

R_f: 0,63

IR (film / CCl₄)

ν (cm⁻¹) 1550 ν C=N

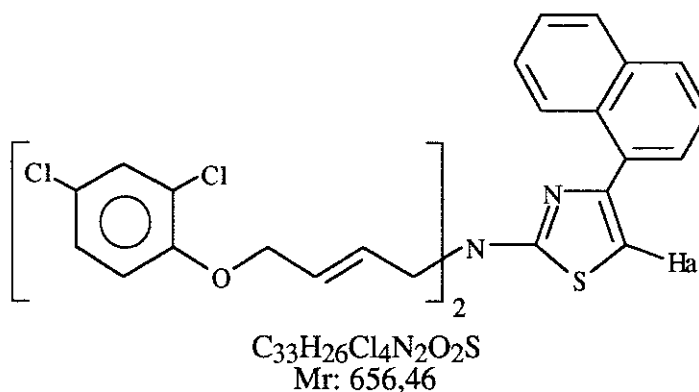
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,19	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,52	m	4H	-CH ₂ -O-
	6,39	m	4H	=CH-
	6,64	s	1H	Ha
	6,80-7,25	m	8H	Hb
	7,67-8,52	m	7H	Hc

SM (I.E)

m/z 586 (7 %), 459 (100 %), 331 (9 %), 278 (49 %), 250 (24 %), 184 (30 %), 152 (54 %), 127 (38 %), 99 (42 %).

2-[bis[4-(2,4-dichlorophénoxy)but-2-èn-1-yl]amino]-4-[1-naphtyl]thiazole. **VIIh**



Produit pâteux.

Rdt: 31 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique).

Eluant: acétone - éther de pétrole: 1-2

R_f: 0,50

IR (film / CCl₄)

ν (cm⁻¹) 1550 ν C=N

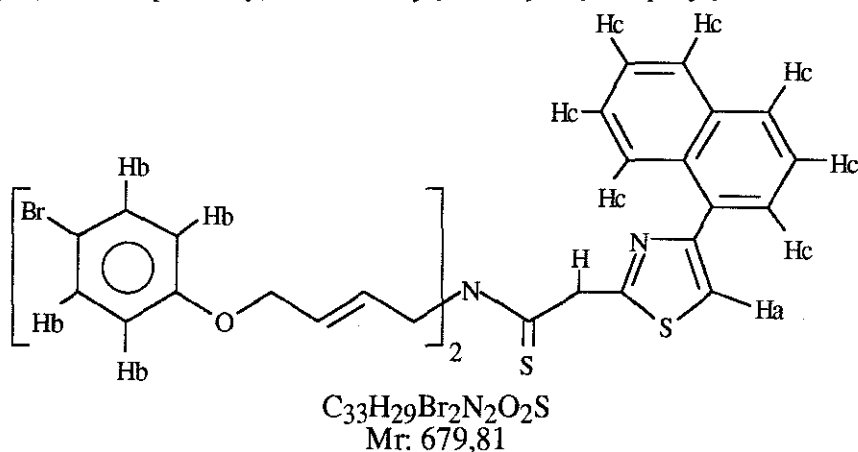
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,40	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,55	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,95	m	4H	=CH-
	6,62	s	1H	Ha
	6,75-8,50	m	13H	protons aromatiques.

SM (I.E)

m/z 656 (4 %), 493 (61 %), 331 (16 %), 278 (57 %), 250 (20 %), 184 (39 %), 162 (87 %), 152 (66 %), 133 (34 %), 98 (26 %), 63 (100 %)

2-{bis[4-(4-bromophénoxy)but-2-èn-1-yl]amino}-4-{1-naphtyl}thiazole. VII



Produit pâteux.

Rdt: 40 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique).

Eluant: acétone - éther de pétrole: 1-2

R_f: 0,56

IR (film / CCl₄)

ν (cm⁻¹) 1550 ν C=N

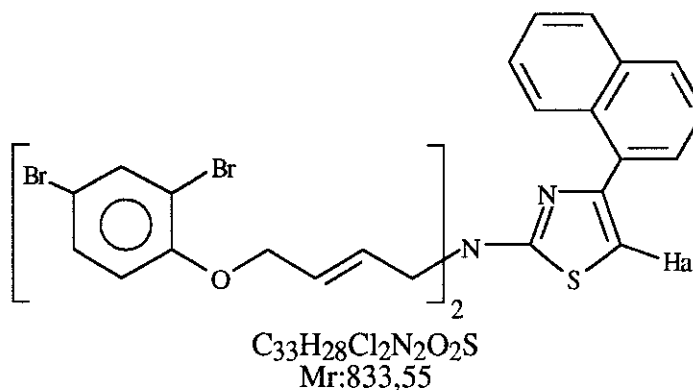
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,20	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,50	m	4H	-CH ₂ -O-
	6,40	m	4H	=CH-
	6,63	s	1H	Ha
	6,75-7,36	m	8H	Hb
	7,65-8,50	m	7H	Hc

SM (I.E)

m/z 676 (5 %), 505 (100 %), 331 (12 %), 278 (58 %), 250 (27 %), 184 (36 %), 152 (69 %), 131 (23 %).

2-{bis[4-(2,4-dibromophénoxy)but-2-èn-1-yl]amino}-4-{1-naphtyl}thiazole. VIj



Produit pâteux.

Rdt: 48 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique).

Eluant: acétone - éther de pétrole: 1-2

R_f: 0,58

IR (film / CCl₄)

ν (cm⁻¹) 1550 ν C=N

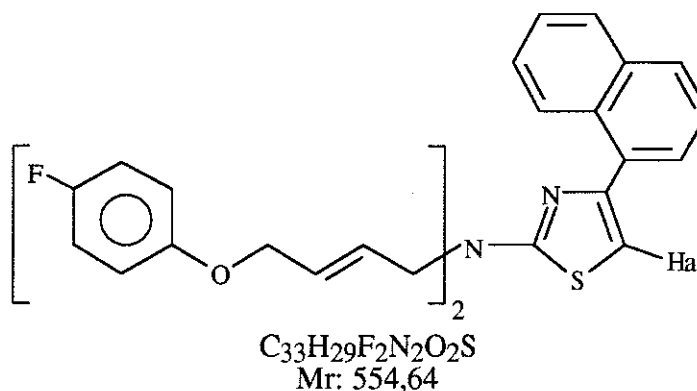
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,20	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,57	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,90	m	4H	=CH-
	6,62	s	1H	Ha
	6,70-8,47	m	13H	protons aromatiques

SM (I.E)

m/z 834 (1 %), 583 (7 %), 543 (3 %), 252 (16 %), 152 (13 %).

2-{bis[4-(4-fluorophénoxy)but-2-èn-1-yl]amino}-4-{1-naphtyl}thiazole. VIk



Produit pâteux.

Rdt: 35 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique).

Eluant: acétone - éther de pétrole: 1-2

R_f: 0,50

IR (film / CCl₄)

ν (cm⁻¹) 1550 ν C=N

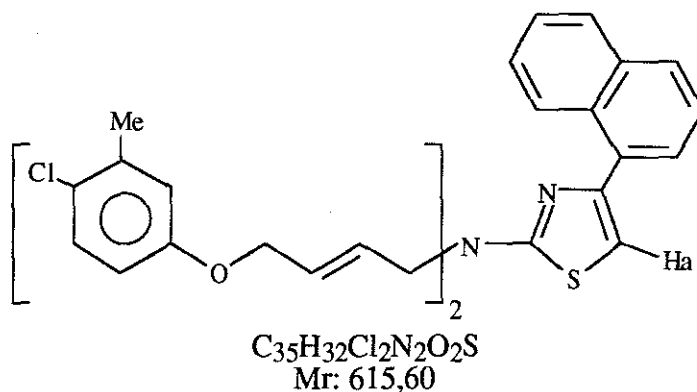
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,175	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,47	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,90	m	4H	=CH-
	6,62	s	1H	Ha
	6,70-8,50	m	13H	protons aromatiques

SM (I.E)

m/z 554 (10 %), 443 (100 %), 278 (35 %), 250 (19 %), 184 (17 %),
152 (41 %), 111 (40 %).

2-[bis[4-(4-chloro-3-méthylphénoxy)but-2-èn-1-yl]amino]-4-[1-naphtyl] thiazole.
VII



Produit pâteux.

Rdt: 30 %

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille plastique).

Eluant: acétone - éther de pétrole: 1-2

R_f: 0,63

IR (film / CCl₄)

ν (cm⁻¹) 1550 ν C=N

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	2,32	s	6H	-CH ₃
	4,17	m	4H	-CH ₂ -N-
	4,47	m	4H	-CH ₂ -O-
	5,92	m	4H	=CH-
	6,62	s	1H	Ha
	6,65-8,37	m	13	protons aromatiques

SM (I.E)

m/z 614 (3 %), 473 (40 %), 331 (7 %), 278 (27 %), 250 (14 %),
184 (23 %), 152 (39 %), 77 (100 %).

**Obtention des isothiocyanates de 4-biphényle 33 et de 4-tertiobutyl -
phényle. 34**

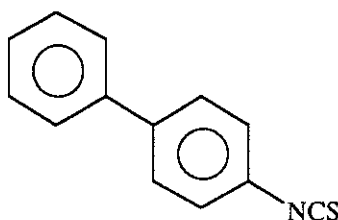
♦ Méthode de synthèse.

Le protocole opératoire étant identique pour ces deux composés nous ne décrivons que celui de l'isothiocyanate de 4-biphényle. 33

On refroidit à -10 °C un mélange constitué par 15 ml de pyridine, 0,5 mmol (30 ml) de disulfure de carbone et 73 mmol (15,20 g) de dicyclohexylcarbodiimide. On additionne goutte à goutte une solution de 73 mmol (12,50 g) de 4-biphénylamine dans 15 ml de pyridine. A la fin de l'addition on observe la formation d'un précipité de dicyclohexylurée. Le milieu réactionnel est abandonné 4 h. à -10 °C puis 18 h. à 20 °C. La dicyclohexylurée est alors essorée et lavée avec 20 ml d'éther. Le filtrat est concentré sous vide. Le résidu visqueux obtenu est additionné de 100 ml d'éther et placé 1h. à 4 °C puis filtré pour éliminer le dicyclohexyldiurée nouvellement précipité. Le filtrat est concentré sous vide et le résidu huileux obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant comme éluant un mélange éther de pétrole - éther 100-15 (Pour l'isothiocyanate de 4-t.butylphényle 34, l'élution est effectuée par un mélange éther de pétrole - chloroforme: (10-1).

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Isothiocyanate de 4-biphényle. 33



C₁₃H₉NS
Mr: 211,35

Cristaux blancs.

F (° C): 71

Rdt: 57 %

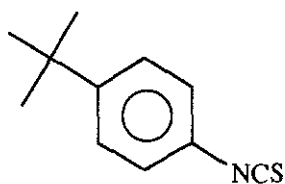
IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 2100 ν NCS

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm) 7,29-7,72 m 9H protons aromatiques.

Isothiocyanate de 4-t.butylphényle. 34



C₁₁H₁₄NS
Mr: 192,30

Cristaux blancs.

F (° C): 38

Rdt: 88 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 2100 ν NCS

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,31	s	9H	-CH ₃
	7,12-7,29	m	4H	protons aromatiques

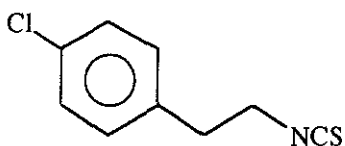
Obtention de l'isothiocyanate de 2-(4-chlorophényl)-1-éthyle. 35

♦ Méthode de synthèse.

Un mélange constitué par 59,54 mmol (10,60 g) de thiocarbonyldiimidazole et de chloroforme anhydre est refroidi à 0 °C. On additionne goutte à goutte 59,54 mmol (9,2g) de 2-(4-chlorophényl)éthylamine dans 50 ml de chloroforme. L'addition est effectuée en 1 h. et durant celle-ci on laisse la température revenir à 20 °C. Le milieu réactionnel est abandonné 1 h. à 20 °C. Le chloroforme est alors chassé sous vide et le résidu huileux obtenu est additionné de 100 ml d'éther puis placé 1 h. au froid. L'imidazole abandonné par le milieu réactionnel est essoré. Le filtrat est concentré sous vide et la liqueur ainsi obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice (Eluent: chloroforme - éther de pétrole: 8-2) donnant 7,9 g du composé attendu.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Isothiocyanate de 2-(4-chlorophényl)-1-éthyle. 35



C₉H₈ClNS
Mr: 179,25

Liquide légèrement vert.

n_D^{20} : 1,5945

Rdt: 69 %

IR (film)

ν (cm⁻¹) 2100 ν NCS

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	2,96	t	2H	-CH ₂ -N-
	3,69	t	2H	-CH ₂ -O-
	7,12-7,29	m	4H	protons aromatiques

Obtention des 4-acyl-1-arylthiosemicarbazides 36-40, 41-45, 46-50, 51-55 et 4-acyl-1-[2-(4-chlorophényl)éthyl]thiosemicarbazides. 56-59

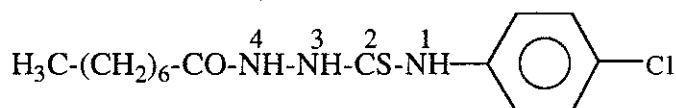
♦ Méthode de synthèse.

Le protocole opératoire étant le même pour tous les composés **36-59** nous rapportons uniquement celui du 4-n.octanoyl-1-(4-chlorophényl)thiosemicarbazide. **36**

On porte à reflux durant 1,5 h.⁽¹⁾ 11,4 mmol (1,80 g) d'octanoylhydrazide, 13,7 mmol (2,32 g) de isothiocyanate de 4-chlorophényle et 25 ml de tétrahydrofurane. Le milieu réactionnel est ensuite concentré sous vide puis additionné de 40 ml d'éther. Un séjour de 1 h. au froid permet la précipitation du composé attendu qui est essoré sur Büchner puis recristallisé dans un mélange éthanol - éther: 1-1.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

4-n.octanoyl-1-(4-chlorophényl)thiosemicarbazide. 36



C₁₅H₂₂ClN₃OS
Mr: 327,88

Cristaux blancs.

F (°C): 162

Rdt: 43 %

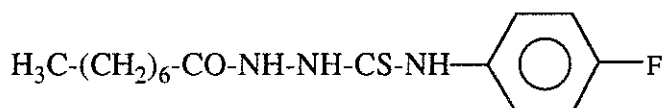
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3180-3250	ν NH

RMN ¹H (60 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,70-2,30	m	15H	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -
	7,35	m	4H	protons aromatiques
	9,40	s	1H	
	9,50	s	1H	}-CO-NH-NH-CS-NH-
	9,70	s	1H	

4-n.octanoyl-1-(4-fluorophényl)thiosemicarbazide. 37



C₁₅H₂₂FN₃OS
Mr: 311,42

Cristaux blancs.

F (°C): 158

Rdt: 39 %

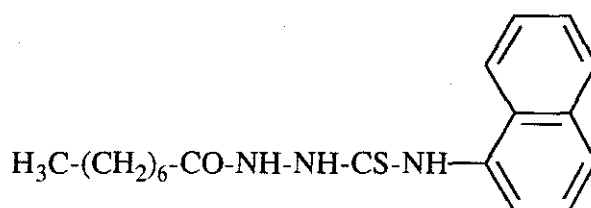
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3170-3250	ν NH

RMN ¹H (60 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,50-2,30	m	15H	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -
	6,50-7,40	m	4H	protons aromatiques
	8,65-9,05	m	3H	-CO-NH-NH-CS-NH-

4-n.octanoyl-1-(1-naphtyl)thiosemicarbazide. 38



C₁₉H₂₅ClN₃OS
Mr: 343,49

Cristaux blancs.

F (°C): 173

Rdt: 66 %

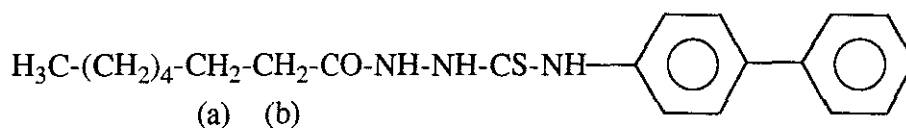
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3170-3250	ν NH

RMN ¹H (60 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,60-2,40	m	15H	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -
	7,20-8,00	m	7H	protons aromatiques
	9,45	s	1H	
	9,65	s	1H	}-CO-NH-NH-CS-NH-
	9,80	s	1H	

4-n.octanoyl-1-(4-biphényl)thiosemicarbazide. 39



C₂₁H₂₇ClN₃OS
Mr: 369,53

Cristaux blancs.

F (°C): 179

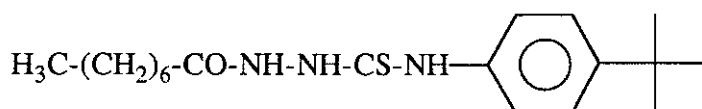
Rdt: 53 %

IR (nujol)		
ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3180-3250	ν NH

RMN ^1H (200 MHz / DMSO d_6)

δ (ppm)	0,87	t	15H	-CH ₃ -
	1,27	m	4H	-CH ₂ -
	1,58	qt	1H	Ha
	2,20	t	1H	Hb
	7,29-7,72	m	9H	protons aromatiques
	9,59	s	3H	-CO-NH-NH-CS-NH-
	9,85	s		

4-n.octanoyl-1-(4-tertiobutylphényl)thiosemicarbazide. 40



C₁₉H₃₁N₃OS
Mr: 351,54

Cristaux blancs.

F (°C): 156

Rdt: 58 %

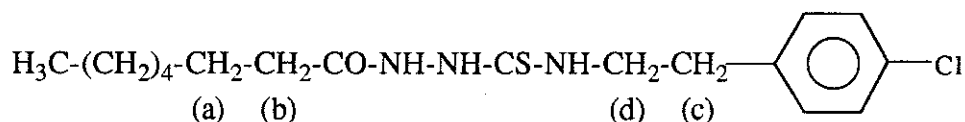
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3180-3250	ν NH

RMN ^1H (60 MHz / DMSO d_6)

δ (ppm)	0,60-2,40	m	24H	CH ₃ -(CH ₂) ₆ - et -C-(CH ₃) ₃
	7,20-7,30	m	4H	protons aromatiques
	9,30	s	} 3H	-CO-NH-NH-CS-NH-
	9,65	s		

4-n.octanoyl-1-[2-(4-chlorophényl)éthyl]thiosemicarbazide. 56



C₁₇H₂₆ClN₃OS
Mr: 372,58

Cristaux blancs.

F (°C): 179

Rdt: 76 %

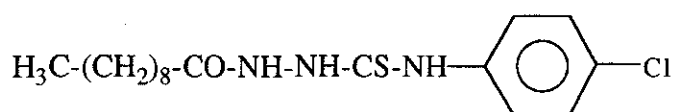
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1670	ν CO
	3300	ν NH

RMN ^1H (200 MHz / DMSO d_6)

δ (ppm)	0,85	t	3H	$-\text{CH}_3-$
	1,27	m	8H	$-(\text{CH}_2)_4-$
	1,50	qt	2H	Ha
	2,12	t	2H	Hb
	2,80	t	2H	Hc
	3,57	q	2H	Hd
	7,25	m	4H	protons aromatiques
	7,87	t	1H	$-\text{CS}-\text{NH}-$
	9,17	s	1H	$\text{ }-\text{CO}-\text{NH}-\text{NH}-\text{CS}-$
	9,57	s	1H	

4-décanoyl-1-(4-chlorophényl)thiosemicarbazide. 41



$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{OS}$
Mr: 353,92

Cristaux blancs.

F ($^{\circ}\text{C}$): 150

Rdt: 47 %

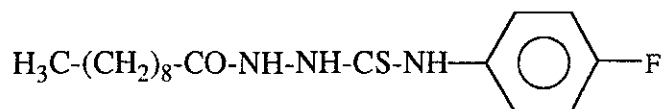
IR (nujol)

ν (cm^{-1})	1685	ν CO
	3200-3260	ν NH

RMN ^1H (60 MHz / DMSO d_6)

δ (ppm)	0,50-2,30	m	19H	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_8-$
	7,00-7,50	m	4H	protons aromatiques
	9,40 et 9,60	m	3H	$-\text{CO}-\text{NH}-\text{NH}-\text{CS}-\text{NH}-$

4-décanoyl-1-(4-fluorophényl)thiosemicarbazide. 42



$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{FN}_3\text{OS}$
Mr: 337,46

Cristaux blancs.

F ($^{\circ}\text{C}$): 157

Rdt: 49 %

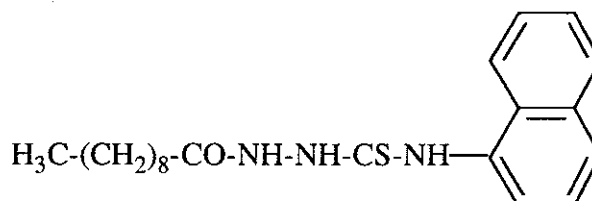
IR (nujol)

ν (cm^{-1})	1690	ν CO
	3180-3250	ν NH

RMN ^1H (60 MHz / DMSO d_6)

δ (ppm)	0,30-2,10	m	19H	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_8-$
	6,40-7,30	m	4H	protons aromatiques
	8,45 et 8,80	m	3H	$-\text{CO}-\text{NH}-\text{NH}-\text{CS}-\text{NH}-$

4-décanoyl-1-(1-naphtyl)thiosemicarbazide. 43



$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{FN}_3\text{OS}$
Mr: 337,46

Cristaux blancs.

F ($^{\circ}\text{C}$): 168

Rdt: 31 %

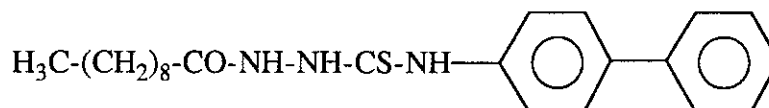
IR (nujol)

ν (cm^{-1})	1690	ν CO
	3180-3280	ν NH

RMN ^1H (60 MHz / DMSO d_6)

δ (ppm)	0,70-2,30	m	19H	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_8-$
	7,30-8,00	m	7H	protons aromatiques
	8,45 et 8,80 et 9,85	m	3H	$-\text{CO}-\text{NH}-\text{NH}-\text{CS}-\text{NH}-$

4-décanoyl-1-(4.-biphényl)thiosemicarbazide. 44



$\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{OS}$
Mr: 395,57

Cristaux blancs.

F ($^{\circ}\text{C}$): 176

Rdt: 48 %

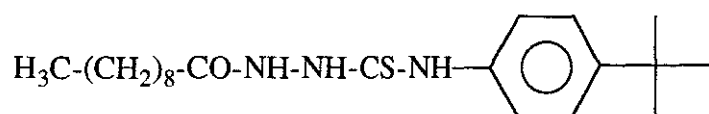
IR (nujol)

ν (cm^{-1})	1690	ν CO
	3170-3260	ν NH

RMN ^1H (60 MHz / DMSO d_6)

δ (ppm)	0,50-2,30	m	19H	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_8-$
	7,20-7,70	m	9H	protons aromatiques
	8,50 et 9,55 et 9,75	m	3H	$-\text{CO}-\text{NH}-\text{NH}-\text{CS}-\text{NH}-$

4-décanoyl-1-(4-tertobutylphényl)thiosemicarbazide. 45



$\text{C}_{21}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{OS}$
Mr: 377,57

Cristaux blancs.

F (°C): 136

Rdt: 44 %

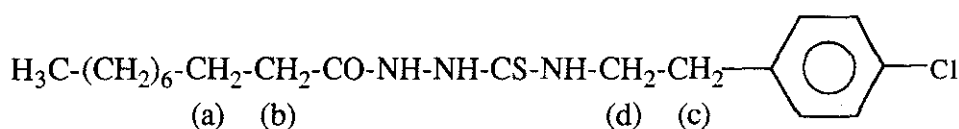
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3110-3240	ν NH

RMN ¹H (60 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,60-2,20	m	28H	CH ₃ -(CH ₂) ₈ - et -C-(CH ₃) ₃
	7,20	m	4H	protons aromatiques
	9,30 et 9,60	m	3H	-CO-NH-NH-CS-NH-

4-décanoyl-1-[2-(4-chlorophényl)éthyl]thiosemicarbazide. 57



$\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{OS}$
Mr: 395,57

Cristaux blancs.

F (°C): 173

Rdt: 88 %

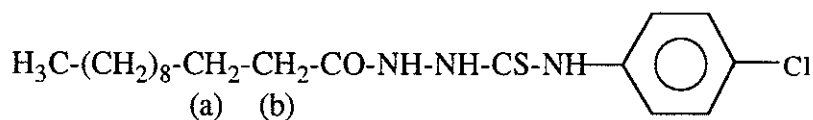
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1670	ν CO
	3170-3300	ν NH

RMN ¹H (200 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,85	t	3H	-CH ₃ -
	1,22	m	8H	-(CH ₂) ₄ -
	1,47	qt	2H	Ha
	2,10	t	2H	Hb
	2,80	t	2H	Hc
	3,60	q	2H	Hd
	7,27	m	4H	protons aromatiques
	7,87	t	1H	-CS-NH-
	9,17	s	1H	}-CO-NH-NH-CS-
	9,60	s	1H	

4-dodécanoyl-1-(4-chlorophényl)thiosemicarbazide. 46



$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{ClN}_3\text{OS}$
Mr: 379,96

Cristaux blancs.

F (°C): 152

Rdt: 58 %

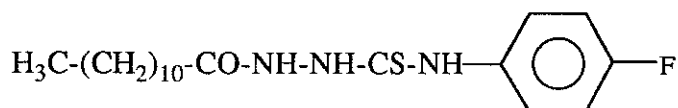
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3200-3260	ν NH

RMN ¹H (200 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,85	t	3H	-CH ₃ -
	1,28	m	16H	-(CH ₂) ₈ -
	1,52	qt	2H	Ha
	2,17	t	2H	Hb
	7,30-7,57	m	4H	protons aromatiques
	9,62	s	3H	-CO-NH-NH-CS-NH-
	9,82	s		

4-dodécanoyl-1-(4-fluorophényl)thiosemicarbazide. 47



$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{FN}_3\text{OS}$
Mr: 363,5

Cristaux blancs.

F (°C): 137

Rdt: 39 %

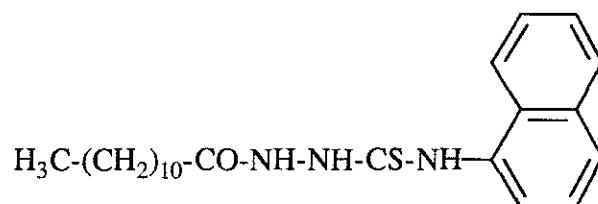
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3150-3230	ν NH

RMN ¹H (60 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,40-2,20	m	23H	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -
	6,70-7,40	m	4H	protons aromatiques
	9,30	m	3H	-CO-NH-NH-CS-NH-
	9,60	m		

4-dodécanoyl-1-(1-naphtyl)thiosemicarbazide. 48



$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{OS}$
Mr: 395,57

Cristaux blancs.

F (°C): 158

Rdt: 77 %

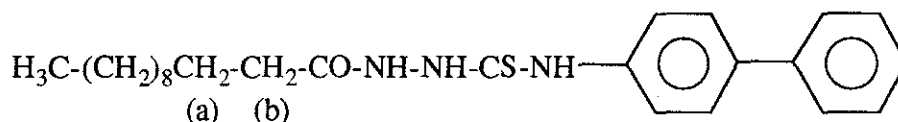
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3280-3320	ν NH

RMN ¹H (60 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,60-2,40	m	23H	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -
	7,20-8,00	m	4H	protons aromatiques
	9,45	m	1H	
	9,75	s	1H	}-CO-NH-NH-CS-NH-
	9,85	s	1H	

4-dodécanoyl-1-(4-biphényl)thiosemicarbazide. 49



$\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{OS}$
Mr: 421,61

Cristaux blancs.

F (°C): 174

Rdt: 53 %

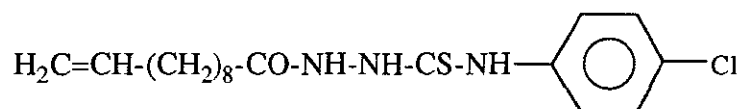
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3270-3310	ν NH

RMN ¹H (200 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,85	t	3H	-CH ₃ -
	1,24	m	16H	-(CH ₂) ₈ -
	1,54	qt	2H	Ha
	2,19	t	2H	Hb
	7,29-7,71	t	4H	protons aromatiques
	9,55	m	2H	}-CO-NH-NH-CS-NH-
	9,84	s	1H	

4-(undec-9-én-1-oyl)-1-(4-chlorophényl)thiosemicarbazide. 51



$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{OS}$
Mr: 365,93

Cristaux blancs.

F (°C): 149

Rdt: 40 %

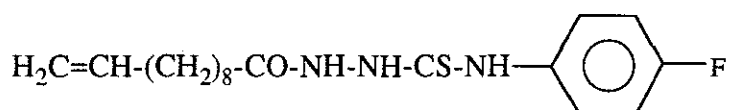
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3180-3250	ν NH

RMN ¹H (200 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,50-2,20	m	16H	-(CH ₂) ₈ -
	4,40-4,80	m	2H	-CH ₂ =C-
	5,10-5,60	m	1H	C=CH-
	6,80-7,40	m	4H	protons aromatiques
	8,60	s	}3H	-CO-NH-NH-CS-NH-
	9,82	s		

4-(undec-9-én-1-oyl)-1-(4-fluorophényl)thiosemicarbazide. 52



$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{FN}_3\text{OS}$
Mr: 365,93

Cristaux blancs.

F (°C): 148

Rdt: 50 %

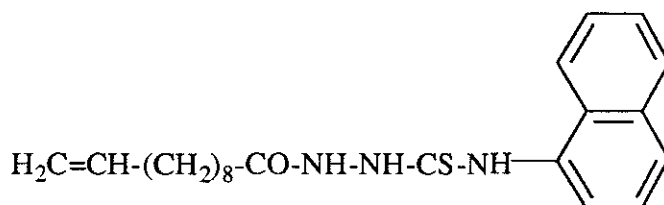
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3170-3270	ν NH

RMN ¹H (200 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,60-2,50	m	16H	-(CH ₂) ₈ -
	4,80-5,20	m	2H	-CH ₂ =C-
	5,50-6,20	m	1H	C=CH-
	6,80-7,60	m	4H	protons aromatiques
	8,95	s	}3H	-CO-NH-NH-CS-NH-
	9,25	s		

4-(undec-9-én-1-oyl)-1-(1-naphtyl)thiosemicarbazide. 53



$C_{22}H_{29}N_3OS$

Mr: 381,54

Cristaux blancs.

F (°C): 154

Rdt: 39 %

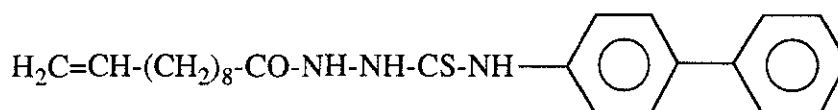
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3170-3230	ν NH

RMN ¹H (60 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,70-2,50	m	16H	-(CH ₂) ₈ -
	4,70-5,15	m	2H	-CH ₂ =C-
	5,30-6,00	m	1H	C=CH-
	7,20-8,00	m	7H	protons aromatiques
	9,50	s	1H	-CS-NH-
	9,65	s	1H	}-CO-NH-NH-CS-
	9,85	s	1H	

4-(undec-9-én-1-oyl)-1-(4-biphényl)thiosemicarbazide. 54



Mr: 407,58

Cristaux blancs.

F (°C): 147

Rdt: 53 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1690	ν CO
	3250-3310	ν NH

RMN ¹H (60 MHz / DMSO d₆)

δ (ppm)	0,70-2,50	m	16H	-(CH ₂) ₈ -
	4,70-5,15	m	2H	-CH ₂ =C-
	5,45-6,00	m	1H	C=CH-
	7,20-7,70	m	9H	protons aromatiques
	9,05	m	3H	}-CO-NH-NH-CS-NH-
	9,25	m		

RMN ^1H (200 MHz / DMSO d_6)

δ (ppm)				
1,25	m	10H	-(CH ₂) ₅ -	
1,48	qt	2H	Ha	
2,05	t	2H	C=C-CH ₂ -	
2,10	t	4H	Hb	
2,80	t	2H	Hc	
3,60	t	2H	Hd	
4,95	m	2H	CH ₂ =C-	
5,78	m	2H	=CH-	
7,25	m	4H	protons aromatiques	
7,85	t	1H	-CS-NH-	
9,14	s	1H	}-CO-NH-NH-CS-	
9,57	s	1H		

Obtention des 5-alcoyl-4-aryl-3-mercapto-1,2,4-triazoles *VIIa-t* et 5-alcoyl-4-[2(4-chlorophényl)éthyl]-3-mercapto-1,2,4-triazoles. *VIIIu-x*

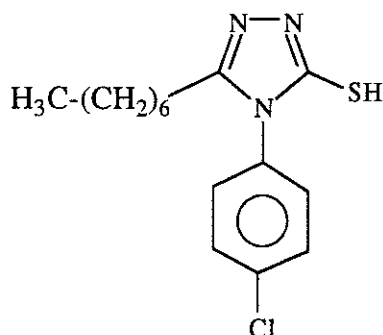
♦ Méthode de synthèse.

Le protocole opératoire étant identique pour tous les composés de la série **VII** nous décrivons uniquement celui du 4-n.heptyl-4-(4-chlorophényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. **VIIa**

1,71 mmol (800 mg) de 4-octanoyl-1-(4-chlorophényl)thiosemicarbazide **36**, 2,14 mmol (120 mg) d'hydroxyde de sodium et 8 ml d'eau sont portés à reflux pendant 3h. Après refroidissement, le milieu réactionnel est acidifié à pH = 5 par une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 5 %. Le précipité blanc obtenu est dissous dans 10 ml de chloroforme. La phase organique est décantée et la phase aqueuse extraite par deux fois 10 ml d'éther. Les phases chloroformiques et étherées sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées sous vide. Le résidu solide obtenu est recristallisé dans le tétrachlorure de carbone.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

5-heptyl-4-(4-chlorophényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. **VIIa**



$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{S}$
Mr: 345,89

Cristaux blancs.

F (°C): 119

Rdt: 37 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹)

1325

ν CS

1570

ν C=N

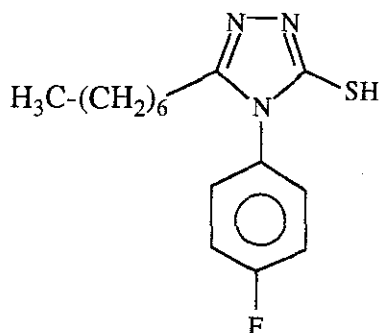
RMN ^1H (60 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	0,70-2,70	m	15H	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_6\text{-}$
	7,20-7,70	m	4H	protons aromatiques
	13,20	s	1H	SH

SM (I.E)

m/z	309 (100 %), 294 (5 %), 280 (16 %), 266 (11 %), 252 (15 %), 238 (79 %), 225 (50 %), 152 (30 %), 125 (53 %), 115 (36 %).
-----	---

5-heptyl-4-(4-fluorophényl)-3-mercaptop-1,2,4-triazole. VIIb



$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{S}$
Mr: 293,40

Cristaux blancs.

F ($^{\circ}\text{C}$): 124

Rdt: 67 %

IR (nujol)

ν (cm^{-1})	1325	ν CS
	1575	ν C=N

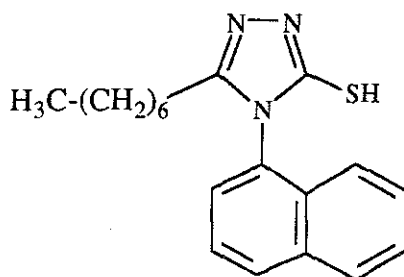
RMN ^1H (60 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	0,70-2,80	m	15H	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_6\text{-}$
	7,20-7,60	m	4H	protons aromatiques
	13,35	s	1H	SH

SM (I.E)

m/z	293 (100 %), 278 (4 %), 264 (7 %), 250 (6 %), 236 (7 %), 222 (34 %), 209 (18 %), 136 (15 %), 109 (26 %), 95 (17 %).
-----	---

5-heptyl-4-(1-naphtyl)-3-mercaptop-1,2,4-triazole. VIIc



$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{S}$
Mr: 325,47

Cristaux blancs.

F (°C): 190

Rdt: 79 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1575	ν C=N

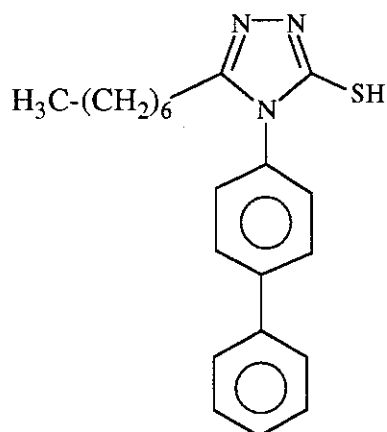
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,65-2,60	m	15H	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -
	7,30-8,20	m	7H	protons aromatiques
	13,55	s	1H	SH

SM (I.E)

m/z	325 (100 %), 310 (5 %), 296 (29 %), 282 (17 %), 268 (8 %), 254 (5 %), 241 (59 %), 141 (32 %), 128 (70 %), 115 (46 %).			
-----	--	--	--	--

5-heptyl-4-(4-biphényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. VII d



C₂₁H₂₅N₃S
Mr: 351,51

Cristaux blancs.

F (°C): 140

Rdt: 73 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1575	ν C=N

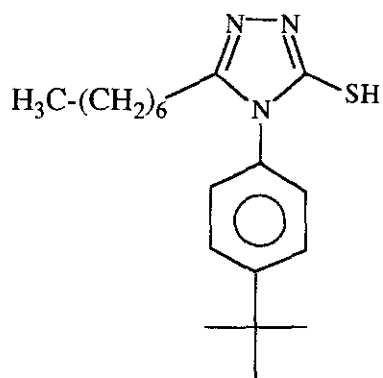
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,60-2,80	m	15H	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -
	7,25-7,90	m	9H	protons aromatiques
	13,05	s	1H	SH

SM (I.E)

m/z	351 (86 %), 322 (23 %), 308 (12 %), 294 (11 %), 280 (100 %), 267 (71 %), 194 (18 %), 167 (51 %), 152 (43 %), 115 (11 %).			
-----	---	--	--	--

5-heptyl-4-(4-tertiobutylphényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIe



$C_{19}H_{29}N_3S$
Mr: 333,52

Cristaux blancs.

F (°C): 120

Rdt: 62 %

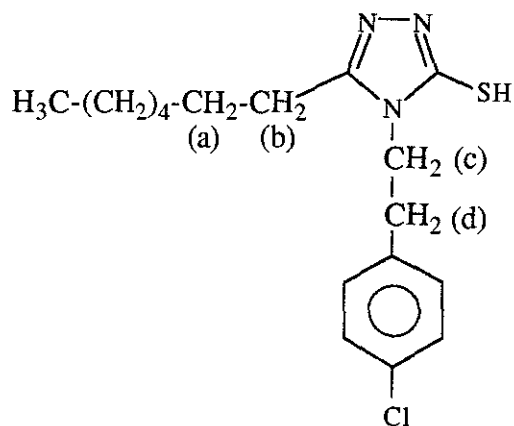
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1575	ν C=N

RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,70-2,60	m	24H	CH ₃ -(CH ₂) ₆ - et C-(CH ₃) ₃
	7,05-7,65	m	4H	protons aromatiques
	13,30	s	1H	SH

5-heptyl-4-[2-(4-chlorophényl)éthyl]-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIu



$C_{17}H_{24}ClN_3S$
Mr: 337,91,40

Cristaux blancs.

F (°C): 118

Rdt: 89 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1350	ν CS
	1570	ν C=N

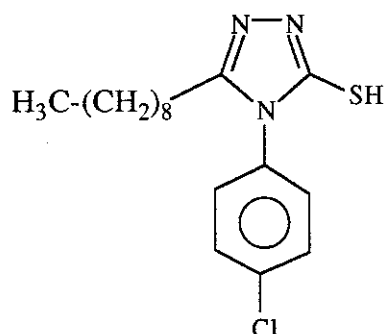
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)				
0,95	t	3H	-CH ₃	
1,15	m	8H	-(CH ₂) ₄ -	
1,55	qt	2H	Ha	
2,15	t	2H	Hb	
3,10	t	2H	Hc	
4,15	t	2H	Hd	
7,20	m	4H	protons aromatiques	
11,92	s	1H	SH	

SM (I.E)

m/z 337 (9 %), 138 (100 %), 115 (7 %), 103 (26 %), 776 (7 %).

5-nonyl-4-(4-chlorophényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. **VIIIf**



C₁₇H₂₄ClN₃S
Mr: 337,90

Cristaux blancs.

F (°C): 96

Rdt: 59 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)		
1325		ν CS
1575		ν C=N

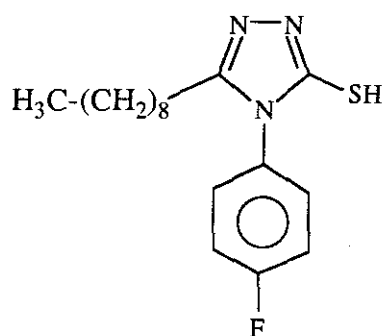
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)				
0,60-2,70	m	19H	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -	
7,02-7,70	m	4H	protons aromatiques	
13,45	s	1H	SH	

S.M (I.E)

m/z 337 (89 %), 322 (13 %), 308 (15 %), 294 (21 %), 280 (23 %), 266 (5 %), 252 (16 %), 238 (100 %), 152 (30 %), 125 (61 %), 115 (59 %).

5-nonyl-4-(4-fluorophényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIg



$C_{17}H_{24}FN_3S$
Mr: 321,45

Cristaux blancs.

F (°C): 128

Rdt: 73 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1575	ν C=N

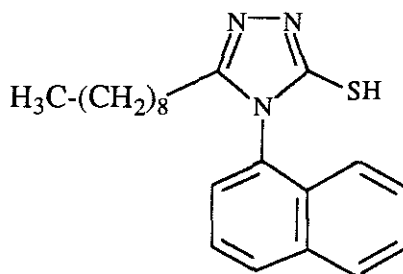
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,70-2,70	m	19H	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -
	7,20-7,50	m	4H	protons aromatiques
	13,50	s	1H	SH

S.M (I.E)

m/z 321 (100 %), 306 (13 %), 292 (17 %), 278 (23 %), 264 (23 %),
250 (5 %), 236 (16 %), 222 (98 %), 209 (54 %), 136 (45 %),
109 (72 %), 95 (30 %).

5-nonyl-4-(1-naphtyl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIIh



$C_{27}H_{27}N_3S$
Mr: 325,40

Cristaux blancs.

F (°C): 181

Rdt: 81 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1575	ν C=N

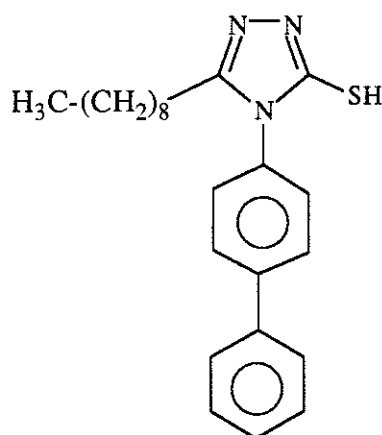
RMN ^1H (60 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	0,65-2,60	m	19H	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_8\text{-}$
	7,35-8,20	m	7H	protons aromatiques
	13,50	s	1H	SH

S.M (I.E)

m/z	353 (69 %), 338 (6 %), 324 (11 %), 310 (24 %), 296 (32 %), 282 (8 %), 268 (9 %), 254 (90 %), 241 (59 %), 141 (71 %), 128 (72 %), 115 (100 %).
-----	---

5-nonyl-4-(4-biphényl)-3-mercaptop-1,2,4-triazole. VIIi



$\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{S}$
Mr: 379,56

Cristaux blancs.

F ($^{\circ}\text{C}$): 108

Rdt: 40 %

IR (nujol)

ν (cm^{-1})	1330	ν CS
	1585	ν C=N

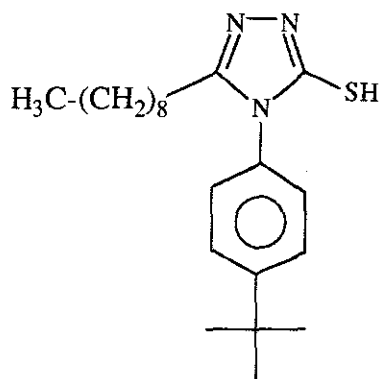
RMN ^1H (60 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	0,70-2,70	m	19H	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_8\text{-}$
	7,20-7,90	m	9H	protons aromatiques
	13,10	s	1H	SH

S.M (I.E)

m/z	379 (37 %), 364 (4 %), 350 (5 %), 336 (9 %), 322 (13 %), 308 (4,5 %), 294 (9 %), 280 (100 %), 267 (66 %), 167 (26 %), 152 (22 %), 115 (25 %).
-----	---

5-nonyl-4-(4-tertbutylphényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIj



$C_{21}H_{33}N_3S$
Mr: 359,58

Cristaux blancs.

F (°C): 104

Rdt: 76 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1575	ν C=N

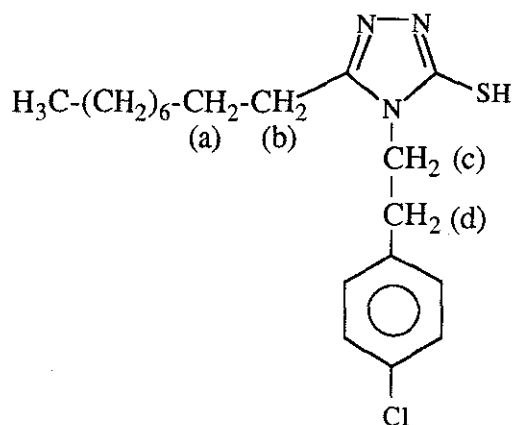
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,70-2,70	m	28H	CH ₃ -(CH ₂) ₈ - et C-(CH ₃) ₃
	7,10-7,75	m	4H	protons aromatiques
	13,35	s	1H	SH

S.M (I.E)

m/z 359 (100 %), 344 (5 %), 330 (4 %), 316 (7 %), 302 (13 %), 288 (3 %), 274 (6 %), 260 (52 %), 247 (28 %), 147 (7 %), 115 (16 %).

5-nonyl-4-[2-(4-chlorophényl)éthyl]-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIv



$C_{19}H_{28}ClN_3S$
Mr: 359,53

Cristaux blancs.

F (°C): 102

Rdt: 86 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1350	ν CS
	1570	ν C=N

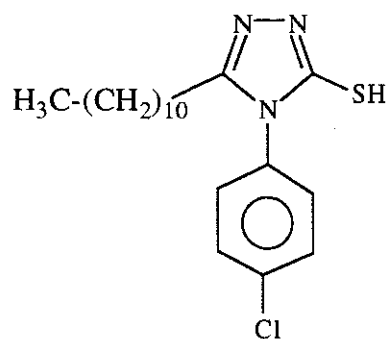
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,95	t	3H	-CH ₃
	1,25	m	12H	-(CH ₂) ₆ -
	1,58	qt	2H	Ha
	2,18	t	2H	Hb
	3,10	t	2H	Hc
	4,15	t	2H	Hd
	7,20	m	4H	protons aromatiques
	12,07	s	1H	SH

SM (I.E)

m/z 365 (7 %), 138 (100 %), 115 (5 %), 103 (14 %), 77 (3 %).

5-undécyl-4-(4-chlorophényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIIk



C₁₉H₂₈ClN₃S
Mr: 365,96

Cristaux blancs.

F (°C): 75

Rdt: 61 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1575	ν C=N

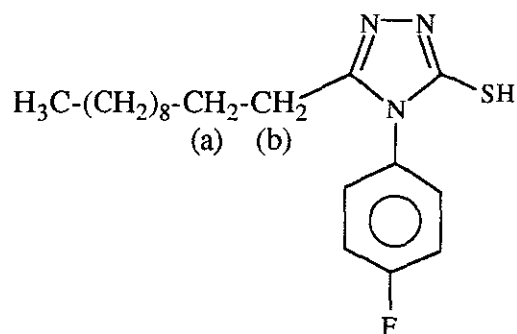
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,70-2,75	m	19H	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -
	7,20-7,75	m	4H	protons aromatiques
	13,40	s	1H	SH

SM (I.E)

m/z 365 (53 %), 350 (10 %), 336 (28 %), 322 (28%), 308 (21 %), 294 (20%), 280 (21 %), 266 (6 %), 252 (13 %), 238 (100 %), 225 (44 %), 152 (30 %), 125 (48 %), 115 (59 %).

5-undécyl-4-(4'-fluorophényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIII



$C_{19}H_{28}N_3S$
Mr: 349,50

Cristaux blancs.

F (°C): 100

Rdt: 58 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1575	ν C=N

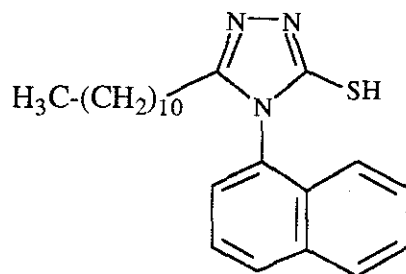
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,95	t	3H	-CH ₃
	1,25	m	16H	-(CH ₂) ₈ -
	1,60	qt	2H	Ha
	2,25	t	2H	Hb
	7,30	m	4H	protons aromatiques
	11,60	s	1H	SH

SM (I.E)

m/z 349 (63 %), 320 (28 %), 306 (28 %), 292 (19%), 278 (14 %),
264 (16%), 250 (3 %), 236 (13 %), 222 (100 %), 209 (73 %),
136 (22 %), 109 (22 %), 95 (11).

5-undécyl-4-(1-naphtyl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIIm



$C_{22}H_{31}N_3S$
Mr: 407,61

Cristaux blancs.

F (°C): 170

Rdt: 86 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1330	ν CS
	1575	ν C=N

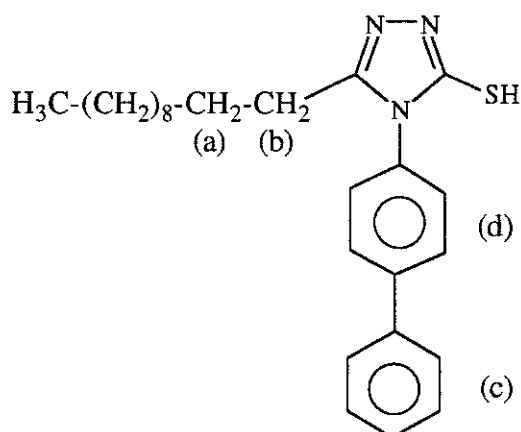
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,80-2,60	m	19H	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -
	7,40-8,20	m	4H	protons aromatiques
	13,30	s	1H	SH

SM (I.E)

m/z	381 (76 %), 352 (24 %), 338 (16 %), 324 (21%), 310 (24 %), 296 (26%), 254 (100 %), 241 (51 %), 168 (20 %), 141 (45 %), 128 (29 %), 115 (36 %).			
-----	--	--	--	--

5-undécyl-4-(4-biphényl)-3-mercaptop-1,2,4-triazole. VIIs



C₂₅H₃₃N₃S
Mr: 407,51

Cristaux blancs.

F (°C): 142

Rdt: 86 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1580	ν C=N

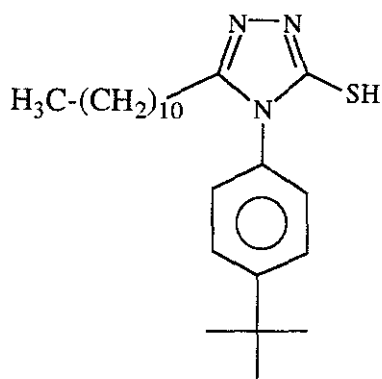
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,95	t	3H	-CH ₃
	1,25	m	16H	-(CH ₂) ₈ -
	1,60	qt	2H	Ha
	2,55	t	2H	Hb
	7,50	m	5H	protons aromatiques Hc
	7,70	m	4H	protons aromatiques Hd
	12,15	s	1H	SH

SM (I.E)

m/z	407 (48 %), 378 (13 %), 364 (11 %), 350 (11 %), 336 (101 %), 322 (14 %), 308 (5 %), 294 (10 %), 280 (100 %), 267 (66 %), 167 (30 %), 152 (17 %), 115 (27 %).			
-----	--	--	--	--

5-undécyl-4-(4-tertiobutylphényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIo



$C_{23}H_{37}N_3S$
Mr: 389,61

Cristaux blancs.

F (°C): 91

Rdt: 36 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1590	ν C=N

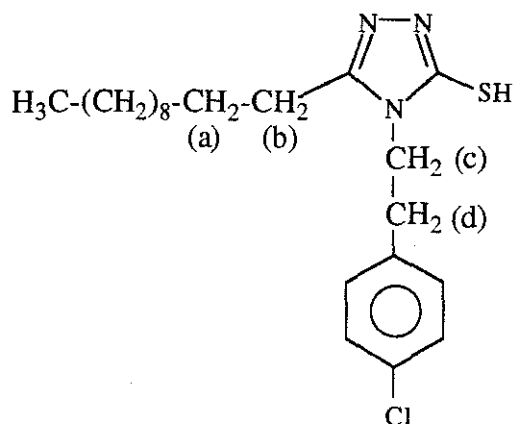
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,80-2,90	m	32H	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ - et C-(CH ₃) ₃
	7,20-7,85	m	4H	protons aromatiques
	13,40	s	1H	SH

S.M (I.E)

m/z 387 (17 %), 358 (6 %), 344 (7 %), 330 (7%), 316 (6 %), 302 (7%), 288 (2 %), 274 (4 %), 260 (33 %), 247 (20 %), 147 (6 %), 115 (14 %), 43 (100 %).

5-undécyl-4-[2-(4-chlorophényl)éthyl]-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIw



$C_{25}H_{33}ClN_3S$
Mr: 394,02

Cristaux blancs.

F (°C): 102

Rdt: 83 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1570	ν C=N

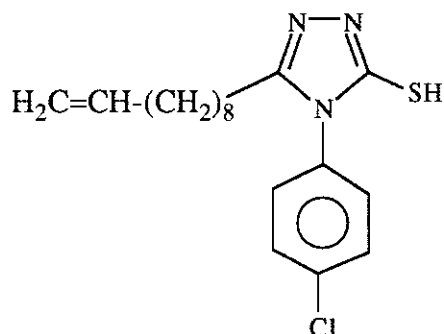
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,95	t	3H	-CH ₃
	1,15	m	16H	-(CH ₂) ₈ -
	1,55	qt	2H	Ha
	2,00	t	2H	Hb
	3,10	t	2H	Hc
	4,10	t	2H	Hd
	7,20	m	4H	protons aromatiques
	12,00	s	1H	SH

S.M (I.E)

m/z 393 (4 %), 138 (100 %), 115 (5 %), 103 (13 %), 77 (3 %).

5-(dec-9-èn-1-yl)-4-(4-chlorophényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIp



C₁₈H₂₄ClN₃S

Mr: 349,92

Cristaux blancs.

F (°C): 78

Rdt: 55 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1575	ν C=N

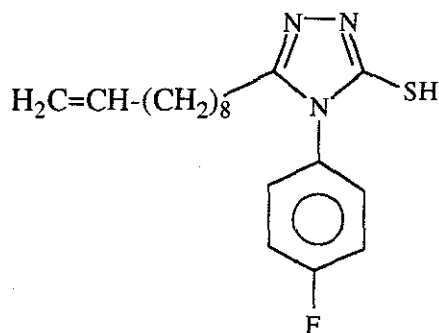
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,20-2,30	m	16H	-(CH ₂) ₈ -
	4,30-4,75	m	2H	H ₂ C=C-
	5,05-5,70	m	1H	-C=CH-
	6,90-7,30	m	4H	protons aromatiques

S.M (I.E)

m/z 349 (36 %), 316 (12 %), 294 (10 %), 280 (14 %), 266 (5 %), 252 (13 %), 238 (100 %), 225 (37 %), 152 (24 %), 125 (19 %).

5-(dec-9-èn-1-yl)-4-(4-fluorophényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIq



$C_{18}H_{24}FN_3S$
Mr: 333,47

Cristaux blancs. F (°C): 108 Rdt: 83 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1575	ν C=N

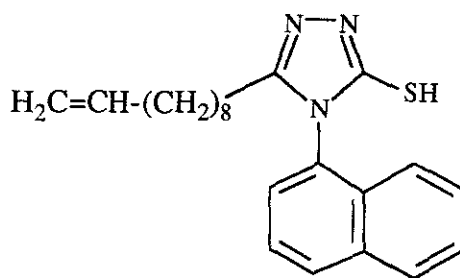
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	0,70-2,70	m	16H	-(CH ₂) ₈ -
	4,80-5,20	m	2H	H ₂ C=C-
	5,50-6,20	m	1H	-C=CH-
	7,20-7,50	m	4H	protons aromatiques

SM (I.E)

m/z 333 (49 %), 300 (15 %), 278 (20 %), 264 (16 %), 250 (4 %), 236 (14 %), 222 (100 %), 209 (37 %), 149 (7 %), 136 (37 %), 109 (60 %), 95 (25 %).

5-(dec-9-èn-1-yl)-4-(1-naphtyl)-3-mercaptop-1,2,4-triazole. VIIr



$C_{22}H_{27}N_3S$
Mr: 365,54

Cristaux blancs. F (°C): 108 Rdt: 79 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1575	ν C=N

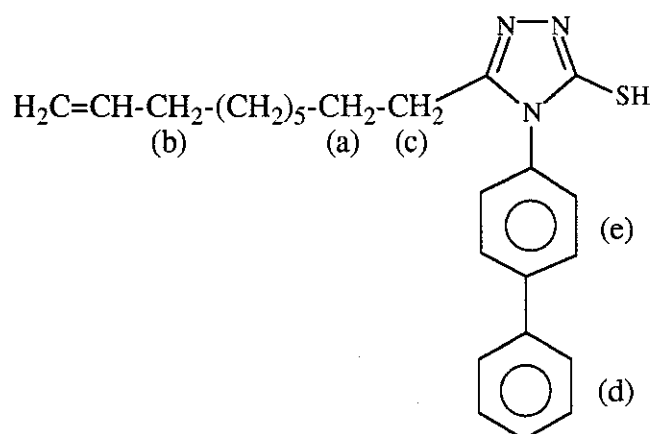
RMN ^1H (60 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	0,30-2,30	m	16H	$-(\text{CH}_2)_8-$
	4,50-5,00	m	2H	$\text{H}_2\text{C}=\text{C}-$
	5,25-6,00	m	1H	$-\text{C}=\text{CH}-$
	7,00-8,10	m	7H	protons aromatiques

SM (I.E)

m/z	365 (66 %), 324 (11 %), 310 (22 %), 296 (18 %), 282 (6 %), 268 (10 %), 254 (100 %), 240 (37 %), 141 (7 %), 128 (74 %), 115 (73 %).
-----	--

5-(dec-9-èn-1-yl)-4-(4-biphényl)-3-mercaptop-1,2,4-triazole. VIIs



$\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{S}$
Mr: 391,58

Cristaux blancs.
IR (nujol)

F ($^{\circ}\text{C}$): 118

Rdt: 72 %

ν (cm^{-1})	1325	ν CS
	1575	ν C=N

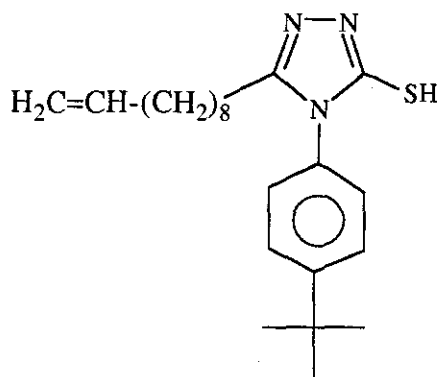
RMN ^1H (200 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)	1,20	m	3H	$-(\text{CH}_2)_5-$
	1,60	qt	16H	Ha
	2,00	q	2H	Hb
	2,55	t	2H	Hc
	5,80	m	2H	$\text{H}_2\text{C}=\text{C}-$
	5,95	m	1H	$-\text{C}=\text{CH}-$
	7,50	m	5H	Hd
	7,60	m	4H	He

SM (I.E)

m/z	391 (32 %), 336 (13 %), 322 (14 %), 308 (5 %), 294 (10 %), 280 (100 %), 267 (36 %), 194 (13 %), 167 (51 %), 152 (29 %), 115 (10 %).
-----	---

5-(dec-9-èn-1-yl)-4-(4-tertiobutylphényl)-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIII



$C_{22}H_{33}N_3S$
Mr: 373,58

Cristaux blancs.

F (°C): 105

Rdt: 82 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1590	ν C=N

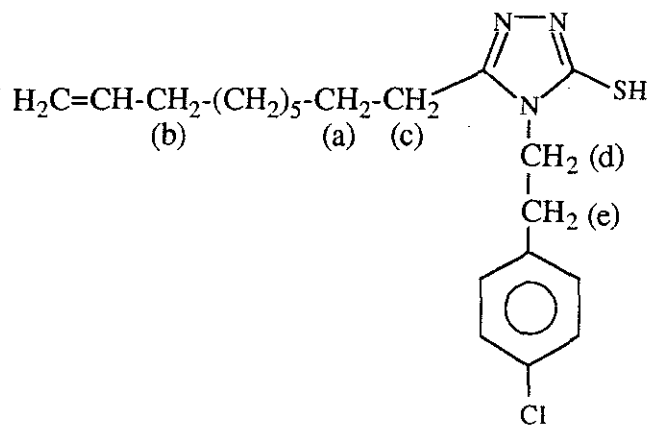
RMN ¹H (60 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,05-2,70	m	16H	-(CH ₂) ₈ -
	4,80-5,20	m	2H	H ₂ C=C-
	5,50-6,10	m	1H	-C=CH-
	7,10-7,70	m	4H	protons aromatiques
	13,30	s	1H	SH

SM (I.E)

m/z	371 (36 %), 316 (19 %), 302 (18 %), 288 (5 %), 274 (12 %), 260 (100 %), 247 (33 %), 147 (17 %), 115 (30 %), 91 (14 %).
-----	---

5-(dec-9-èn-1-yl)-4-[2-(4-chlorophényl)éthyl]-3-mercapto-1,2,4-triazole. VIIx



$C_{24}H_{29}N_3S$
Mr: 377,53

Cristaux blanc. F (°C): 88 Rdt: 87 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1325	ν CS
	1570	ν C=N

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,15	m	10H	-(CH ₂) ₅ -
	1,60	qt	16H	Ha
	2,08	q	2H	Hb
	2,15	t	2H	Hc
	3,10	t	2H	Hd
	4,15	t	2H	He
	5,80	m	2H	H ₂ C=C-
	5,95	m	1H	-C=CH-
	7,18	m	4H	protons aromatiques
	12,35	m	1H	SH

SM (I.E)

m/z 377 (4 %), 138 (100 %), 128 (4 %), 115 (6 %), 103 (13 %).

Obtention du 2-anilidyimidazole **60** et du 2-(4'-fluoroanilidyl)imidazole. **61**

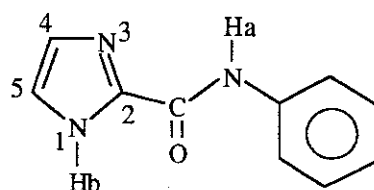
♦ Méthode de synthèse.

Le protocole opératoire étant identique pour ces deux composés nous décrivons uniquement celui du 2-anilidyimidazole **60**.

A 25 ml de nitrobenzène on additionne successivement 117 mmol (13,99 g) d'isothiocyanate de phényle, puis 117 mmol (8,00 g) d'imidazole. Le mélange est porté à reflux pendant 0,5 h. puis refroidi à température ambiante. Le solide obtenu est essoré sur Büchner puis lavé à l'aide de tétrachlorure de carbone (150 ml). le composé attendu est alors recristallisé dans un mélange acétone - éther : 2-1.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

2-anilidyimidazole. **60**



C₁₀H₉N₃O
Mr: 187,20

Cristaux blanc-cassé.

F (°C): 218-219

Rdt: 61 %

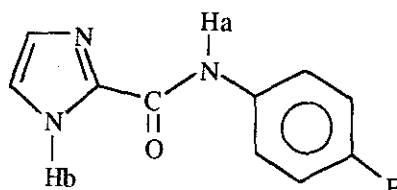
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1650	ν CO
---------------------------	------	----------

RMN ^1H (200 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)				
7,02-7,82	m	7H	protons aromatiques	
10,35	s	1H	NH (a)	
13,21	m	1H	NH (b)	

2-(4-fluoroanilidyl)imidazole. 61



$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_3\text{FO}$
Mr: 205,19

Cristaux blanc-cassé.

F ($^{\circ}\text{C}$): 258

Rdt: 58 %

IR (nujol)

ν (cm^{-1})		ν CO
1655		

RMN ^1H (200 MHz / CDCl_3)

δ (ppm)				
7,10-7,87	m	6H	protons aromatiques	
10,50	s	1H	NH (a)	
13,25	m	1H	NH (b)	

Obtention du 1-(4-chlorobut-2-èn-1-yl)-2-anilidylimidazole 62 et du 1-(4-chlorobut-2-èn-1-yl)-2-(4-fluoroanilidyl)imidazole. 63 (*)

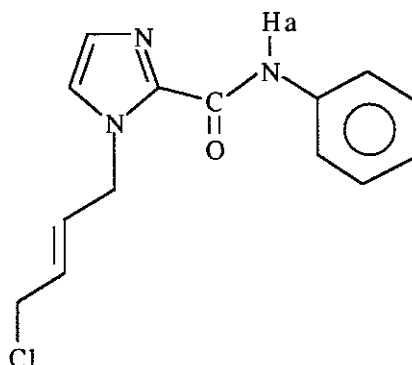
(*) Tous ces composés sont de stéréoisomérisation *E* (cf. p141)

♦ méthode de synthèse.

Le protocole opératoire étant identique pour ces deux composés nous décrivons uniquement celui du 1-(4-chlorobut-2-èn-1-yl)-2-anilidylimidazole. 62

37,6 mmol (7,05 g) de 2-anilidylimidazole 60 sont mises en solution dans 35 ml de diméthylformamide. On additionne alors 48,9 mmol (2,82 g) d'hydroxyde de potassium en poudre très fine. Lorsque la solution est redevenue limpide, elle est ajoutée goutte à goutte à une solution de 158,13 mmol (19,74 g) de 1,4-dichlorobut-2-ène dans 20 ml de diméthylformamide. le mélange est abandonné à température ambiante pendant 12 h. Le milieu réactionnel est alors additionné de 300 ml d'eau puis est extrait par 3 fois 40 ml d'éther. Les phases étherées sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous vide. Le résidu huileux obtenu est purifié par chromatographie sur colonne desilice (éluant: éther de pétrole - éther: 2-1).

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.
1-(4-chlorobut-2-èn-1-yl)-2-anilidylimidazole. 62



$C_{14}H_{14}ClN_3O$
 Mr: 275,74

Cristaux blanc-cassé.

F (°C): 65

Rdt: 51 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹)

1660

ν CO

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)

4,20

d

2H

-CH₂-Cl

5,14

d

2H

-CH₂-N-

5,72-6,07

m

2H

=CH-

7,14-7,82

m

7H

protons aromatiques et imidazoliques

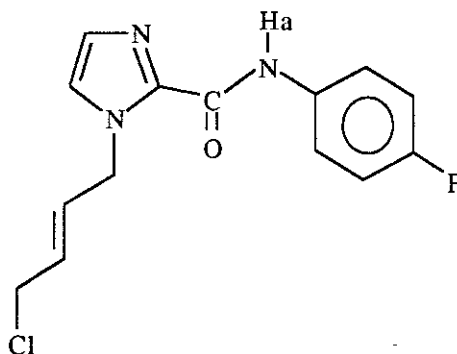
10,35

s

1H

NH (a)

1-(4-chlorobut-2-èn-1-yl)-2-(4-fluoroanilidyl)imidazole. 63



$C_{14}H_{13}ClFN_3O$
 Mr: 293,73

Cristaux blanc-cassé.

F (°C): 65

Rdt: 32 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹)

1665

ν CO

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)

4,05

d

2H

-CH₂-Cl

5,17

d

2H

-CH₂-N-

5,67-6,12

m

2H

=CH-

6,95-7,70

m

6H

protons aromatiques et imidazoliques

9,30

s

1H

NH (a)

Obtention du 1-(4-chloroxyl-1-yl)-2-anilidylimidazole 64 et du 1-(4-chloroxyl-1-yl)-2-(4-fluoroanilidyl)imidazole 65 (*)

(*) Tous ces composés sont de stéréoisomérisation E (cf. p141)

♦ Méthode de synthèse.

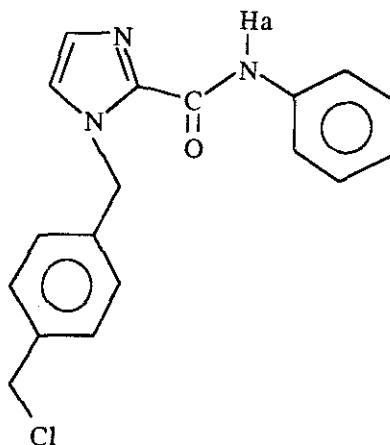
Le protocole opératoire étant identique pour ces deux composés nous décrivons uniquement celui du 1-(4-chloroxyl-1-yl)-2-anilidylimidazole 64

Dans 25 ml de diméthylformamide on dissout 39,1 mmol (7,32 g) de 2-anilidylimidazole 60. On additionne 50,82 mmol (2,85 g) d'hydroxyde de potassium en poudre très fine. Lorsque le milieu est redevenu limpide on additionne celui-ci goutte à goutte à une solution de 82,1 mmol (14,37 g) de 1,4-dichloro-p-xylène dans 25 ml de diméthylformamide chauffé à 30 °C. Le milieu réactionnel est abandonné 8h. à cette température puis additionné de 300 ml d'eau. On extrait par 3 fois 40 ml d'éther. Les phases étherées sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées sous vide. Le résidu huileux obtenu est purifié par chromatographie sur silice en utilisant successivement comme mélange d'élution: éther de pétrole - éther: 3-1, puis chloroforme - éther de pétrole: 1-1 (1).

(1). Pour le produit 65 l'élution est effectuée par les mélanges successifs suivants : éther de pétrole - éther - chloroforme: 2-1-1 puis 2-1-3.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1-(4-chloroxyl-1-yl)-2-anilidylimidazole 64



C₁₈H₁₆ClN₃O
Mr: 325,77

Cristaux blanc

F (°C): 121

Rdt: 35 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹)

1675

ν CO

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)

4,20

s

2H

-CH₂-Cl

5,14

s

2H

-CH₂-N-

7,02-7,72

m

11H

protons aromatiques et imidazoliques

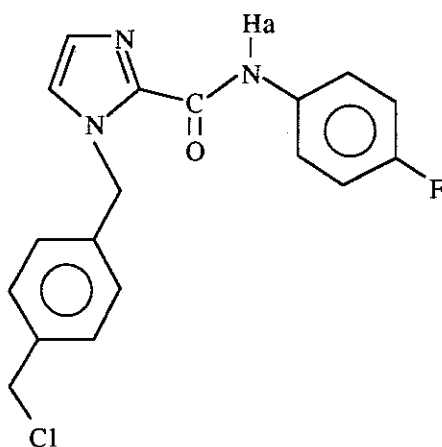
9,35

s

1H

NH

1-(4-chloroxyl-1-yl)-2-(4-fluoroanilidyl)imidazole. 65



C₁₈H₁₅ClFN₃O
Mr: 343,77

Cristaux blancs.

F (°C): 146,5

Rdt: 83 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹)

1675

ν CO

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)

4,52

s

2H

-CH₂-Cl

5,72

s

2H

-CH₂-N-

6,95-7,67

m

10H

protons aromatiques et imidazoliques

9,35

s

1H

NH

Obtention des 1-(4-thiocyanatobut-2-èn-1-yl)-2-anilidylimidazoles VIIIa,b et des 1-(4-thiocyanatoxyl-1-yl)-2-anilidylimidazoles. VIIIc,d
Tous ces composés sont de stéréoisomérisation E (cf. p141)

♦ Méthode de synthèse.

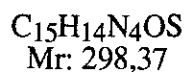
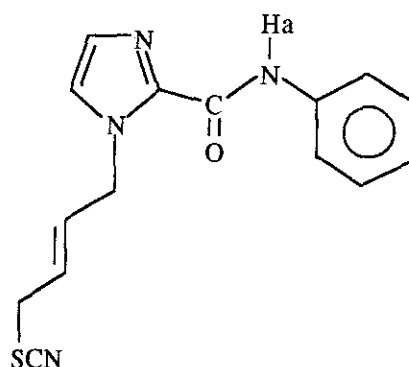
Le protocole opératoire étant identique pour ces quatre composés nous décrivons uniquement celui du 1-(4-thiocyanatobut-2-èn-1-yl)-2-anilidylimidazole **VIIIa**.
On chauffe à 45 °C durant 3h. un mélange de 2,9 mmol (800 mg) de 1-(4-chloro-2-èn-1-yl)-2-anilidylimidazole **62** et de 14,5 mmol (1,10 g) de thiocyanate d'ammonium dans 25

ml d'acétone. L'acétone est alors chassée et le résidu huileux obtenu est additionné de 50 ml d'eau. On effectue une extraction par 3 fois 30 ml de d'ether. Les phases étherées sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées sous vide. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant comme éluant un mélange éther de pétrole - éther: 1-2 (1).

(1). Pour le 1-(4-thiocyanatobut-2-èn-1-yl)-2-(4-fluoroanilidyl)imidazole **VIIIb**, la chromatographie sur silice est effectuée avec comme éluants successifs: éther de pétrole - éther: 2-1 puis éther.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1-(4-thiocyanatobut-2-èn-1-yl)-2-anilidyimidazole. **VIIIa**



Cristaux blanc-cassé.

F (°C): 62

Rdt: 46 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1685	ν CO
	2160	ν CN (SCN)

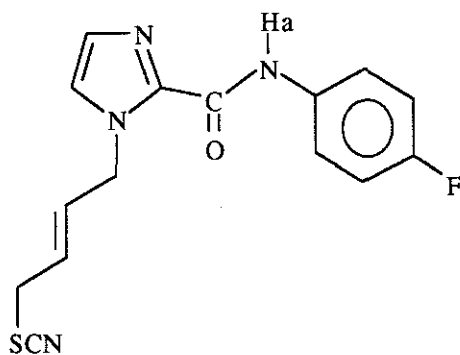
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,52	d	2H	-CH ₂ -SCN
	5,25	d	2H	-CH ₂ -N-
	5,57-6,12	m	2H	=CH-
	7,07-7,72	m	7H	protons aromatiques et imidazoliques
	9,29	s	1H	NH

SM (I.E)

m/z 298 (9 %), 187 (76 %), 159 (17%), 147 (38 %), 125 (15 %), 119 (39 %), 106 (10 %).

1-(4-thiocyanatobut-2-èn-1-yl)-2-(4-fluoroanilidyl)imidazole. VIIIb



$C_{15}H_{13}FN_4OS$
Mr: 316,36

Cristaux blanc-cassé.

F (°C): 80

Rdt: 54 %

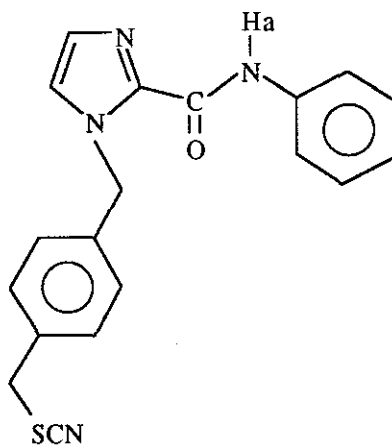
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1685	ν CO
	2160	ν CN (SCN)

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	3,55	d	2H	-CH ₂ -SCN
	5,25	d	2H	-CH ₂ -N-
	5,60-6,15	m	2H	=CH-
	6,95-7,70	m	6H	protons aromatiques et imidazoliques
	9,30	s	1H	NH

1-[4-(thiocyanato)xyl-1-yl]-2-anilidylimidazole. VIIIc



$C_{19}H_{16}N_4OS$
Mr: 348,42

Poudre blanc-cassé.

F (°C): 93

Rdt: 84 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1665	ν CO
	2160	ν C=N (SCN)

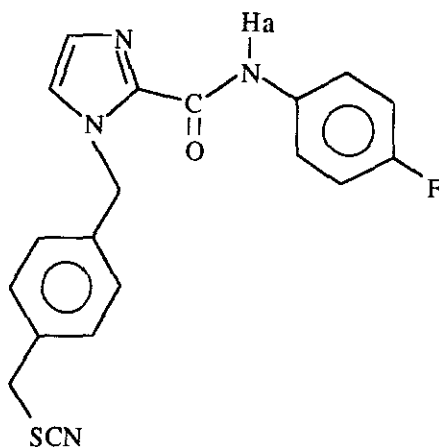
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,12	s	2H	-CH ₂ -S-
	5,77	s	2H	-CH ₂ -N-
	7,02-7,72	m	11H	protons aromatiques et imidazoliques
	9,35	s	1H	NH (a)

SM (I.E)

m/z 348 (12 %), 290 (100 %), 197 (45%), 170 (14 %), 119 (4 %), 104 (54 %), 91 (19 %).

1-[4-(thiocyanato)xy]-1-yl]-2-[4-fluoroanilidyl]imidazole. VIIIId



C₁₉H₁₅FN₄OS

Mr: 352,41

Poudre blanc-cassé.

F (°C): 97

Rdt: 90 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1660	ν CO
	2160	ν C=N (SCN)

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	4,11	s	2H	-CH ₂ -S-
	5,77	s	2H	-CH ₂ -N-
	6,95-7,67	m	11H	protons aromatiques et imidazoliques
	9,35	s	1H	NH (a)

Obtention des dithiocarbonates de O-éthyle et de S-[1-(4-but-2-èn-1-yl)-2-anilido]imidazolyle VIIIe,f et des dithiocarbonates de O-éthyle et de S-[1-(4-xyl-1-yl)-2-anilido]imidazolyles. VIIIg,h (*)

♦ Méthode de synthèse.

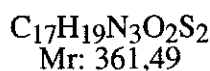
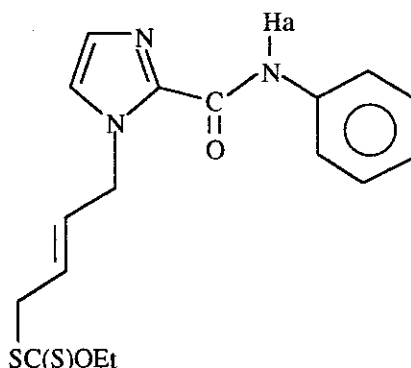
Le protocole opératoire étant identique pour ces quatre composés nous décrivons uniquement celui du dithiocarbonate de O-éthyle et de S-[1-(4-but-2-èn-1-yl)-2-anilido]imidazolyle. **VIIIe**

2,41 mmol (55 mg) de sodium sont mis à réagir avec 15 ml d'éthanol. Lorsque le sodium a entièrement réagi et après retour à la température ambiante on ajoute 3,21 mmol (0,2 ml) de disulfure de carbone. Au bout de 20 min. on additionne 1,80 mmol (500 mg) de 1-(4-chloro-2-èn-1-yl)-2-anilidyimidazole **62**. Le mélange est alors porté à 40 °C pendant 2h. L'éthanol est chassé et le résidu obtenu est additionné de 50 ml d'eau puis est extrait par 3 fois 30 ml d'éther. Les phases étherées sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant: éther de pétrole - éther: 2-1).

(*) Tous ces composés sont de stéréoisométrie E (cf. p141)

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Dithiocarbonate de O-éthyle et de S-[1-(4-but-2-èn-1-yl)-2-anilido]imidazolyle. **VIIIe**



Produit pâteux.

Rdt: 78 %

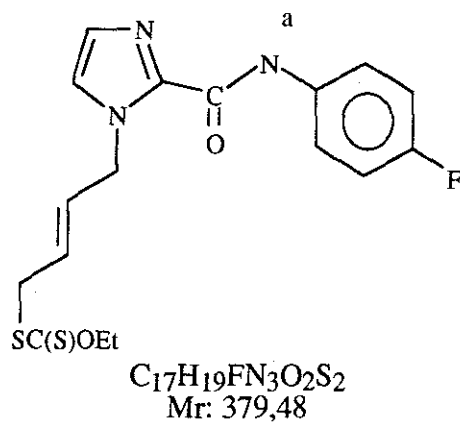
IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1060	ν C=S
	1675	ν CO

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,32	t	3H	-CH ₃
	3,80	d	2H	-CH ₂ -S-
	4,57	q	2H	-CH ₂ -Me
	5,10	d	2H	-CH ₂ -N-
	5,72-5,97	m	2H	=CH-
	7,02-7,81	m	7H	protons aromatiques et imidazoliques
	10,35	s	1H	NH (a)

Dithiocarbonate de O-éthyle et de S-[1-(4-but-2-èn-1-yl)-2-(4-fluoroanilido)]imidazolyle. **VIII f**



Produit pâteux.

Rdt: 63 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1060	ν C=S
	1675	ν CO

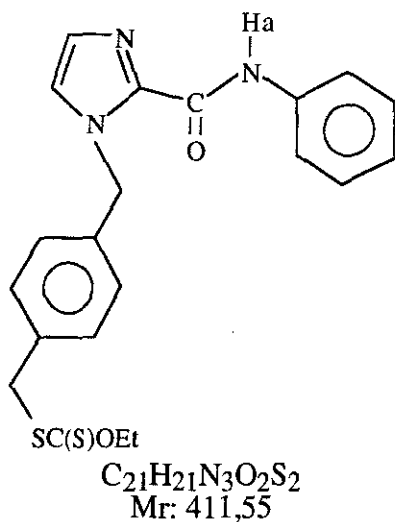
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,80	t	3H	-CH ₃
	3,77	d	2H	-CH ₂ -S-
	4,62	q	2H	-CH ₂ -Me
	5,15	d	2H	-CH ₂ -N-
	5,57-6,05	m	2H	=CH-
	6,92-7,70	m	6H	protons aromatiques et imidazoliques
	9,28	s	1H	NH

SM (I.E)

m/z 380 (3 %), 258 (100 %), 205 (11%), 174 (6 %), 163 (3 %), 147 (20 %), 119 (13 %).

Dithiocarbonate de O-éthyle et de S-[1-(4-xyl-1-yl)-2-anilido]imidazolyle. **VIII g**



Poudre blanc-cassé.

F (°C): 76

Rdt: 89 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1060	ν C=S
	1675	ν CO

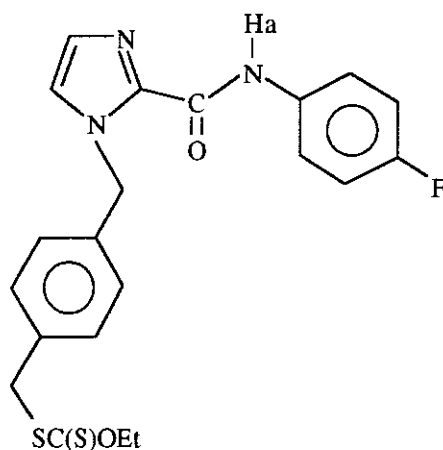
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,40	t	3H	-CH ₃
	4,34	s	2H	-CH ₂ -S-
	4,62	q	2H	-CH ₂ -Me
	5,75	s	2H	-CH ₂ -N-
	6,97-7,75	m	11H	protons aromatiques et imidazoliques
	9,41	s	1H	NH (a)

SM (I.E)

m/z 411 (17 %), 290 (100 %), 224 (14%), 197 (37 %), 170 (9 %), 135 (20 %), 104 (38 %).

Dithiocarbonate de O-éthyl- et de S-[1-(4-xy-1-yl)-2-(4-fluoroanilido)]imidazole.
VIIIk



C₂₁H₂₀N₃O₂S₂
Mr: 429,54

Cristaux blanc-cassé.

F (°C): 117,3

Rdt: 83 %

IR (nujol)

ν (cm ⁻¹)	1060	ν C=S
	1675	ν CO

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm)	1,40	t	3H	-CH ₃
	4,32	s	2H	-CH ₂ -S-
	5,77	s	2H	-CH ₂ -N-
	6,95-7,70	m	11H	protons aromatiques et imidazoliques
	9,30	s	1H	NH

Obtention des 1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-èn-1-yl]-2-anilidylimidazoles *VIIIi,j* et des 1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl)xyl-1-yl]-2-anilidylimidazoles. *VIIIk,l* (*)

(*) Tous ces composés sont de stéréoisomérisie E (cf. p141)

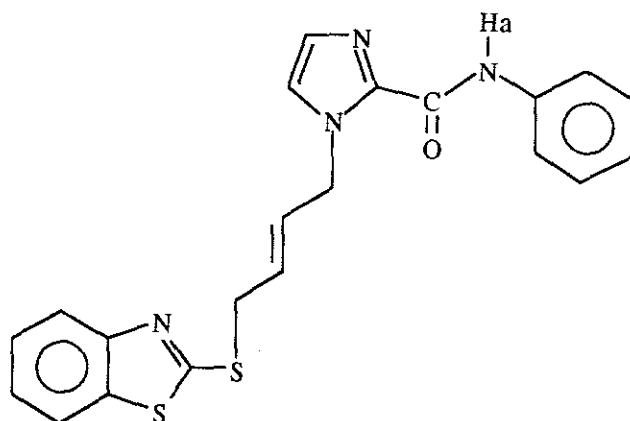
♦ Méthode de synthèse.

Le protocole opératoire étant identique pour ces quatre composés nous décrivons uniquement celui du 1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-èn-1-yl]-2-anilidylimidazole. *VIIIi*

3,47 mmol (0,58 g) de 2-mercaptobenzimidazole puis 3,47 mmol (194 mg) d'hydroxyde de potassium sont mises en solution dans 15 ml de diméthylformamide. Le mélange est porté à 50 °C et on additionne une solution de 2,90 mmol (800 mg) de 1-(4-chlorobut-2-èn-1-yl)-2-anilidylimidazole **62** dans 10 ml de diméthylformamide. Le mélange est abandonné 4 h à cette température puis additionné de 100 ml d'eau. Une extraction par 3 fois 40 ml d'éther est effectuée. Les phases étherées sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées sous vide. Au résidu obtenu, on ajoute 40 ml d'éther de pétrole permettant la précipitation du composé attendu qui est recristallisé dans un mélange éther de pétrole - éther: 8-2.

♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-èn-1-yl]-2-anilidylimidazole. *VIIIi*



$C_{21}H_{18}N_4OS_2$
Mr: 406,53

Poudre blanc-cassé.

F (°C): 111

Rdt: 62 %

IR (nujol)

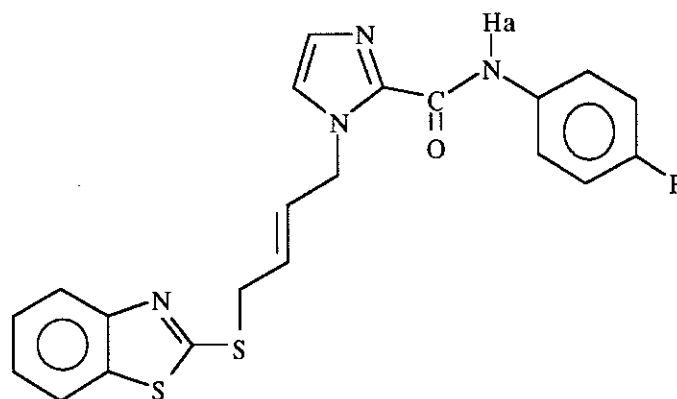
ν (cm⁻¹) 1675

ν CO

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm).	3,95	d	2H	-CH ₂ -S-
	5,12	s	2H	-CH ₂ -N-
	5,76-7,90	m	2H	=CH-
	6,91-7,90	m	11H	protons aromatiques et imidazoliques
	9,32	s	1H	NH (a)

1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-èn-1-yl]-2-(4-fluoroanilidyl)imidazole.
VIIIj



$C_{21}H_{17}FN_4OS_2$
Mr: 424,52

Poudre blanc-cassé.

F (°C): 92,5

Rdt: 67 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹)

1675

ν CO

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm).

3,95

d

2H

-CH₂-S-

5,14

s

2H

-CH₂-N-

5,77-6,12

m

2H

=CH-

6,92-7,95

m

11H

protons aromatiques et imidazoliques

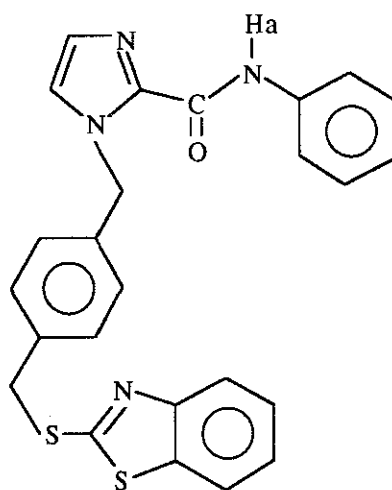
9,22

s

1H

NH (a)

1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl)xy]-1-yl]-2-anilidylimidazole. **VIIIk**



$C_{25}H_{20}N_4OS_2$
Mr: 456,59

Poudre blanc-cassée.

F (°C): 101,5

Rdt: 83 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 1675 ν CO

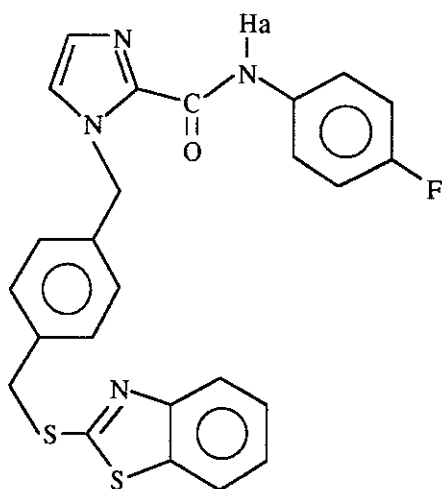
RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm).	4,60	s	2H	-CH ₂ -S-
	5,72	s	2H	-CH ₂ -N-
	7,00-7,89	m	15H	protons aromatiques et imidazoliques
	9,31	s	1H	NH

SM (I.E)

m/z 474 (10 %), 308 (100 %), 269 (29%), 236 (16 %), 213 (34 %), 197 (67 %), 166 (14 %), 104 (36 %).

1-[4-(2-mercaptobenzothiazolyl)xyl-1-yl]-2-(4-fluoroanilidyl)imidazole. VIII



C₂₅H₂₀FN₄OS₂
Mr: 474,58

Poudre blanc-cassé.

F (°C): 116,5

Rdt: 77 %

IR (nujol)

ν (cm⁻¹) 1675 ν CO

RMN ¹H (200 MHz / CDCl₃)

δ (ppm).	4,55	s	2H	-CH ₂ -S-
	5,75	s	2H	-CH ₂ -N-
	6,96-7,95	m	14H	protons aromatiques et imidazoliques
	9,30	s	NH (a)	

SM (I.E)

m/z 425 (20 %), 258 (100 %), 204 (1,5%), 186 (4 %), 167 (25 %), 147 (15 %), 119 (18 %), 108 (10 %).

2

BIOLOGIE

2.1. ACTIVITE ANTIADHERENTE.

2.1.1. Souche utilisée dans l'expérimentation

Il s'agit de la levure *C. albicans* souche VW 32 de sérotype A, conservée à 4°C sur milieu de Sabouraud gélosé solide et entretenue par repiquages réguliers bimensuels.

2.1.2. Milieux de cultures

♦ Milieu de Sabouraud

C'est un milieu de culture adapté aux champignons et répondant à la composition suivante :

Peptone pancréatique ST	10 g
Glucose :	20 g
Eau distillée :	QSP 1000 ml
+	
Gélose en poudre :	20 g (milieu de Sabouraud gélosé)

♦ Milieu -199

Ce milieu est constitué extemporanément comme suit :

11 g	milieu "199" (cf. p.) : lyophilisat (poudre de Hanks + complément)
0,4 g	NaHCO ₃
1000 ml	eau distillée

L'hydrogénocarbonate de sodium (0,4 g) est nécessaire pour obtenir un pH compris entre 7,0 et 7,2, ce qui est important pour le processus d'agrégation des tubes germinatifs.

Au départ on utilise un hydrolysate constitué par la poudre de Hanks, auquel est ajouté tout ou partie des amino-acides et des vitamines (cf. complément. p. 247). Ces éléments sont susceptibles d'être altérés par la chaleur, c'est pour cette raison que la stérilisation de ce milieu est effectuée par filtration sous pression sur membrane millipore (type HA 0,2 µm). Ce milieu est conservé à 4 °C.

Poudre de Hanks :

éléments	mg/l
NaCl	8 000,0
KCl	400,0
MgSO ₄ 7H ₂ O	200,0
Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O	
KH ₂ PO ₄	60,0
Glucose	1000,0
CaCl ₂	140,0
NaHCO ₃	350,0

Complément :

	mg / l		mg / l
L-arginine (chlorhydrate)	70,000	Acétate de sodium	50,000
L-histidine (chlorhydrate)	20,000	L-cystine	20,000
L-lysine (chlorhydrate)	70,000	L-tyrosine	40,000
D,L-tryptophane	20,000	L-cystéine (chlorhydrate)	0,100
D,L-phénylalanine	50,000	Adénine (sulfate)	10,000
D,L-méthionine	30,000	Guanine (chlorhydrate)	0,300
D,L Sérine	50,000	Xanthine	0,300
D,L-thréonine	60,000	Hypoxantine	0,300
D,L-leucine	120,000	Uracile	0,300
D,L-isoleucine	40,000	Thymine	0,300
D,L-valine	50,000	α-tocophérol phosphate disodique	0,010
Acide D,L-glutamique (β-hydroxy)	150,000	Thiamine (dichlorure)	0,010
Acide D,L-aspartique	60,000	Pyridoxine (chlorhydrate)	0,025
D,L-α -alanine	50,000	Riboflavine	0,010
L-proline	40,000	Pyridoxale (chlorhydrate)	0,025
L-hydroxyproline	10,000	Niacine	0,025
Glycine	50,000	Niacinamide	0,025
L-glutamine	100,000	Pentothénate de calcium	0,010
I-inositol	0,050	Cholestérol	0,200
Acide ascorbique	0,050	tween 80	20,000
Acide folique	0,010	Adénosine triphosphate (sel disodique)	1,000
Acide para-aminobenzoïque	0,050	Acide adénylique	0,200
Nitrate ferrique	0,100	Désoxyribose	0,500
d-Biotine	0,010	Ribose	0,500
Ménadione	0,010	Choline (chlorure)	0,500
Glutathion	0,050	Rouge de phénol	20,000
Vitamine A	0,100		
Calciférol	0,100		

2.1.3. Culture des blastospores de *C. albicans* en boîte de Roux.

Un inoculum de *C. albicans* VW 32 (prélevé stérilement sur le tube incliné de repiquage à l'aide d'une anse de platine), est dilué dans 3 à 4 ml du milieu de Sabouraud stérile. Ce dernier est versé à la surface du milieu de Sabouraud gélosé (obtenu par addition de 5 g d'agar-agar à 250 ml de milieu de Sabouraud) et stérile, contenu dans une boîte de Roux disposée à plat. Un léger balancement de la boîte permet de rendre

homogène la surface d'ensemencement, avant de l'abandonner 48 h. dans une étuve maintenue à 25 °C.

2.1.4. Formation de tubes germinatifs de *C. albicans* en milieu "199" et étude de la désagrégation par des thiodérivés.

Par ailleurs dans 4 tubes stériles contenant chacun 1,5 ml de milieu 199 stérile (dont 3 tubes recevront chacun 10 µml ⁽¹⁾ d'une dilution du produit en expérience conduisant à une concentration finale de 0,033, 0,0133 et 0,0067 mM et un tube témoin de culture de la souche), on introduit $5 \cdot 10^6$ - 10^7 blastospores de *C. albicans* prélevées à la surface de la boîte de Roux. Les tubes cotonnés et capuchonnés par une feuille d'aluminium, sont placés dans une étuve à 37 °C, et agité à 300 tours/min. durant 1h. 30 (1^{re} lecture), + 1h. (2^e lecture), + 1h. (3^e lecture), + 1h. (4^e lecture réalisée après 4 h.30).

Les cinétiques de germination et d'agrégation sont suivies par comptage au microscope optique des levures germées (tube germinatif) et des levures libres à l'aide d'une cellule de Malassez. Le comptage est effectué à des intervalles d'une heure. Chaque essai (témoin et composé à tester) est effectué en double.

(1) Pour obtenir un pourcentage de germination suffisamment important pour permettre une autoagrégation des tubes germinatifs, chaque composé en solution dans le diméthyl sulfoxyde est testé à 3 concentrations : 0,033 mM, 0,0133 mM, 0,0067 mM. La concentration de 0,0067 mM est celle qui a généralement été retenue car elle permet un pourcentage de germination de l'ordre de 90 % et donc une bonne base pour la détermination de l'effet de nos composés sur l'autoagrégation des tubes germinatifs.

2.2. ACTIVITE ANTIFONGIQUE

2.2.1. Souches utilisées dans notre expérimentation

- *Candida albicans* CBS-562
- *Torulopsis glabrata* CBS-138
- *Trichosporium cutaneum* CBS-2466
- *Saccharomyces cerevisiae* Hansen 1171 ATCC-18824
- *Kluyveromyces bulgaricus* (Souche de l'industrie laitière)
- *Citeromyces matritensis* CBS-2764

L'origine de ces souches étant :

CBS : Central Bureau voor Schimmel cultures, Yeast Division, Julianalaan 67A, Delft, (NL).

ATCC : American Type Culture Collection, 12301 Parklawn Drive, Rockville, (USA).

2.2.2. Préparation de l'inoculum

Les levures sont repiquées sur un milieu de Sabouraud, bien adapté aux champignons.

Le pH doit être compris entre 5 et 6. Ces cultures de 24h. servent à préparer l'inoculum par mise en suspension dans 5 ml d'eau distillée stérile, on ajuste la turbidité de cette suspension au point 0,5 de l'échelle de Mc Farland.

2.2.3. Préparation des boîtes de Pétri

Pour chaque produit à tester, on prépare une solution mère à 20 mg.ml⁻¹ dans le DMF. L'inocuité des concentrations en DMF utilisées dans notre expérimentation ayant été préalablement testée, on mélange 0,5 ml de solution mère (ou des dilutions convenables) à 18 ml de milieu gélosé de Sabouraud additionné de 1,5 ml d'eau, maintenu en surfusion à 50° C. Après homogénéisation, le mélange est coulé dans une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre. Les concentrations finales, en agent antifongique, au sein des différentes boîtes sont de 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1 mg/l. Un protocole analogue est conduit parallèlement en substituant à la solution du produit à tester :

- d'une part : 2 ml d'eau stérile : culture témoin de la souche fongique en expérience ;
- d'autre part : 0,5 ml de diméthylformamide + 1,5 ml d'eau stérile : culture témoin de la vitalité de la souche en présence du solvant des produits testés.
- enfin 2 ml d'une solution aqueuse de concentration adéquate en antifongique commercial (miconazole, amphotéricine B) selon la même séquence que celle décrite précédemment.

La prise en masse de la gélose s'effectue dans les boîtes de Pétri qui sont placées couvercle ouvert 15 min. à température ambiante puis disposées durant 1h., dans une chambre chaude maintenue à 37°C. La surface de la gélose étantensemencée en stries avec chacun des germes considérés, auquel aura été préalablement affecté un secteur de la boîte. Ces boîtes de Pétri sont enfin placées dans une étuve à 25°C.

2.2.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Elle est appréciée après 48 h. d'incubation des cultures à 25°C, comparativement à un témoin de culture (en présence ou non de diméthylformamide) et à des témoins de substances antifongiques : miconazole et amphotéricine B.

IV

CONCLUSION

L'objectif du travail qui nous a été confié consistait à concevoir puis à synthétiser des molécules (thio-dérivés) inhibitrices de l'adhésion de *C. albicans* à la surface de sa cellule cible. Cette approche de la thérapeutique antifongique se distingue radicalement du concept habituel en antibiothérapie fondé sur l'inhibition de la prolifération de l'agent infectieux exprimée par la valeur de la CMI "*in vitro*" et "*in Vivo*"

La voie que nous avons explorée se veut complémentaire de cette dernière (notamment dans le domaine prophylactique) et, comme elle, a pour but l'obtention de molécules utilisables en chimiothérapie antifongique. Elle procède de trois observations :

- la convergence des recherches effectuées en microbiologie depuis une dizaine d'années, ont montré l'importance jouée par l'adhésion du fongique à son hôte dans le processus de la pathogénèse,
- la mise en évidence dans notre laboratoire de l'inhibition de l'autoaggrégation des tubes germinatifs de *C. albicans* (notre modèle d'étude de l'adhésion du fongique à son hôte) par des dérivés thiols,
- enfin le constat que actuellement la thérapeutique antifongique ne dispose pas de traitement prophylactique des affections fongiques, souvent gravissimes. Or, ces dernières années, l'usage important et plus systématique d'antibiotiques, le recours accru à la chirurgie des transplantations et le développement inquiétant du S.I.D.A. concourent à multiplier le nombre de sujets susceptibles de développer une infection opportuniste, très souvent de type mycosique.

Dans ce but notre recherche a consisté :

- 1) Sur le plan chimique, à réaliser la synthèse de 90 composés originaux.
- 2) Sur le plan microbiologique, à évaluer à la fois leur activité antiadhérente (pour une trentaine d'entre eux) en utilisant comme modèle l'inhibition de l'autoaggrégation des tubes germinatifs de *C. albicans* souche VW 32 et l'activité antifongique (pour la totalité des composés synthétisés) déterminée sur une batterie de six souches de métabolisme varié.
- 3) Sur le plan méthodologique prédictif (QSAR) à rechercher quels étaient, à l'intérieur de la série la plus prometteuse pour son activité antiadhérente, les paramètres structuraux intervenant dans l'expression de cette activité biologique ainsi que les modifications à apporter pour augmenter celle-ci.

♦ Synthèse.

Nous avons effectué la synthèse de huit séries de composés originaux comportant la fonction thiol ou les groupements fonctionnels apparentés, conformément à des objectifs pharmacochimiques clairement définis. Pour chacune d'entre elles nous avons

rappelé les différentes voies d'accès à la fonction et précisé les raisons du choix de la méthode retenue (plan de synthèse). Ces différentes séries se repartissent de la façon suivante :

- dithiols, monothiols, ou leurs précurseurs. **Ia-e**
- dithiocarbonates de O-éthyle et de S-4-aroxybut-2-èn-1-yle. **II**
- thiocyanates de 4-aroxybut-2-èn-1-yle. **III**
- 4-aroxy-1-(2-mercaptobenzothiazolyl)but-2-ènes et 4-aroxy-1-(2mercaptobenzoxazolyl)but-2-ènes. **IV**
- N-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]-N'-[4-chlorophényl]thiourées, des N-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]-N'-[1-naphtyl]thiourées, et des N-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)]-N'-[1-allyl] thiourées. **V**
- 2-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)amino]-4-[4-chlorophényl] thiazoles et des 2-[bis(4-aroxybut-2-èn-1-yl)amino]-4-[1-naphtyl]thiazoles. **VI**
- 5-alcoyl-4-aryl-3-mercapto-1,2,4-triazoles **VIIa-t** et 5-alcoyl-4-[2(4-chlorophényl)éthyl]-3-mercapto-1,2,4-triazoles. **VIIu-x**
- 1-thioalcényl-2-anilidylimidazoles. **VIII**

Les synthèses multistades que nous avons mis en oeuvre, en particulier en série **VI** et **VII** nous ont permis de proposer quelques mécanismes réactionnels conduisant respectivement au 2-aminothiazole et au 1,2,4-triazole-3-mercapto obtenus.

La structure de tous ces dérivés, dont nous précisons les caractéristiques physico-chimiques, a été confirmée par les moyens analytiques habituels (spectres I.R, R.M.N.-¹H, microanalyse) et également par spectrométrie de masse à 70 eV (nous proposons des schémas de fragmentation pour les séries **VI**, **VII**, et **VIII**).

♦ Activité biologique.

→ Activité antiadhérente.

Deux séries (**III** et **V**) ont montré une activité antiadhérente prometteuse (supérieure tant aux composés que nous avons utilisés comme inhibiteur de l'adhésion qu'au miconazole, antimycosique introduit en thérapeutique) mais néanmoins inférieure à celle du 1,6-dimercaptohexane (le plus actif des composés étudié dans notre laboratoire). Malheureusement cet ω-dithiol présente plusieurs inconvénients rédibitoires: odeur extrêmement désagréable et persistante (il s'agit là d'un facteur très négatif pour un médicament potentiel), instabilité chimique (sensible, comme tous les autres thiols à l'oxydation notamment par l'oxygène de l'air) et caractère allergogène provoquant chez certains sujets des allergies de pronostic parfois gravissime. Au contraire les thiourées (**V**) sont inodores, stables chimiquement. Des études sont actuellement en cours pour déterminer le niveau de cytotoxicité de ces composés.

Deux séries ont révélé une activité antifongique intéressante :

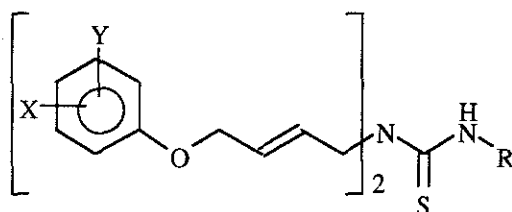
1) les thiocyanates **III**. La CMI à l'égard de *C. albicans* (8mg/l) est voisine de celle du miconazole et de l'amphotéricine B (resp. 5 et 7,5 mg/l) et supérieure à ces deux antifongiques commerciaux à l'égard de *T. cutaneum* (1 mg/l).

2) les triazoles **VII**. La CMI à l'égard de *T. cutaneum* (3 mg/l) est donc supérieure à celle des deux antifongiques mentionnés précédemment.

♦ Corrélation structure biologique-activité antiadhérente.

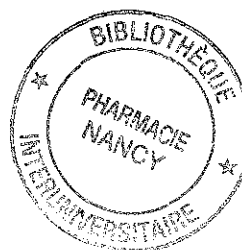
Une analyse de régression multivariable effectuée sur la série **V** (thiourée-1,1,3-trisubstituées) nous a permis d'établir une équation triparamétrique reliant le PA (pouvoir antiadhérent) à un paramètre physicochimique (R_m obtenu à partir du R_f déterminé expérimentalement) et à deux descripteurs électroniques (SDEL : superdélocalisabilité électrophile de la molécule, SDX : SDEL des substituants X du noyau aromatique).

Cette équation nous permettra d'orienter la suite de nos recherches vers la synthèse de molécules de structure :



- X,Y : Halogènes (brome ou iode, polyhalogénéation possible), groupement alcoyle (méthyle, éthyle, isopropyle etc...)

- R : noyau aromatique (naphtyl, phényl, biphényl et autres groupements favorisant la délocalisation du nuage électronique de la molécule) porteurs de substituant modulateur de la lipophilie (CO_2H , SO_3H , OH etc...)



BIBLIOGRAPHIE

- 1 - YARROW D., MEYER S.A.
Proposal for amendment of the diagnosis of the genus *Candida* Berkhout nom. cons. Int.
J.Syst.Bacteriol., 1978, 28, 611-615.
- 2 - ODDS F.C.
Candida and Candididosis.
Baillère Tindall, London, 2^{ème} édition, 1988, 468p.
- 3 - HASENCLEVER H.F., MITCHELL W.O.
Antigenic studies of *Candida* : I. Observation of two antigenic groups in *Candida albicans*.
J.Bacteriol., 1961, 82, 570-573.
- 4 - AUDRY C.
Sur l'évolution du champignon du muguet.
Rev.Med., 1887, 7, 586-595.
- 5 - ELORZA M.V, MURGUI A., SENTANDREU R.
Dimorphisme in *C. albicans* increased to human buccal epithelial cells.
J.Gen.Microbiol., 1985, 131, 2209-2216.
- 6 - KIMURA L.H., PEARSALL N.N.
Relationship between germination of *C. albicans* increased adherence to human buccal epithelial cells.
Infec.Immun., 1980, 28, 464-468.
- 7 - KENNEDY M.J.
Adhesion and associated mechanisms of *C. albicans*.
Cur.Top.Med.Mycol., 1988, 2, 73-169.
- 8 - CASSONE A., MATTIA E. BOLPRINI L.
Agglutination of blastospores of *C. albicans* by concanavaline A and its relationships with the distribution of mannopolymers and the ultrastructure of the cell wall.
J.Gen.Microbiol., 1978, 109, 263-273.
- 9 - GOPAL P., SULLIVAN P.A, SHEPERD M.G.
Isolation and structure of glucan from regenerating spheroplast of *Candida albicans*.
J.Gen.Microbiol., 1984, 130, 1217-1225.
- 10 - CHATTAWAY F.W., HOLMES M.R., BARLOW A.J.J.
Cell wall composition of the mycelial and blastospore forms of *Candida albicans*.
J.Gen.Microbiol., 1968, 51, 367-376.
- 11 - ELORZA V., RICO H., SENTANDREU R.
Calcofluor white alters the assembly of chitin fibrils in *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida albicans* cells.
J.Gen.Microbiol., 1983, 129, 1577-1582.
- 12 - FARKAS V.
Biosynthesis of cell walls of fungi.
Microbiol.Rev., 1979, 43, 117-144.

- 13 - TRONCHIN G., POULAIN D., HERBAUT J., BIGUET J.
Localization of chitin in the cell wall of *Candida albicans* by means of wheat germ agglutinin. Fluorescence and ultrastructural studies.
Eur.J.Cell.Biol., 1981, **26**, 121-128.
- 14 - GHANNOUM M.A., ABU EL TEENN K., RADWAN S.S.
Blocking adherence of *Candida albicans* epithelial cell by yeast glycolipids, yeast wall lipid and lipids from epithelial cell.
Mykosen, 1987, **30**, 371-378.
- 15 - GHANNOUM M.A., JANINI G., KHAMIS L., RADWAN S.S.
Dimorphism associated with variation in the lipid composition of *Candida albicans*.
J.Gen.Microbiol., 1986, **132**, 2367-2375.
- 16 - CHAFFIN L.W., STOCCO D.M.
Cell wall proteins of *Candida albicans*.
Can.J.Microbiol., 1983, **29**, 1438-1444.
- 17 - POULAIN D., HOPWOOD V., VERNES A.
Antigen variability of *Candida albicans*.
Crit.Rev.Microbiol., 1985, **12**, 223-271.
- 18 - PONTON J., JONES J.M.
Analysis of cell wall extracts of *Candida albicans* by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and western blot techniques.
Infect.Immun., 1986, **53**, 565-572.
- 19 - KESSLER G., NICKERSON W.J.
Glucomannan-protein complexes from cell walls of yeast.
J.Biol.Chem., 1959, **234**, 2281-2285.
- 20 - KOLOROVA N., MASLER L., SIKL D.
Cell wall glycopeptides of *Candida albicans* serotypes A and B.
Biochim.Biophys.Acta, 1973, **328**, 221-227.
- 21 - SAN-BLAS G.
The cell wall of fungal human pathogens : Its possible role in host-parasite relationships.
Mycopathologia, 1982, **79**, 159-184.
- 22 - POULAIN D., TRONCHIN G., JOUVERT S., HERBANT J., BIGUET J.
Architecture pariétale des blastospores de *Candida albicans* localisation de composants chimiques et antigéniques.
Ann.Microbiol.132A, 1981, **105**, 219-223.
- 23 - DJACZENKO W., CASSONE A.
Visualization of new ultrastructural components in the cell wall of *Candida albicans* with fixatives containing tapo.
J.Cell.Biol., 1971, **52**, 186-190.
- 24 - Mc COURTIE J., DOUGLAS L.J.
Relationship between cell surface composition of *Candida albicans* and adherence to acrylic after growth on different carbon sources.
Infect.Immun., 1981, **32**, 1234-1241.

- 25 - SANDIN R.L., KENNEDY M.J.
Influence of growth parameters on *Candida albicans* adhesion, hydrophobicity, and cell wall ultrastructure.
J.Med.Vet.Mycol., 1988, **26**, 79-
- 26 - TRONCHIN G., POULAIN D., VERNES A.
Cytochemical and ultrastructural studies of *Candida albicans*. III. Evidence for modifications of the cell wall coat during adherence to human buccal epithelial cells.
Arch.Microbiol., 1984, **139**, 221-224.
- 27 - BARNES J.L., OSGOOD W., LEE J.C., KING R.D., STEIN J.H.
Host-parasite interactions in the pathogenesis of experimental renal candidiasis.
Lab.Invest., 1984, **49**, 460-467.
- 28 - SEGAL E., LEHRER N., OFEK I.
Adherence of *Candida albicans* to human vaginal epithelial cells : Inhibition by amino sugars.
Exp.Cell.Biol., 1982, **50**, 13-17.
- 29 - SANDIN R.L., ROGERS A.L., PATTERSON R.J., BENEKE E.S.
Evidence for mannose-mediated adherence of *Candida albicans* to human buccal cells in vitro.
Infect.Immun., 1982, **35**, 79-85.
- 30 - LEE J.C., KING R.D.
Characterization of *Candida albicans* adherence to human vaginal epithelial cells in vitro.
Infect.Immun., 1983, **41**, 1024-1030.
- 31 - GHANNOUM M.A., BURNS G.R., ELTEEN K., RADWIN S.S.
Experimental evidence for the role of lipids in adherence of *Candida* spp to human buccal epithelial cells.
Infect.Immun., 1986, **54**, 189-193.
- 32 - REINHART H., MULLER G., SOBEL J.D.
Specificity and mechanism of in vitro adherence of *Candida albicans*.
Ann.Clin.Lab.Sci., 1985, **15**, 406-413.
- 33 - SANDIN R.L., ROGERS A.L.
Inhibition of adherence of *Candida albicans* to human epithelial cells.
Mycopathologia, 1982, **77**, 23-26.
- 34 - KUOS C., LAMPEN J.O.
Tunicamycin-an inhibitor of yeast glycoprotein synthesis.
Biochem.Biophys.Res.Comm., 1974, **58**, 287-295.
- 35 - TRONCHIN G., BOUCHARA J.P., ANNAIX V., ROBERT R., SENET J.M.
Fungal adhesion molecules in *C.albicans*.
Eur.J.Epidemiol., 1991, **71**, 23-33.
- 36 - SOBEL J.D., MYERS P.G., KAYE D., LEVISON M.E.
Adherence of *Candida albicans* to human vaginal and buccal epithelial cells.
J.Infect.Dis., 1981, **143**, 76-82.

- 37 - RUTTER P.R.
Mechanisms of adhesion, in Marshall KC (ed) : Microbiol Adhesion and Aggregation.
Springer-Verlag, Berlin, 1984, pp.5-19.
- 38 - KENNEDY M.J.
Model for studying the role of fungal attachment in colonization and pathogenesis
Mycopathologia., 1990, 109, 123-137.
- 39 - KENNEDY M.J.
Adhesion and association mechanisms of *Candida albicans*.
In : McGinnis MR ed. Current Topics in Medical Mycology vol. 2.
Springer-Verlag, New-York, 1988, 73-169.
- 40 - KLOTZ A., SMITH R.L.
A fibronectine receptor on *C. albicans* mediates adherence of the fungus to extracellular matrix .
J.Infect.Dis., 1991, 163, 604-610.
- 41 - KENNEDY M.J., VOLZ P.A., EDWARDS C.A., YANCEY R.J.
Mechanisms of association of *Candida albicans* with intestinal mucosa.
J.Med.Microbiol., 1987, 24, 333-341.
- 42 - JONES G.W.
The attachment of bacteria to the surfaces of animal cells.
in Reissig JL (ed) : Microbial Interactions.
Recept.Recognit., ser.B, 1977, 42, 139-176.
- 43 - MARSHALL K.C.
Interfaces in Microbial Ecology.
Harvard University Press, Cambridge, MA, 1976.
- 44 - LOEB G.I., NEW-YORK
The properties of nonbiological surfaces and their characterization,
in Savage DC, Fletcher M (ed) : Bacteriol adhesion : Mechanisms and Physiological Significance.
Plenum Press, New-York, 1985, 111-129.
- 45 - KIMURA L.H., PEARSALL N.N.
Adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells.
Infect.Immun., 1978, 21, 64-68.
- 46 - HOWLETT J.A.
The infection of rat tongue mucosa in vitro with five species of *Candida*.
J.Med.Microbiol., 1976, 9, 309-316.
- 47 - DOUGLAS L.J., HOUSTON J.G., McCOURTIES J.
Adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells after growth on different carbon sources.
FEMS Microbiol Letters, 1981, 12, 241-243.
- 48 - CURITS A.S.G..
Cell adhesion.
Prog.Biophys.Mol.Biol., 1973, 27, 317-386., 1981, 14, 633-662.

- 49 - VERVEY E.J.W., OVERBEECK J.T.G.
Theory of the stability of lyophobic colloids.
Elsevier, Amsterdam, 1948.
- 50 - MARRIE T.J., COSTERTON J.W.
The ultrastructure of *Candida albicans* infections.
Can.J.Microbiol., 1981, **27**, 1156-1164.
- 51 - KLOTZ S.A., DRUTZ D.J., ZAJIC J.E.
Factors governing adherence of *Candida albicans* species to plastic surfaces.
Infect.Immun., 1985, **50**, 97-101.
- 52 - SOBEL J.D., MULLER G., BUCKLEY H.R.
Critical role of germ tube formation in the pathogenesis of candidal vaginitis.
Infect.Immun., 1984, **44**, 576-580.
- 53 - HOWLETT J.A., SQUIER C.A.
Candida albicans ultrastructure : Colonization and invasion of oral epithelium.
Infect.Immun., 1980, **29**, 252-260.
- 54 - SANDIN R.L.
The attachment to human buccal epithelial cells by *Candida albicans* : An in vitro kinetic study using concanavalin A.
Mycopathologia 1987, **98**, 179-184.
- 55 - CALDERONE R.A., CIHLAR R.L., LEE D.D.S., HOBERG K., SCHELD W.M.
Yeast adhesion in the pathogenesis of endocarditis due to *Candida albicans* : Studies with adherence negative mutants.
J.Infect.Dis., 1985, **152**, 710-715.
- 56 - LILJEMARK W.F., GIBBONS R.J.
Suppression of *Candida albicans* by human oral streptococci in gnotobiotic mice.
Infect.Immun., 1973, **8**, 846-849.
- 57 - BRENCIAGLIA M.I.
Antifungal drug and adherence. Microbial, chemotherapeutical, and immunological problems in risk patient-4-1989-Rome.
New-York : Raven press, 1989.
- 58a - SMITH E.B.
History of antifungal.
J.Am.Acad.Derm., 1990, **23**, 776-778.
- 58b- VAN CUTSEM J.
The antifungal activity of ketoconazole.
Am.J.Med., 1983, **74**, 9-15.
- 59 - CIRILLO V.P., MAISCH M., LAMPEN J.O.
Action of the polyene antibiotics Filipin, Nystatin and N-acetylcandidin on the yeast cell membrane.
J.Gen.Microbiol., 1964, **35**, 249-259.

- 60 - BRAJTBURG J., POWDERLY W.G., KOBAYASHI G.S., MEDOFF G.
Minireview Amphotericin B : Understanding of mechanisms of action.
Antimicrob.Agents Chemother., 1990, **34**, 183-188.
- 61 - HAMMOND S.M.
Biological activity of polyene antibiotics.
Prog.Med.Chem., 1977, **14**, 106-179.
- 62 - BALCAVAGE W.X., BEALE M., CHASEN B., MATTOON J.R.
Effect of Filipin on rat-liver and yeast mitochondria.
Biochim.Biophys.Acta., 1968, **162**, 525-532.
- 63 - KERRIG D., FASOLI M., WAYMAN F.
Drug resistance in *C. albicans* and *C. glabrata*.
Ann.N.Y.Acad.Sci., 1988, **544**, 245-259.
- 64 - MARRIOT M.S.
The rational design of fungal lanosterol C14 demethylase inhibitors.
Pharmacolo.&Thera., 1990, *Supp.*, 193-204.
- 65 - IWATA K., KANDA Y., YAMAGUCHI H., ISUMI M.
Electron microscopic studies on the mechanism of action of clotrimazole on *Candida albicans*.
Sabouraudia, 1973, **11**, 205-209.
- 66 - ARCY P.F., SCOTT E.M.
Antifungal agent.
Prog.Drug.Res., 1978, **22**, 93-147.
- 67 - VANDEN BOSSCHE H.
Biochemical Target for antifungal azole derivatives : hypothesis on the mode of action.
Curr.Top.Med.Mycol., 1985, **1**, 313-351
- 68 - KERRIDGE D.
Antifungal drugs- Currents problems, future prospects.
Pharmacol.&Ther., 1990, *Sup.*, 163-174.
- 69 - STUTZ A.
Allylamine derivatives-inhibitors of fungal squalene epoxidase. Pharmacology and therapeutics.
International Encyclopedia of Pharmacology, 1990, *Sup.*, 205-213.
- 70 - BARONE F.E., TANSEY M.R.
Isolation, purification, identification, synthesis, and kinetics of activity of anticandidal component of *Allium Sativum*, and a hypothesis for its mode of action.
Mycologia, 1977, **69**, 793-825.
- 71 - GHANNOUM A.M.
Studies on the anticandidal mode of action of *Allium Sativum* (Garlic)
J.Gen.Microbiol., 1988, **134**, 2917-2924.

- 72 - SMITH H.
The therapeutic potential of inhibition or circumvention of the determinants of microbial pathogenicity.
Symp.Soc.Gen.Microbiol., 1985, **38**, 367-393.
- 73 - ANDERSON M.L., ODDS F.C.
Adherence of *C. albicans* to vaginal epithelial : significance of morphological form and effect of ketoconazole.
Mykosen, 1985, **2**, 531-540.
- 74 - VUDDHAKUL V., Mc CORMACK J.G., SEOW W.K., SMITH S.E., THONG Y.H.
Inhibition of adherence of *Candida albicans* by conventional and experimental antifungal drugs.
J.Antimicrobiol.Chemother., 1988, **21**, 755-763.
- 75 - DARWAZEH A.M.G., LAMEY P.J., LEWIS M.A.O., SAMARANAYAKE L.P.
Systemic fluconazole therapy and in vitro adhesion of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells.
J.Oral.Pathol.Med., 1991, **20**, 17-19.
- 76 - GHANNOUM M.A.
Inhibition of *Candida* adhesion to buccal epithelial cells by an aqueous extract of *Allium sativum* (garlic).
J.Appl.Bacteriol., 1990, **68**, 163-169.
- 77 - GORMAN S.P., Mc CAFFERTY D.F., WOOLFSON A.D., ANDERSON L.
Decrease in adherence of bacteria and yeast to human mucosal epithelial cells by noxythiolin in vitro.
J.Appl.Bacteriol., 1986, **60**, 311-317.
- 78 - NASRI I., RAHARY L., LOPPINET V., BONALY R.
 α,ω -alkanedithiols, inhibitors of *Candida albicans* germ tube autoaggregation. A study model of the adherence of pathogenic agents on host cells.
Yeast, 1989, *Spec.Iss.*, **2**, 241-244.
- 79 - JACOB O.
Conception assistée par ordinateur de nouvelles substances thérapeutiques actives : application à l'étude des antiagrégants de tubes germinatifs de *C. albicans*.
Thèse pharm. Univ. Nancy I (1986)
- 80 - RAHARY L., BONALY R., LEMATRE J., POULAIN D.
Aggregation and disaggregation of *Candida albicans* germ-tubes.
FEMS Microbiol.Lett., 1985, **30**, 383-387.
- 81a - NAYLOR R.F.
The reaction of sulphur and sulphur compounds with olefinic substances.
Part.II. Mechanism of the reaction of hydrogen sulphide with mono-olefins, di-isoprenes, and rubber.
J.Chem.Soc., Part II, 1947, **2**, 1532-1539.

- 81b - UENO Y., TANAKA C., OKAWARA M.
Activation of nitroso group with thiols. A new transformation of primary amines to organic sulfides or thiols.
Tetrahedron Letter, 1984, **25**, 2675-2678.
- 81c - MOLINA P., ALAJARIN M., FERAC A., LIDON M.J., FRESNEDA M., VILAPLANA M.J.
Transformation of primary amines to thiol, sulfides or acylmethylthiocyanate via pyridinium salts.
Synthesis, 1982, 472-475.
- 81d - NUMATA T., AWANO H., OAE S.
Direct reduction of sulfonic acid to the corresponding thiol with trifluoroacetic anhydride / tetrabutylammonium iodide system.
Tetrahedron Lett., 1980, **21**, 1235-1238.
- 81e - GOODMAN L., BENITEZ A., BAKER B.R.
Potential anticancer agents. I. Model experiments for synthesis of 2'-Desoxynucleosides by the 2,3 - episulfide approach.
J.Am.Chem.Soc., 1958, **80**, 1680-1686.
- 82a - ELIEL E.L., RAO V.S., SMITH S., HUTCHINS R.O.
A convenient and stereoselective dithiol synthesis
J.Org Chem., 1975, **40**, 524-526.
- 82b - IQBAL S.M., OWEN L.N.
Dithiols. Part XXI. Dithiol from cyclic trithiocarbonates.
J.Chem.Soc., 1960, **1**, 1030-1036.
- 83a - MAHMOUD S., ELSHAFTE M.
An alternative to the leuckart method for the conversion of primary amines into thiols.
Org.Prep.Proced.Int., 1983, **15**, 4, 225-231.
- 83b - BRINDLE J.R., LIARD J.L.
Facile syntheses of thiols and sulfides.
Canad.J.Chem., 1975, **53**, 1480-1483.
- 84 - VOLANTE R.P.
A new highly efficient method for the conversion of alcohols to thioesters and thiols
Tetrahedron Lett., 1981, **33**, 3119-3122.
- 85 - PIPER J.R., JOHNSTON T.P.
Derivatives of 2-amino-ethanethiol related to spermine and spermidine.
J.Org.Chem., 1968, **33**, 2, 636-642.
- 86 - COSSAR B.C., FOURNIER J.O., FIELDS D.L., REYNOLDS D.D.
Preparation of thiols
J.Org.Chem., 1962, **27**, 93-95.
- 87a - MORI K., NAKAMURA Y.
Thiols and sulfides from xanthogenic acid ester
J.Org.Chem., 1969, **34**, 4170-4172

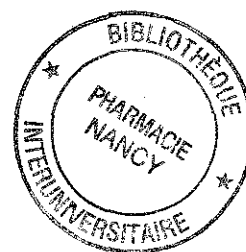
- 87b - LAUFER R.J.
4-mercaptophenols.
U.S.Pat., 2 101 359 ; *Chem.Abs.*, 1971, 75, 88310 h
- 88 - MISTSUNOBU O.
The use of diethyl azodicarboxylate and triphenylphosphine in synthesis and transformation of natural product.
Synthesis, 1981, 1-28.
- 89 - FRIEDRICH K., HENNING H.G.
Mono und bifunktionelle triphenylphosphoniumsalze.
Chem. Ber., 1959, 92, 2756-2760.
- 90 - CAMPBELL T.W., Mc DONALD R.N.
Synthesis of hydrocarbon derivatives by the Wittig synthesis : I. Distyrylbenzene.
J.Org.Chem., 1959, 24, 1246-1251.
- 91 - BESAGE Y., MARSZAK I.
Synthèse et application des monoaryléthers du butynediol.
Bull.Soc.Chim.Fr., 1971, 6, 2275-2279.
- 92 - LOWE G.
The cysteine proteinases.
Tetrahedron, 1976, 32, 291-302.
- 93 - GRDINA D.J., SIGDESTAD C.P.
Radiation protectors : the unexpected benefits.
Drug Met.Rev., 1989, 20, 13-42.
- 94 - JACK M., WOOD J.B., BERRY D.R.
Evidence for the involvement of thiocyanate in the inhibition of *Candida albicans* by *lactobacillus acidophilus*
Microbios, 1990, 62, 37-46.
- 95 - KHARASCH N.
Organic sulfur compounds.
Pergamon Presinc, NEW-YORK, 1961, Vol.I, Chap.27, 623 p.
- 96a - ALLEN P.
The preparation of some normal aliphatic thiocyanates.
J.Am.Chem.Soc., 1935, 57, 198-200.
- 96b - SERVIGNE M., SZARVASI E., NEUVY L.
Quelques réactions des dihalogéno-1,4-butanes.
C.R.Acad.Sci.Paris, 1954, 238, 2169-2171.
- 97 - KATRIZKY A.R.
Conversion of primary aliphatic amines into thiocyanates and thiocarbonates esters.
J.Chem.Soc., Chem.Comm., 1978, 133-134.
- 98a - TAMURA Y., KAWASASAKI T., ADACHI M., TANIO M.
Thiocyanation and cyanation using a new combined reagent of triphenylphosphine and thiocyanogen.
Tetrahedron Lett., 1977, 50, 4417-4421.

- 98b - POHLOUDEK H., FABINI R., KATTKE K., FRIEDRICH F.
Über die spaltung organischer disulfide in rhodanverbindungen und
sulfensäurerhodanide.
Pharmazie, 1971, **26**, 283-.
- 99 - LUSTIN L.S., GANTERT G.E., CRAIG W.E.
The addition of isothiocyanic acid to olefinic compounds.
J.Am.Chem.Soc., 1956, **78**, 4965-
- 100 - WIRTH W.V.
Arylene diisothiocyanates
U.S. Pat. 2 681 358 ; *Chem.Abs.*, 1955, **49**, 6303 g.
- 101 - ANGUS A.B., BACON R.G.R.
Thiocyanogen chloride. Part II. Chemical evidence for the existence of the
monomeric compound in solution in organic solvents.
J.Chem.Soc., 1958, **1**, 774-778.
- 102a - SCHROEDER D.C.
Thioureas.
Chem.Rev., 1955, **99**, 181-228.
- 102b - MORLEY J.S., SIMPSON J.C.E.
Cinnolines and other heterocyclic types in relation to the chemotherapy of
trypanosomiasis. Part VI. Synthesis of quaternary salts of diciannalyl and
diquinolyl-ureas, thioureas and guanidines.
J.Chem.Soc., 1952, **3**, 2617-2622.
- 102c - WELLER L.E., BALL C.D., SELL H.M., LOWELL E.
Benzylamine as a reagent for the characterisation of isothiocyanates.
J.Am.Chem.Soc., 1952, **74**, 1104-1105.
- 103 - REITER J., TOLDY L., SCHAFER I., SZONDY E., BORSY J.
Synthesis of new "benzyl"-thiourea derivatives and their cyclic analogues with
diuric and saluretic activity.
Eur.J.Med.Chem., 1980, **15**, 41-53.
- 104 - GORMAN S.P., Mc CAFFERTY D.F., WOOLFSON A.D., ANDERSON L.
Inhibition of hyphal development and kill of *Candida albicans* blastospores by
noxythioline in vitro.
J.Appl.Bacteriol., 1986, **60**, 319-325.
- 105 - SCHIMIDT E.G., ALVAREZ DE CHOUDENS J.A., Mc ELVAIN N.F.,
BEARSCISLEY J., TAWAT S.A.A.
Microbiological study of *cryptococcus neoformans*.
Arch.Biochem., 1950, **26**, 15-24.
- 106 - JONCZYK A., OCHAL Z.
Reaction of organic anions, LXXXV-Catalytic two phase alkylation of
cyanamide.
Synthesis, 1978, **12**, 882-883.
- 107 - VLIETE E.B.
Diallylamine
Org.Synth., Coll.Vol., 1956, **1**, 201-203.

- 108 - SATCHELL D.P.N., SATCHELL R.S.
Acylation by ketens and isocyanates. A mechanistic comparaison.
Chem.Soc.Rev., 1975, 4, 231-250.
- 109 - HYOSHIRO U., TOGO Y.
Fungicides . XX . Antifungal activity of 3-aminothiazoline-2-thione and 4H-1, 3, 4-thiadiazine derivatives.
Yakugaku Zasshi, 1969, 89, 699-701.
Chem.Abs., 1969, 71, 69601
- 110 - BOHZOM A., METZZER J.
Synthèse et réactivité dans la série des dialcoylamino-2-thiazoles.
Bull.Soc.Chim. Fr., 1963, 11, 2582-2588.
- 111 - TELLER J., DEHNE H., ZIMMERMANN T., FISCHER G.W.
Substituierte 2-amino-thiazole aus alpha-thiocyanatophenonen und dialkylaminen.
J.Prakt.Chem., 1990, 332, 453-460.
- 112 - LEIBSCHER J., HARTMANN H.
Eine neue variante zur synthese substituierter 2-aminothiazole.
Z.Chem., 1974, 14, 309-
- 113 - HIRAI K., ISHIBA T.
Reactions of N-(1,3-oxathiol-2-ylidene) tertiary iminium salts with nucleophiles containing an amino group.
Chem.Comm., 1971, 2, 1318-1319.
- 114 - BARTON D., DAVID OLLIS W.
Comprehensive organic chemistry.
Pergamon Press, London, 1979, Vol.4, Part .17.3, 1228 p.
- 115 - WIKEL J.H., PAJET C.J.
Synthesis of 5-triazolo[3,4-b]benzothiazoles.
J.Org.Chem., 1974, 39, 3506-3508.
- 116 - REYNOLDS G.A., VAN ALLAN J.A.
The synthesis of polyazainolenes and related compounds.
J.Org.Chem., 1959, 24, 1478-1490.
- 117 - MUHI-ELDEEN Z., NADIR M., ALGOBORY N.R., HUSSEEN F., STOHS S.J.
Synthesis and antimicrobial evaluation of 3-(4-ter amino-2-butynyl) thio and alkyl/alkenylthio-4,5-disubstituted -4H-1, 2, 4-triazoles.
Eur.J.Med.Chem., 1991, 26, 237-241.
- 118 - COBURN R.A., BHOOSHAN B., GLENNON R.A.
The preparation of 2-alkylamino-1, 3, 4-thiadiazoles.
J.Org.Chem., 1973, 38, 3947-3948.
- 119 - DYSON G.M.
p. chlorophenylisothiocyanate.
Org. Synth., Coll.Vol., 1941, 1, 165-166.

- 120 - DAINS F.B., BREWSTER R.Q., OLANDER C.P.
Phenyl isothiocyanate.
Org.Synth., Coll.Vol., 1941, **1**, 447-449.
- 121 - MARTIN D., BEYER E., GROSS H.
Notiz über eine einfache methode zur darstellung non senfölen.
Chem.Ber., 1965, **98**, 2425-2426.
- 122 - HODGKINS J.E., ETTLINGER G.M.
The synthesis of isothiocyanates from amine.
J.Org.Chem., 1956, **21**, 404-405.
- 123 - BLY R.S., PERKINS G.A., LEWIS W.L.
The preparation of phenylimido-phosgene, and the chlorination of formanilide
J.Am.Chem.Soc., 1922, **44**, 2897-2903.
- 124 - JOCHIMS J.C.
Über eine neue synthese aromatischer isothiocyanate.
Chem.Ber., 1968, **101**, 1746-1752.
- 125 - KATRITZKY A.R., JIANG J., UROGDI L.
(Triphenylphosphoroylideneaminomethyl) benzotriazole (BETMIP) a novel+CH₂N=synthetic equivalent : its application to the synthesis of carbodiimides, isothiocyanates, pyridines, and secondary amine.
Synthesis, 1990, 565-567.
- 126 - STAAB H.A., WALTHER G.
Reaktionen non N, N'-thiocarbonyl-diimidazol.
Liebigs Ann.Chem., 1962, **657**, 98-103.
- 127 - PAPADOPOULOS E.P.
Reactions of imidazoles with isothiocyanates at elevated temperature.
Org.Chem., 1977, **42**, 3925-3929.
- 128 - KIKUGAWA Y.
A facile N-alkylation of imidazoles and benzimidazoles.
Synthesis, 1981, 124-125.
- 129 - LANDAU J.W., DABROWA N., NEWCOVER V.
J. Invest. Dermatol., 1965, **44**, 171-179.
- 130 - WALBAUM S., DUJARDIN L.
Observation sur l'autoagglutination chez *C. albicans* et *C. Tropicalis*.
Bull.Soc.Fr.Mycol.Med., 1982, **11**, 339-342.
- 131 - HANSCH C., LEO A.
a) Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology.
John Wiley & sons, New-York, 1979, 339 p.
b) LEO A., HANSCH C., ELKIND D.
Partition coefficient and their uses.
Chem.Rev., 1971, **71**, 525-615.

- 132 - BOYCE C.B.C., MILBORROW B.V.
A simple assessment of partition data for correlating structure and biological activity using thin layer chromatography
Nature, 1965, **208**, 537-539.
- 133 - BATE-SMITH E.C., WESTALL R.G.
Chromatographic behaviour and chemical structure. I. Some naturally occurring phenolic substances
Biochim.Biophys.Acta., 1950, **4**, 427-
- 134 - NYS G.G., REKKER R.F.
Statistical analysis of a series of partition coefficients with special reference to the predicability of folding of drug molecules. The introduction of hydrophobic fragmental constants (*f* Values).
Chim.Ther., 1973, **5**, 521-535.
- 135 - GARNIER J.P.
Méthodes de rationalisation de la recherche pharmaceutique. Méthodes semi-empiriques et méthode de Hansch.
Actualité de chimie thérapeutique, 1971, 1ère série, 9-302.
- 136 - CARTIER A., RIVAIL J.L.
Electronic descriptors in quantitative structure-activity relationships.
Chem.Intel.Lab.Syst., 1987, **1**, 335-347.
- 137 - a) VESSEREAU A.
Méthodes statistiques en biologie et en agronomie
Lavoisier (Tec & Doc), Paris, 1988, 538p.
b) Centre d'enseignement et de recherche de statistique appliquée.
Aide-mémoire pratique des techniques statistiques.
Lavoisier (Tec & Doc), Paris, 1986, 132 p.
- 138 - TSE-LOK H.
The hard soft acids (HSAB) principle and organic chemistry.
Chem.Rev., 1975, **75**, 1-19.



DEMANDE D'IMPRIMATUR

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE NANCY I, mention : Chimie Thérapeutique

présenté par : Nicolas AUZEIL

SUJET : RECHERCHE D'ANTIFONGIQUES INHIBITEURS DE L'ADHESION :
SYNTHESE ET ACTIVITE BIOLOGIQUE DE THIO-DERIVES LIPOPHILES
(THIOCYANATES, THIOUREES, AZOLES MONO ET POLYCYCLIQUES).

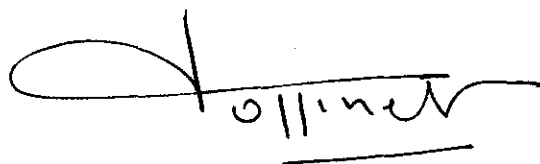
* JURY : Président : V. LOPPINET, Professeur (Faculté de Pharmacie de Nancy)
Juges : B. LOUBINOUX, Professeur (Faculté des Sciences de Nancy)
: R. BONALY, Professeur (Faculté de Pharmacie de Nancy)
: A. CARTIER, Chargé de recherche au CNRS
Rapporteurs : C. G. WERMUTH, Professeur (Faculté de Pharmacie de Strasbourg)
: J. VAN CUTSEM, Dir. Départ. Bactériologie et MYcologie
(Lab. Janssen-Beerse Belgique)

Date de soutenance : 29 juin 1992

Vu et approuvé

Nancy, le 4 juin 1992

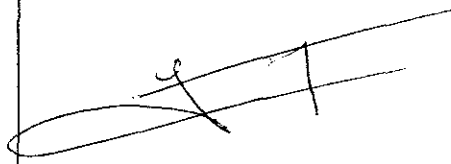
Le Président de Jury de Thèse,



V. LOPPINET

Vu et approuvé

Nancy, le 11 juin 92

Le Responsable du Groupe de
Formation Doctorale
"Biologie-Médicament",


G. SIEST

Vu et approuvé,

Nancy, le 05 JUIN 1992

Le Doyen de la Faculté,



C. VIGNERON,

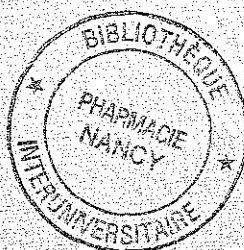


Vu et approuvé,

Nancy, le 12 JUIN 1992 n°306

Le Président de l'Université
de Nancy I,

* Indiquer les rapporteurs.



RESUME

L'attachement de *C. albicans* sur sa cellule cible constituant une étape clef dans le processus de colonisation de l'organisme et de pathogénèse des candidoses l'objectif de ce travail est la synthèse d'inhibiteurs de l'adhésion de ce fongus pathogène. La première partie présente une revue bibliographique de la physicochimie et de la nature des constituants pariétaux (adhésines) intervenant dans l'adhésion de ce fongus. Dans une deuxième étape est présentée la synthèse de 8 séries de composés associant la fonction thiol ou un autre groupement soufré (thiocyanate, thiourée, 2-aminothiazole...) à un environnement lipophile apporté par une insaturation (vinyle, phényle). Dans une troisième partie, l'activité antiadhérente est quantifiée par la mesure de l'inhibition de l'autoaggrégation des tubes germinatifs de *C. albicans* (modèle de l'adhésion). Les thiocyanates de 4-aroxybut-2-ène-1-yle et les N-bis(4-aroxybut-2-ène-1-yl) N'-(4-chlorophényl, 1-naphtyl, 1-allyl) thiourées ont montré une activité respectivement 74 et 47 fois supérieures à celle du miconazole. De plus le spectre antifongique des 90 composés synthétisés est déterminé. Dans une dernière partie sont présentées les relations structure chimique -activité biologique décrites notamment par une équation de corrélation multiparamétrique reliant le logarithme de l'activité antiadhérente à deux descripteurs électroniques (programme GEOMOS) et un paramètre d'hydrophobie.

MOTS CLEFS : *Candida albicans*, adhésion, autoaggrégation, antiadhérent, antifongique, thiocyanate, thiourée, Q.S.A.R.