

Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie

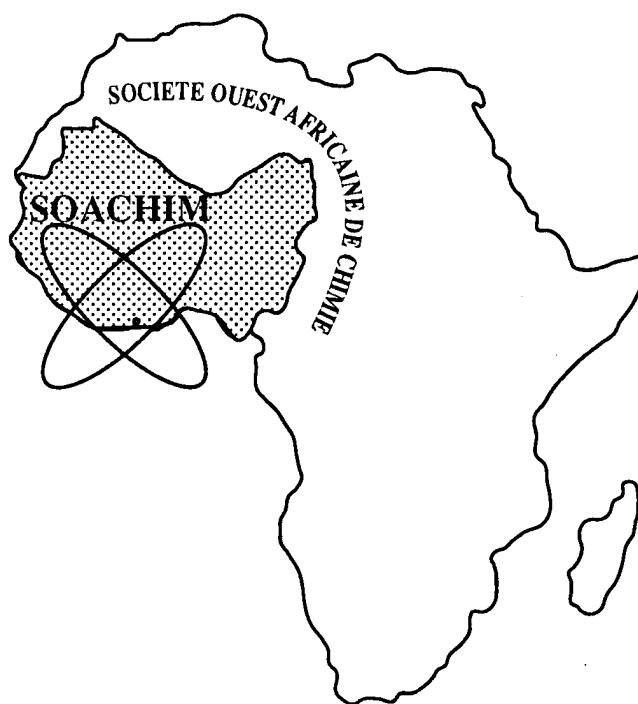
J. Soc. Ouest-Afr. Chim.

Code Chemical Abstracts : JSOCF2

Cote INIST (CNRS France) : <27680>

ISSN 0796-6687

16^{ème} Année, Juin 2011, N° 031



Site Web: <http://www.soachim.org>

Hémi-synthèse et activités antiparasitaires sur *Trypanosoma brucei brucei* de thiosemicarbazones du citral dans l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* du Bénin

Amoussatou Sakirigui¹, Cosme Kossouh¹, Fernand Gbaguidi¹, Salomé Kpoviessi¹,

Raymond H. Fatondji¹, Jacques Poupaert² et Georges C. Accrombessi¹.

¹Laboratoire de Chimie Organique Physique et de Synthèse (LaCOPS). Faculté des Sciences et Techniques (FAST) Université d'Abomey-Calavi (UAC), BP : 526 Cotonou, Bénin.

²Laboratoire de Chimie thérapeutique, Ecole de Pharmacie de l'Université Catholique de Louvain UCL 73 40B-1200 Bruxelles, Belgique.

(Reçu le 27/03/2010 – Accepté après corrections le 10/04/2011)

Résumé : L'extraction et l'analyse GC/FID et GC/MS a montré que le citral (néral + géraniol) est le composé majoritaire de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* du Bénin. Ce composé à fonction aldéhyde a servi de cible pour l'hémi-synthèse *in situ* de la semicarbazone et de thiosemicarbazones substituées. Leurs structures ont été confirmées par les analyses spectrométriques IR, RMN ¹H et ¹³C. Leurs activités antiparasitaires ont été évaluées sur *Trypanosoma brucei brucei* par la détermination de leurs demi-concentrations inhibitrices (IC₅₀). Parmi elles, la 4-phényl-3-thiosemicarbazone citral (IC₅₀ = 1.96 µM) et la thiosemicarbazone citral (IC₅₀ = 7,6µM) ont révélé une forte activité trypanocide. La 2-méthyl-3-thiosemicarbazone citral a montré une activité modérée. La 4-méthyl-3-thiosemicarbazone citral (IC₅₀ = 172,84 µM) s'est révélée peu active. Quant à la semicarbazone citral (IC₅₀ = 234,64 µM), son activité est encore plus faible.

Mots clés : *Cymbopogon citratus*, citral, thiosemicarbazones, analyses spectrométriques, activités antiparasitaires, *Trypanosoma brucei brucei*.

Hemisynthesis and antiparasitic activities on *Trypanosoma brucei brucei* of thiosemicarbazones of the citral in the essential oil of *Cymbopogon citratus* of Benin

Summary : Extraction and analysis GC / FID and GC / MS showed that citral (neral + geraniol) is the majority compound of the essential oil of *Cymbopogon citratus* of Benin. This aldehyde compound was used as target for the hemi-synthesis *in situ* of the semicarbazone and substituted thiosemicarbazones. Their structures were confirmed by spectrometric analysis IR, ¹H and ¹³C NMR. Their antiparasitic activities have been evaluated on *Trypanosoma brucei brucei* by determining their half-inhibitory concentrations (IC₅₀). Among them, citral 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (IC₅₀ = 1.96 µM) and citral thiosemicarbazone (IC₅₀ = 7.6 µM) showed a strong trypanocidal activity. Citral 2-methyl-3-thiosemicarbazone showed moderate activity. Citral 4-methyl-3-thiosemicarbazone (IC₅₀ = 172.84 µM) has been very active. As for citral semicarbazone (IC₅₀ = 234.64 µM), its activity is even lower.

Keywords: *Cymbopogon citratus*, citral, thiosemicarbazones, spectrometric analysis, antiparasitic activities, *Trypanosoma brucei brucei*.

* Auteur correspondant : coffiaccrombessi@yahoo.fr ; Tél : 0022997485047 ; BP : 04-220
Cadjèhoun Cotonou

1. Introduction

Les huiles essentielles sont des liquides volatils extraits des plantes aromatiques. Elles possèdent plusieurs propriétés pharmacologiques ^[1,2]. En particulier celle de *Cymbopogon citratus* contenant majoritairement du citral (néral + géraniol) a révélé des activités antimicrobiennes ^[3], antibactériennes ^[4], antifongiques ^[5] etc.

Il est bien connu que les semicarbazones et thiosemicarbazones ont des activités antivirales ^[6], antibactériennes ^[7], antitrypanosomiennes ^[8], anticonvulsives ^[9], antitumorales^[10] et anticancéreuses ^[11] etc.

La trypanosomiase humaine africaine (THA) ^[12] ou maladie du sommeil est une maladie parasitaire endémique mortelle sévissant dans de nombreux pays de l'Afrique sub-saharienne. L'agent causant cette maladie est un parasite unicellulaire flagellé, *Trypanosoma brucei brucei* (*T.b.b*), transmis par un insecte, la mouche tsé-tsé ^[13].

Récemment, les travaux de Fujii, N. et al. ont rapporté la synthèse et l'évaluation d'une série de thiosemicarbazones comme des inhibiteurs potentiels des protéases de la cystéine intervenant dans la maladie du sommeil. Des dérivés de thiosemicarbazone se sont avérés être des inhibiteurs puissants de la <<cruzain>> et de la <<rhodesain>>, des protéases essentielles dans les cycles biologiques de *Trypanosoma cruzi* et de *Trypanosoma brucei rhodesiense*, les organismes causant la maladie de Chagas et la maladie du sommeil ^[14].

Les activités neurologiques de plusieurs 4-aryl semicarbazones substituées du citral ont été étudiées ^[15]. Des études biologiques sur la thiosemicarbazone du citral commercialisé ont également montré des propriétés inhibitrices de la prolifération des cellules de la leucémie ^[16].

A notre connaissance les activités antitrypanosomiennes des thiosemicarbazones substituées du citral ne sont pas encore connues. Pour certaines, la synthèse et les propriétés spectrométriques n'ont pas encore été décrites dans la littérature. L'hémi-synthèse de thiosemicarbazones effectuée directement dans l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* pourrait permettre de développer un nouvel axe de valorisation de cette huile. Le but de ce travail est donc d'extraire l'huile essentielle, de faire l'hémi-synthèse *in situ* de la semicarbazone et de thiosemicarbazones substituées du citral et d'évaluer leurs activités antiparasitaires sur *Trypanosoma brucei brucei*.

2. Partie expérimentale

2.1. Extraction

Les feuilles fraîches de *Cymbopogon citratus* récoltées le matin à Abomey-Calavi (Bénin) sur les rives du lac Nokoué ont servi de matériel végétal. L'extraction a lieu aussitôt après la récolte. L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger amélioré.

2.2. Instrumentation

L'essence obtenue a été analysée par chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID) et couplée à un spectrographe de masse (SM). Les points de fusion ont été pris avec un appareil de type banc de Köfler. Les spectres IR ont été enregistrés avec un appareil de type Perkin-Elmer FTIR 286. Les spectres RMN ont été enregistrés avec un appareil Brüker 500 MHz pour ¹H et à 100 MHz pour ¹³C dans le CDCl₃. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au TMS pris comme référence interne.

2.3. Analyse des huiles essentielles

2.3.1. Analyse en chromatographie phase gazeuse par détection à ionisation de flamme (CPG-FID)

L'analyse est réalisée sur un FOCUS GC équipé d'une colonne capillaire CP Wax 52 CB (J&W Scientific Column de Agilent Technologies, N° US1670726A, USA) de dimension 15 x 0,25 mm avec 0,25 µm de diamètre interne. Les échantillons sont injectés en mode splitless (volume injecté 1µl, température à l'entrée : 230°C, débit du split : 10ml/min, temps du splitless : 0,80 min). La température du four est programmée de la façon suivante : température initiale 50°C suivie d'un gradient de 6°C/min jusqu'à 250°C puis d'un palier isotherme de 250°C pendant 5min. L'hélium est utilisé comme gaz vecteur à un débit constant de 1,2ml/min. La température du détecteur FID est de 260°C. Les données sont enregistrées et traitées avec le logiciel ChromCard.

2.3.2. Analyse CPG couplée avec la spectrométrie de masse (CPG-SM)

Dans le but de confirmer la spécificité et la sélectivité de la méthode CPG, des analyses CPG-SM ont été réalisées sur un TRACE GC 2000 séries (ThermoQuest, Rodano, Italy), équipé d'un autosampler AS2000 (ThermoQuest. Le système GC est couplé à un spectromètre de masse de type TRACE SM TheroQuest) opérant en mode d'impact électronique. La même colonne capillaire (DB-XLB) est utilisée avec les mêmes conditions d'injection, de débit de l'hélium et de programmation de la température du four. La température de couplage du GC est de 260°C. L'énergie des électrons est de 70 eV et la température de couplage du GC est de 260°C. Les données sont enregistrées et analysées avec le logiciel Xcalibur 1.1 (ThermoQuest). Les spectres de masse des pics dans les huiles essentielles sont analysés et comparés aux composés de référence.

2.3.3. Identification des composés

Les composés sont identifiés par comparaison de leur temps de rétention chromatographique et leurs spectres de masse avec ceux des composés de référence.

2.4. Protocole de synthèse de la semicarbazone et des thiosemicarbazones du citral

La semicarbazone et les thiosemicarbazones ont été synthétisées en une seule étape. L'huile a été considérée comme étant 100% de citral. La réaction est équimolaire. Mais cette huile ne contenant que 70,13% de citral, il y a donc un léger excès de réactif (semicarbazide ou thiosemicarbazide).

2.4.1. Semicarbazone du citral 1

A un mélange sous agitation de 0,001 mol d'huile (152 mg) dissoute dans 1,5 ml d'éthanol à 95° et 0,001 mol de chlorhydrate de semicarbazide (209 mg) dissous dans 1 ml d'eau, on ajoute deux gouttes de triéthylamine. Après l'apparition des cristaux au bout d'une minute on poursuit l'agitation pendant une heure. Le précipité est ensuite filtré, lavé à l'eau distillée, séché, pesé puis recristallisé dans l'éthanol.

2.4.2. Thiosemicarbazone du citral 2

On prépare un mélange de 0,001 mol d'huile (152 mg) dissoute dans 1,5 ml d'éthanol à 95° et 0,001 mol de thiosemicarbazide (225 mg) dissous dans 2 ml d'acide chlorhydrique 1N. Ce mélange est maintenu sous agitation jusqu'à l'obtention des cristaux de thiosemicarbazone qu'on observe au bout de trois minutes. L'agitation est maintenue pendant encore une heure. Le précipité est ensuite filtré, lavé à l'eau distillée, séché, pesé puis recristallisé dans l'éthanol.

2.4.3. 2-méthyl-3-thiosemicarbazone du citral 3 ; 4-méthyl-3-thiosemicarbazone du citral 4 ; 4-phényl-3-thiosemicarbazone du citral 5

On met sous agitation un mélange de 0,001 mol d'huile (152 mg) dissoute dans 1,5 ml d'éthanol à 95° et de 0,001 mol de thiosemicarbazide substitué dissous dans 2 ml d'acide chlorhydrique 1N. Il se forme une masse pâteuse qui, agitée donne des cristaux. L'agitation est maintenue pendant une heure. Le précipité sera filtré, lavé à l'eau distillée, séché, pesé puis recristallisé dans l'éthanol.

2.5. Matériel et méthode biologique

Le matériel biologique utilisé est constitué de trypanosomes : *Trypanosoma brucei brucei* (Tbb).

Des tests in vitro ont été effectués sur les cellules de trypanosomes suivant le protocole de LILIT «Test d'incubation longue inoculation faible précédemment». Ce protocole a été décrit par Brun et Lun avec modification par Răz et al. ^[19,20].

Les trypanosomes sont dilués jusqu'à la densité cellulaire adéquate. La densité cellulaire est adaptée pour que, après 72 heures d'incubation dans les puits de contrôle, les cellules soient à la fin de la phase de croissance logarithmique (*Trypanosoma brucei rhodesiense*: 4×10^4 tryps/ml, *Trypanosoma brucei brucei*: 5×10^4 tryps/ml). La densité de trypanosomes est ajustée par un appareil de comptage : l'hémocytomètre. Par plaque, 2ml du stock de trypanosomes seront utilisés. 50 µl du milieu à température ambiante sont ajoutés dans chaque puits à l'exception des puits extrêmes et la colonne 11 (colonne 2 à 10 de la rangée B à G). 75 µl de milieu contenant deux fois la plus forte concentration de composés (solution stock II) sont mis dans les puits de la colonne 11 pour être testés (composé N°1 dans les rangées B, C, D et composé N°2 dans les rangées E, F, G).

Trois séries de dilutions sont préparées avec une multipipette (6 canaux sont nécessaires).

25µl des 6 puits de la colonne 11 sont prélevés puis transférés dans la colonne 10. Le mélange est par la suite agité. La dilution de droite à gauche est poursuivie jusqu'à addition de 25µl de la colonne 5 à la colonne 4. Après le mélange, les 25µl restants sont éliminés (volume total dans chaque puits = 50µl à ce stade). Les puits dans les colonnes 2 et 3 servent de puits de contrôle (sans addition de composé). 50µl de suspension de trypanosomes sont ajoutés dans les puits des rangées C, D, E, F des colonnes 2 à 11 ; puis 50µl du milieu sans trypanosomes dans les rangées B et G des mêmes colonnes. Ces puits servent de contrôle à blanc.

Après incubation pendant 72 heures à 37 ° C, avec 5% de CO₂, les plaques sont observées au microscope inversé pour déterminer la CMI (concentration minimale inhibitrice): concentration la plus faible de composés à laquelle aucun trypanosome à morphologie et motilité normales comparativement aux puits de contrôle ne peut être observé. Des informations supplémentaires peuvent être enregistrées telles que l'insolubilité du composé, la contamination microbienne, etc.

Ajouter dans chaque puits 10µl de colorant fluorescent Bleu Alamar qui peut être dilué 1:1 dans une solution tampon saline de phosphate et incubé encore pendant 4 heures à 37 ° C.

Lire la plaque avec un lecteur de plaques de fluorescence à une longueur d'onde d'excitation de 530 nm et une longueur d'onde d'émission de 590 nm. Les données peuvent être transférées dans un programme graphique (Excel) et les valeurs IC₅₀ peuvent être évaluées par interpolation linéaire (modèle de feuille Excel).

3. Résultats et discussions

3.1. Extraction et analyse CPG

3.1.1. Extraction

A partir de 500 g de matériel végétal frais, on a extrait 2,3 g d'huile essentielle soit un rendement de 0,46%. Le rendement en huile essentielle dépend de l'état frais ou sec du matériel végétal. Le matériel frais contenant plus d'eau, sa masse est plus élevée et il conduit donc à un rendement plus faible. Certains auteurs ont rapporté des rendements de 1,02 à 1,5% à partir du matériel sec selon le lieu^[21,22].

3.1.2. Analyse CPG

L'analyse CPG a révélé la présence de (Z)-3,7-diméthyl-2,6-Octadiénal (néral) à 33,49% et de (E)-3,7-diméthyl-2,6-Octadiénal (géranial) à 36,64%. Le pourcentage de citral (néral + géranial) est donc évalué à 70,13%. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature^[23]. On observe également des composés minoritaires tels que : β -pinène, 6-méthyl-5-heptèn-2-one, nérol, acétate de néryle ou de géranyle, 3-méthyl-3-(4-méthyl-3-pentényl)-Oxiranecarboxaldéhyde etc. Le citral possédant la fonction aldéhyde a servi de substrat pour l'hémi-synthèse de la semicarbazone et des thiosemicarbazones.

3.2. Hémi-synthèse

Cinq structures carbazones ont été hémi-synthétisées. Plusieurs lavages et recristallisations des produits de synthèse ont permis d'éliminer : impuretés, semicarbazones et thiosemicarbazones d'autres composés carbonylés minoritaires, autres composés ayant réagi ou non, présents dans l'huile essentielle de départ.

3.3. Propriétés physiques

3.3.1. Caractéristiques Physiques

Les masses obtenues pour les composés **1**, **2**, **3**, **4** et **5** sont respectivement 165 mg, 186 mg, 174 mg, 191 mg et 273 mg. Les rendements et les points de fusion correspondants sont regroupés dans le tableau I. Seul le point de fusion de la thiosemicarbazone est confirmé par les travaux de Tarasconi P.^[16]. La littérature fait peu cas des autres composés.

Tableau I : Propriétés physiques des composés obtenus

Composés	Points de fusion (°C)	Rendement (%) par rapport au citral
1	120	79
2	105	83
3	79	73
4	102	80
5	82	91

3.3.2. Spectrométrie IR

Les bandes de vibration IR sont regroupées dans le **tableau II**.

Ce tableau montre dans la plupart des cas des bandes avec des épaulements. Cela peut faire penser à la présence des deux produits issus des deux isomères du citral (le néral et le géranial).

Les valeurs des fréquences de vibration des produits sont similaires à celles trouvées dans la littérature^[16]. En général, les fréquences de vibration des liaisons N-H du groupe NH₂ sont les plus élevées. Pour chaque groupe NH₂ deux fréquences de vibration sont observées car l'environnement de chaque liaison N-H diffère l'un de l'autre. Dans le cas de la 4-méthyl-3-thiosemicarbazone et de la 4-phényl-3-thiosemicarbazone, la deuxième valeur de NH₂ disparaît parce que l'hydrogène est remplacé par le méthyle ou le phényle. Les fréquences de vibration suivantes sont celles de la liaison N-H secondaire. Elles sont comprises entre 3280 cm⁻¹ et 3165 cm⁻¹.

La substitution de l'hydrogène par le méthyle sur N(11) conduit à l'absence de

Tableau II : Fréquences de vibration de la semicarbazone et des thiosemicarbazones

Attributions	FREQUENCES DE VIBRATION DE LA SEMICARBAZONE ET DES THIOSEMICARBAZONES EN Cm ⁻¹				
	semicarbazone	thiosemicarbazones			
	<u>1</u>	<u>2</u> ^[16]	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
(-NH ₂)	3429	3373; 3271	3427 ; 3251	3424	3418
(NH)	3310	3165	-	3275	3280
(CH ₃)	3177	3028	3129	3151	3158
(CH ₂)	2969 ; 2931	2968 ; 2925	2962 ; 2912	3003 ; 2910	2965 ; 2912
(CN)	1598	1643	1642	1639	1644
(C=C)	1598	1609	1586	1544	1595
(C=S) (déformation)	-	836	857	855	855
C=O)	1661	-	-	-	-

fréquence de vibration chez la 2-méthyl-3-thiosemicarbazone. Les fréquences de vibration des groupes CH₃ sont également présentes et se situent entre 3028 cm⁻¹ et 3158 cm⁻¹. Celles du méthylène présentent chaque fois la valeur de chacun des deux groupes. La fonction carbonyle (C=O) de la semicarbazone indique une fréquence de vibration de 1661 cm⁻¹ qui est absente dans les différentes thiosemicarbazones présentant plutôt au niveau du groupe C=S des fréquences de déformation des thioamides comprises entre 836 cm⁻¹ et 857 cm⁻¹ [16].

3.3.3. Spectrométrie RMN ¹H

Le **tableau III** donne les différents déplacements chimiques en RMN ¹H de la semicarbazone et des thiosemicarbazones du citral.

Le déplacement chimique du proton HN(11) de l'amine secondaire est plus élevé dans tous les cas. Cette valeur se justifie par le fait que l'azote portant cet hydrogène se retrouve entre deux groupes électroattracteurs (C=O, C=S). Comme on peut le prévoir la 2-méthyl-3-thiosemicarbazone n'a pas de déplacement chimique dans cette zone puisque

l'hydrogène est remplacé par le méthyle. Les deux hydrogènes de l'azote terminal (groupe NH₂) indiquent deux différents déplacements chimiques. Ces protons sont donc différents en raison de la différence de leur environnement. Les déplacements chimiques des protons éthyléniques se trouvent entre 5,9 ppm et 4,8 ppm. Ceux des radicaux méthyles ont leur déplacement entre 1,8 ppm et 2,3 ppm. Les groupes méthyles qui substituent les hydrogènes des atomes d'azote sont fortement déblindés et se retrouvent à 3,2 ppm et 3,7 ppm [16].

3.3.4. Spectrométrie RMN ¹³C

Les déplacements chimiques de la semicarbazone et des thiosemicarbazones en spectrométrie RMN ¹³C sont indiqués dans le **tableau IV**.

Le pic correspondant à chaque atome de carbone est souvent dédoublé. Ce qui confirme l'existence de la semicarbazone ou de la thiosemicarbazone de chaque isomère du citral. Les déplacements chimiques des carbones éthyléniques se retrouvent entre 141 et 120 ppm, les méthylènes allyliques de 40 à 30 ppm et les méthyles allyliques de 26 à 17 ppm.

Tableau III : Déplacements chimiques en RMN ¹H de la semicarbazone et des thiosemicarbazones du citral

Attributions	Déplacements chimiques de la semicarbazone et de la thiosemicarbazone en ppm				
	<u>1</u>	<u>2</u> ^[16]	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
N-NH(11) (1H) (s)	9,9	10,4		9,7	10,4
CH(1)=N (1H) (d)	7,7	7,9	7,6	7,8	8
NH ₂ (13) (2ou1H) (s)	5,9	7,1 ; 7,2	7,2 ; 7,6	7,2	9,1
CH(2)=C (1H) (d)	5,9	5,8	5,9	5,8	6,0
CH(6) 	5,2	5,2	5,2	5,1	5,1
CH ₂ (4) (2H) (m)	2,3	2,2	2,2	2,1	2,2
CH ₂ (5) (2H) (t)		1,9	1,9	1,8	1,8
CH ₃ (10) (3H) (d)	1,8	1,6	1,6	1,6	1,6
CH ₃ (8 ; 9) (6H) (s)	1,7	1,5	1,5	1,5	1,5
N-CH ₃ N(11) (s)			3,7	3,2	

H(n) hydrogène N° n ; (s) = singulet, (d) = doublet, (m) = multiplet

Tableau IV: Déplacements chimiques de la semicarbazone et des thiosemicarbazones

Attributions	Déplacements chimiques de la semicarbazone et des thiosemicarbazones en ppm (RMN ¹³ C)				
	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
C(12)=O ou C(12)=S	158,34 ; 158,23	177,53	181,06	177,85	175,09 ; 174,97
C(1)=N	147,17 ; 147,05	151,30 ; 151,23	149,96 ; 149,86	150,17 ; 150,02	151,33 ; 151,22

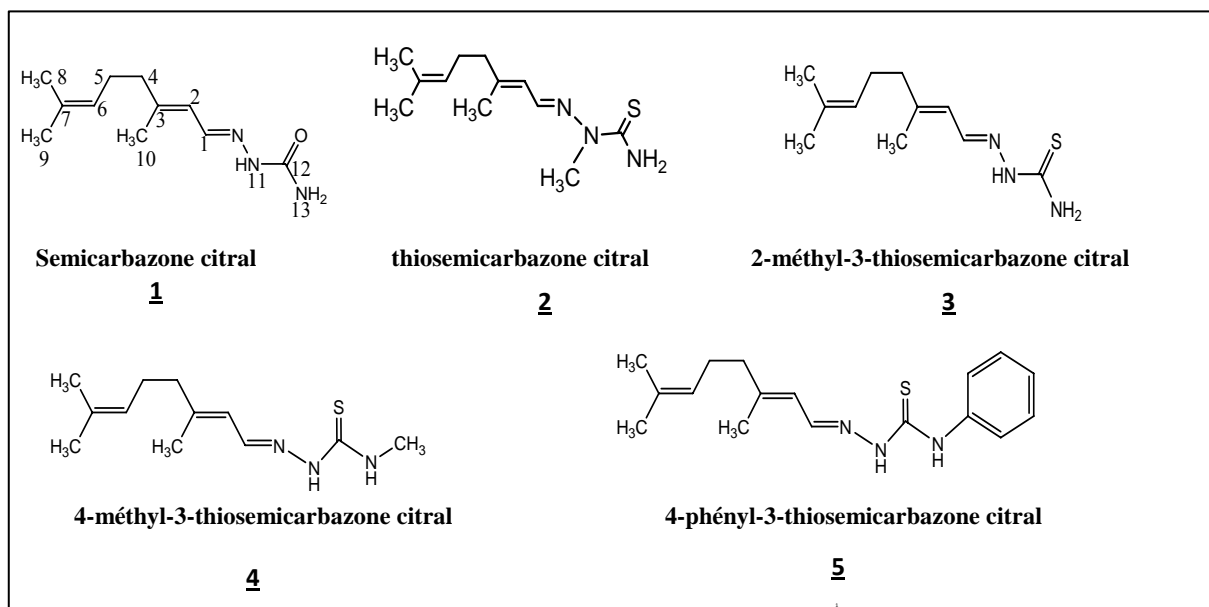


Figure 1 : Structures de la semicarbazone (1) et des thiosemicarbazones substituées (2, 3, 4, 5) du citral.

Les formules développées des différents produits sont illustrées dans la **figure 1**.

Les analyses spectrométriques montrent la présence de la semicarbazone et des thiosemicarbazones des deux isomères (néral et géranial) du citral.

Parmi les carbazones hémi-synthétisées, il semble que c'est pour la première fois que les trois thiosemicarbazones substituées sont préparées.

3.4. Pharmacologie

Les composés ont été testés in vitro pour leurs activités sur *Trypanosoma brucei*. Les valeurs IC₅₀ déterminées dans le présent travail sont indiquées dans le **tableau V**. Dans l'ordre décroissant d'activité, on observe pour le composé **5** IC₅₀ = 1,96 µM, le composé **2** IC₅₀ = 7,61µM, le composé **3** IC₅₀ = 60,87µM, le composé **4** IC₅₀ = 172,84µM et le composé **1** IC₅₀ = 234,64 µM (**tableau V**).

Selon les travaux de Du X. et al. et Fujii N. et al., les thiosemicarbazones sont trypanocides lorsque leurs valeurs IC₅₀ sont inférieures à 10 µM; elles sont considérées comme agents antitrypanosomiens modérés si ces valeurs sont comprises entre 10 et 100 µM, et ont une activité faible ou nulle lorsque leurs IC₅₀ sont supérieures à 100 µM [17,18].

Ces travaux permettent de classer les composés **5** et **2** comme trypanocides, le composé **3** comme agent trypanosomien modéré et les composés **4** et **1** comme

ayant une activité faible ou nulle sur *Trypanosoma brucei*.

Les thiosemicarbazones sont en général plus actives que les semicarbazones [23,24]. Ce que confirment les résultats de nos travaux : la semicarbazone du citral (IC₅₀= 234,64 µM) est nettement moins active que toutes les thiosemicarbazones étudiées.

4. Conclusion

L'extraction des feuilles de *Cymbopogon citratus* a permis d'obtenir l'huile essentielle. L'analyse de cette huile révèle que le citral est le composant majoritaire. Ce citral sans avoir été au préalable isolé est utilisé in situ pour l'hémi-synthèse de la semicarbazone **1**, de la thiosemicarbazone **2**, de la 2-méthyl-3-thiosemicarbazone **3**, de la 4-méthyl-3-thiosemicarbazone **4** et de la 4-phényl-3-thiosemicarbazone **5**. Les structures de ces molécules sont confirmées par les spectrométries IR, RMN ¹H et ¹³C.

Ces molécules ont été testées in vitro sur *Trypanosoma brucei*. L'effet inhibiteur est fort avec la 4-phényl-3-thiosemicarbazone (IC₅₀=1,96 µM) et la thiosemicarbazone (IC₅₀= 7,6 µM). La 2-méthyl-3-thiosemicarbazone montre un effet inhibiteur modéré (10 µM < IC₅₀<100 µM). Par contre, la semicarbazone et la 4-méthyl-3-thiosemicarbazone indiquent une faible activité (IC₅₀ >100 µM).

Tableau V : Activités antitrypanosomiennes des composés synthétisés

Composés	IC ₅₀ (µg/ml)	IC ₅₀ (µM)	Activités
Semicarbazone du citral 1	49,04	234,64	Faible
Thiosemicarbazone du citral 2	1,71	7,61	Trypanocide
2-méthyl-3-thiosemicarbazone du citral 3	14,55	60,87	Modérée
4-méthyl-3-thiosecarbazone du citral 4	41,31	172,84	Faible
4-phényl-3-thiosemicarbazone du citral 5	5,90	1,96	Trypanocide

Les propriétés pharmacologiques de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sont déjà largement développées dans la littérature. Les héli-synthèses effectuées dans le présent travail, apportent sans nul doute un plus à la valorisation de cette huile dans le domaine de la thérapie.

Bibliographie

- [1] Alzate O., Djego A., Mier M., Gonzalo I., Lucia, Afanador K., Durango R., Diego L., Garcia P., Carlos M., Vitae, 16(1) (2009) 116-125.
- [2] Pattnaik S., Subramayam V. R., Kole C.R., Sahoo S., Microbios. 84 (241) (1995) 239-45.
- [3] Koba K., Sanda K., Mandin C. R. D., Millet J., Chaumont J. P., J. de Mycologie Medicale. 13(4) (2003) 175-180.
- [4] Onawunmi G. O., Ogunlana E.O., Int. J. Crude Drug Res. 24 (1986) 64-8.
- [5] Wannissorn B., Jafikasen S., Soontorntanasart, Phytother. Res, 10(7) (1996) 551-4.
- [6] Fujii N., Mallari J. P., Hansell E. J., Mackey Z., Doyle T. P., Zhou Y. M., Gut J., Garcia C. C., Brousse B. N., Carlucci M. J., Chem. Chemother. 14 (2004) 99,105
- [7] Kasuga N. C., Sekino K., Ishibawa M., Inorg. Biochem. (2003) 96, 298.
- [8] Rosenthal P.J., McKerrow J.H., Guy R.K., Bioorg. Med. Chem. Lett. 15 (1) (2005) 121-123.
- [9] Pandeya S.N., Yogeeswari P. and J.P. Stables, Eur. J. Med. Chem, 35 (2000) 879-886.
- [10] Afrasiabi Z., Sinn E., Chen J. N., Ma Y. F., Rheingold A. L., Zakharov L. N., Rath N., Padhye S., Inorg. Chem. Acta (2004) 357, 271.
- [11] Afrasiabi Z., Sinn E., Padhye S., Dutta S., Newton C., Anson C. E., Powrll A. K., Inorg. Biochem. (2003) 95, 306.
- [12] Moens F., De Wilde M., Kola N., Ann. Soc. Belg. Méd. Trop. 64 (1984) 37-43.
- [13] Eyckmans L., Louvain Méd. 107 (1988) 281-286.
- [14] Molyneux D.H., Ann. Soc. Belg. Méd. Trop. 53 (1973) 605-618.
- [15] Aggarwal N., Ruchi, Pradeep M., Jain J. S., Bansal S. K., Jha K. K., central Nervous System Agents in Medicinal chemistry 8(1) (2008) 26-28.
- [16] Tarasconi P., Capacchi S., Pelosi G., Cornia M., Albertini R., Bonati A., Dall'Aglio P. P., Bioorg. Med. Chem. 8(1) (2000) 157-162.
- [17] Du X., Cuo C., Hansell E., Doyle P. S., Caffrey C. R., Holler T. P., McKerrow J. H. and Cohen F. E., J. Med. Chem. 45 (2002) 2695-2707.
- [18] Fujii N., Mallari J. P., Hansell E. J., Mackey Z., Doyle P., Zhou Y. M., Gut J., Rosenthal P. J., McKerrow J. H. and Guy R. K., Bioorg. Med. Chem. Lett. 15 (2005) 121-123.
- [19] Brun R. and Lun Z. R., Veterinary Parasitology 52(1-2) (1994) 37-46.

[20] Rüz B., Iten M., Grether-Bühler Y., Kaminsky R. and Brun R., *Acta Tropica*. 68 (1997) 139-147.

[21] Silou T., Malanda M. and Loubaki L., *J. Food Engineering* 65(2) (2004) 219-223.

[22] AYEDOUN M. A., «Contribution à la connaissance chimique des Huiles Essentielles de plantes aromatiques du Bénin en vue de leur valorisation». Thèse

de doctorat, Université Nationale du Bénin, 1995, p.43.

[23] Loma T. S., Khanna S., Buttcher R. J., Hunter A. D., Zeller M., *Polyhedron* 25 (2006) 2755-2763.

[24] Perez-Rebolledo A., Teixeira L. R., Batista A. A., Mangrich A.S., Aguirre G., Cerecetto H., Gonzalez M., Hernandez P., Ferreira A. M., Speziali N. L., Beraldo H., *Eur. J. Med. Chem.* 43 (5) (2008) 939-948.