

UNIVERSITE DE LIMOGES

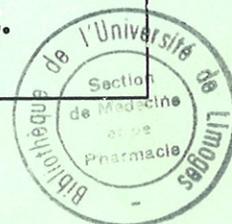
FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE 1998

THESE N° 325 / 1



**SYNTHESE ET EVALUATION  
DE L'ACTIVITE ANTITHYROIDIENNE  
DE DERIVES DU  
3-MERCAPTO-5-METHYL-2-PHENYL-1,2,4-TRIAZOLE.**



**THESE**

**POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

présentée et soutenue publiquement le 28 Octobre 1998

**PAR**

**Marie-Emmanuelle JAMES**

Née le 30 Octobre 1972 à Vannes (Morbihan)

**EXAMINATEURS DE LA THESE**

**M. LAGORCE Jean-François.....- Président**  
**Melle CLEDAT Dominique.....- Juge**  
**Melle BEYSSEN Marie-Laure.....- Juge**

UNIVERSITE DE LIMOGES  
FACULTE DE PHARMACIE

---

**DOYEN DE LA FACULTE :** Monsieur le Professeur GHESTEM Axel

**ASSESEURS :** Monsieur le Professeur HABRIOUX Gérard  
Monsieur DREYFUSS Gilles - Maître de Conférences

**PROFESSEURS :**

<b>BENEYTOUT</b> Jean-Louis	BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>BERNARD</b> Michel	PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE
<b>BOSGIRAUD</b> Claudine	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE PARASITOLOGIE
<b>BROSSARD</b> Claude	PHARMACOTECHNIE
<b>BUXERAUD</b> Jacques	CHIMIE ORGANIQUE CHIMIE THERAPEUTHIQUE
<b>CARDOT</b> Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
<b>CHULIA</b> Albert	PHARMACOGNOSIE
<b>CHULIA</b> Dominique	PHARMACOTECHNIE
<b>DELAGÉ</b> Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
<b>GHESTEM</b> Axel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
<b>HABRIOUX</b> Gérard	BIOCHIMIE FONDAMENTALE
<b>LACHATRE</b> Gérard	TOXICOLOGIE
<b>MOESCH</b> Christian	HYGIENE-HYDROLOGIE-ENVIRONNEMENT
<b>LOUDART</b> Nicole	PHARMACODYNAMIE

**SECRETARE GENERAL DE LA FACULTE**  
**CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS**

**POMMARET** Maryse

A ma maman,

Pour son soutien et ses encouragements tout au long de mes études.

A mes soeurs et frères,

A Vincent,

A ma nombreuse famille,

A tous mes amis,

je dédie ce travail.

**A notre maître de thèse**

**Monsieur Jean-François Lagorce**

Maître de conférence, service de Chimie Organique, habilité à diriger des recherches.

Vous nous avez confié la réalisation de ce travail et accepté la présidence de cette thèse.

Nous vous remercions de nous avoir accueilli dans votre laboratoire pour la réalisation des manipulations ainsi que pour vos précieux conseils et votre sympathie.

Nous sommes très heureux de vous exprimer notre reconnaissance et notre gratitude.

A nos juges,

**Melle Dominique CLEDAT**

Maître de conférences, service de Chimie Analytique.

Nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous faites  
de juger ce travail.

Nous tenons à vous assurer de notre profonde reconnaissance  
pour vos encouragements et votre gentillesse.

**Melle Marie-Laure BEYSSEN**

Docteur en pharmacie.

Je te remercie pour ton soutien au cours de l'élaboration  
de cette thèse.

Avec toute ma gratitude d'avoir accepté de juger ce travail.

# **INDEX**

## **INTRODUCTION**

## **PREMIERE PARTIE**

### **1. PHYSIOLOGIE**

#### **1.1. Follicule thyroïdien**

#### **1.2. Cellules de la thyroïde**

##### **1.2.1. Cellules folliculaires ou thyrocytes**

##### **1.2.2. Cellules parafolliculaires ou cellules C**

### **2. SYNTHÈSE DES HORMONES THYROÏDIENNES**

#### **2.1. Origine de l'iode**

#### **2.2. La thyroglobuline**

#### **2.3. Synthèse des hormones thyroïdiennes**

##### **2.3.1. Oxydation des iodures**

##### **2.3.2. Iodation des résidus tyrosyls de la Thyroglobuline**

##### **2.3.3. Couplage des iodotyrosines : formation des iodothyronines ou hormones**

thyroïdiennes

##### **2.3.4. Libération des hormones thyroïdiennes**

### **3. ACTION DES HORMONES THYROÏDIENNES ET PATHOLOGIES**

#### **3.1. Action physiologique des hormones thyroïdiennes**

##### **3.1.1. Effet sur le développement**

- 3.1.2. Effet sur les mitochondries
- 3.1.3. Effet sur la calorigénèse
- 3.1.4. Effet sur les métabolismes
- 3.1.5. Effet sur le système musculaire squelettique
- 3.1.6. Effet sur le système cardiovasculaire
- 3.1.7. Effet sur le système hématopoïétique
- 3.1.8. Effet sur le système nerveux
- 3.2. Pathologies thyroïdiennes
  - 3.2.1. Hypothyroïdies
  - 3.2.2. Hyperthyroïdies

## DEUXIEME PARTIE

### 1. REVUE DES DIFFERENTES SYNTHESSES DE CYCLE TRIAZOLE

- 1.1. Synthèse de 3-nitro-1,2,4-triazol-5-one
- 1.2. Synthèse de 1,5-diaryl-3-amino-1H-1,2,4-triazole
- 1.3. Cyclisation de l'éthyl- $\beta$ -formyloxalamidrazone
- 1.4. Synthèse de 3-amino-1,2,4-triazole
- 1.5. Synthèse de 5-aryl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione

### 2. SYNTHÈSE DE DERIVES DU 3-MERCAPTO-5-METHYL-2-PHENYL-1,2,4- TRIAZOLE

- 2.1. Première étape
  - 2.1.1. Principe de la réaction

### 2.1.2. Mécanisme réactionnel

## 2.2. Deuxième étape

### 2.2.1. Principe de la réaction

### 2.2.2. Mécanisme réactionnel

## 2.3. Troisième étape

### 2.3.1. Principe de la réaction

### 2.3.2. Mécanisme réactionnel

## 3. MODES OPERATOIRES

### 3.1. Schéma de l'appareillage

### 3.2. Synthèse de 3-mercapto-5-méthyl-2,4-diphényl-1,2,4-triazole

#### 3.2.1. Première étape

#### 3.2.2. Deuxième étape

#### 3.2.3. Troisième étape

### 3.3. Synthèse de 4-éthyl-3-mercapto-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole

#### 3.3.1. Deuxième étape

#### 3.3.2. Troisième étape

### 3.4. Synthèse de 4-butyl-3-mercapto-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole

#### 3.4.1. Deuxième étape

#### 3.4.2. Troisième étape

## 4. CONTROLE DES PRODUITS SYNTHETISES

### 4.1. La spectrométrie infrarouge

### 4.2. La résonance magnétique nucléaire

### 4.3. Résultats

## TROISIEME PARTIE

### 1. RAPPEL SUR L'ETUDE SPECTROPHOTOMETRIQUE DES COMPLEXES DU TYPE TRANSFERT DE CHARGE

### 2. METHODES D'ETUDE SPECTROPHOTOMETRIQUE

- 2.1. Spectrophotométrie dans la région du visible
- 2.2. Spectrophotométrie dans la région de l'ultraviolet
- 2.3. Stoechiométrie des complexes

### 3. MATERIEL UTILISE ET PROTOCOLES

#### 3.1. Produits chimiques

- 3.1.1. L'halogène accepteur
- 3.1.2. Les molécules "donneurs"

#### 3.2. Les solvants

#### 3.3. Le matériel

#### 3.4. Spectrophotomètres

#### 3.5. Méthodes expérimentales et protocoles

#### 3.6. Solutions de complexes

### 4. CALCUL DES CONSTANTES

### 5. STABILITE ET EVOLUTION DES COMPLEXES

- 5.1. Influence de la concentration des réactifs
- 5.2. Influence du temps
- 5.3. Influence de la température

### 6. RESULTATS

## **QUATRIEME PARTIE**

### 1. LES SITES D'ACTION

#### 1.1. Sur l'iode moléculaire

#### 1.2. Sur la peroxydase thyroïdienne

##### 1.2.1. Propriétés moléculaires de la peroxydase thyroïdienne

##### 1.2.2. Mécanisme d'action des ATS

### 2. MODELE EXPERIMENTAL

#### 2.1. Introduction

#### 2.2. Principe

#### 2.3. Préparation des réactifs

##### 2.3.1. Préparation de la solution tampon pH 7

##### 2.3.2. Préparation des solutions d'enzymes

##### 2.3.3. Préparation de la solution d'iodure de potassium

##### 2.3.4. Mise au point des paramètres

##### 2.3.5. Préparation des solutions des produits

#### 2.4. Résultats

#### 2.5. Discussion

## **CONCLUSION**

## **BIBLIOGRAPHIE**

# INTRODUCTION

Les antithyroïdiens de synthèse (ATS) agissent en empêchant la formation des hormones thyroïdiennes. Ils perturbent l'activité de la peroxydase thyroïdienne à deux niveaux :

- lors du mécanisme d'oxydation des iodures après leur captation par le corps thyroïdien.

- lors du couplage des monoiodotyrosines (MIT) et des diiodotyrosines (DIT) pour former la triiodothyronine ( $T_3$ ) et la tétraiodothyronine ( $T_4$ ).

Le 2-mercapto-1-méthylimidazole ou néomercazole est l'un des médicaments antithyroïdiens les plus utilisés. Il possède un fort pouvoir électrodonneur et est capable de complexer l'iode moléculaire ( $K_c = 23194 \text{ L.M}^{-1}$ ).

Notre étude consistera donc en la synthèse de nouvelles molécules relativement proches du néomercazole mais où le noyau de base imidazole est remplacé par un cycle triazole sur lequel se trouvent différents substituants.

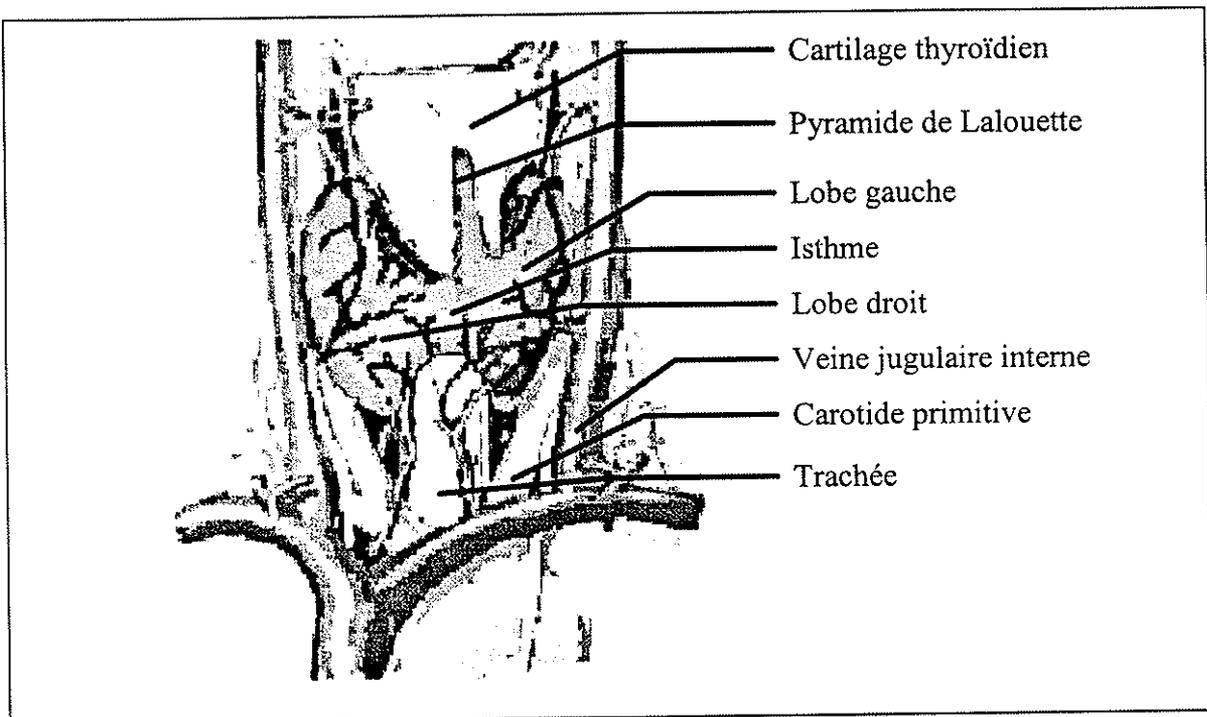
Nous étudierons ensuite leur impact au niveau de la thyroïde. Dans un premier temps, nous effectuerons l'étude de la complexation de ces substances avec l'iode moléculaire pour déterminer le pouvoir électrodonneur de ces composés.

Puis nous étudierons leur activité sur la peroxydase thyroïdienne.

Nous débuterons notre travail par un rappel de la physiopathologie de la thyroïde.

LA THYROÏDE

La glande thyroïde, (du grec « thyreoëides », qui signifie en forme de bouclier) est située devant la base du larynx et le début de la trachée. Elle est formée de 2 lobes oblongs de 4 sur 2 cm environ, réunis par une mince bande de tissu thyroïdien appelée isthme, surmontée parfois par une expansion appelée la Pyramide de Lalouette. Elle pèse environ 15 à 20 g.



**Vue antérieure de la thyroïde (Fig. 1).**

Sa principale fonction est de synthétiser et de sécréter des hormones :

- la thyroxine ( $T_4$ ),
- la triiodothyronine ( $T_3$ ).

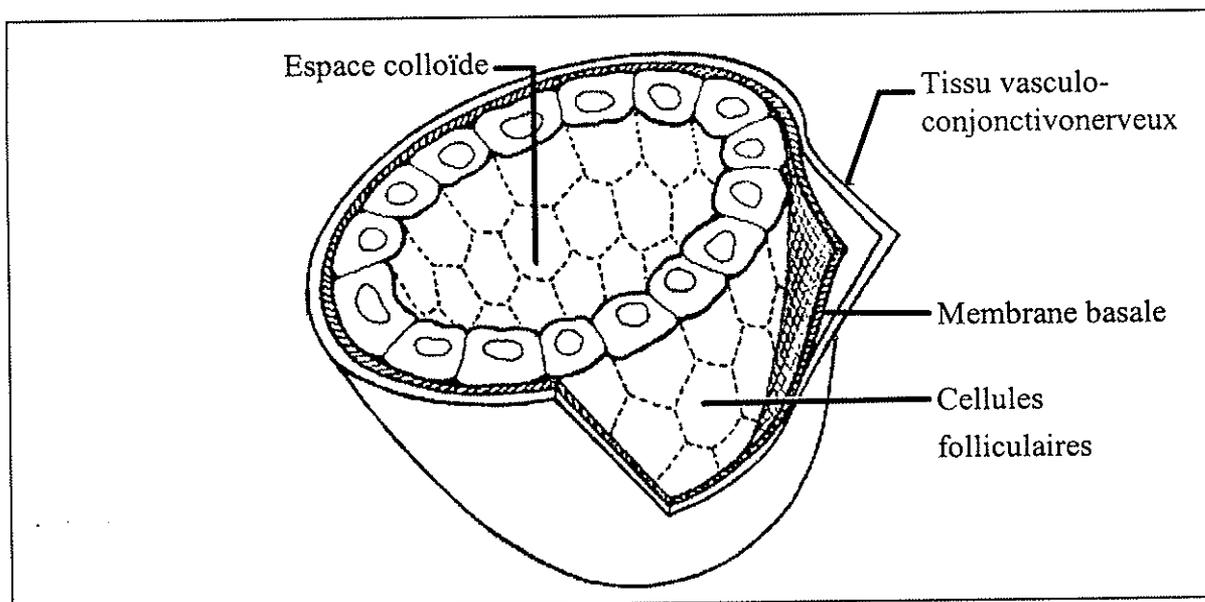
Cette synthèse est stimulée par la TSH, hormone hypophysaire qui permet la régulation du taux plasmatique des hormones thyroïdiennes.

## 1. PHYSIOLOGIE

### 1.1. Follicule thyroïdien

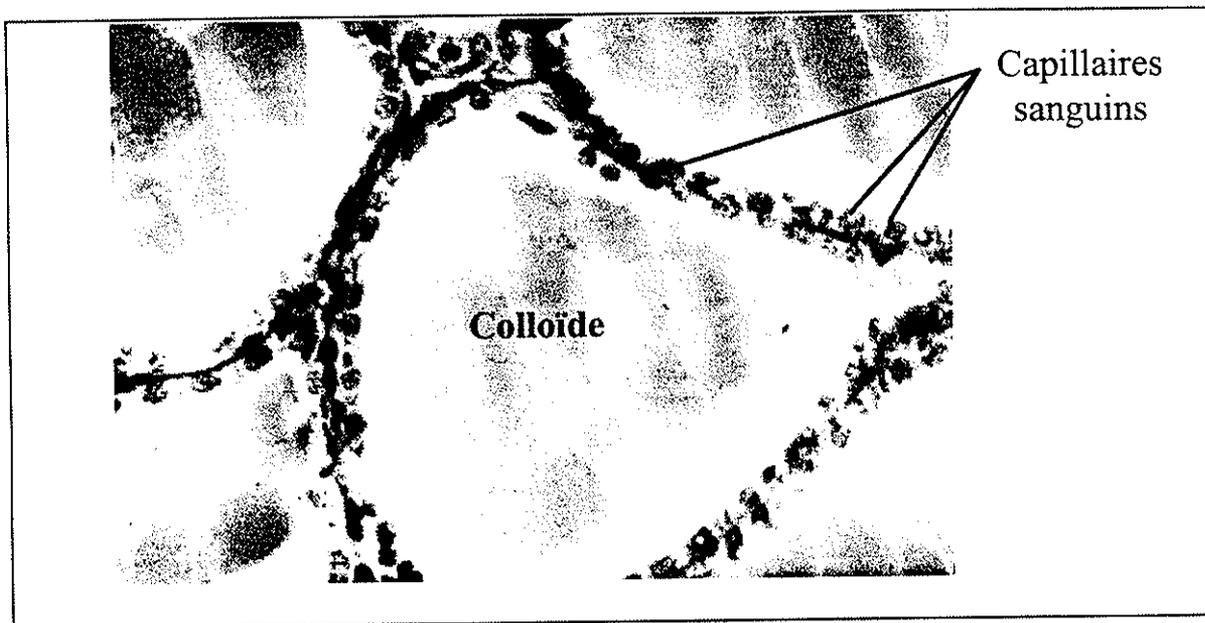
Le tissu thyroïdien est constitué de lobules eux-mêmes formés de l'association de plusieurs follicules, le follicule étant la structure thyroïdienne de base.

Ce follicule est sphérique, formé de cellules folliculaires limitant une cavité centrale remplie de colloïde (gel semi-visqueux ) appelée l'espace folliculaire. Ce gel colloïde est formé surtout de thyroglobuline plus ou moins hydratée. Il s'agit d'une glycoprotéine où l'on trouve de l'hexosamine, du galactose, du mannose et du glucose.



**Follicule thyroïdien (Fig. 2).**

La surface des follicules est couverte d'un réseau de capillaires.



Follicule thyroïdien au repos (Fig. 3).

## 1.2. Cellules de la thyroïde

La thyroïde est constituée de 2 types de cellules

### 1.2.1. Cellules folliculaires ou thyrocytes

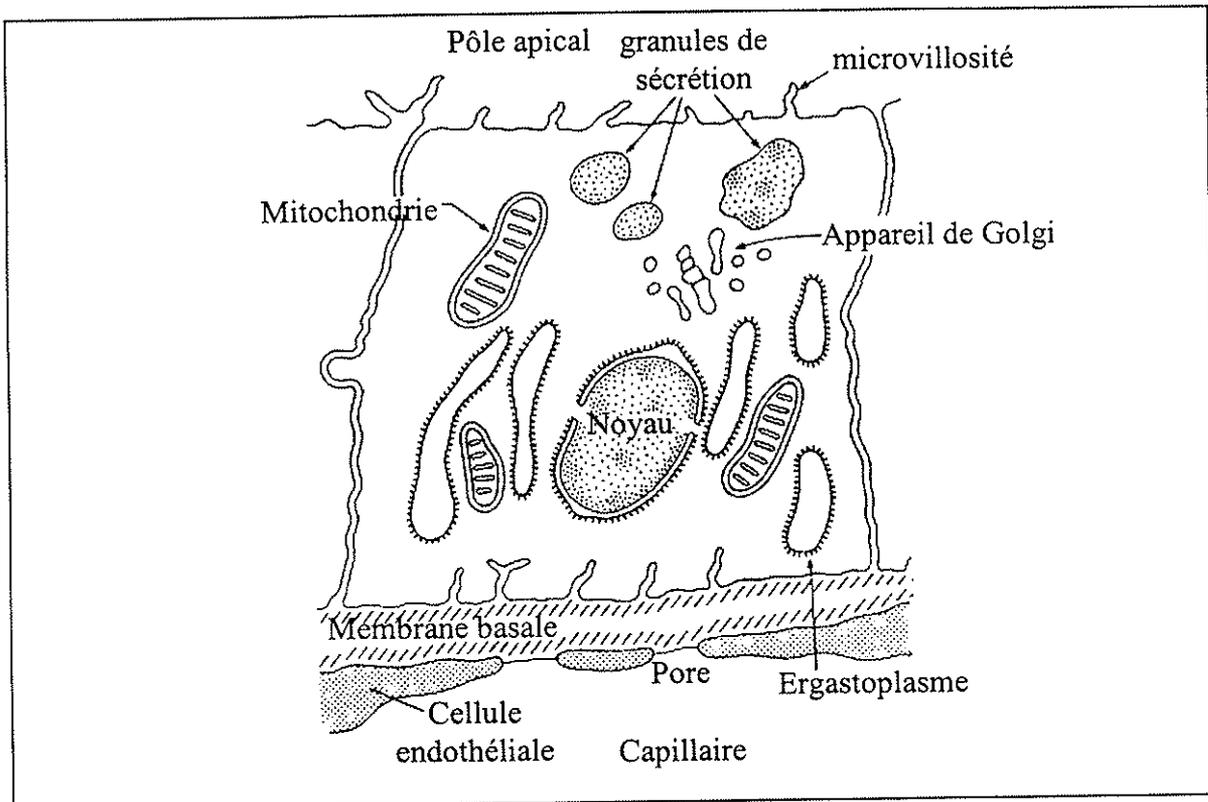
Ce sont des cellules sécrétoires. Leur pôle interne en contact avec l'espace folliculaire est hérissé de microvillosités. Leur pôle basal est apposé à la membrane basale qui tapisse le follicule. Cette dernière est elle-même entourée de façon continue par un tissu vasculoconjonctivonerveux.

Ces cellules se composent des organites habituels :

- ◆ noyau,
- ◆ mitochondries,
- ◆ appareil de Golgi,

- ◆ ergastoplasme composé du reticulum endoplasmique et des ribosomes,
- ◆ lysosomes, phagosomes et phagolysosomes.

La cohésion entre les cellules est assurée par des "tight junctions" ou desmosomes.



**Diagramme d'une cellule thyroïdienne (Fig. 4).**

### 1.2.2. Cellules parafolliculaires ou cellules C

Elles sont également appelées cellules claires. Elles sont reliées entre elles ou avec les cellules folliculaires par des desmosomes. Elles seront le lieu de la synthèse endocrine de calcitonine.

## 2. SYNTHÈSE DES HORMONES THYROÏDIENNES

Le thyrocyte est le lieu de synthèse endocrine des hormones thyroïdiennes que sont la thyroxine (tétraiodothyronine ou  $T_4$ ) et la triiodothyronine (ou  $T_3$ ).

Cette synthèse s'effectue en différentes étapes :

- ① la captation d'iode exogène afin de permettre l'iodation de la thyroglobuline,
- ② l'élaboration de la thyroglobuline ou TG au sein de laquelle sont formés les iodotyrosines et les iodothyronines,
- ③ le transfert bidirectionnel de la thyroglobuline, de la cellule thyroïdienne dans la lumière colloïde et inversement. Il permet l'iodation de la thyroglobuline, son stockage et, suite à la protéolyse de la TG, la formation et la libération dans la circulation générale des hormones thyroïdiennes.

### 2.1. Origine de l'iode

L'iode exogène est fourni par l'apport alimentaire sous forme d'iodures. Celui-ci est extrêmement variable en fonction du temps et de la région. Il varie de 80 à 160 µg par jour. La thyroïde extrait l'iode qui passe dans son système vasculaire.

Les iodures vont être captés par la thyroïde selon un transport actif mettant en jeu une activité ATPasique. Le domaine cationique sélectif du transporteur pourrait être l'amine quaternaire de la choline dans la lecithine. Cette enzyme est stimulée par la TSH hypophysaire. Elle est inhibée par un excès d'iode ou par des anions (perchlorates, thiocyanates, bromures).

Les iodures immédiatement captés par la thyroïde sont liés à des molécules organiques et se concentrent dans le cytoplasme de la cellule thyroïdienne ou la colloïde.

Il existe également une source endogène provenant du catabolisme des hormones thyroïdiennes qui conduit à la libération de l'iode et sa récupération par la thyroïde.

## 2.2. La thyroglobuline

Sa seule source de synthèse est la cellule thyroïdienne folliculaire.

C'est une glycoprotéine d'un poids moléculaire de 660000 Daltons et de coefficient de sédimentation 19 S. Elle est constituée pour 90% d'acides aminés et pour 10% de résidus glucidiques.

Sa synthèse s'opère par assemblages successifs d'acides aminés le long des ribosomes du reticulum endoplasmique. L'addition des résidus glucidiques a lieu essentiellement au niveau de l'appareil de Golgi. La molécule non iodée sera ensuite relarguée dans la lumière folliculaire où elle sera stockée.

## 2.3. Synthèse des hormones thyroïdiennes

Cette synthèse est l'aboutissement de plusieurs étapes : tout d'abord, l'oxydation des iodures, suivie de leur fixation sur les résidus tyrosyls de la TG au niveau de la membrane apicale du thyrocyte. Cette réaction est catalysée par une peroxydase thyroïdienne.

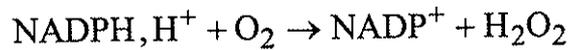
Par réaction de couplage des résidus tyrosyls de la TG se forment les iodothyronines ou hormones thyroïdiennes

La TG iodée est ensuite réabsorbée par le thyrocyte et ses résidus tyrosyls mono et diiodés ainsi que les  $T_3$  et  $T_4$  seront relargués dans le cytoplasme grâce à l'action d'hydrolases acides.

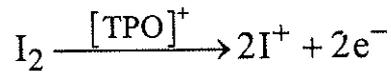
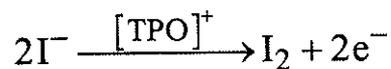
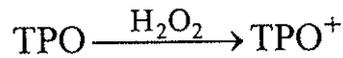
### 2.3.1. Oxydation des iodures

Les iodures n'ont pas la possibilité de se fixer directement à la TG. Ils doivent être au préalable oxydés grâce à l'intervention d'une peroxydase thyroïdienne située au niveau

des microvillosités de la membrane apicale des thyrocytes. Cette réaction implique la mise en jeu d'un système générateur de peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ .



La peroxydase thyroïdienne existerait sous forme réduite  $[TPO]^-$  mais surtout sous forme oxydée  $[TPO]^+$  grâce à  $H_2O_2$ . Cette forme oxydée permettrait l'oxydation des iodures en iode moléculaire, puis en ion iodonium  $I^+$  :

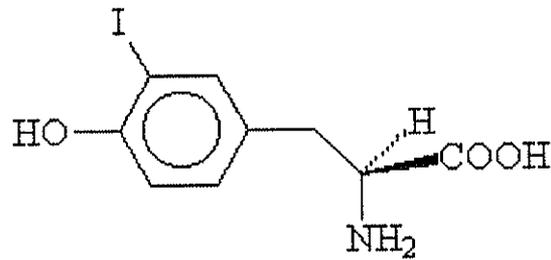


Les ions  $I^+$  seraient à l'origine de l'iodation des résidus tyrosyls donnant naissance aux iodotyrosines.

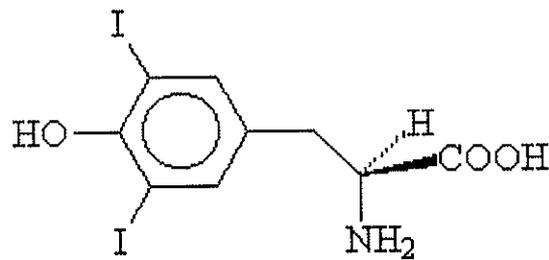
### 2.3.2. Iodation des résidus tyrosyls de la Thyroglobuline

Les résidus tyrosyls sont capables de fixer un seul ou 2 ions iodonium  $I^+$  par un mécanisme de substitution aboutissant à la formation de monoiodotyrosines (MIT) et de diiodotyrosines (DIT). Cette réaction se fait également sous l'influence de la peroxydase thyroïdienne. Elle sera activée par la TSH et inhibée par les antithyroïdiens de synthèse (ATS).

Les monoiodotyrosines seront les précurseurs des diiodotyrosines.



**3-iodotyrosine (MIT)**

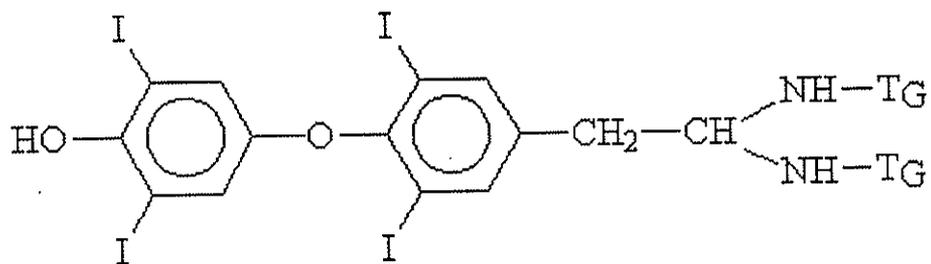


**3,5-diiodotyrosine (DIT)**

2.3.3. Couplage des iodotyrosines : formation des iodothyronines ou hormones thyroïdiennes

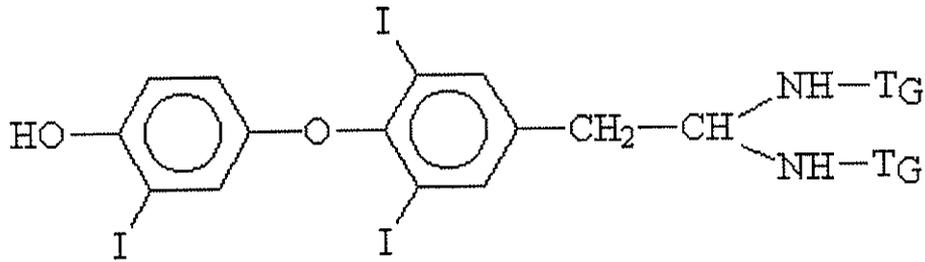
Ce couplage a lieu dans la colloïde au niveau du pôle interne des cellules folliculaires, toujours sous l'influence de la peroxydase thyroïdienne.

La  $T_4$  ( ou thyroxine ou 3,5,3',5'-tétraiodothyronine) provient du couplage de 2 molécules de DIT. C'est la plus importante. Elle représente sous forme circulante dans le plasma 92% des hormones thyroïdiennes.



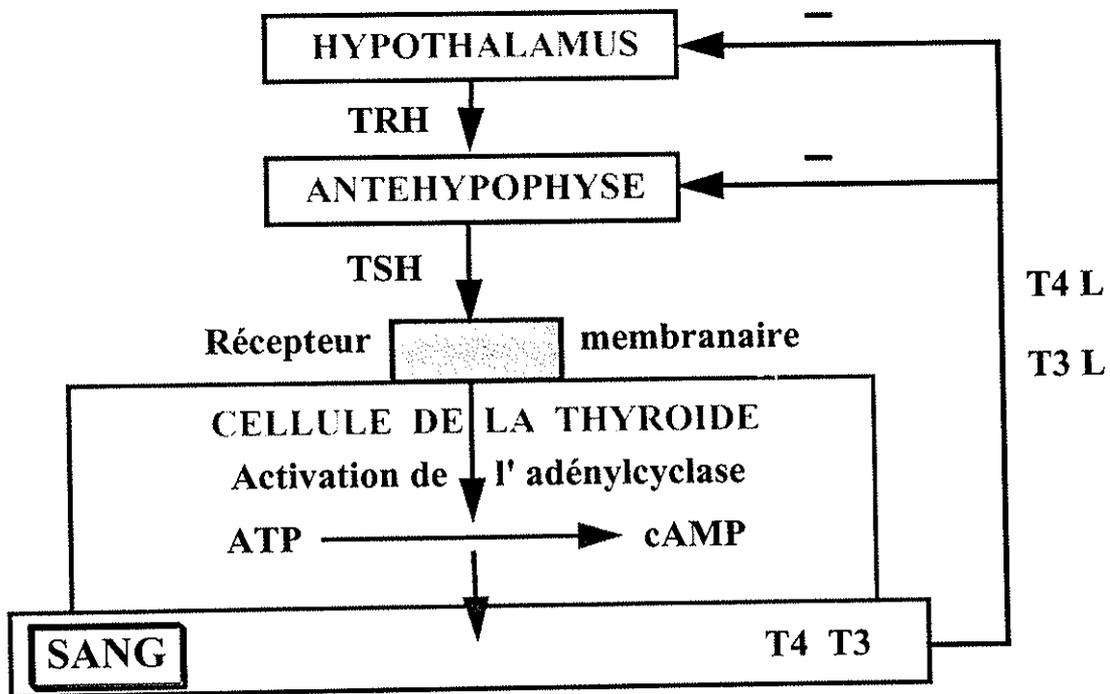
**$T_4$**

L'autre hormone thyroïdienne résulte de l'assemblage d'une MIT et d'une DIT. Il s'agit de la  $T_3$  (ou 3,5,3'-triiodothyronine).



$T_3$

La synthèse de ces hormones est dépendante de la libération de la TSH hypophysaire dont la production est stimulée par la TRH hypothalamique avec existence d'un feed-back ou rétrocontrôle : une diminution de  $T_3$  et  $T_4$  provoque une hypersécrétion de TRH et de TSH.



Régulation centrale de l'hormonosynthèse thyroïdienne (Fig. 5).

Ces hormones sont stockées sous forme de TG iodée dans des vésicules situées dans la colloïde. Elles sont mobilisables lentement ("pool" à "turn over" lent).

Une petite partie est présente dans le cytoplasme des cellules et sera mobilisable rapidement ("pool" à "turn over" rapide).

#### 2.3.4. Libération des hormones thyroïdiennes

La sécrétion des hormones se déroulent en 3 étapes :

- ① pinocytose au cours de laquelle des gouttelettes de colloïde sont captés par le pôle apical de la cellule,
- ② migration de lysosomes contenant des enzymes protéolytiques,
- ③ dégradation par protéolyse de la TG sous l'influence de ces enzymes et libération de  $T_3$  et  $T_4$  et MIT et DIT en quantité moindre.

Les  $T_3$  et  $T_4$  passent dans la circulation. Une grande partie se fixe sur des protéines plasmatiques : la TBG (thyroxine binding globulin), la TBPA (thyroxine binding prealbumine) et la serumalbumine. Une partie reste libre dans la circulation. Elle sera la seule capable de pénétrer dans les cellules.

Les iodotyrosines (MIT et DIT) seront quant à elles désiodés par une iodotyrosine désiodase intrathyroïdienne.

La déshalogénéation spécifique de la MIT et de la DIT conduit à une économie d'iode. Ces iodures libérés demeurent dans la glande. Ils subissent un recyclage intrathyroïdien et constituent le deuxième pool des iodures après celui représentés par les iodures plasmatiques.

L'hormone thyroïdienne circulante est essentiellement constituée de thyroxine ou  $T_4$  à 92% et de triiodothyronine ou  $T_3$  à 4%. Le reste est constitué par de la  $T_3$  inversée et de la diiodothyronine.

La quantité d'hormones thyroïdiennes sécrétées par jour équivaut à 75 ou 100  $\mu\text{g}$  d'iode hormonal.

Les hormones libérées passent dans le sang et sont prises en charge par des protéines de transport, celles-ci ayant une affinité 3 fois plus importante pour la thyroxine que pour la triiodothyronine. L'hormone thyroïdienne est active uniquement sous sa forme libre dans le plasma, la triiodothyronine étant plus facilement libérée de sa liaison avec les protéines de transport, son action sera donc plus rapide et plus efficace.

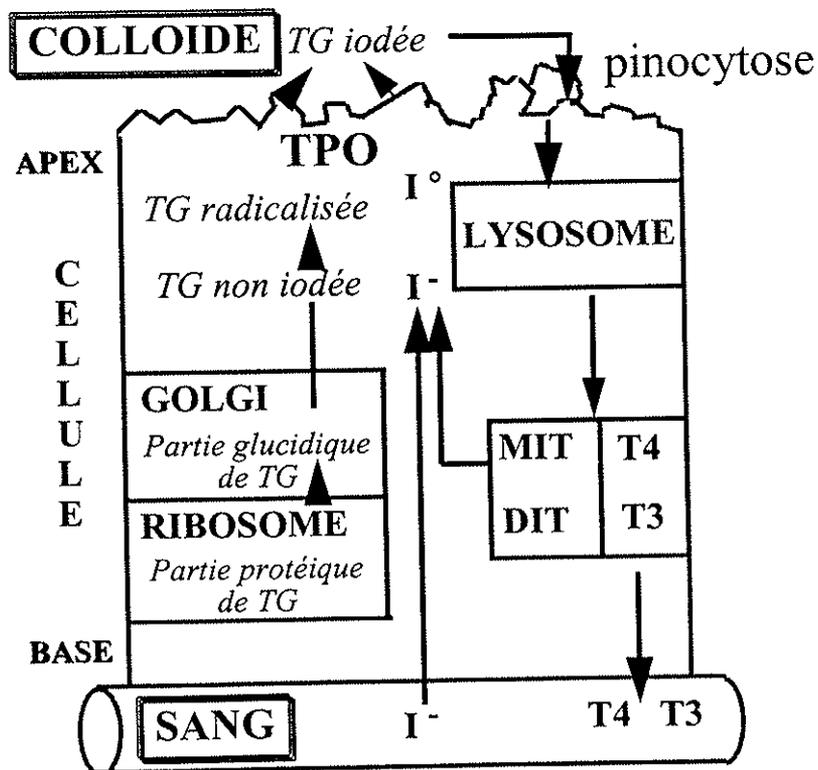


Schéma récapitulatif de la synthèse de hormones thyroïdiennes (Fig. 6).

### 3. ACTION DES HORMONES THYROÏDIENNES ET PATHOLOGIES

#### 3.1. Action physiologique des hormones thyroïdiennes

##### 3.1.1. Effet sur le développement

Ces hormones  $T_3$  et  $T_4$  jouent un rôle important au niveau du développement squelettique et du système nerveux. En effet, l'absence ou l'insuffisance d'hormones thyroïdiennes est à l'origine d'un nanisme et d'un développement dysharmonieux des divers segments du corps.

Au niveau du système nerveux, elles favorisent la myélinisation des fibres nerveuses et stimulent le développement et la croissance des axones, des dendrites et des corps cellulaires. A la naissance, l'enfant présentera un comportement anormal et un ralentissement des réflexes en cas de sécrétion insuffisante d'hormones thyroïdiennes.

##### 3.1.2. Effet sur les mitochondries

Elles stimulent la production d'enzymes mitochondriales et augmentent la perméabilité des membranes mitochondriales ce qui favorise la production d'ATP et l'activité respiratoire des mitochondries.

##### 3.1.3. Effet sur la calorigénèse

Les hormones thyroïdiennes ont un effet calorigénique qui passe par une augmentation de la consommation d'oxygène par l'organisme et par une stimulation de l'activité des systèmes de transport ionique trans-membranaire au niveau de toutes les cellules. Une insuffisance en  $T_3$  et  $T_4$  entraîne une hypothermie et des frilosités

#### 3.1.4. Effet sur les métabolismes

- **Métabolisme lipidique** : les hormones thyroïdiennes stimulent la synthèse, la mobilisation mais aussi la dégradation des lipides. La carence en hormones thyroïdiennes diminue la synthèse de cholestérol donc son taux plasmatique.

L'hyperthyroïdie augmente l'élimination fécale du cholestérol ainsi que sa conversion en acide biliaire.

- **Métabolisme glucidique** : les  $T_3$  et  $T_4$  facilitent l'absorption intestinale du glucose. Elles exercent un effet hyperglycémiant et favorisent aussi la pénétration et l'utilisation cellulaire du glucose.

A forte dose, elles inhibent la synthèse du glycogène.

- **Métabolisme protéique** : globalement, les hormones thyroïdiennes augmentent la synthèse des protéines par effet direct sur les acides nucléiques, nucléaires et cytoplasmiques mais aussi de façon indirecte en augmentant la quantité d'énergie intracellulaire.

- **Métabolisme vitaminique** : les hormones thyroïdiennes augmentent les besoins en coenzymes et aussi en vitamines qui en sont les précurseurs. Au cours d'hyperthyroïdies, le contenu des tissus en vitamines hydro et liposolubles est diminué.

#### 3.1.5. Effet sur le système musculaire squelettique

La carence d'hormones thyroïdiennes entraîne une augmentation de volume et de consistance des muscles squelettiques et on note une lenteur de la décontraction musculaire et de la relaxation.

### 3.1.6. Effet sur le système cardiovasculaire

Sous leur influence, le débit cardiaque est augmenté par augmentation directe de la contractilité cardiaque.

D'autre part, elles favorisent l'hypertrophie du myocarde ainsi que la synthèse de protéines en particulier d'actinomyosine.

### 3.1.7. Effet sur le système hématopoiétique

L'hypothyroïdie entraîne une anémie constante, normochrome, normocytaire, voire macrocytaire. La masse sanguine est augmentée mais le volume globulaire est bas.

### 3.1.8. Effet sur le système nerveux

La carence hormonale provoque un ralentissement de toutes les fonctions intellectuelles.

Les hormones thyroïdiennes agissent essentiellement au niveau du cervelet. L'apparition des glomérules cérébelleux et l'arborisation des cellules de Purkinje dépendent de ces hormones.

## 3.2. Pathologies thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes sont sécrétées sous l'influence de la TSH qui elle-même est stimulée par la TRH hypothalamique (thyrotrophin releasing hormon). La TSH est freinée par un excès d'hormones thyroïdiennes circulantes. A l'inverse, tout déficit en hormones a pour conséquence de stimuler la TSH et de rétablir l'équilibre hormonal.

L'état caractérisé par le fonctionnement normal de la thyroïde s'appelle l'Euthyroïdie.

L'hypothyroïdie correspondra à une production insuffisante d'hormones thyroïdiennes. Une sécrétion excessive d'hormones thyroïdiennes entraîne une hyperthyroïdie.

### 3.2.1. Hypothyroïdies

Les hypothyroïdies sont dues à une carence en  $T_3$  et  $T_4$  suite à une destruction de la glande (thyroïdectomie) ou à une thyroïdite : elle peut être auto-immune (thyroïdite d'Hashimoto) ou virale (thyroïdite de De Quervain).

Mais elles peuvent être secondaires à une atteinte de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Elles se traduiront alors par une baisse de la TSH.

Enfin, elles peuvent être provoquées par un surdosage en antithyroïdiens de synthèse, par une surcharge iodée ou par des médicaments comme les sels de Lithium qui inhibent la libération des  $T_3$  et  $T_4$ .

#### ◆ Signes cliniques :

- généraux :
  - ⇒ asthénie physique, psychique et sexuelle,
  - ⇒ prise de poids,
  - ⇒ infiltration cutanéomuqueuse (visage bouffi, voix rauque),
  - ⇒ troubles des phanères : perte des cheveux, ongles cassants.
- neuropsychiques :
  - ⇒ ralentissement psychique, apathie,
  - ⇒ troubles de la mémoire, somnolence, frilosité.
- cardiovasculaires :
  - ⇒ bradycardie,

- ⇒ bruits du coeur assourdis,
- ⇒ gros coeur.
- musculaires : ⇒ crampes, sensation d'enraidissement.
- digestifs : ⇒ constipation.
- sexuels : ⇒ impuissance chez l'homme,  
⇒ troubles des règles, diminution de la libido chez la  
femme.

Chez l'enfant, la thyroïdectomie suspend la croissance: c'est le nanisme thyroïdien lié à un trouble de la croissance du cartilage et à un retard de la maturation osseuse. En effet, les hormones thyroïdiennes agissent directement sur la maturation des chondrocytes mais elles augmentent également la sécrétion et la synthèse de l'hormone de croissance.

Le syndrome qui correspond chez l'homme à une absence de thyroïde s'appelle le crétinisme. Il se caractérise par une croissance retardée à type de nanisme, un développement mental arriéré et un goitre.

Dans la thyroïdite chronique d'Hashimoto, on constate un goitre provoqué par l'accumulation de lymphocytes et de liquide dans la thyroïde. Il s'ensuit une destruction des cellules de la thyroïde d'où une hypothyroïdie. La production d'hormones décroît, ce qui entraîne une sécrétion plus grande de TSH.

◆ Signes biologiques :

Les effets métaboliques globaux du déficit thyroïdien se traduisent par un abaissement du métabolisme de base de 25% environ.

On note une élévation de la TSH et une diminution des  $T_3$  et  $T_4$  sauf si l'atteinte est



- ⇒ soif, sueurs, mains moites,
- ⇒ rétraction de la paupière supérieure.
- neuropsychiques :
  - ⇒ nervosité extrême,
  - ⇒ hyperémotivité et hyperactivité,
  - ⇒ asthénie et troubles du sommeil,
  - ⇒ tremblements.
- cardiovasculaires :
  - ⇒ palpitations,
  - ⇒ gêne respiratoire, dyspnée d'effort,
  - ⇒ douleurs précordiales.
- musculaires :
  - ⇒ faiblesse musculaire,
  - ⇒ myasthénie,
  - ⇒ maladresse des mouvements.
- digestifs :
  - ⇒ appétit augmenté,
  - ⇒ transit accéléré,
  - ⇒ selles fréquentes.

Le goitre exophtalmique ou maladie de Graves est provoqué par un anticorps appelé anticorps thyroïdostimulant, qui stimule la croissance des cellules de la thyroïde et la production excessive d'hormones thyroïdiennes. Le goitre est alors provoqué par cet anticorps et non par la TSH.

◆ Signes biologiques :

On note une anémie soit microcytaire, soit macrocytaire avec diminution des folates et/ou de la vitamine B<sub>12</sub>.

L'étude de la glycémie peut montrer une inhibition de la synthèse de glycogène en particulier hépatique d'où une diminution de la tolérance glucidique.

La calcémie est parfois élevée.

On note également une hypocholestérolémie ainsi qu'une hypotriglycémie dues à l'augmentation de leur élimination fécale.

La bilirubine totale, les transaminases, les phosphatases alcalines et les gamma GT, seront, quant à eux, augmentés.

Le diagnostic différentiel de l'hyperthyroïdie sera effectué grâce à une scintigraphie qui permettra de distinguer la maladie de Basedow des autres étiologies.

L'hyperthyroïdie se traite par les antithyroïdiens de synthèse ou ATS : le benzylthiouracile (BASDENE\*) ou le carbimazole (NEOMERCAZOLE\*), pendant plusieurs mois, voire plusieurs années. Après interruption du traitement, la chance de récurrence est de 50 %.

Ils agissent par blocage de la biosynthèse des hormones thyroïdiennes, probablement par inhibition de l'oxydation de l'iodure, bloquant son incorporation à la tyrosine. Il existe également une possibilité d'inhibition des peroxydases thyroïdiennes ou une réduction de l'iode libre avant iodation.

Dans la plupart des cas, les patients auront éventuellement besoin d'un traitement à l'iode radioactif ou d'une thyroïdectomie. Le propranolol (AVLOCARDYL\*) qui bloque les effets de la présence excessive d'hormones thyroïdiennes sur le cœur, les vaisseaux sanguins et le système nerveux, sans avoir d'effet direct sur la glande thyroïde, peut aussi permettre de traiter les symptômes de l'hyperthyroïdie.

## SYNTHESES

Après un bref rappel des méthodes déjà étudiées présentes dans la littérature, sera proposé le protocole expérimental mis en place au cours de cette étude.

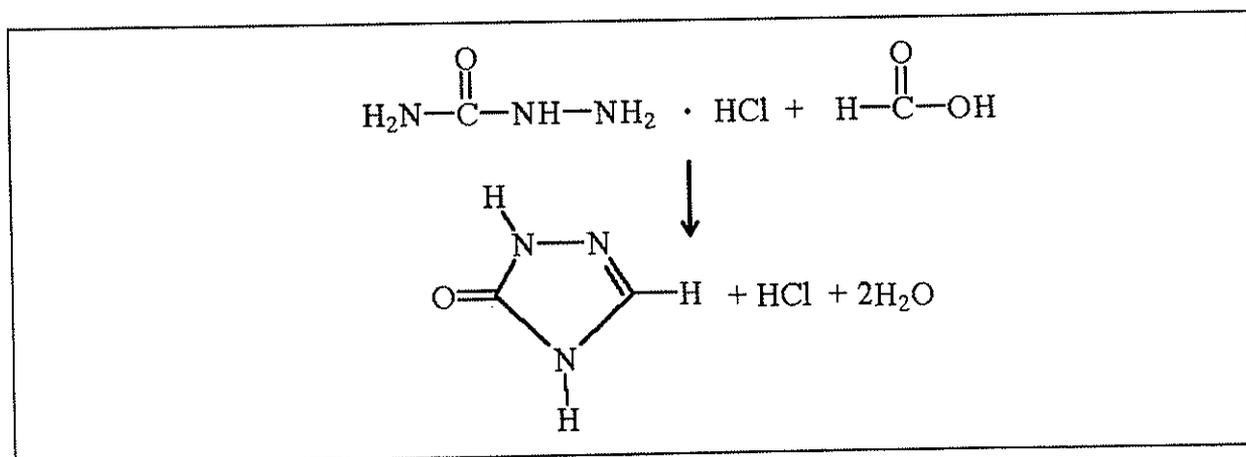
## 1. REVUE DES DIFFERENTES SYNTHESSES DE CYCLE TRIAZOLE

Les molécules chimiques comportant un cycle triazole font l'objet de nombreuses recherches puisque certaines d'entre elles possèdent, selon les substituants fixés sur le cycle, des propriétés variées telles qu'un effet anti-inflammatoire, une action anti-dépressive, des propriétés anti-tumorales ou une activité anti-bactérienne.

Dans la littérature, sont décrites des synthèses de cycle triazole faisant appel à différents protocoles.

### 1.1. Synthèse de 3-nitro-1,2,4-triazol-5-one

Lee *et Coll.* (1) décrivent la synthèse de ce composé appelé également NTO et présentant des propriétés explosives. Il est obtenu par condensation de semicarbazide en présence d'acide chlorhydrique et d'acide formique. Celle-ci s'effectue à chaud sous agitation jusqu'à dissolution complète du semicarbazide.



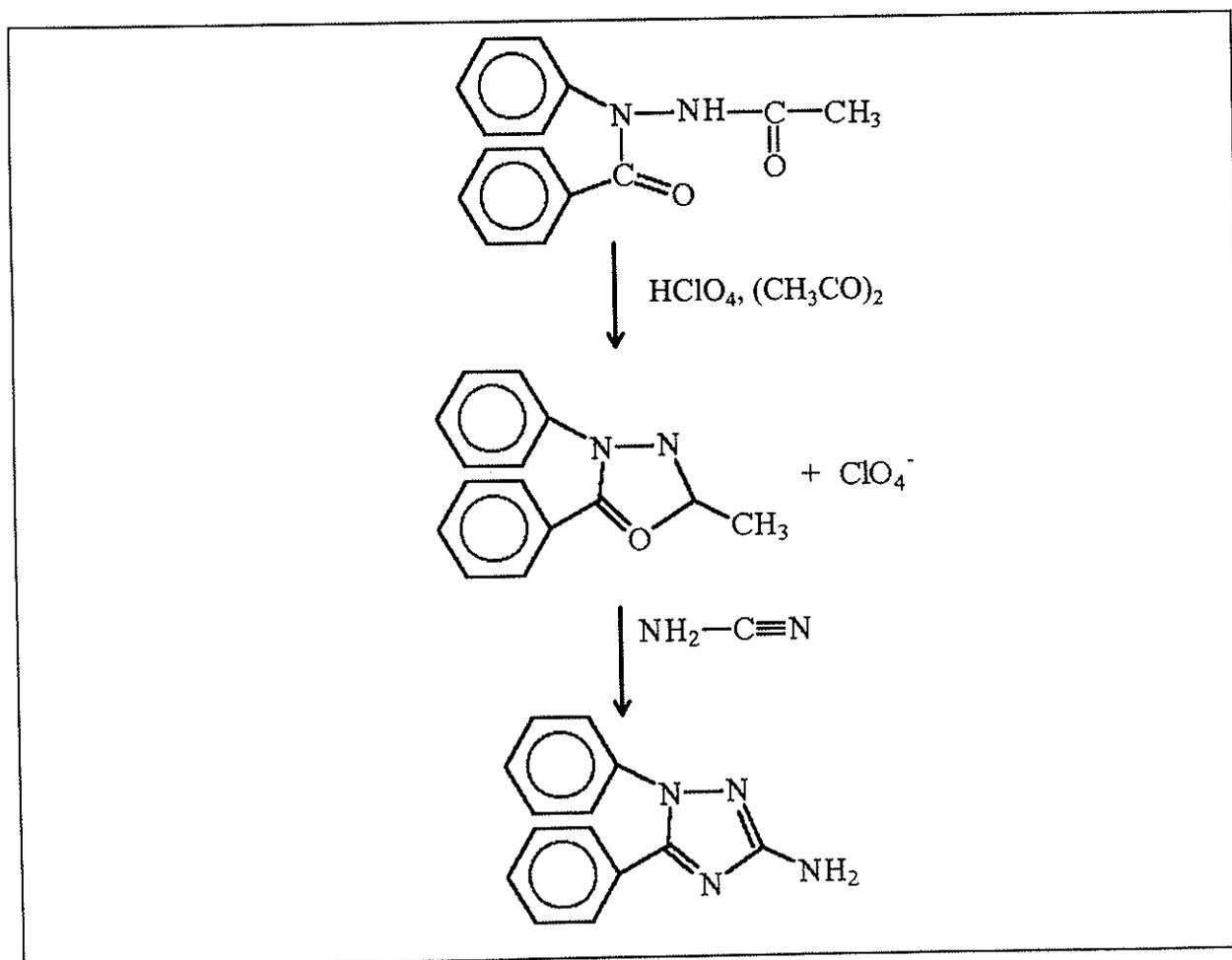
Equation de la réaction.

L'obtention du produit final se fait par chauffage sous agitation en présence d'acide nitrique.

### 1.2. Synthèse de 1,5-diaryl-3-amino-1H-1,2,4-triazole

Cette synthèse est réalisée selon un protocole mis au point par Bozo, Szilagzyi et Janaky (2). Le N-benzyl-N'-acetyl-phénylhydrazine est porté à 50 °C dans un mélange d'acide perchlorique et d'acide acétique anhydre.

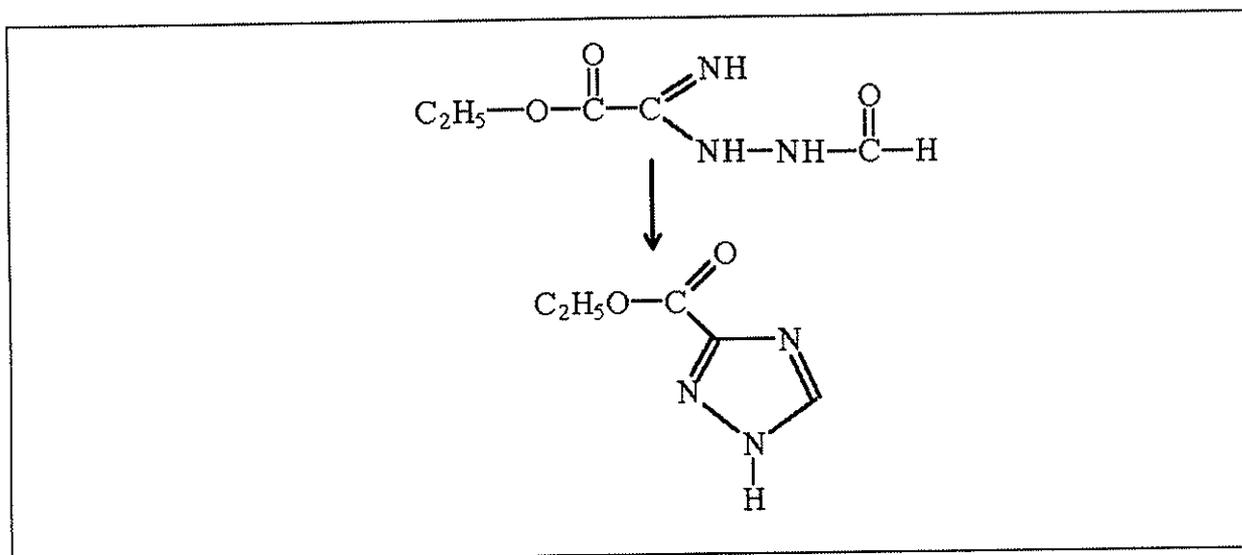
Le sel obtenu réagit avec la cyanamide à chaud. Le cycle triazole sera ensuite substitué sur le carbone porté en 3. Les propriétés de ces nouvelles pourront ensuite être étudiées.



Equation de la réaction.

### 1.3. Cyclisation de l'éthyl- $\beta$ -formyloxalamidrazone

Vemishetti *et Coll.* (3) réalisent la cyclisation de l'éthyl- $\beta$ -formyloxalamidrazone dans un dispositif de sublimation à 165 °C sous vide pendant 10 min. Par recristallisation dans l'éthanol, le produit cyclique est obtenu.

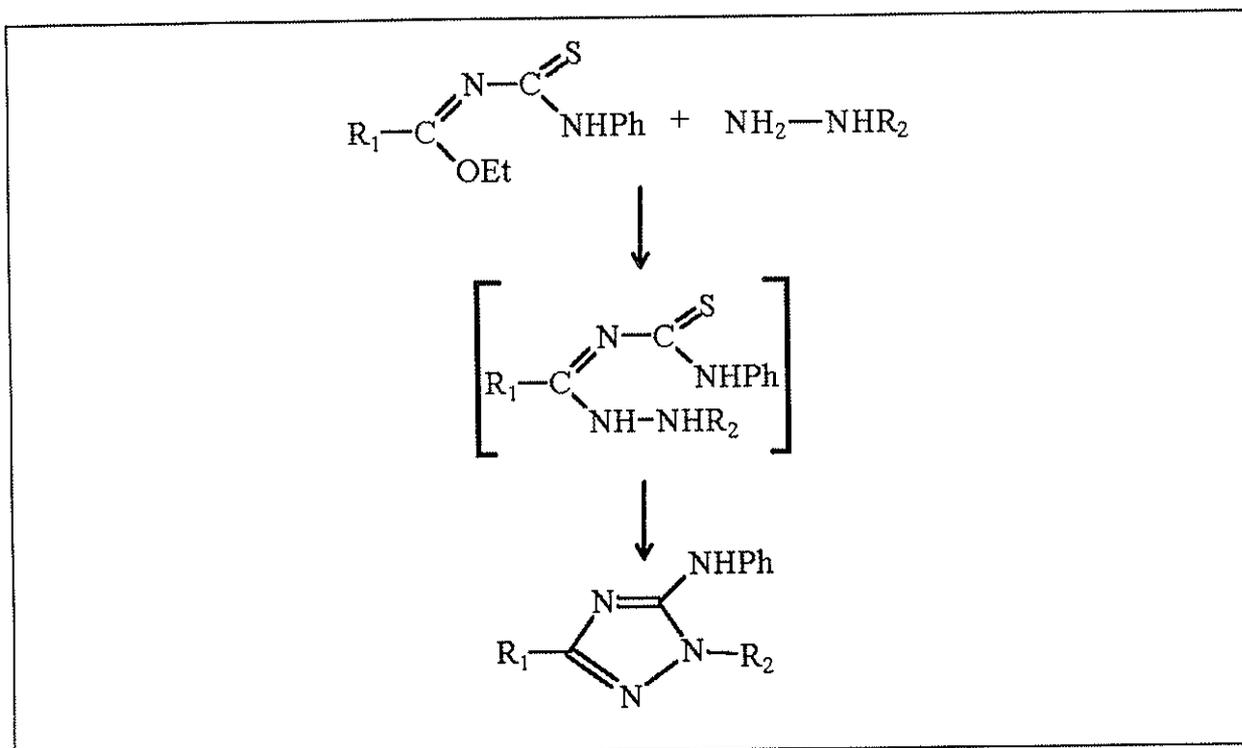


Equation de la réaction

### 1.4. Synthèse de 3-amino-1,2,4-triazole

Ce protocole mis au point par El Efrif (4) met en jeu des hydrazines et des N-(N-phénylcarbothioamido)imidates.

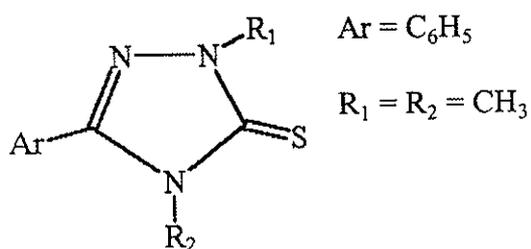
Le N-(N-phénylcarbothioamido)imide est dissout dans le méthanol. On ajoute l'hydrazine. Le mélange est abandonné sous agitation pendant 24 heures. Le solide obtenu est recristallisé dans le méthanol.



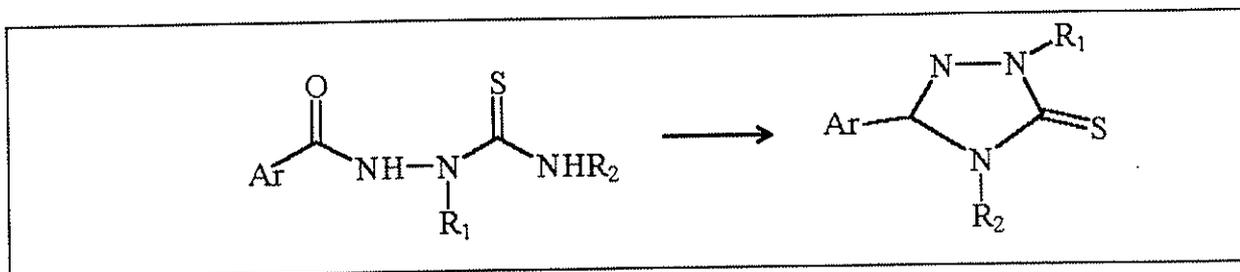
Equation de la réaction.

### 1.5. Synthèse de 5-aryl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione

Kane et Dudley (5) ont réalisé la synthèse de 32 composés ayant potentiellement une activité anti-dépressive dont la formule générale est la suivante :



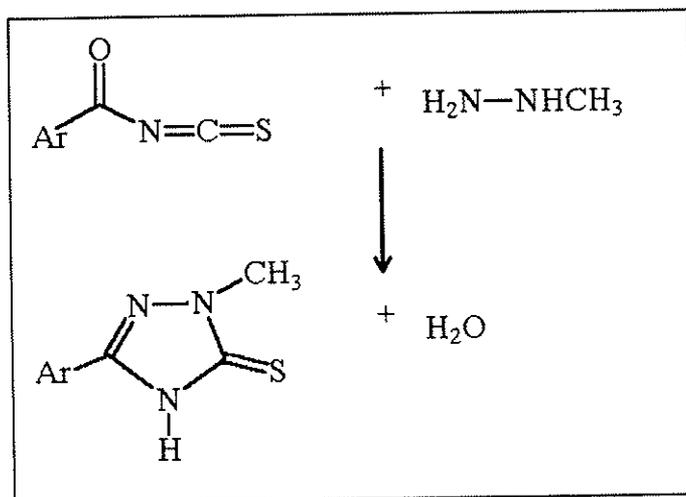
Après obtention du 1-arylthiosemicarbazide selon la méthode de Sandström et Wennerbeck, la cyclisation se fait par chauffage à reflux dans du bicarbonate de sodium aqueux.



Equation de la réaction

Parmi les 32 composés synthétisés, le 5-(4-chlorophényl)-2,4-dihydro-2-méthyl-3H-1,2,4-triazole-3-thione est obtenu selon la méthode de Durant :

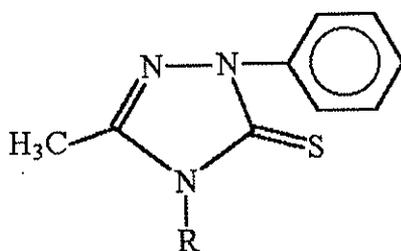
Le 4-chlorobenzylisothiocyanate agit sur la méthylhydrazine en présence de toluène.



Equation de la réaction

## 2. SYNTHÈSE DE DÉRIVÉS DU 3-MERCAPTO-5-MÉTHYL-2-PHÉNYL-1,2,4-TRIAZOLE

Au cours de notre étude, les molécules synthétisées seront donc des dérivés du 3-mercapto-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole. La formule générale est la suivante :



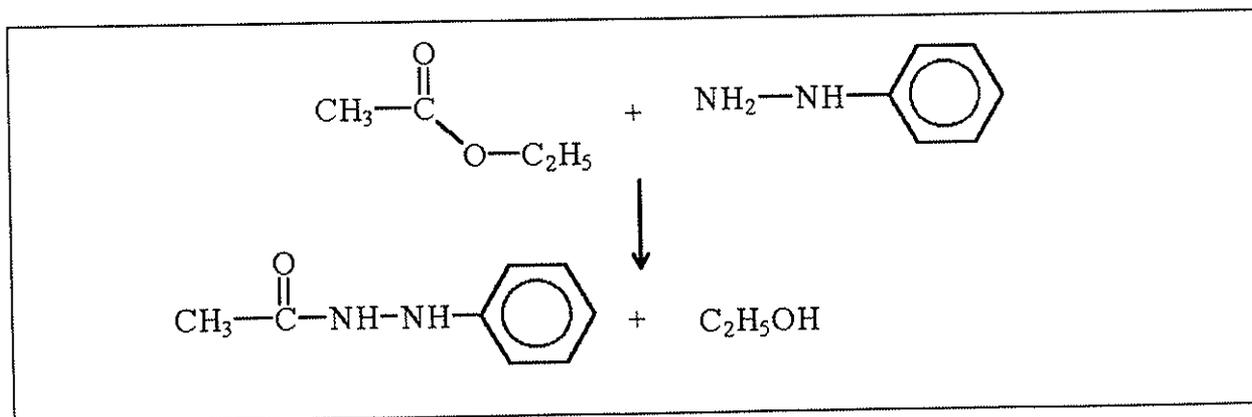
Ces molécules diffèrent les unes des autres par un substituant porté par l'azote en 4.

Ce substituant sera dans un premier cas un radical phényle. Puis, il s'agira d'un radical éthyle dans un deuxième cas. Enfin, la dernière molécule étudiée comportera un groupement butyle. La synthèse se déroule en trois étapes.

## 2.1. Première étape

### 2.1.1. Principe de la réaction

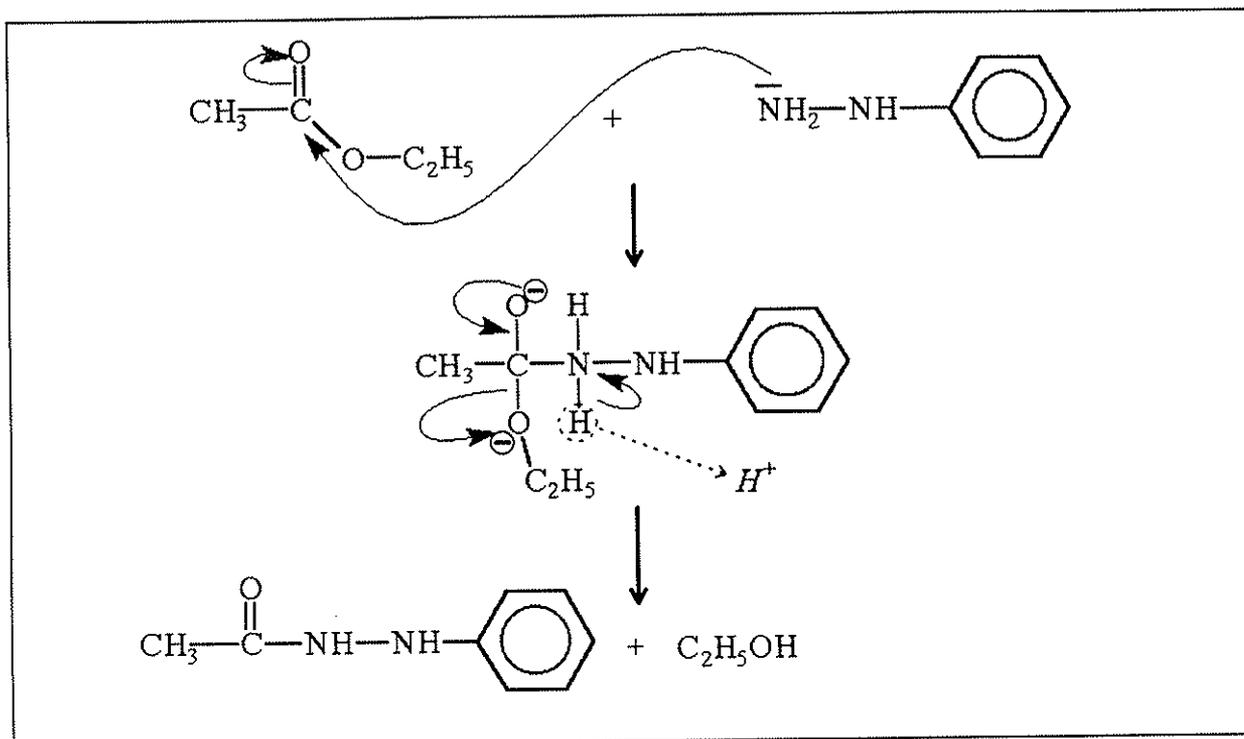
Nous ferons tout d'abord agir de l'acétate d'éthyle avec de la phénylhydrazine en quantité équimolaire en présence d'éthanol à 100 °C pendant 2 heures, ainsi que l'ont décrit Gatterman et Wieland. Nous obtiendrons après un lavage à l'hexane un produit ① : la phénylhydrazinacétone.



**Equation de la réaction.**

### 2.1.2. Mécanisme réactionnel

Il s'agit d'une réaction d'addition d'une molécule de phénylhydrazine sur le groupement acétyle.



Mécanisme réactionnel de la 1<sup>ère</sup> étape.

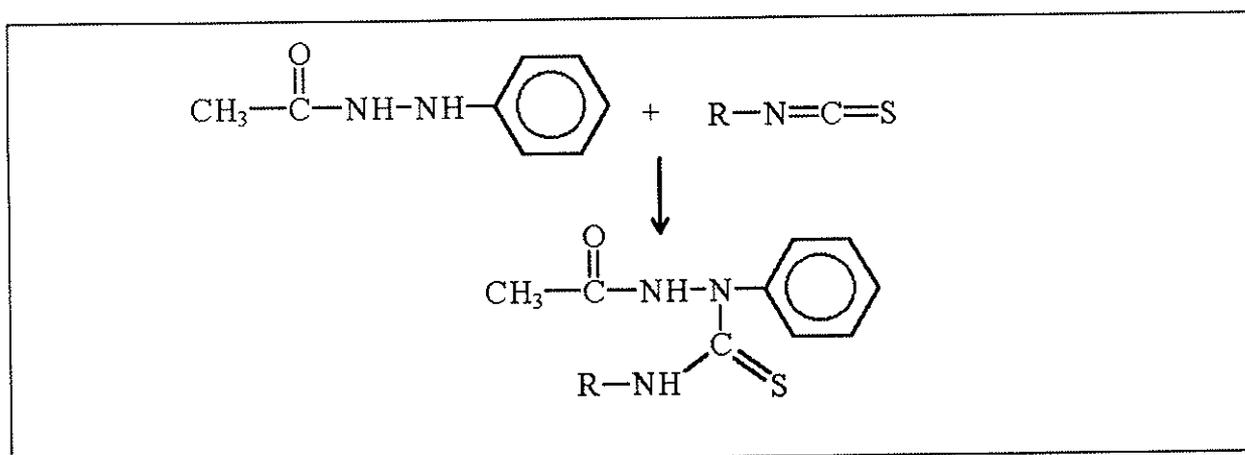
Le doublet libre de l'azote du groupement hydrazine en bout de chaîne, étant moins encombré que celui de l'autre azote, il va attaquer le carbone fonctionnel de l'acétate d'éthyle. Il va y avoir formation d'une molécule instable qui va devenir stable par départ d'une molécule d'éthanol.

## 2.2. Deuxième étape

### 2.2.1. Principe de la réaction

Nous allons dissoudre le produit ① dans de l'éthanol puis ajouter goutte à goutte un isothiocyanate qui dans un premier cas sera du phénylisothiocyanate, puis de l'éthylisothiocyanate, enfin du butylisothiocyanate. Après chauffage à reflux à 120 °C pendant une heure et vérification de la fin de la réaction par chromatographie sur couche mince, nous obtiendrons le produit ②.

Le solvant utilisé pour la CCM est un mélange à part égale d'acétate d'éthyle et de méthanol.



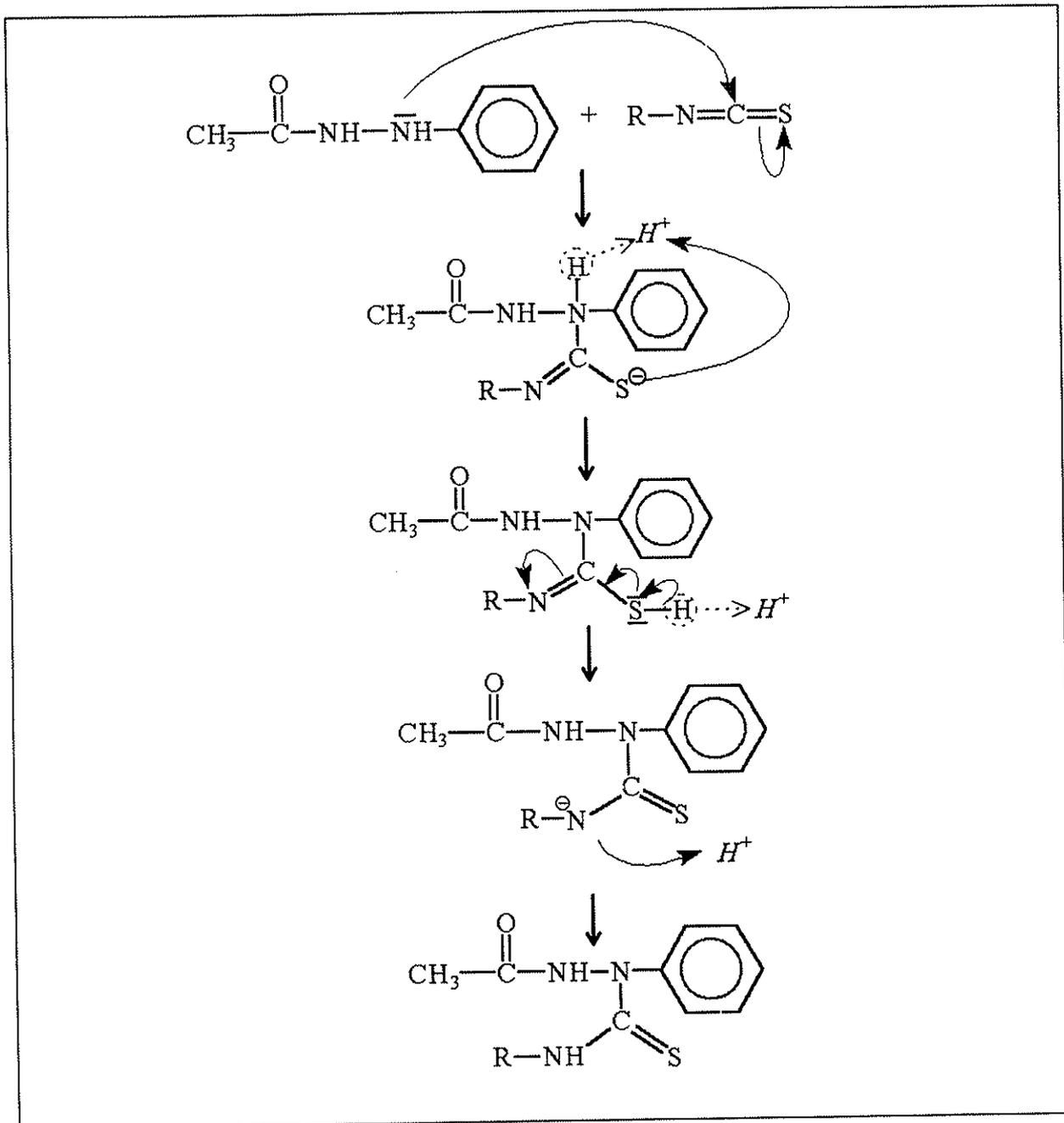
**Equation de la réaction.**

### 2.2.2. Mécanisme réactionnel

Il s'agit d'une réaction d'addition déjà décrite par Shah (6) avec substitution de l'hydrogène porté par l'azote placé en quatrième position.

La réaction d'addition s'effectue sur la double liaison C=S du groupement isothiocyanate.

Le doublet libre de l'azote porteur du phényle va venir se fixer sur le carbone du groupement isothiocyanate et ainsi donner une molécule non cyclisée comportant trois azotes.



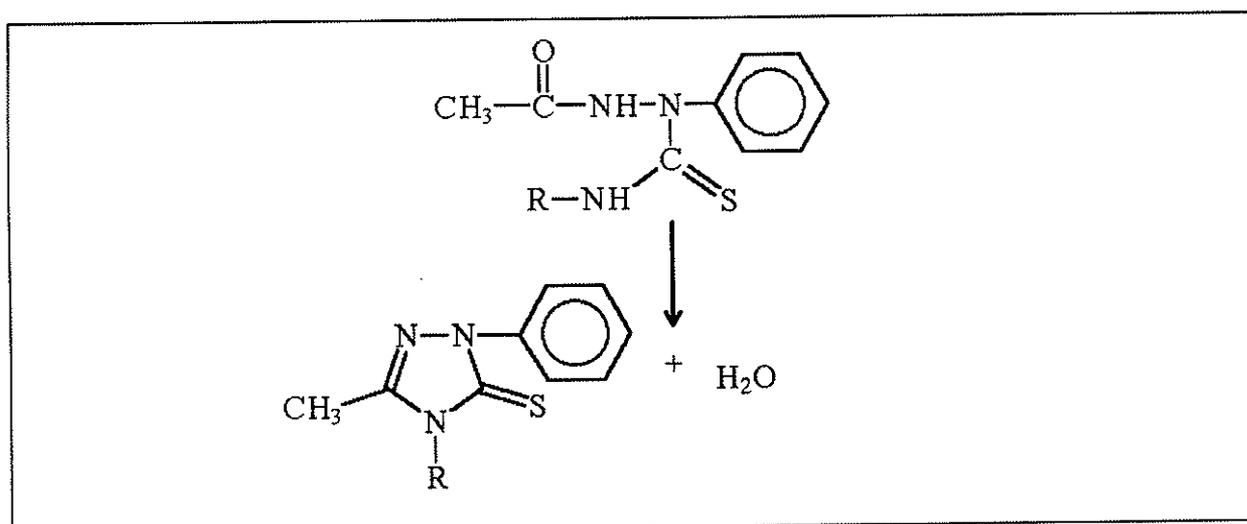
Mécanisme réactionnel de la 2<sup>ème</sup> étape.

### 2.3. Troisième étape

#### 2.3.1. Principe de la réaction

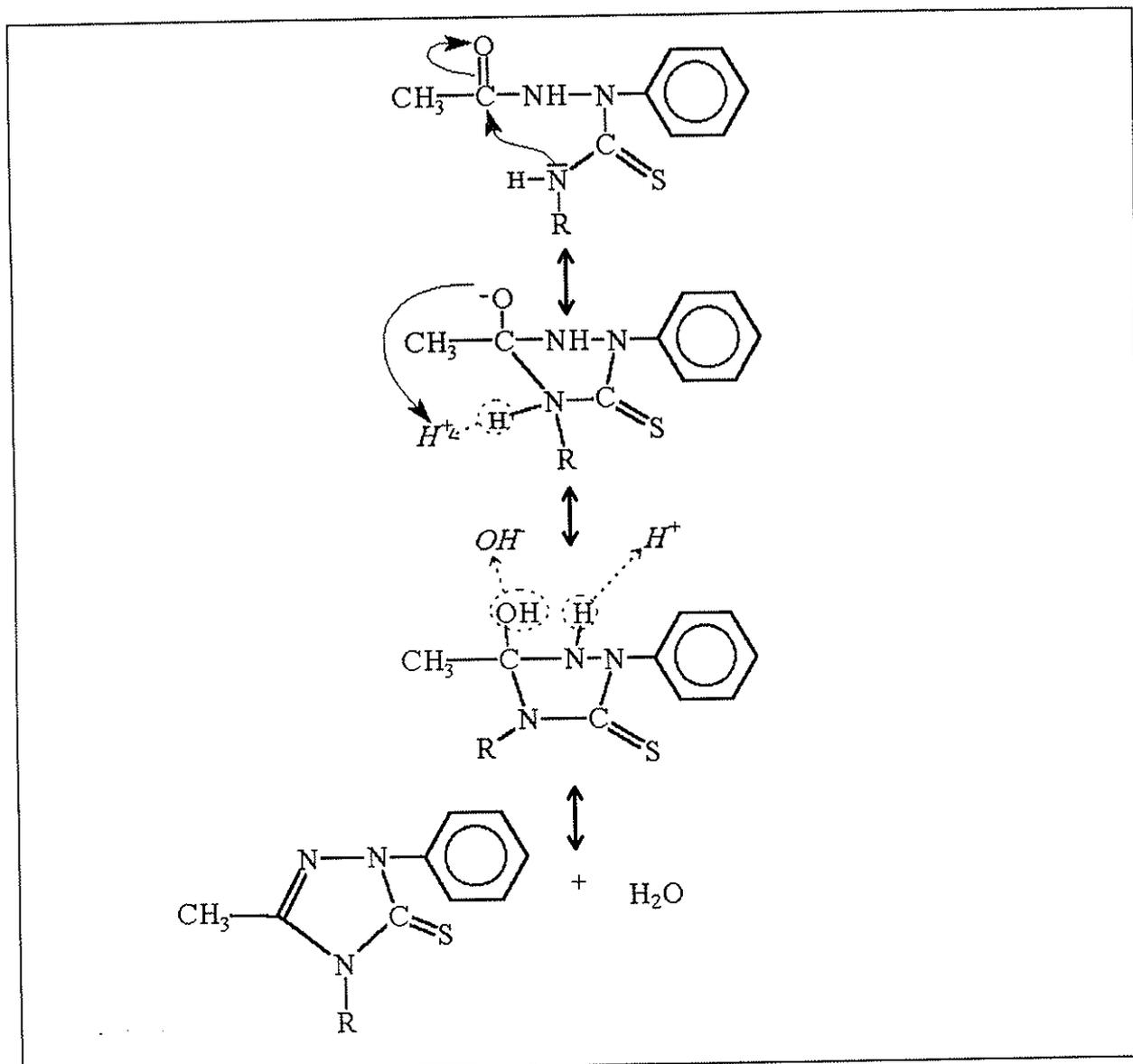
C'est l'étape de cyclisation déjà décrite par Muhi-Eldeen et *al* (7) et utilisée pour la cyclisation du 1-benzyl-4-phénylthiosemicarbazide.

Elle consistera à porter à reflux à 100 °C le produit ② non cyclisé en présence d'hydroxyde de sodium à 8 % pendant 8 heures. Au terme de ces 8 heures, nous procéderons à la neutralisation par de l'acide acétique à 10 %. Nous obtiendrons donc un produit cyclique soluble dans le chloroforme.



**Equation de la réaction**

2.3.2. Mécanisme réactionnel



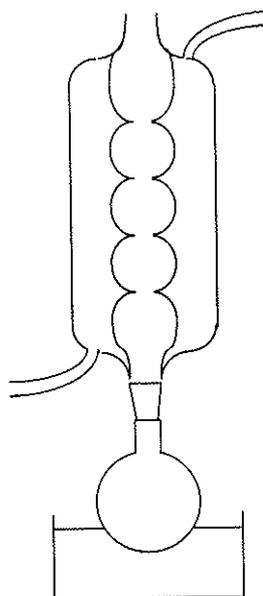
Mécanisme réactionnel de la 3<sup>ème</sup> étape.

Au cours de cette étude, trois composés différents seront donc synthétisés.

### 3. MODES OPERATOIRES

#### 3.1. Schéma de l'appareillage

Pour la réalisation de ces synthèses, nous avons utilisé un ballon à reflux de 100 ml surmonté d'un réfrigérant à eau, un chauffe-ballon et un agitateur magnétique.



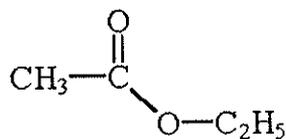
**Schéma de l'appareillage.**

Les différents produits utilisés proviennent du commerce.

Acétate d'éthyle :

Formule brute:  $C_4H_8O_2$

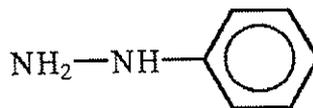
Poids moléculaire :  $88,106 \text{ g.mol}^{-1}$



Phénylhydrazine :

Formule brute :  $C_6H_8N_2$

Poids moléculaire :  $109,087 \text{ g.mol}^{-1}$



### 3.2. Synthèse de 3-mercapto-5-méthyl-2,4-diphényl-1,2,4-triazole

#### 3.2.1. Première étape

Dans un ballon de 250 ml, nous disposons 0,15 moles soit 13,2 g d'acétate d'éthyle dissout dans environ 40 ml d'éthanol. Nous ajoutons goutte à goutte 0,15 moles de phénylhydrazine (soit 16,2 g). La réaction se fait mole à mole. L'ensemble est porté à reflux, à environ 100 °C sous agitation vigoureuse et constante pendant 2 heures.

Au terme de la réaction, nous effectuons une chromatographie sur couche mince afin de s'assurer que la réaction est complètement terminée.

La CCM est une technique de séparation des produits d'un mélange en fonction de leur polarité.

Nous effectuons deux dépôts sur la plaque de Kieselgel :

- un dépôt de mélange réactionnel,
- un dépôt de phénylhydrazine.

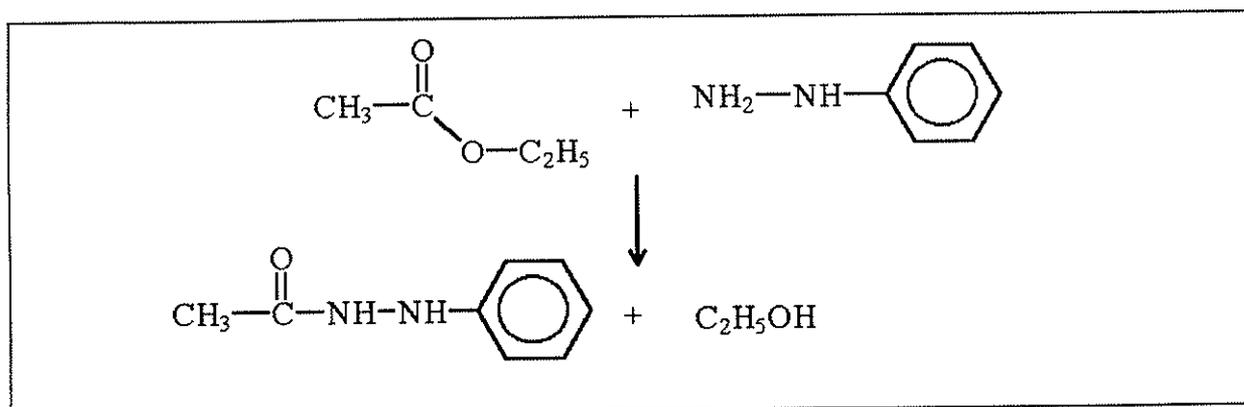
La plaque est plongée dans la cuve à solvant. Le solvant utilisé est un mélange de quantité égale d'hexane et d'acétate d'éthyle.

Le solvant va être absorbé par la silice et migrer de bas en haut et au cours de son passage, il déplace les différents constituants du mélange à des distances fonction de leur polarité. Cette technique permet de suivre le déroulement de la réaction.

La réaction est terminée lorsque la migration du mélange réactionnel sur la plaque ne donne qu'un seul dépôt, à une hauteur différente de celui obtenu après migration de la phénylhydrazine.

Cette technique est uniquement qualitative et ne permet pas de récupérer le produit de la réaction.

La réaction terminée, après refroidissement, nous effectuons une évaporation au Rotavapor et un lavage avec 25 ml d'hexane dans l'ampoule à décanter. Le produit ainsi obtenu se présente sous la forme d'un liquide de couleur ocre foncé.



**Equation de la réaction.**

Le produit obtenu est la phénylhydrazinacétone.

Formule brute :  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{ON}_2$

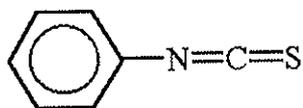
Poids moléculaire :  $150,180 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Cette réaction permet d'obtenir un rendement de 64 %

Cette première réaction sera identique pour les trois produits synthétisés.

### 3.2.2. Deuxième étape

10 g soit 0,66 mole du produit précédemment synthétisé sont placés dans un ballon de 250 ml. Nous introduisons environ 40 ml d'éthanol ainsi que 9 g de phénylthiocyanate. Ce produit provient du commerce, sa formule est la suivante :



Formule brute :  $C_7H_5NS$

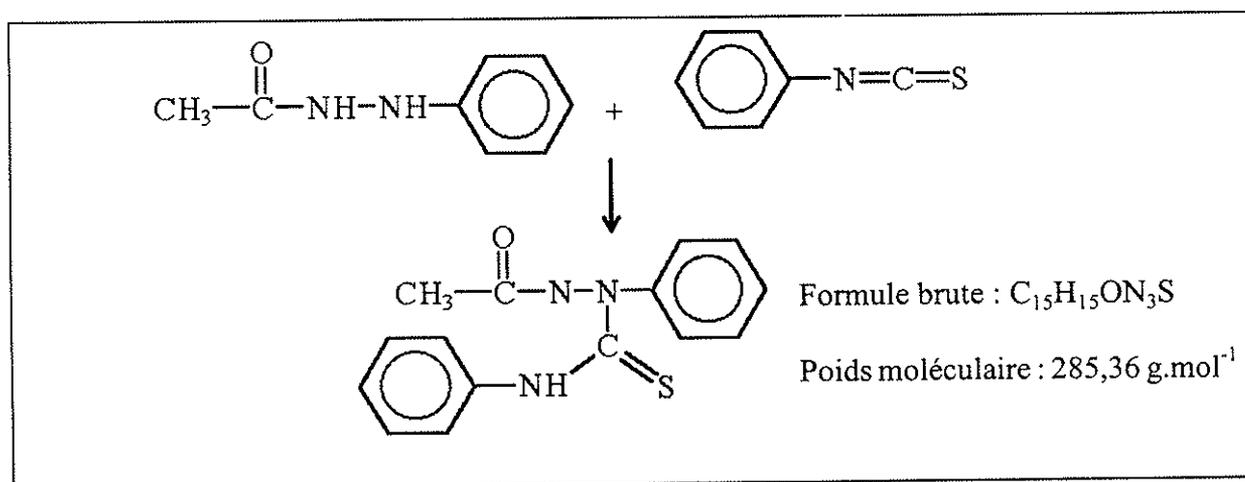
Poids moléculaire :  $186,72 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

*9,2 / 35 g/mol*

La réaction s'effectue mole à mole. Nous chauffons à reflux à environ  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  pendant une heure. Après refroidissement, nous récupérons la phase liquide par filtration sur Buchner.

Nous procédons à un premier lavage avec 20 ml de méthanol. Le solvant est évaporé au Rotavapor. Puis un deuxième lavage est effectué avec 25 ml d'éther. Nous obtenons ainsi un produit solide de couleur marron orangé.

Le rendement de la réaction est relativement faible, de l'ordre de 27 %.



**Equation de la réaction.**

### 3.2.3. Troisième étape

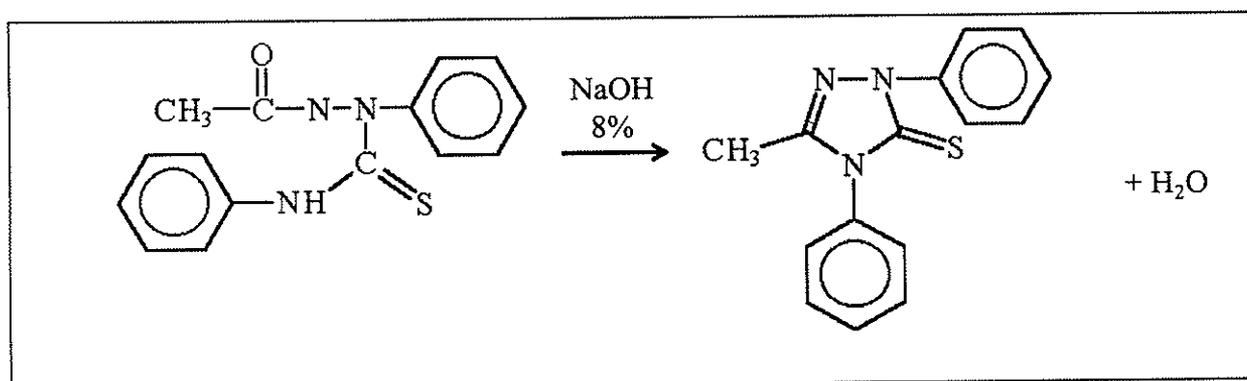
Nous prélevons 2 g de la réaction précédente que nous dissolvons dans 100 ml d'hydroxyde de sodium à 8 % préparé à partir de pastilles solides.

Nous portons l'ensemble à reflux à 120 °C pendant 8 heures.

Nous neutralisons à l'acide acétique à 10 %.

Nous obtenons ainsi une phase liquide et une phase solide. Après séparation, nous ajoutons 25 ml de chloroforme à la phase solide. Le produit cyclique se solubilise et est séparé des impuretés par filtration sur Buchner.

Après un lavage avec 20 ml d'eau dans l'ampoule à décanter, le chloroforme est évaporé au Rotavapor.



**Equation de la réaction.**

Le rendement de la réaction est de 32 %. Le produit obtenu est un solide de couleur marron foncé. Il s'agit du 3-mercapto-5-méthyl-2,4-diphényl-1,2,4-triazole.

Formule brute : C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>S

Poids moléculaire : 267,35 g.mol<sup>-1</sup>

### 3.3. Synthèse de 4-éthyl-3-mercapto-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole

La première étape est donc identique à la précédente.

### 3.3.1. Deuxième étape

Nous ferons réagir 3 g de phénylhydrazinacétone obtenue lors de l'étape précédente avec 1,74 g d'éthylisothiocyanate.

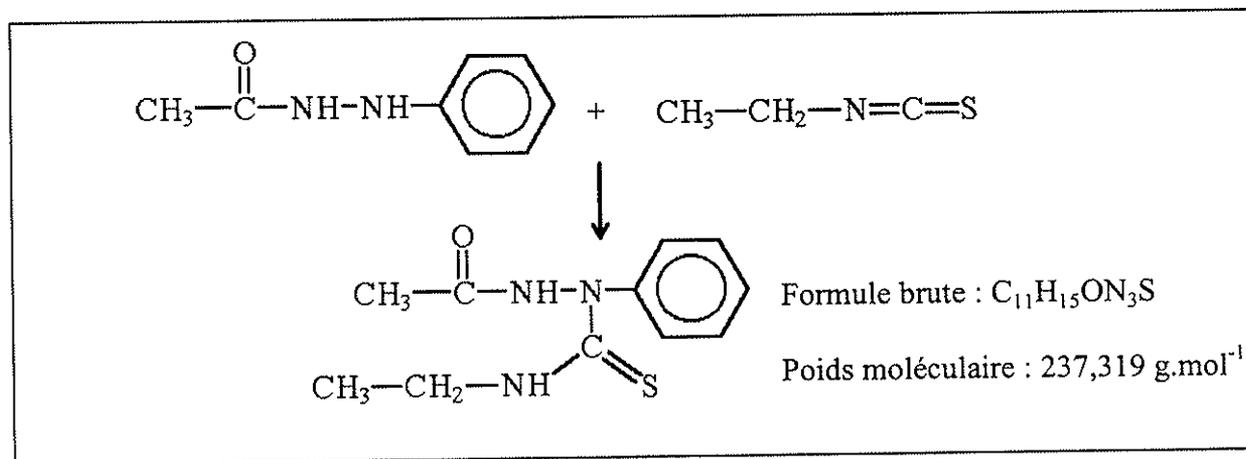
La formule développée de ce composé est la suivante:  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-N=C=S}$

Formule brute :  $\text{C}_3\text{H}_5\text{NS}$

Poids moléculaire :  $87,14 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Le mode opératoire reste identique au précédent: il consiste en un chauffage à reflux à  $120^\circ\text{C}$  pendant une heure en présence de 40 ml d'éthanol. Le terme de la réaction est vérifié par une chromatographie sur couche mince.

Nous évaporons le solvant au Rotavapor, le solide ainsi obtenu est lavé avec 25 ml d'éther. Nous obtenons ainsi un produit de couleur marron clair.

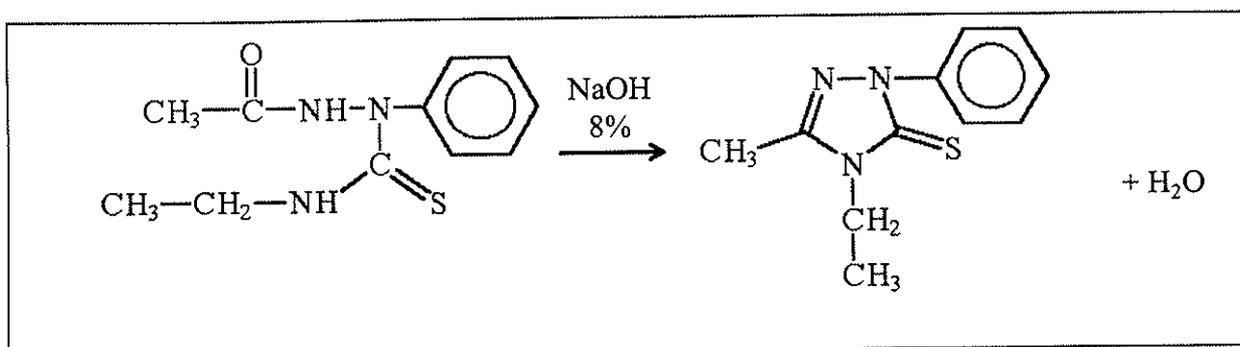


**Equation de la réaction.**

Le rendement de la réaction est de 43 %.

### 3.3.2. Troisième étape

Nous réalisons la cyclisation de 2 g du produit précédemment synthétisé. Au bout de 8 heures de réaction en présence de 100 ml d'hydroxyde de sodium à 8 % et après neutralisation à l'acide acétique à 10 %, nous obtenons un précipité. Celui-ci sera lavé avec 25 ml de chloroforme, puis 25 ml d'hexane.



Nous obtenons ainsi le 4-éthyl-3-mercapto-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole.

Formule brute :  $C_{11}H_{13}N_3S$

Poids moléculaire :  $219,30 \text{ g.mol}^{-1}$

Le rendement de cette réaction est de 50 %.

### 3.4. Synthèse de 4-butyl-3-mercapto-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole

Nous procédons d'abord à la première étape qui est identique aux précédentes afin d'obtenir la phénylhydrazinacetone.

#### 3.4.1. Deuxième étape

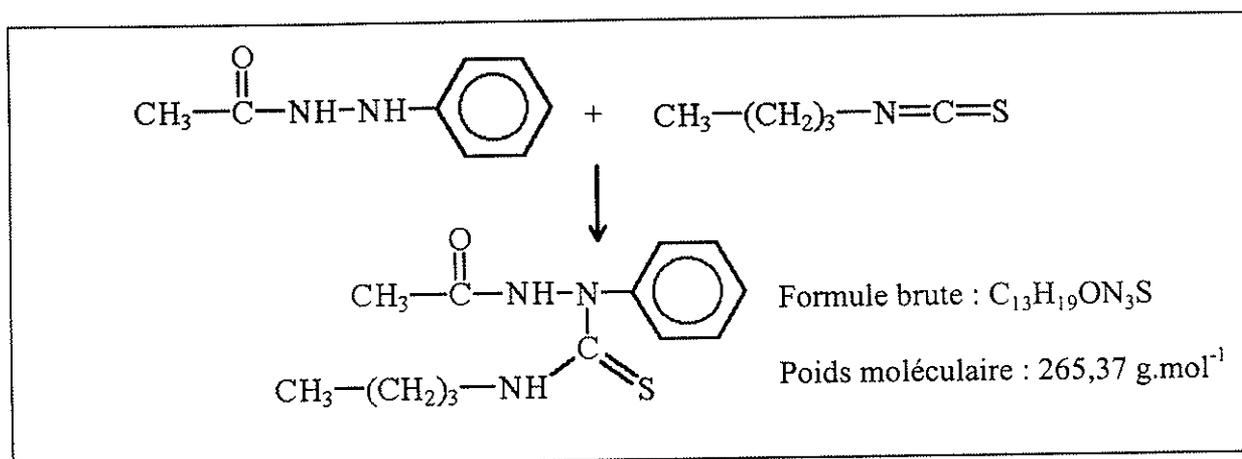
Nous prélevons 3 g de la première réaction sur lesquels nous ferons réagir 2,3 g soit 0,02 mole de butylisothiocyanate.

Formule développée :  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{-N}=\text{C}=\text{S}$

Formule brute :  $\text{C}_5\text{H}_9\text{NS}$

Poids moléculaire :  $115,192 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Le solide obtenu est lavé dans 25 ml d'hexane. Puis il est solubilisé à chaud dans un minimum de chloroforme. Nous procédons ensuite à un deuxième lavage avec 25 ml d'hexane. Nous obtenons ainsi un solide blanc sale.

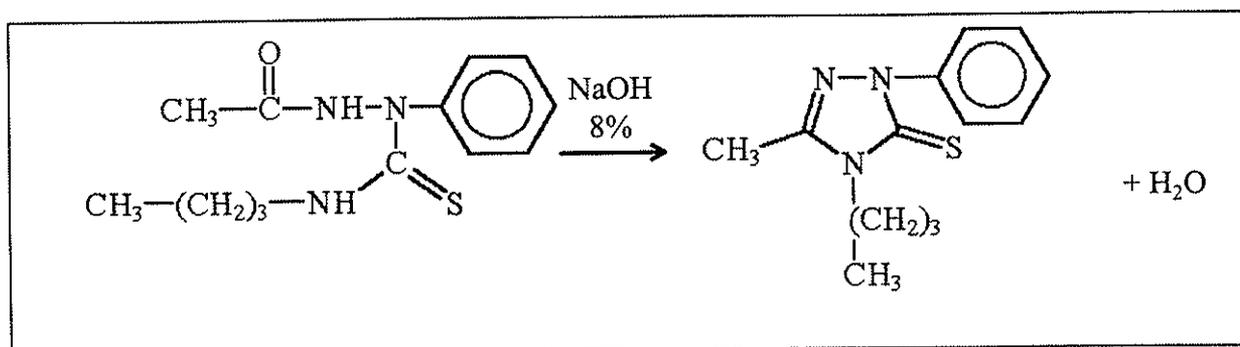


**Equation de la réaction.**

Le rendement de la réaction est de 45 %.

### 3.4.2. Troisième étape

Nous procédons ensuite à la cyclisation du produit intermédiaire de manière identique à celle déjà décrite c'est-à-dire à  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  en présence d'hydroxyde de sodium à 8 % pendant 8 heures.



**Equation de la réaction.**

Au terme de la réaction, nous neutralisons à l'aide d'acide acétique à 10 % et après un premier lavage avec 25 ml de chloroforme, puis un deuxième avec 25 ml d'hexane, nous obtenons ainsi le 4-butyl-3-mercapto-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole.

Formule brute : C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>S

Poids moléculaire : 247,35 g.mol<sup>-1</sup>

Le rendement de cette réaction est de 40 %.

#### **4. CONTROLE DES PRODUITS SYNTHETISES**

Nous utiliserons pour vérifier l'identité des molécules synthétisées deux techniques complémentaires l'une de l'autre : la spectrométrie infrarouge et la résonance magnétique nucléaire.

##### **4.1. La spectrométrie infrarouge**

C'est une méthode d'analyse permettant de distinguer les différents groupes fonctionnels d'une molécule.

Seule, la zone centrale de l'infrarouge dont les longueurs d'ondes s'étendent de 4000 à 625 cm<sup>-1</sup>, est habituellement explorée.

L'unité couramment employée est le nombre d'onde :

$$\nu = \frac{1}{\lambda}$$

$\lambda$  est exprimé en cm et donc  $\nu$  est exprimé en  $\text{cm}^{-1}$ .

L'identification des groupements fonctionnels se fait grâce :

- à leurs bandes de vibrations de valence : les atomes se déplacent longitudinalement selon leur axe de liaison.
- à leurs bandes de vibration de déformation : il y a modification des angles valencielles selon un mouvement pendulaire.

Nous obtenons donc un spectre qui sera analysé à partir de tables indiquant les corrélations entre un spectre et la structure pour chaque groupement.

#### 4.2. La résonance magnétique nucléaire

La résonance magnétique nucléaire ou RMN est basée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques. C'est une méthode physique qui permet de déterminer le squelette de la molécule.

Tous les noyaux atomiques possèdent une charge de rotation qui peut entraîner l'existence d'un moment magnétique nucléaire  $\mu$ . Sa valeur dépend du nombre de spin nucléaire  $I$ .

Le proton  $\text{H}^1$  est le noyau dont les spectres fournissent le plus de renseignements. Sa résonance sera la plus employée.

Si on soumet un noyau de spin  $I$  à l'influence d'un champ magnétique externe  $H_0$ , son moment magnétique  $\mu$  tend à s'orienter par rapport à  $H_0$ . Les différentes orientations possibles de  $\mu$  sont au nombre de  $2I + 1$  auxquelles correspondent  $2I + 1$  niveaux d'énergie du noyau.

Le proton possède un nombre quantique de spin de 1/2, il y aura donc deux orientations possibles. Ces deux orientations diffèrent d'une quantité d'énergie  $\Delta E$ , proportionnelle à l'intensité de  $H_0$  :

$$\Delta E = \frac{\gamma h}{2\pi} H_0$$

$\gamma$  est le rapport magnétogyrique.

$h$  est la constante de Planck.

Pour une valeur donnée de  $H_0$ , le proton peut passer d'un niveau énergétique à l'autre par absorption ou émission d'un quantum d'énergie.

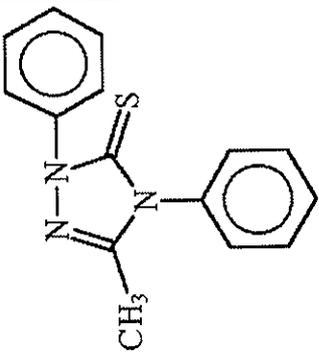
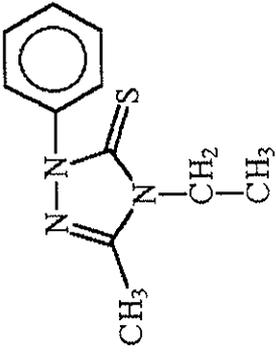
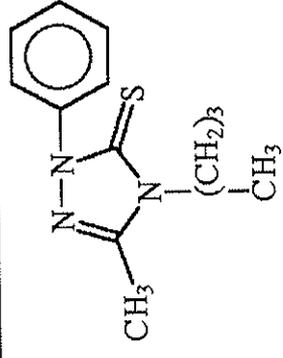
En pratique, l'échantillon est placé dans un champ magnétique et un champ de radiofréquence qui permettent de détecter les retournements des noyaux sous forme d'un voltage.

### 4.3. Résultats

Les résultats sont donnés par le tableau, page suivante.

En ce qui concerne l'infrarouge, nous obtenons des valeurs de  $\nu$  qui correspondent à des groupements présents dans chaque molécule. Nous retrouvons les groupements C=C du noyau benzénique ainsi que les groupements C=N, C=CH<sub>3</sub> et C=S. Le pic compris entre 690 et 700 cm<sup>-1</sup> correspond au groupement fonctionnel N=C=S. Il s'agit d'une délocalisation des électrons entre le groupement phényle placé en 2 et le carbone situé en 3 porteur du soufre.

Le spectre infrarouge confirme bien la nature des produits synthétisés.

Produit	Rendement (%)	Point de fusion <sup>a</sup> (°C)	Poids moléculaire (g.mol <sup>-1</sup> )	Formule brute	IR <sup>b</sup> (cm <sup>-1</sup> )	<sup>1</sup> H-RMN <sup>c</sup> δ en ppm (ref TMS)
	32	180	267,35	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> S	1590 (ν <sub>C=C</sub> ) 1500 (ν <sub>C=N</sub> ) 1450 (ν <sub>C-CH3</sub> ) 700 (ν <sub>C=S</sub> ) 690 (ν <sub>N=C-S</sub> )	7,5, m, 10H; 2,34, s, 3H
	50	169	219,3	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> S	1620 (ν <sub>C=C</sub> ) 1540 (ν <sub>C=N</sub> ) 1450 (ν <sub>C-CH3</sub> ) 690 (ν <sub>C=S</sub> ) 700 (ν <sub>N=C-S</sub> )	7,5, s, 5H; 2,9, q, 2H; 2,34, t, 3H; 2,1, s, 3H
	40	108	247,55	C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> S	1585 (ν <sub>C=C</sub> ) 1540 (ν <sub>C=N</sub> ) 1410 (ν <sub>C-CH3</sub> ) 735 (ν <sub>C=S</sub> ) 710 (ν <sub>N=C-S</sub> )	7,5, s, 5H; 2,9, t, 2H; 2,6, m, 2H; 2,3, t, 3H; 2,1, s, 3H

<sup>a</sup> Point de fusion déterminé sur un banc de Kofler,

<sup>b</sup> Enregistré en dispersion dans KBr pur,

<sup>c</sup> Enregistré sur un spectromètre Bruker dans CDCl<sub>3</sub> / référence Tétraméthylsilane.

Les spectres RMN obtenus sont comparés avec des tables de références et ils nous révèlent, pour la première molécule la présence de 10 atomes d'hydrogène à  $\delta = 7,5$  qui traduit le groupement phényl. Ils correspondent aux deux radicaux phényles. Nous trouvons également 3 atomes à  $\delta = 2,34$ . Il s'agit donc du radical méthyle.

Les spectres obtenus pour les deux autres molécules permettent de montrer la présence dans un premier cas d'un groupement éthyle et dans un deuxième cas d'un groupement butyle.

Les deux méthodes utilisées en complémentarité permettent de déterminer la nature exacte des molécules synthétisées.

## COMPLEXATION

L'étude des réactions de complexation entre l'iode et les molécules donneurs d'électrons synthétisées au cours de ce travail est réalisée par spectroscopie électronique. Nous présenterons d'abord les points essentiels permettant de démontrer la formation d'un complexe par transfert de charge .

La détermination des constantes de formation  $K_c$ , des coefficients d'extinction molaire  $\epsilon_c$ , nécessite l'utilisation d'une méthode appropriée.

Sous l'influence de divers facteurs comme la température, le temps, la nature du solvant utilisé, les concentrations en réactifs, la stabilité et l'évolution des complexes sont perturbées. L'étude de ces différents facteurs permettra ensuite une étude comparative précise.

## **1. RAPPEL SUR L'ETUDE SPECTROPHOTOMETRIQUE DES COMPLEXES DU TYPE TRANSFERT DE CHARGE**

L'expression "complexe moléculaire" qualifie une association de deux ou plusieurs molécules. Les complexes moléculaires produits par l'interaction des halogènes avec les composés organiques forment une classe importante.

De nombreuses études sur la nature des forces existant entre les constituants d'un complexe moléculaire ont été faites. La théorie proposée par MULLIKEN (8) est la plus répandue : elle se base sur le concept de transfert de charge intermoléculaire.

Le terme "transfert de charge" désigne le passage d'une charge d'un donneur à un accepteur. Il peut être complet ou partiel d'un composant du complexe à l'autre. On parle d'interaction donneur-accepteur.

Les forces de transfert de charge ont des propriétés directionnelles de telle sorte que les complexes sont formés dans des rapports moléculaires simples.

Il existe deux grandes catégories de complexes :

ceux formés par les donneurs  $\pi$

ceux formés par les donneurs  $n$

Les  $\pi$  donneurs ont des électrons disponibles sur les orbitales moléculaires  $\pi$ . Ce sont par exemple les alcènes, les alcynes, les hydrocarbures aromatiques et leurs dérivés de substitution. Les complexes obtenus sont appelés complexes  $\pi$ .

Les molécules  $n$  donneurs possèdent une paire d'électrons célibataires disponibles pour donner une association. Il s'agit, par exemple, des alcools, des sulfures organiques, des dérivés nitrés. Ces composés possèdent une paire d'électrons non liants, localisée sur les orbitales atomiques du soufre, de l'oxygène et de l'azote.

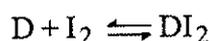
Les accepteurs sont surtout représentés par les halogènes en particulier l'iode à l'origine de nombreuses études. L'oxygène (9), les sels d'argent (10) et de cuivre (11) peuvent parfois présenter des propriétés d'accepteur d'électrons.

Ces accepteurs sont classés selon deux catégories :

- les  $\sigma$  accepteurs :  $I_2$ ,  $Br_2$ ,  $ICl$ ,  $ICN$ ,  $ISCN$
- les  $\pi$  accepteurs : aromatiques substitués par des halogènes, par des fonctions nitrées...

Au cours de cette étude, nous allons considérer les complexes se formant entre les donneurs n, caractérisés par une paire d'électrons célibataires et l'iode, halogène accepteur comportant une orbitale antiliante.

Les complexes obtenus sont la plupart du temps instables. Ils existent en solution diluée et en équilibre avec leurs composants.



## 2. METHODES D'ETUDE SPECTROPHOTOMETRIQUE

Le changement de coloration constaté dans des solutions contenant des mélanges de donneur et d'accepteur permet d'observer la formation d'un grand nombre de complexes moléculaires.

Ceux-ci font apparaître, généralement, dans les domaines du visible et de l'ultraviolet un spectre d'absorption aux bandes larges et intenses, dues aux transitions électroniques.

Des bandes d'absorption caractéristiques du donneur ou de l'accepteur libre d'une part, ou plusieurs bandes de transfert de charge correspondant à différents états excités du donneur  $D^+$  ou de l'accepteur  $A^-$  d'autre part, peuvent masquer le spectre du complexe.

Le choix du solvant est très important car selon le solvant et pour un même composé, les maxima des pics d'absorption varient.

On peut noter également que, plus la longueur d'onde de la bande de transfert de charge est élevée, plus la stabilité du complexe est grande et plus les déplacements des bandes d'absorption sont importants (effet bathochrome dû au donneur, effet hypsochrome dû à l'accepteur).

L'étude spectrale a surtout été réalisée en lumière visible et ultraviolette ainsi que le montre la littérature : la formation d'un complexe moléculaire entraîne des perturbations dans ces spectres principalement.

### 2.1. Spectrophotométrie dans la région du visible

L'apparition d'une nouvelle bande d'absorption dont le maximum se trouve à une longueur d'onde inférieure à celle de l'halogène seul est due au mélange d'une solution de donneur et d'une solution d'halogène.

Cette nouvelle bande est appelée "Bande de l'Halogène Complexé" (B.H.C) ou "Blue Shifted Band" (B.S.B) et peut être attribuée à l'halogène engagé dans la formation du complexe.

Dans l'état excité de ces complexes, un doublet électronique libre du donneur est transféré sur l'halogène, ceci ayant pour conséquence l'augmentation de la taille effective de la molécule de l'halogène par rapport à sa taille normale.

L'énergie d'excitation se trouve augmentée par une énergie de répulsion existant dans le complexe entre l'halogène de taille anormale et le donneur (12) quand l'halogène absorbe de la lumière visible.

Plus le contact entre l'halogène et le donneur est étroit, plus le déplacement de la bande visible de l'halogène est important. L'étude du spectre dans le visible est réalisée par l'enregistrement des spectres d'absorption d'une série de solutions contenant une concentration fixe de l'halogène et des concentrations croissantes de donneur.

On constate alors que la bande de l'halogène croît en intensité. Les courbes ainsi obtenues se recoupent en un point : le point isobestique.

Le pic du complexe seul est déterminé en plaçant une solution d'halogène de concentration donnée dans le faisceau de référence.

## 2.2. Spectrophotométrie dans la région de l'ultraviolet

Si un mélange de solution de donneur et d'accepteur est réalisé, on constate une bande d'absorption dans la région du proche ultraviolet où les deux composés absorbent, celle-ci étant d'intensité supérieure à la somme de celles des composants. Cette nouvelle bande, soit bande de transfert de charge (B.T.C) est plus ou moins décalée vers les grandes longueurs d'onde. Elle présente un maximum qui se situe à une longueur d'onde caractéristique du complexe.

Cependant, le donneur et l'accepteur libres absorbent souvent à des longueurs d'onde voisines de la B.T.C, ce qui rend son étude difficile.

L'énergie de transition du complexe du transfert de charge est à la fois fonction du potentiel d'ionisation du donneur et de l'affinité électronique de l'accepteur. De nombreuses relations ont été établies entre la fréquence du maximum d'absorption de la bande de transfert de charge  $\gamma_{ct}$ , le potentiel d'ionisation  $I_p$  et l'affinité électronique de l'accepteur  $E_A$ . MC CONNEL *et coll* (13) appliquent la relation suivante :

$$h \gamma_{ct} = I_p - E_A - W$$

$h$  étant la constante de Planck,

$W$  représente l'énergie de dissociation du complexe de transfert de charge à l'état excité.

La bande de transfert de charge et son maximum se repèrent difficilement ce qui fait que l'évaluation exacte du terme  $\gamma.c.t$  est difficile. La détermination des potentiels d'ionisation du donneur par ces méthodes spectroscopiques est donc délicate.

### **2.3. Stoechiométrie des complexes**

La stoechiométrie 1:1 des complexes est démontrée par la présence d'un seul point isobestique, par la linéarité parfaite des points expérimentaux sur les droites de régression linéaire.

## **3. MATERIEL UTILISE ET PROTOCOLES**

### **3.1. Produits chimiques**

#### **3.1.1. L'halogène accepteur**

Nous avons utilisé comme halogène accepteur l'iode pour réaliser notre étude. Cependant, des travaux ont été effectués à l'aide d'autres halogènes tels que le monochlorure d'iode, le monobromure d'iode et le brome (12 à 27).

On emploie l'iode qui est conservé à l'obscurité dans un dessiccateur contenant de l'anhydride phosphorique. Nous avons effectué des solutions d'iode dans les solvants utilisés. Dans chaque solvant, l'iode présente alors deux bandes d'absorption situées, l'une dans la région du visible, l'autre dans celle de l'ultraviolet.

### 3.1.2. Les molécules "donneurs"

Il s'agit des molécules synthétisées au cours de cette étude qui semblent aptes à former un complexe de transfert de charge.

### 3.2. Les solvants

Deux solvants apolaires sont principalement utilisés

- le chloroforme
- le tétrachlorure de carbone

Ce dernier est un solvant apolaire aprotique (constante diélectrique 2,238). Son interaction avec le réactif est minime.

En U.V., sa limite de transparence correspond à la longueur d'onde pour laquelle l'extinction approche de la valeur unité quand on utilise une cuve de 1 cm (cuve de référence : eau), ce qui correspond à une transparence de 10 %.

- les autres solvants : éther, hexane, cyclohexane, sulfure de carbone et dichloroéthane.

Ils peuvent être utilisés pour l'étude de certains produits insolubles dans le tétrachlorure de carbone. Dans toutes les régions du spectre IR et visible qui nous intéressent, ils sont transparents. En U.V., il faudra tenir compte des différentes longueurs d'onde où se situe leur limite de transparence.

### 3.3. Le matériel

Nous avons utilisé une verrerie volumétrique de précision : pipettes jaugées de classe A, fioles jaugées et flacons bouchés émeri.

Un soin particulier doit être apporté au séchage de la verrerie. En effet, la moindre trace d'humidité perturbe la formation des complexes et fait apparaître des nouvelles bandes

dans le spectre signalant des réactions chimiques irréversibles avec formation d'ions polyhalogénés  $I_3^-$ .

Le matériel est rincé plusieurs fois avec le solvant utilisé, et séché par un courant azoté avant toute manipulation.

### **3.4. Spectrophotomètres**

Le spectre d'absorption, dans le visible et dans l'ultraviolet, sont obtenus à l'aide d'un spectrophotomètre double faisceau Perkin UV/Vis Lambda 12. Il permet un enregistrement continu des spectres entre 190 et 900 nm sans manipulation, le changement de source étant automatique et ne produisant pas de décalage de densité optique (donnés à 3 décimales près).

Les cuves utilisées sont en quartz (cuve Hellma 110 QS) de un centimètre de parcours optique.

Les spectres infrarouges sont réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre double faisceau Satellite FTIR Muttson. Ils sont utilisés pour vérifier la pureté des produits.

### **3.5. Méthodes expérimentales et protocoles**

Les solutions d'halogène (l'iode) sont préparées extemporanément par gravimétrie à des concentrations de l'ordre de  $10^{-3}$  M.

Les différentes solutions de donneurs sont préparées à partir de solutions mères de concentrations variant entre  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  M, également par gravimétrie.

Les solutions de complexes sont réalisées directement dans les cuves en quartz en pipetant 1,5 ml de solution d'iode et 1,5 ml de donneur.

Toutes les mesures sont réalisées à  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  si les solutions de complexes sont stables.

### 3.6. Solutions de complexes

Pour réaliser l'étude d'un mélange d'une solution de donneur et d'accepteur, nous préparons 4 cuves :

**Cuve 1 :** solvant servant de référence.

**Cuve 2 :** solution d'halogène à la même concentration que dans le mélange réactionnel. Pour cela, les cuves peuvent contenir chacune 3 ml, nous pipetons 1,5 ml de solution d'halogène et nous complétons à 3 ml de solvant. Nous réalisons ainsi une dilution au demi.

**Cuve 3 :** Solution du composé étudié à la même concentration que le mélange réactionnel. Nous opérons donc de la même manière que précédemment.

**Cuve 4 :** mélange réactionnel réalisé en pipetant 1,5 ml de solution d'halogène et 1,5 ml de solution de donneur. Il faudra posséder plusieurs "cuves 4" en fonction du nombre des différentes concentrations de donneurs utilisés.

Lorsque la cuve 1 est placée dans le faisceau de référence, nous obtenons contre le solvant l'enregistrement des spectres de l'halogène (cuve 2), du donneur (cuve 3) et de la solution du complexe (cuve 4).

Lorsque la cuve 2 est placée dans le faisceau de référence, nous obtenons contre l'halogène l'enregistrement du spectre de la solution de mélange (cuve 4).

Lorsque la cuve 3 est placée dans le faisceau de référence, nous obtenons l'enregistrement de la bande de transfert de charge du complexe dans la région de l'ultraviolet.

#### 4. CALCUL DES CONSTANTES

Les spectres électroniques des solutions de mélange donneur-accepteur montrent une ou plusieurs nouvelles bandes attribuées à un transfert de charge intermoléculaire.

Les éléments de formation et les coefficients d'extinction molaire des complexes sont déterminés en utilisant l'intensité de ces bandes. Il existe différentes méthodes de calcul. Un procédé de calcul, dérivant de la méthode de Lang (28, 29) utilisée lorsque les concentrations en donneur et en accepteur sont à peu près égales (30) a été mis au point par le laboratoire.

$$[D] = [A]$$

La constante d'équilibre est donnée par l'équation :

$$K_c = \frac{[C]}{([A_0] - [C])([D_0] - [C])} \quad (I)$$

$[A_0]$  et  $[D_0]$  sont les concentrations initiales respectives en accepteurs et en donneurs.

$[C]$  est la concentration en complexe.

$K_c$  est la constante de formation du complexe.

L'équation de Beer Lambert traduit la relation existant entre la concentration d'une substance en solution et sa densité optique :

$$DO = \epsilon \cdot l \cdot [C]$$

$[C]$  est la concentration de la substance dans la solution.

$l$  est la longueur de la cuve.

$\epsilon$  est le coefficient d'extinction molaire.

$DO$  est la densité optique.

La densité optique lue doit être corrigée car l'absorption réelle du complexe correspond à la densité optique de la solution moins la densité optique de l'accepteur libre.

On obtient donc l'équation réarrangée suivante :

$$\frac{[A_0][D_0]}{D_0} = \left[ [A_0] + [D_0] - \frac{D_0}{\varepsilon} \right] \cdot \frac{1}{\varepsilon} + \frac{1}{\varepsilon \cdot K_c}$$

La résolution de l'équation est effectuée par un ordinateur PC grâce à un programme mis au point par le Laboratoire de chimie organique et de chimie thérapeutique.

## **5. STABILITE ET EVOLUTION DES COMPLEXES**

Les complexes peuvent évoluer selon différents facteurs. Cette évolution est mise en évidence par un examen de la coloration des solutions de complexes. Une dissociation complète du complexe, avec formation irréversible de substitution, est révélée par l'apparition d'une coloration définitive.

Généralement, une modification de la couleur (virage au jaune des solutions) traduit la formation d'ions trihalogénés. Il apparaît alors des changements importants dans le spectre d'absorption de certaines solutions.

### **5.1. Influence de la concentration des réactifs**

L'ajustement de la concentration des solutions d'halogène doit tenir compte de l'intensité de leur bande d'absorption dans le visible et dans l'ultraviolet, mais aussi, des concentrations optimales du donneur toujours utilisé en excès.

Une concentration trop élevée du donneur peut entraîner l'apparition d'anions trihalogénés  $I_3^-$ . Leur absorption à 360 et à 290 nm se superpose alors à celle du complexe. Si

dans un bref délai, ces solutions sont diluées, ces deux bandes disparaissent. La formation d'ions trihalogénés est donc une réaction réversible, induite par un excès de concentration du donneur.

Il semble donc, qu'une concentration trop élevée d'halogène, quelque soit le rapport D/A, inhibe la formation du complexe.

Par contre, en présence d'une concentration optimale d'halogène, une concentration trop forte du donneur n'empêche pas la formation du complexe, mais modifie sa stabilité, entraînant une dissociation.

### 5.2. Influence du temps

Les enregistrements des solutions de complexes sont effectués extemporanément et sont répétés quelques heures, voire quelques jours après, afin de contrôler la stabilité des solutions de complexes. Puis les solutions sont stockées à l'obscurité, en atmosphère sèche, et à une température inférieure à 18 °C.

Une instabilité dans le temps est révélée par des modifications importantes. On observe :

-soit une formation de complexes plus importante, se traduisant par une évolution des bandes d'halogène complexé (B.H.C) et par une augmentation de la valeur de la constante de formation. La formation d'ions trihalogénés caractérisée par une absorption à 360 nm et à 290 nm, est aussi augmentée.

-soit les spectres enregistrés ne se coupent plus au point isobestique et on note l'apparition de produits de substitution ou d'addition.

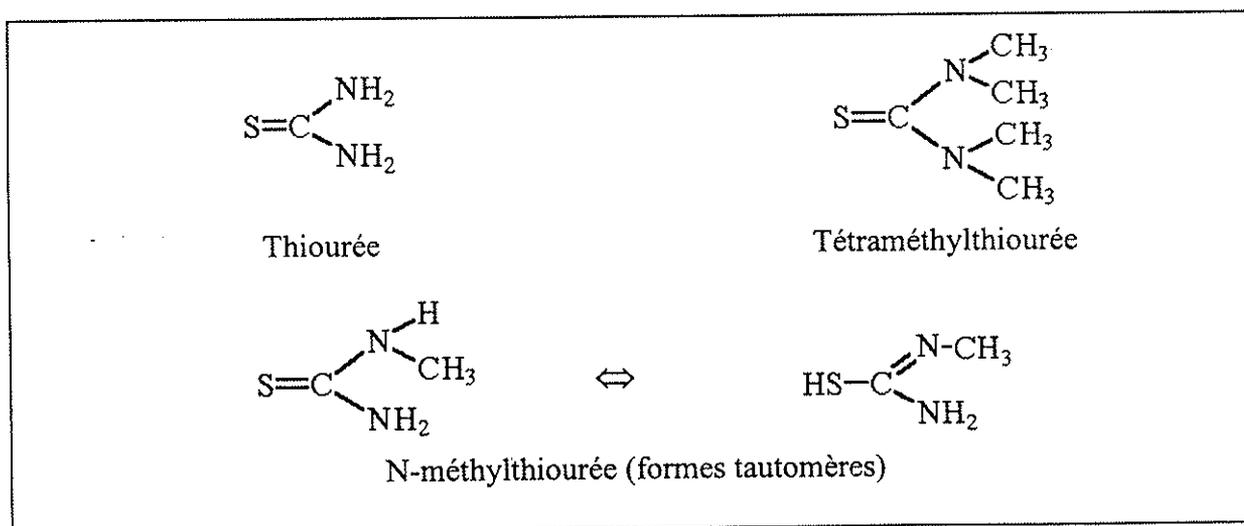
### 5.3. Influence de la température

L'enregistrement spectrophotométrique, à différentes températures, de la B.H.C. et de la B.T.C. d'une solution de complexe, montre que l'intensité de ces bandes décroît fortement avec une élévation de la température.

## 6. RESULTATS

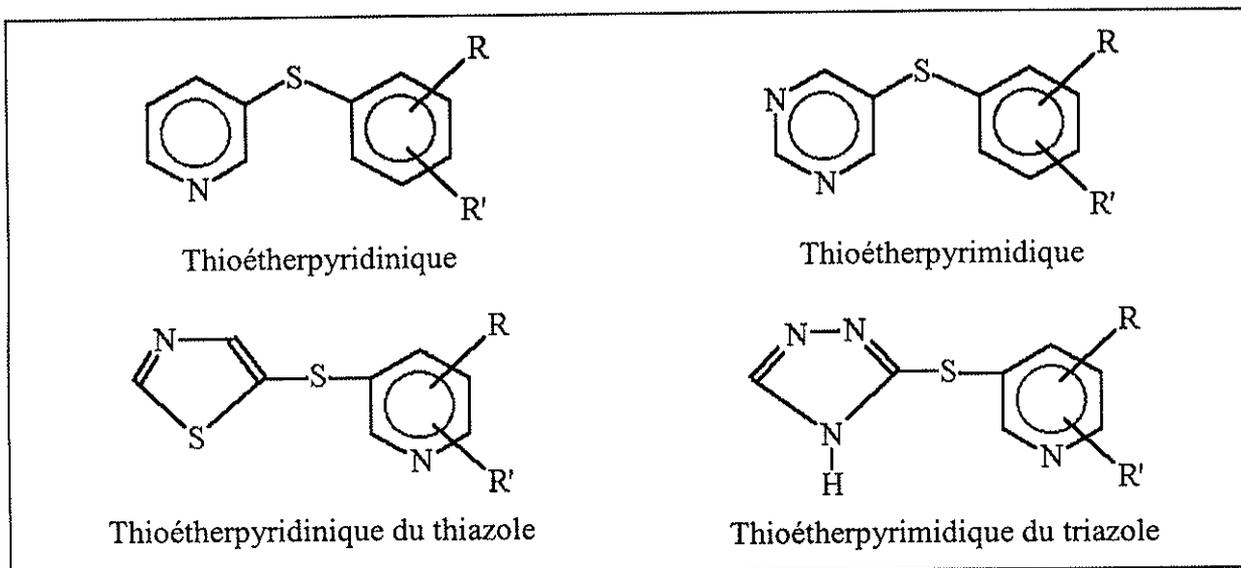
Les précédents travaux du service de chimie organique et de chimie thérapeutique de la Faculté de Pharmacie de Limoges ont montré qu'une structure hétéroatomique aliphatique ou cyclique était indispensable à une activité de complexation de l'iode moléculaire.

Ces structures peuvent être des dérivés de la thiourée, des dérivés alkyls de la thiourée, N-méthylthiourée, N-N-diméthylthiourée, triméthylthiourée. La tétraméthylthiourée n'a pas de pouvoir électrodonneur. Cela est dû à une absence de tautomérie au contraire des dérivés mono, di et triméthyl.

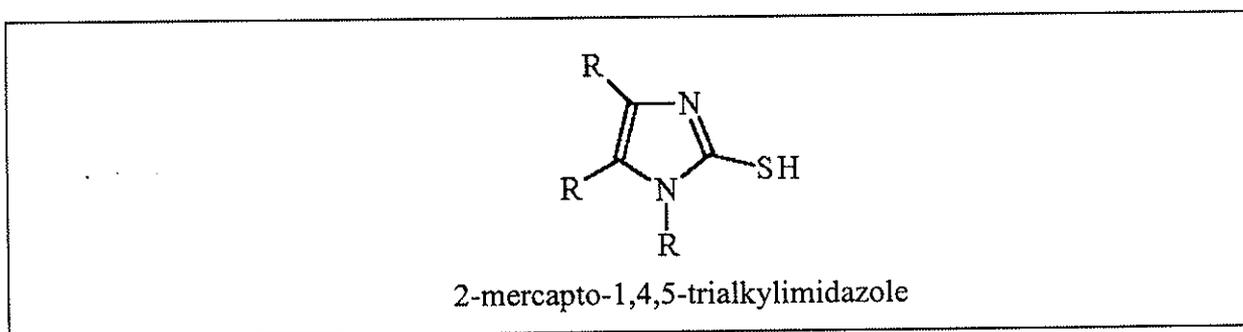


Des structures plus complexes de type thioétherpyridinique et thioétherpyrimidique (LAGORCE) ont également été synthétisées et testées. Ces molécules ont présenté un pouvoir

électrodonneur mais seulement lorsque les différents substituants renforcent la densité électronique sur l'atome de soufre.



D'autres molécules du type 1,4,5-trialkylimidazole (FATIMI) ont également été synthétisées et ont montré un pouvoir électrodonneur pour les substituants  $R = \text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, \text{C}_3\text{H}_7$ . Cet effet électrodonneur diminuant à partir de  $R = \text{C}_4\text{H}_9$ , un effet d'encombrement stérique est donc vérifié :



Un groupement thiol libre SH semble donc indispensable à une activité de complexation.

La synthèse de ces dérivés du 1,2,4-triazole a été développée pour approfondir cette étude de relation structure-activité.

L'étude de leur pouvoir électrodonneur en complexation vis-à-vis de l'iode n'a donné aucun résultat positif.

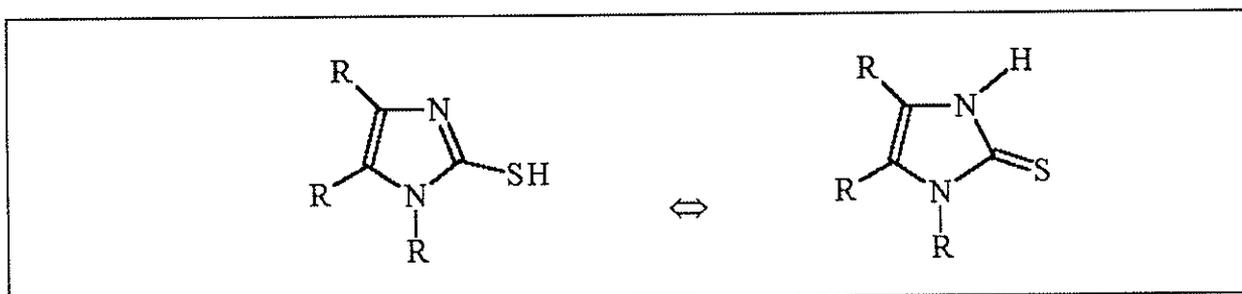
Deux hypothèses en fonction des précédents résultats peuvent expliquer cette absence de complexation.

Le 3-mercapto-5-méthyl-2,4-diphényl-1,2,4-triazole est un produit à fort encombrement stérique ce qui explique son absence de complexation sur l'iode. En particulier les deux noyaux benzéniques viennent masquer l'atome de soufre.

Les deux autres produits semblent avoir un atome de soufre plus accessible et pourtant aucun complexe de type n- $\sigma$  sur l'iode ne se forme.

Il faut alors reprendre les remarques concernant les thiourées: une complexation de type n- $\sigma$  avec l'iode ne peut se faire que lorsque il y a possibilité d'avoir une fonction thiol SH libre.

Dans le cas de dérivés du 2-mercapto-1,4,5-trialkylimidazole, deux formes tautomères sont envisageables:



Dans le cas des produits synthétisés au cours de cette étude, aucune tautomérie de la forme thiol-thione n'est possible.

Il n'y a donc pas de groupement SH libre, le soufre ayant toujours un doublet de plus basse énergie engagé dans la double liaison avec le cycle. Il est donc impossible d'envisager une activité de complexation vis-à-vis de l'iode moléculaire.

# ETUDE SUR LA PEROXYDASE

Les ATS notamment le 2-mercapto-1-méthylimidazole (MMI) agissent au niveau de la thyroïde. De part leur configuration chimique proche des ATS, les molécules synthétisées au cours de cette étude sont susceptibles d'agir au niveau du métabolisme thyroïdien.

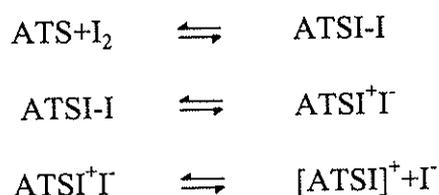
Après avoir déterminé les différents sites d'action des ATS et décrit leur mécanisme d'action, nous effectuerons des tests *in vitro* mis au point au laboratoire permettant de déterminer la concentration de molécules entraînant une inhibition à 50 % de la peroxydase thyroïdienne et donc de connaître leur impact au niveau de la thyroïde.

## 1. LES SITES D'ACTION

D'après les recherches effectués au laboratoire, les molécules ayant un pouvoir électrodonneur peuvent agir à deux niveaux.

### 1.1. Sur l'iode moléculaire

Les produits antithyroïdiens de synthèse peuvent donner avec l'iode un complexe de transfert de charge comme cela a été précédemment démontré. Nous pouvons donc appliquer le processus réactionnel suivant :



ATS-I est le complexe externe,  $[\text{ATSI}]^+$  le complexe interne. La seconde réaction se déroule lentement alors que les autres réactions ont une cinétique rapide.

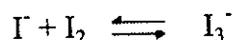
En s'inspirant de ces réactions, nous sommes en mesure d'envisager la dualité d'actions qui se déroulent successivement :

- **Premier temps :**

Nous assisterions à la formation d'un complexe externe ATS-I entre l'ATS et l'iode au sein de la thyroïde. L'iode se trouvant ainsi complexé, il lui est impossible de se fixer sur les résidus tyrosyls (31) ce qui entraîne donc une inhibition de la synthèse des hormones thyroïdiennes.

- **Deuxième temps:**

Le complexe externe se transformerait progressivement en un complexe interne  $[\text{ATSI}]^+$  selon des réactions du type précédent. Cette transformation entraînerait la libération des  $\Gamma$ . En réagissant avec l'iode moléculaire présent dans la thyroïde, il se formerait alors des ions  $\text{I}_3^-$ .



Les ions  $\text{I}_3^-$  formés ne sont pas capables de se fixer sur les résidus tyrosyls, il y aura donc inhibition de l'iodation des tyrosyls.

Par ces deux processus, l'iode serait détourné de sa voie métabolique normale, stoppant l'halogénéation des tyrosines et donc la synthèse des hormones thyroïdiennes.

### 1.2. Sur la peroxydase thyroïdienne

La peroxydase thyroïdienne intervient dans la synthèse des hormones thyroïdiennes  $\text{T}_3$  et  $\text{T}_4$  à plusieurs niveaux :

- dans le mécanisme d'oxydation des iodures après leur captation par le corps thyroïdien.

- lors du couplage des MIT et des DIT pour former la triiodothyronine ( $T_3$ ) et la tétraiodothyronine ou thyroxine ( $T_4$ ).

### 1.2.1. Propriétés moléculaires de la peroxydase thyroïdienne

L'oxydation des iodures et le couplage des iodotyrosines en iodothyronines sont catalysés par une peroxydase. Cette enzyme joue un rôle fondamental dans l'hormonogénèse thyroïdienne. Son poids moléculaire apprécié par la technique de filtration sur gel de G-2000 est d'environ 103.000. Certains auteurs ont conclu que la peroxydase de thyroïde est une hémoprotéine (32, 33) alors que la nature hémoprotéique n'a pas été définitivement établie.

### 1.2.2. Mécanisme d'action des ATS

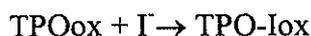
Le mécanisme le plus souvent retenu pour l'action des antithyroïdiens de synthèse (ATS) est leur activité sur la peroxydase thyroïdienne. La peroxydase est caractérisée par une bande d'absorption à 411 nm, c'est la bande de Soret (34, 35, 36, 37). Si, à une préparation de peroxydase dans une solution tampon, on ajoute  $H_2O_2$ , une nouvelle bande d'absorption apparaît, celle de la peroxydase oxydée TPOox.

Si nous ajoutons une solution d'ATS, par exemple de MMI, à la TPOox, une nouvelle bande apparaît, différente de celle de la TPOox ou de la TPO initiale. L'addition de MMI à la TPO initiale n'a aucun effet sur la bande de Soret, ce qui permet de dire que le MMI réagit avec l'hème de la TPOox pour conduire à un dérivé où l'hème est différente de celui de la TPO native et de la TPOox.

L'inactivation de la peroxydase se produit donc lorsque celle-ci a été oxydée par  $H_2O_2$ . Il a été montré que le MMI était oxydé et que le produit d'oxydation du MMI était lié par covalence à l'hème de la peroxydase.

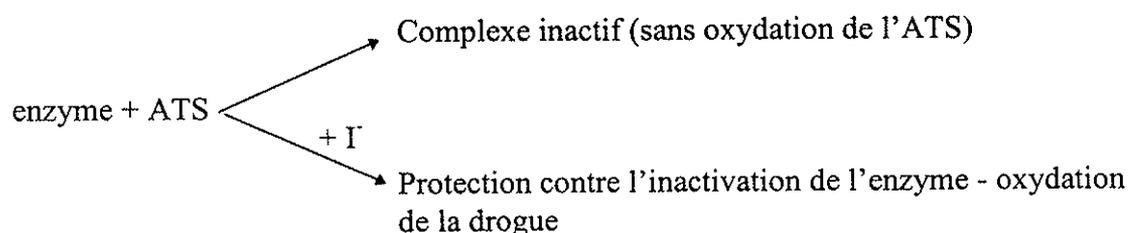
L'action de l'ATS sur la peroxydase est modifiée en présence d'iodures. Les effets du MMI sur la TPO sont inhibés par la solution d'iodure 2 micromolaire. En présence de cette solution d'iodures, la bande de Soret de la TPO native reste inchangée par addition de  $H_2O_2$ .

La TPO, oxydée par  $H_2O_2$ , est immédiatement réduite par  $I^-$  avec apparition d'une forme oxydée de l'iode (soit  $I_2$ , soit  $I^+$ ).



C'est une action dépendante de la concentration en iodures (dose dépendante). COURTIN *et Coll* (38) ont relaté la même observation avec le méthylthiouracile en présence de la lactoperoxydase. En présence d'iodures, le MMI n'est pas lié à la TPO et n'abolit pas l'activité de l'enzyme (le MMI et la TPO sont oxydés par le mélange  $TPO+H_2O_2$ ).

Pour NUNEZ (39), il y a deux mécanismes d'action des ATS selon la présence ou l'absence d'iodures:

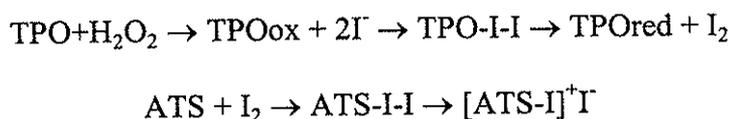


L'ATS étant un composé capable de se lier à l'hème de l'enzyme par covalence et ayant par conséquent, un effet électrodonneur important, il peut, dans cette réaction, réagir sur l'iode oxydé apparu en formant un complexe, ce qui provoque une protection de l'enzyme; l'action

de l'ATS serait "concentrée" sur l'iode, ce qui voudrait dire que l'attraction de l'ATS est plus forte pour I<sub>2</sub> que pour la TPO.

Cela expliquerait pourquoi la protection de l'enzyme est dose dépendante des iodures. Si la concentration des iodures est trop faible, l'ATS libre attaque l'enzyme et l'inactive.

Le mécanisme pourrait être le suivant :



La complexation par l'ATS entraîne un déplacement d'électrons de celui-ci vers l'iode, il s'agit donc d'une oxydation de l'ATS.

NUNEZ pouvait conclure à une double action des iodures (protection de l'inactivation de l'enzyme et oxydation de l'ATS). Si nous admettons le schéma précédent, les deux actions sont la conséquence l'une (protection contre l'inactivation) de l'autre (complexation et oxydation de l'ATS). Nous pouvons dire avec NUNEZ, qu'il y a bien deux mécanismes différents des ATS selon la présence ou l'absence d'iode.

La protection exercée vis-à-vis de la peroxydase permet l'oxydation des iodures et leur transformation en iode moléculaire ainsi que la complexation de cet iode qui ne pourra agir avec les résidus tyrosyls. Le médicament antithyroïdien, s'il est concentré dans les mêmes cellules que le complexe H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/TPO/I<sup>-</sup> et si les iodures et la TPO sont présents dans la membrane apicale, les iodures protégeant l'enzyme de l'inactivation, les ATS ne peuvent pas agir sur cette enzyme. Il n'y a que lorsque l'enzyme se trouve en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (aboutissant à la formation de la TPOox) et de l'ATS, en absence d'iodures que l'ATS inactive l'enzyme.

En conclusion, nous pouvons dire que les produits synthétisés peuvent agir:

- soit sur l'iode oxydé (iode moléculaire vraisemblablement).
- soit sur la peroxydase
- soit sur les deux

## **2. MODELE EXPERIMENTAL**

### **2.1. Introduction**

Le mécanisme d'action des molécules antithyroïdiennes est fréquemment expliqué par l'hypothèse de l'inhibition de la peroxydase thyroïdienne(40). C'est pourquoi nous allons réaliser l'étude des molécules médicamenteuses sur cette enzyme.

L'enzyme de la thyroïde n'étant pas encore obtenue à l'état pur, nous utiliserons la peroxydase de Raifort. En effet, selon les différents auteurs(41), cette enzyme a la même activité que la peroxydase thyroïdienne sur l'oxydation des iodures. Elle peut donc par conséquent servir de modèle.

### **2.2. Principe**

L'activité de la peroxydase de Raifort est déterminée à pH 7 et à une température de 20°C, en mesurant la vitesse de l'oxydation de  $I^-$  en  $I_3^-$ . Cette oxydation est suivie à 353 nm correspondant à l'absorbance de  $I_3^-$ . Elle nécessite  $H_2O_2$ ,  $I^-$ , solution tampon et la peroxydase.

### **2.3. Préparation des réactifs**

#### **2.3.1. Préparation de la solution tampon pH 7**

Nous préparons du tampon phosphate 50 mM pH=7 qui nous servira à mettre l'enzyme en solution et à réaliser les différentes dilutions nécessaires.

Un tampon phosphate est obtenu en mélangeant une solution de phosphate disodique :  $\text{NaHPO}_4$  (solution A) et une solution de phosphate monopotassique :  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (solution B). On désire réaliser un tampon phosphate de concentration 50 mM. Les solutions A et B sont donc préparées à 50 mM.

-Solution A : pour préparer 50 ml d'une solution 50 mM, nous pesons 355 mg de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  que l'on dissout dans 50 ml d'eau.

-Solution B : afin d'obtenir 50 ml d'une solution 50 mM, nous pesons 340 mg de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  que nous dissolvons dans 50 ml d'eau.

Nous mélangeons la solution A et la solution B en quantités nécessaires pour obtenir un pH de 7, déterminé au pH-mètre.

### 2.3.2. Préparation des solutions d'enzymes

Il s'agit de la peroxydase de Raifort.

Nous dissolvons 10 mg d'enzyme dans 50 ml de tampon phosphate.

### 2.3.3. Préparation de la solution d'iodure de potassium

Nous préparons 50 ml d'une solution à  $10^{-1}$  M de KI.

### 2.3.4. Mise au point des paramètres

A partir des différentes manipulations, nous avons déterminé les quantités de peroxydase, d' $\text{H}_2\text{O}_2$  et de KI à incorporer qui sont :

- 100  $\mu\text{l}$  peroxydase
- 400  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  à  $5 \cdot 10^{-3}$  M
- 400  $\mu\text{l}$  KI à  $10^{-1}$  M

Dans la cuve de référence, nous introduisons 2,1 ml de la solution tampon phosphate. Dans la cuve d'essai, c'est en fonction de la quantité de produit introduit (10 à 150  $\mu\text{l}$ ) que nous déterminons le volume de la solution tampon phosphate pour obtenir un volume final de 3 ml.

#### 2.3.5. Préparation des solutions des produits

Les produits synthétisés se sont avérés insolubles dans la solution tampon, le solvant utilisé pour la mise en solution et donc l'étude des molécules synthétisées est le diméthylsulfoxyde (DMSO). Son excellent pouvoir solvant permet d'utiliser une quantité minimum et des concentrations très faibles sans inconvénient pour la lecture des résultats. Cependant, le DMSO est capable d'inhiber la peroxydase. Les quantités introduites dans le milieu réactionnel devront être égales ou inférieures à 150  $\mu\text{l}$ .

#### 2.4. Résultats

Pour chaque composé et à des concentrations différentes, nous réalisons l'évolution de l'absorbance de  $\text{I}_3^-$  en fonction du temps, puis nous traçons la courbe représentant l'activité inhibitrice sur la peroxydase en fonction de la concentration de la substance introduite dans le milieu réactionnel.

Le point de la courbe pour lequel nous observons 50 % de l'inhibition de l'activité enzymatique permet de calculer la concentration inhibitrice 50 ( $\text{CI}_{50}$ ).

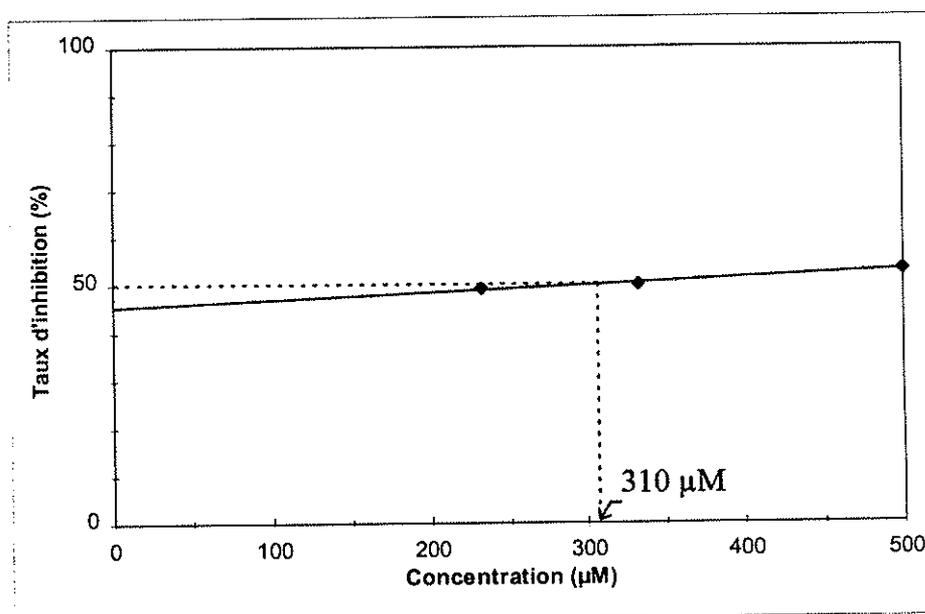
#### 2.5. Discussion

Les études sur la peroxydase ont été effectuées avec les 3 composés synthétisés précédemment. Ces produits interviennent à différents degrés sur la fonction thyroïdienne.

Dans le cas du 4-éthyl-3-mercaptop-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole, les résultats obtenus figurent dans le tableau suivant :

Concentration ( $\mu\text{M}$ )	500	333	233
Densité optique	0,242	0,259	0,262

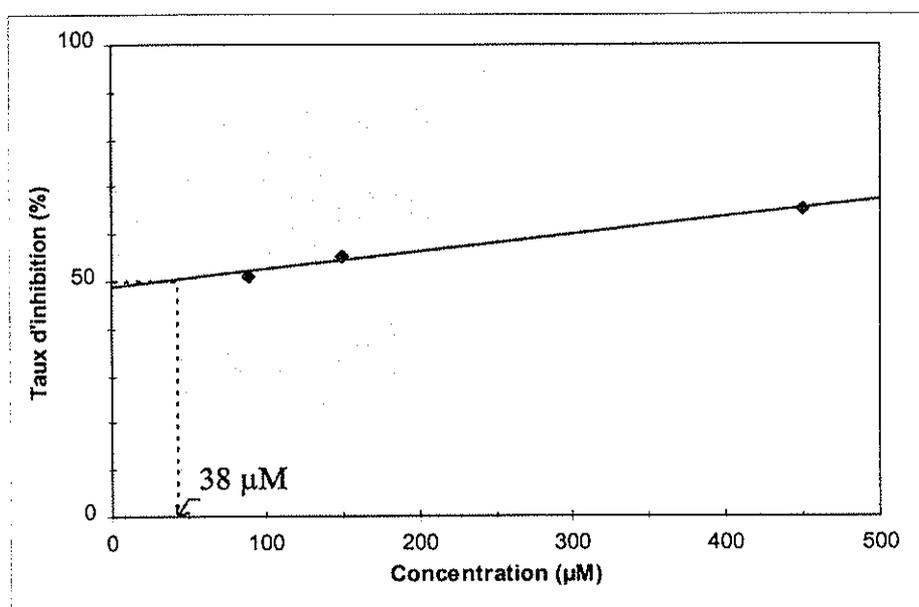
Ces valeurs permettent de déterminer la concentration de produit inhibant 50 % de la peroxydase, la concentration inhibitrice 50 ( $CI_{50}$ ), elle est de 310  $\mu\text{M}$ . La molécule agit donc sur la peroxydase à des valeurs assez faibles.



#### Droite de détermination de la $CI_{50}$ .

En ce qui concerne le 4-butyl-3-mercaptop-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole, nous obtenons également une inhibition de la peroxydase :

Concentration ( $\mu\text{M}$ )	450	150	90
Densité optique	0,191	0,216	0,223



#### Droite de détermination de la $CI_{50}$ .

La  $CI_{50}$  dans le cas du butyle est de  $38 \mu\text{M}$ . Cette molécule est donc plus active que la précédente. Cela voudrait dire que l'encombrement stérique dû à l'allongement du substituant alkyle ne gêne pas l'inhibition, au contraire, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'elle la favorise. Cependant, afin de la confirmer, il serait souhaitable de renouveler l'expérimentation sur d'autres dérivés avec un allongement du substituant alkyle porté par l'azote en 4 plus significatif qui permettrait de déterminer une relation entre l'allongement de la chaîne et l'action inhibitrice de la molécule.

L'expérimentation effectuée avec le 5-méthyl-3-mercapto-2,4-diphényl-1,2,4-triazole ne donne pas de résultats probants. Nous pouvons émettre l'hypothèse que le cycle entraîne un encombrement stérique très important qui empêche la molécule d'agir sur la peroxydase et de l'inhiber. Cette hypothèse semble la plus probable.

Il faudrait à nouveau réaliser l'expérimentation avec d'autres cycles afin de vérifier si l'absence de résultats est reproductible.

## CONCLUSION

Nous avons, au cours de cette étude, adapté un protocole de synthèse déjà connu pour la synthèse de nouvelles molécules. Le contrôle des produits synthétisés permet d'identifier les molécules et montre un bon déroulement de ces synthèses. Il serait toutefois utile d'améliorer le protocole afin d'augmenter les rendements.

Notre étude montre que les dérivés du 3-mercapto-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole sont capables du fait de leur structure proche de celle des ATS d'interagir avec le métabolisme thyroïdien, celui-ci jouant un rôle fondamental dans le bon fonctionnement de l'organisme.

L'absence de forme tautomère chez les molécules que nous avons synthétisées ne permet pas de réaliser la complexation de l'iode par transfert de charge et donc ne permet pas de montrer une action sur l'iode.

En revanche, nous avons pu démontrer pour les deux molécules comportant une chaîne linéaire portée par l'azote en 4 l'existence d'une activité inhibitrice sur la peroxydase de Raifort et par homologie d'action, nous pouvons supposer qu'elles inhibent la TPO réduisant la synthèse de T3 et T4.

Cette inhibition n'est pas retrouvée sur la molécule étudiée porteuse d'un radical phényl en 4.

L'étude ayant été effectuée sur un nombre faible de molécules, il serait nécessaire de synthétiser un nombre de molécules beaucoup plus grand afin de pouvoir démontrer d'une part l'influence de la longueur de la chaîne sur l'action inhibitrice de la molécule et d'autre part l'absence d'activité inhibitrice lorsqu'il s'agit d'un cycle.

Cette étude devrait également être complétée par une étude *in vivo* effectuée sur la rat selon un protocole déjà connu afin de confirmer les résultats.

## BIBLIOGRAPHIE

<b>PUBLICATIONS</b>
---------------------

**1 - LEE K-Y., CHAPMAN L., CODURN M.**

3-Nitro-1,2,4-triazol-5-one, a less sensitive explosive.  
J. Energ. Mat., 1987, 5, 1, p27-33.

**2 - BOZO E., SZILAGYI G., JANAKY J.**

New 1,5-diaryl-3-(substituted amino)-1*H*-1,2,4-triazoles as antiinflammatory agents.  
Archiv. des Pharmazie, 1989, 322, 10, p583-587.

**3 - VEMISHETTI P., LEIBY R., ABUSHANAB E., PANZICA R.**

A practical synthesis of Ethyl-1,2,4-Triazole-3-Carboxylate and its use in the formation of chiral 1',2'-seco. Nucleosides of ribavirin.  
J. Heteroc. Chem., 1988, 25, 2, p651-654.

**4 - EL EFRIT M.L., ZARGUIL A., BACCAR B.**

Action des hydrazines sur les N-(N-phényl-carbothioamido) imidates : synthèse de 3-amido-1,2,4-triazoles.  
J. Soc. Chim. Tun., 1993, 3, 6, p361-366.

**5 - KANE J., DUDLEY M., SORENSEN S., MILLER F.**

2,4-Dihydro-3*H*-1,2,4-triazole-3-thiones as potential antidepressant agents.  
J. Med. Chem., 1988, 31, 6, p1253-1258.

**6 - SHAH M-H., MHASALKAR M-Y., VARAYA N.A., BELLARE R.A.**

Ind. J. Chem., 1967, 5, p391-393.

**7 - MUHI-ELDEEN Z., AL-OBAIDI K., NADIR M., ROCHE V.F.**

Synthesis and antimicrobial activity of Ni (II), Co(II), Zn(II) and Cd(II) complexes of 4-substituted-3-mercapto-5-phenyl-4*H*-1,2,4-triazoles.  
Eur. J. Med. Chem., 1992, 27, p101-106.

**8 - MULLIKEN R.S.**

Molecular compounds and their spectra.  
J. Am. Chem. Soc., 1952, 74, p811-824.

**9 - EVANS D.F.**

Molecular association of oxygen and aromatic substances.  
J. Chem. Soc., 1953, p345-347.

**10 - EBEZ W.F.**

The chemistry of petroleum derivatives.  
Chemical Catalog Co., New-York, p142.

**11 - WINSTEIN S., LUCAS H.J.**

The coordination of silver ion with insaturated compounds.  
J. Am. Chem. Soc., 1938, 60, p836-847.

**12 - RABY C., BUXERAUD J.**

Etude spectroscopique des complexes par transfert de charge : monochlorure d'iodo-  
isothiocyanate.  
C.R. Acad. Sc. Paris, Série C, 1978, 286, p282-284

**13 - Mc CONNELL H., HAM J.S., PLATT J.R.**

Regularities in the spectra of molecular complexes.  
J. Chem. Phys., 1953, 21, p66-70.

**14 - HASTINGS S.H., FRANKLIN J.L., SHILLER J.C., MATSEN F.A.**

Molecular complexes involving iodine.  
J. Am. Chem. Soc., 1953, 75, p2900-2905.

**15 - BRIEGLEB G., CZEKALLA J.**

Die Bestimmung von Ionisierungsemergien aus den Spektren von  
Elektronenübergangskomplexen.  
Z. Elektrochem., 1959, 63, p6-12.

**16 - BECKER R.S., CHEN E.**

Extension of electron affinities and ionization potentials of aromatic hydrocarbones.  
J. Chem. Phys., 1966, 45, p2403-2410.

**17 - LIPTAY W.**

Über die Bestimmung von Komplex. Gleichgewichtskonstanten aus Spektrophotometrischen  
Absorptions-messungen.  
Z. Elektrochem., 1961, 65, p375-383.

**18 - BUXERAUD J., ABSIL A.C., RABY C.**

Etude spectroscopique des complexes moléculaires iodés obtenus avec la mercapto-2-  
thiazoline. Hypothèse concernant le mode d'action des antithyroïdiens de synthèse.  
Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1983, 122, p71-78.

**19 - RABY C., BUXERAUD J.**

Antithyroïdiens : relation structure activité.  
I - Formation de complexes moléculaires iodés.  
Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther., 1980, 15, 5, p425-430.

**20 - JOB P.**

Recherches sur la formation de complexes minéraux en solution et sur leur stabilité.  
Ann. Chim., 1928, 2, p113-203.

**21 - BUXERAUD J., ABSIL A.C., CLAUDE J., RABY C., CATANZANO G., BECK C.**

Antithyroïdiens : relation structure activité.

II - Interprétation du mécanisme d'action des ATS par complexation de transfert de charge.

Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther., 1985, 20, 1, p43-51.

**22 - AUGDAHL E., KLABOE P.**

Spectroscopic studies of charge transfer complexes.

XII - Dimethylcyanamide and iodine, iodine monochloride and iodine monobromide.

Acta. Chem. Scand., 1965, 19, p807-816.

**23 - RABY C., BUXERAUD J.**

Intéractions moléculaires entre les isothiocyanates et les halogènes. Complexes par transfert de charge

III - Méthylisothiocyanate et iode, monobromure d'iode et monochlorure d'iode.

Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1977, 166, p47-156.

**24 - ANDREWS L.J., KEEFER R.M.**

Polymethylbenzene complexes of iodine and iodine monochloride.

J. Amer. Chem. Soc., 1952, 74, p4500-4503.

**25 - KLABOE P.**

Spectroscopic studies of charge transfer complexes.

IV - Benzonitrile and iodine, bromide, iodine monochromide and iodine monobromide.

J. Amer. Chem. Soc., 1962, 84, p3458-3460.

**26 - AUGDAHL E., KLABOE P.**

Spectroscopic studies of charge transfert complexes.

IV - Nitriles and iodine monochloride.

J. Amer. Chem. Soc., 1962, 84, p3458-3460.

**27 - KLABOE P.**

Spectroscopic studies of charge transfert complexes.

VII - Acrylonitrile and iodine, bromide, iodine monochloride and iodine monobromide.

Acta. Chem. Scand., 1963, 17, p1179-1180.

**28 - LANG R.P.**

Molecular complexes and their spectra.

XIV - iodine complexes with thiourea and thiocetamide.

J. Amer. Chem. Soc., 1962, 84, p1185-1192.

**29 - LANG R.P.**

Molecular complexes of iodine with tetramethylurea and tetramethylthiourea.

J. Phys. Chem., 1968, 72, p2129-2135.

**30 - BENESI H.A., HILDEBRAUND J.H.**

A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons.  
J. Am. Chem. Soc., 1949, 71, p2703-2707.

**31 - SOUFIR J.C.**

Structure et fonction de la thyroïde normale : Biochimie thyroïdienne.  
Cahiers intégrés de med., n°15, 10 Mars 1971, p14-18.

**32 - DEME D., POMMIER J., NUNEZ J.**

Specificity of thyroid hormone synthesis. The role of thyroid peroxidase.  
Biochem. Biophys. Acta., 1978, 540, p73-82.

**33 - NUNEZ J., POMMIER J., DEME D., VIRION A., MICHOT J.L., COURTIN F.**

Acquisitions récentes sur la peroxydase thyroïdienne.  
Ann. Endocr., 1981, 48, p439-445.

**34 - MAALOOF F., SMITH S., SOODAK M.**

The mechanism of action of the thiocarbamide-type antithyroid drugs in inhibiting iodination in thyroid tissue.  
Mech. React. Sulfur Compounds, 1962, 4, p61-68.

**35 - MORRIS D.R., HAGER P.**

Mechanism of the inhibition of enzymatic halogenation by antithyroid agents.  
J. Biol. Chem., 1966, 241, p3582-3589.

**36 - TAUROG A.**

The mechanism of action of the thioureyline antithyroid drugs.  
Endocrinology, 1976, 98, p1031-1046.

**37 - NAGASHIMA T., TAUROG A., RIESCO G.**

Mechanism of action of thioureyline antithyroid drugs : factors affecting intrathyroidal metabolism of propylthiouracil and methimazole in rat.  
Endocrinology, 1978, 103, p2187-2197.

**38 - COURTIN F., DEME D., VIRION A., MICHOLT J.L., POMMIER J., NUNEZ J.**

The role of lactoperoxidase-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> compounds in the catalysis of thyroglobulin iodination and thyroid hormone synthesis.  
Eur. J. Biochem., 1982, 124, p603-609.

**39 - NUNEZ J.**

Iodination and thyroid hormones synthesis.  
The thyroid gland.  
Visscher édit., Raven Press New York, 1980, p39-59.

**40 - TAUROG A., DORRIS M.L., LAMAS L.**

Comparison of lactoperoxidase and thyroid peroxidase catalysed iodination and coupling.  
Endocrinology, 1974, 94, p1286-1294.

**41 - DEME D., VIRION A., MICHOT J.L., POMMIER J.**

Thyroid hormone synthesis and iodination related to the peroxidase localisation of oxidizing equivalents : studies with cytochrome C peroxidase and horseradish peroxidase.  
Arch. Biochem. Biophys., 1985, 236, p559-566.

**OUVRAGES CONSULTÉS****F.BERTHEZENE, C. GHARIB, J. ORGIAZZI.**

Physiologie humaine : le système endocrine. Ed. Simep. 1979, 238p.

**J. HAZARD, L. PERLEMUTER.**

Endocrinologie Abrégés. Ed. Masson. 1983, 547p.

**H. ELMALEH.**

Glandes endocrines et régulation hormonale. Ed. Dunod. 1969, 265p.

**R. PANICO, J-C. RICHER, J. RIGAUDY.**

Nomenclature et terminologie en chimie organique. Classes fonctionnelles. Stéréochimie.  
Techniques de l'ingénieur. 1996, 95p.

**R. PANICO, J-C. RICHER.**

Nomenclature des composés organiques. UICPA. Ed. Masson. 1994, 211p.

**J-F. LAGORCE.**

Synthèse et évaluation des dérivés du triazole et de la thiazoline. Faculté de pharmacie de Limoges. Thèse de doctorat. 1989, 516p.

**J. FATIMI.**

Synthèse et évaluation pharmacochimique de dérivés du 1,4,5-trialkyl-2-mercaptoimidazole.  
Faculté de pharmacie de Limoges. Thèse de doctorat. 1993, 248p.

**ROSEN IRVING B., MD, FRCS(C),FACS,**

Associate professeur Department of Surgery, Université de Toronto.  
Serveur de La Fondation canadienne de la Thyroïde.

**PEYRIN J.O., VANDROUX J.C..**

Atlas des glandes endocrines.  
Serveur de l'université de Saint-Etienne.

<b>ILLUSTRATIONS</b>
----------------------

Figures 1, 5, 6 :

**ROSEN IRVING B., MD, FRCS(C), FACS,**

Associate professeur Department of Surgery, Université de Toronto.  
Serveur de la Fondation canadienne de la Thyroïde.

Figures 2, 3 :

**BERTHEZENE F., GHARIB C., ORGIAZZI J.**

Physiologie humaine : le système endocrine. Ed. Simep. 1979, p125 et 127.

Figure 4 :

**ELMALEH H.**

Glandes endocrines et régulation hormonale. Ed. Dunod. 1969, p196.

## TABLE DES MATIERES

### INTRODUCTION

P 10

### PREMIERE PARTIE

1. PHYSIOLOGIE .....	14
1.1. Follicule thyroïdien .....	14
1.2. Cellules de la thyroïde.....	15
1.2.1. Cellules folliculaires ou thyrocytes .....	15
1.2.2. Cellules parafolliculaires ou cellules C.....	16
2. SYNTHÈSE DES HORMONES THYROIDIENNES .....	16
2.1. Origine de l'iode .....	17
2.2. La thyroglobuline .....	18
2.3. Synthèse des hormones thyroïdiennes .....	18
2.3.1. Oxydation des iodures.....	18
2.3.2. Iodation des résidus tyrosyls de la Thyroglobuline.....	19
2.3.3. Couplage des iodotyrosines : formation des iodothyronines ou hormones thyroïdiennes.....	20
2.3.4. Libération des hormones thyroïdiennes .....	22
3. ACTION DES HORMONES THYROIDIENNES ET PATHOLOGIES .....	24
3.1. Action physiologique des hormones thyroïdiennes .....	24

3.1.1. Effet sur le développement .....	24
3.1.2. Effet sur les mitochondries .....	24
3.1.3. Effet sur la calorigénèse .....	24
3.1.4. Effet sur les métabolismes .....	25
3.1.5. Effet sur le système musculaire squelettique .....	25
3.1.6. Effet sur le système cardiovasculaire .....	26
3.1.7. Effet sur le système hematopoiétique.....	26
3.1.8. Effet sur le système nerveux .....	26
3.2. Pathologies thyroïdiennes .....	26
3.2.1. Hypothyroïdies.....	27
3.2.2. Hyperthyroïdies.....	29

## **DEUXIEME PARTIE**

1. REVUE DES DIFFERENTES SYNTHESSES DE CYCLE TRIAZOLE.....	33
1.1. Synthèse de 3-nitro-1,2,4-triazol-5-one .....	33
1.2. Synthèse de 1,5-diaryl-3-amino-1H-1,2,4-triazole .....	34
1.3. Cyclisation de l'éthyl- $\beta$ -formyloxalamidrazone.....	35
1.4. Synthèse de 3-amino-1,2,4-triazole.....	35
1.5. Synthèse de 5-aryl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione.....	36
2. SYNTHESE DE DERIVES DU 3-MERCAPTO-5-METHYL-2-PHENYL-1,2,4- TRIAZOLE.....	37
2.1. Première étape.....	38
2.1.1. Principe de la réaction.....	38

2.1.2. Mécanisme réactionnel.....	39
2.2. Deuxième étape.....	40
2.2.1. Principe de la réaction.....	40
2.2.2. Mécanisme réactionnel.....	40
2.3. Troisième étape.....	42
2.3.1. Principe de la réaction.....	42
2.3.2. Mécanisme réactionnel.....	43
3. MODES OPERATOIRES.....	44
3.1. Schéma de l'appareillage.....	44
3.2. Synthèse de 3-mercapto-5-méthyl-2,4-diphényl-1,2,4-triazole.....	45
3.2.1. Première étape.....	45
3.2.2. Deuxième étape.....	46
3.2.3. Troisième étape.....	47
3.3. Synthèse de 4-éthyl-3-mercapto-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole.....	48
3.3.1. Deuxième étape.....	49
3.3.2. Troisième étape.....	50
3.4. Synthèse de 4-butyl-3-mercapto-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole.....	50
3.4.1. Deuxième étape.....	50
3.4.2. Troisième étape.....	51
4. CONTROLE DES PRODUITS SYNTHETISES.....	52
4.1. La spectrométrie infrarouge.....	52
4.2. La résonance magnétique nucléaire.....	53
4.3. Résultats.....	54

### TROISIEME PARTIE

1. RAPPEL SUR L'ETUDE SPECTROPHOTOMETRIQUE DES COMPLEXES DU TYPE TRANSFERT DE CHARGE .....	58
2. METHODES D'ETUDE SPECTROPHOTOMETRIQUE .....	60
2.1. Spectrophotométrie dans la région du visible .....	61
2.2. Spectrophotométrie dans la région de l'ultraviolet .....	62
2.3. Stoechiométrie des complexes .....	63
3. MATERIEL UTILISE ET PROTOCOLES .....	63
3.1. Produits chimiques .....	63
3.1.1. L'halogène accepteur .....	63
3.1.2. Les molécules "donneurs" .....	64
3.2. Les solvants .....	64
3.3. Le matériel .....	64
3.4. Spectrophotomètres .....	65
3.5. Méthodes expérimentales et protocoles .....	65
3.6. Solutions de complexes .....	66
4. CALCUL DES CONSTANTES .....	67
5. STABILITE ET EVOLUTION DES COMPLEXES .....	68
5.1. Influence de la concentration des réactifs .....	68
5.2. Influence du temps .....	69
5.3. Influence de la température .....	70
6. RESULTATS .....	70

**QUATRIEME PARTIE**

1. LES SITES D'ACTION .....	74
1.1. Sur l'iode moléculaire.....	74
1.2. Sur la peroxydase thyroïdienne.....	75
1.2.1. Propriétés moléculaires de la peroxydase thyroïdiennes.....	76
1.2.2. Mécanisme d'action des ATS .....	76
2. MODELE EXPERIMENTAL .....	79
2.1. Introduction.....	79
2.2. Principe .....	79
2.3. Préparation des réactifs .....	79
2.3.1. Préparation de la solution tampon pH 7 .....	79
2.3.2. Préparation des solutions d'enzymes.....	80
2.3.3. Préparation de la solution d'iodure de potassium.....	80
2.3.4. Mise au point des paramètres.....	80
2.3.6. Préparation des solutions des produits .....	81
2.4. Résultats .....	81
2.5. Discussion .....	81

**CONCLUSION**

P 84

**BIBLIOGRAPHIE**

P 86

BON A IMPRIMER N° 25

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

JAMES Marie-Emmanuelle - Synthèse et évaluation de l'activité antithyroïdienne de dérivés du 3-mercapto-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole. - 97 p.

Th. Pharm. : Limoges, 1998.

## RESUME

De nombreuses molécules interfèrent avec le métabolisme thyroïdien qui joue un rôle fondamental dans le fonctionnement global de l'organisme. Une première partie est consacrée à la physiologie de la thyroïde et la synthèse des hormones thyroïdiennes, ainsi qu'aux différentes pathologies dues au dysfonctionnement de cette glande.

Après l'étude bibliographique des procédés de synthèse déjà existants, trois composés dérivés du 3-mercapto-5-méthyl-2-phényl-1,2,4-triazole sont ensuite synthétisés. Leurs caractères physico-chimiques sont évalués par IR et RMN.

Comme les antithyroïdiens de synthèse, ces molécules sont construites autour d'un cycle azoté. Nous avons déterminé leur impact sur la synthèse des hormones T3 et T4, d'abord par l'étude de la complexation de l'iode moléculaire par transfert de charge, puis par la recherche d'une éventuelle action inhibitrice sur la peroxydase thyroïdienne.

## MOTS CLES

Thyroïde  
Triazole  
Complexation  
Peroxydase

## JURY

Président : Monsieur J.F. LAGORCE, Maître de conférences.  
Juges : Mademoiselle D. CLEDAT, Maître de conférences.  
Mademoiselle M.L. BEYSSEN, Docteur en pharmacie.