

N° d'ordre :

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

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

**Synthèse et caractérisation d'une série de colorants azoïques
dérivés du salicylaldéhyde.**

Présenté par : M^{elle} AISSOU Ania et M^{elle} SISSANI Malika

Soutenu publiquement, le 27 / 09 / 2017, devant le Jury composé de :

M ^{me} DOUANI Rachida	MCB	UMMTO	PRESIDENTE
M ^{me} OUKACHA Djamilia	MCA	UMMTO	ENCADREUR
M ^{me} KHELLAFI Nassima	MAA	UMMTO	CO-ENCADREUR
M ^{me} IGHILAHIRIZ Karima	MAA	UMMTO	EXAMINATRICE
M ^{me} KICHOU Nora	MCB	UMMTO	EXAMINATRICE

Remerciements

Avant tout, on tient à remercier Dieu le tout puissant pour nous avoir donné la force, la patience et le courage nécessaire pour mener ce travail à terme.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de physico-chimie des matériaux LPCM de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, sous la direction de Madame **OUKACHA** épouse **HIKEM Djamila**, Maître de Conférences Classe A, et Madame **KHELLAFI** épouse **KHALDI Nassima**, Maître Assistante Classe A, à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Nos remerciements vont :

A notre promotrice, Madame **OUKACHA** épouse **HIKEM Djamila**, et notre Copromotrice Madame **KHELLAFI** épouse **KHALDI Nassima**, pour leurs encadrements qui nous a été très bénéfique pour la réalisation de ce travail, avec beaucoup de compétences, d'enthousiasme et de disponibilité. Merci Mesdames pour vos conseils, votre optimisme, votre confiance et encore pour vos critiques judicieuses. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

A Madame **DOUANI** épouse **ZOBIRI Rachida**, Maître de Conférence Classe B à l'Université de Tizi-Ouzou, qui nous fait le grand honneur de présider ce jury de soutenance.

A Madame **IGHILAHIRIZ Karima**, Maître Assistante Classe A à l'Université de Tizi-Ouzou, et Madame **KICHOU Nora**, Maître de Conférence Classe B à l'Université de Tizi-Ouzou, qui nous font l'honneur de juger ce travail.

Nos remerciements vont aussi à :

Madame **MAKHLOUFI Malika**, de l'Université de Tizi-Ouzou, Merci pour votre gentillesse, votre sérieux, vos compétences et votre sens du devoir. C'est grâce à votre bienveillance que nous avons pu réaliser nos analyses UV-Visible.

Docteur **MECACHER**, du laboratoire de toxicologie de l'Université de Tizi-Ouzou et Monsieur **HELOUANE**, de l'Université de Bouira pour leurs gentillesse et leurs aides dans la réalisation des analyses IR.

La technicienne du laboratoire pédagogique de chimie pharmaceutique, merci pour votre gentillesse et votre aide dans la réalisation des points de fusion.

Pour finir, on adresse tous nos remerciements à nos familles et nos amis (es) et camarades chimistes. Merci pour votre encouragement et votre soutien moral.

DÉDICACES

**L'honneur et la gloire soient rendus à l'éternel mon dieu le
créateur de tout ce qui existe.**

**Je dédie ce mémoire avant toute chose
au bon dieu qui est au commencement et à la fin de toutes
œuvres humaines.**

**Ce précieux travail est dédié à mes chers parents
Aïssou M^{ed} Amokrane et Hammad Ouiza,
qui malgré leurs petits moyens qu'ils détenaient,
ont pu privilégier mes études,
pour que je suis aujourd'hui ce que je suis.**

**A tous mes frères et sœurs qui ne cessaient plus jamais
de me fortifier**

et de me ragaillardir pendant tout mon parcours.

**A ma chère binôme Malika, à toi Nassim et à vous tous
que je n'ai pas eu à citer.**

Ania



DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail,

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi,

Pour que je suis aujourd'hui ce que je suis

A tous mes frères et mes sœurs

**A mon mari Redouane qui n'a jamais cessé de croire en moi et de
m'encourager, merci pour la volonté et le soutien moral.**

A ma binôme Ania et à toute sa famille.

**A tous mes enseignants et amis chimistes et à vous tous
que je n'ai pas eu à citer.**

Malika



Chapitre II

Tableau II-1: Propriétés des azo-colorants synthétisés.	10
Tableau II-2: Rapports frontaux des colorants 2a-h	12
Tableau II-3: Résultats des spectres UV-Vis des composés 2a-h	13
Tableau II-4: Résultats des spectres IR des composés 2a-h	14
Tableau II-5: Propriétés des azo-coumarines synthétisés.....	15
Tableau II-6: Rapports frontaux des azo-coumarines 4a, 4e et 4h	16
Tableau II-7: Spectres IR des composées 4a, 4e et 4h	17

Chapitre II

Figure II-1: Spectre UV-vis du composé 2a	12
Figure II-2: Spectre UV-vis du composé 2e	12
Figure II-3: Spectres UV-Visible du composé 2h	13
Figure II-4 : Spectre UV-vis du composé 4a	16
Figure II-5 : Spectre UV-vis du composé 4e	16
Figure II-6: Spectre UV-vis du composé 4h	16

Chapitre III

Figure III-1: Densité optique des composés 4a , 4e et 4h et de l'acide ascorbique en fonction de la concentration	22
Figure III-2: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH [•] de l'acide ascorbique et des produits 4a , 4e et 4h en fonction de la concentration	22
Figure III-3: Valeur d'IC 50% des composés 4a , 4e , 4h et AA	23

Chapitre II

Schéma II-1 : Mécanisme réactionnel de diazotation des composés 2a-h	9
Schéma II-2 : Copulation du sel de diazonium avec le salicylaldéhyde.....	10
Schéma II-3 : Mécanisme réactionnel de copulation des composés 2a-h	11
Schéma II-4 : Réaction de condensation des azo-coumarines 4a , 4e et 4h	15
Schéma II-5 : Mécanisme réactionnel de formation des azo-coumarines 4a , 4e et 4h	18

Abréviations utilisées

AA : Acide Ascorbique.

ABTS : Sel d'ammonium de l'acide 2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazolint -6-sulfonique.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

DO : Densité Optique.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

EC50 : La concentration efficace médiane.

FRAP: Ferric reducing ability of plasma.

IC50 : Concentration Inhibitrice minimale.

IR : Infra-Rouge.

IRTF : Infrarouge à Transformée de Fourier.

ORAC : Oxygène Radical Absorbance Capacity.

Pf : Points de fusions.

Rf : Rapport frontale.

Rd : Rendement.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

TRAP: Total Radical- Trapping Antioxidant Parameter.

Tf Litt. : Température de fusion littérature.

UV-Vis : Ultraviolet-visible.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.

Introduction générale..... 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I-1- Généralités sur les colorants azoïques..... 3

 I-1-1- Définition de colorant..... 3

 I-1-2- Nature des principaux colorants 3

 a- Colorants naturels 4

 b- Colorants synthétiques..... 4

 I-1-3- Colorant azoïque 4

 I-1-3-1- Préparation des azoïques 5

 a- Réaction de diazotation 5

 b- Copulation azoïque 5

 I-1-4- Colorants azoïques à usage pharmaceutique et alimentaire 5

I-2- Généralités sur les coumarines 6

 I-2-1- Propriétés biologiques des coumarines 7

**Chapitre II : Synthèse et condensation de colorants azoïques sur la
4-hydroxycoumarine**

Introduction 9

 II-1- synthèse de colorants azoïques dérivés de salicyaldéhyde 9

 II-1-1- Diazotation d'une amine aromatique 9

 II-1-2- Copulation du sel de diazonium obtenu avec le salicyaldéhyde 9

 II-2- Analyse par chromatographie sur couche mince des colorants **2a-h** 11

 II-3- Analyse spectroscopiques des colorants **2a-h** 12

 II-3-1- Etude par spectroscopie UV-Visible des colorants **2a-h**..... 12

 II-3-2- Etude par spectroscopie infrarouge IR des colorants **2a-h**..... 13

 II-4- Action des colorants azoïques dérivés de salicyaldéhyde **2a-h** sur la
4-hydroxycoumarine..... 14

 II-5- Analyse par Chromatographie sur couche mince des azo-coumarines **4a, 4e et 4h** 15

 II-6- Analyse spectroscopiques des azo-coumarines **4a, 4e et 4h** 16

II-6-1- Analyse par spectroscopie UV-Visible des azo-coumarines 4a , 4e et 4h	16
II-6-2-Analyse par spectroscopie IR des azo-coumarines 4a , 4e et 4h	17
II-7- Mécanisme réactionnel de formation des azo-coumarines 4a , 4e et 4h	17
Conclusion.....	18

Chapitre III : Evaluation de l'activité antioxydante des azo-coumarines

Introduction.....	19
III-1-Définition de radicaux libres.....	19
III-2-Définition des antioxydants	19
III-3-Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	20
III-4- Evaluation du pouvoir anti-radicalaire par la méthode de DPPH	20
III-5- Evaluation de l'activité antioxydante des azocoumarines 4a , 4e et 4h	21
III-6- Résultats et discussion.....	21
III-7- Conclusion	23

Partie expérimentale

IV-1-Appareillages.....	24
IV-1-1-Point de fusion	24
IV-1-2-Chromatographie sur couche mince	24
IV-1-3- Spectrométrie UV-Visible	24
IV-1-4- Spectrométrie Infra Rouge	24
IV-2- Matériels.....	24
IV-3- Manipulation	25
IV-3-1- Réactions de salicyaldéhyde sur les amines aromatiques	25
IV-3-2- Réactions de condensation des azo-colorants avec la 4-hydroxycoumarine.....	25
IV-3-3- Evaluation de l'activité antioxydante des azo-coumarines	26
Conclusion générale	27

Références bibliographiques

Annexes

Introduction générale

Dès le début de son aventure, l'homme a mis des couleurs dans sa vie. Il a d'abord utilisé les pigments des « terres colorées », puis ceux des fibres végétales et animales.

Les colorants par définition sont des substances fortement colorées, ils peuvent être naturels (d'origine animale, végétale) ou synthétiques. Ces derniers sont actuellement les plus utilisés, ils ont la propriété de colorer durablement le support sur lequel ils sont appliqués. En général, les produits utilisés comme colorants sont des composés organiques insaturés et aromatiques [1]. Leur coloration intrinsèque est principalement due à la présence de groupes chimiques insaturés appelés chromophores. Parmi les principales familles distinguées par le classement chimique des colorants, on a effectué notre recherche sur les colorants azoïques, ces derniers représentent environ 50 % de la production mondiale des substances colorantes et ils ont un domaine d'application très large [2]. Ils sont des composés contenant le groupement d'atomes azo (-N=N-), de formule générale (R-N=N-R') [3].

Ces composés sont obtenus en traitant des amines primaires aromatiques par l'acide nitreux, selon une réaction appelée diazotation. Les sels de diazonium sous leurs formes pures et sèches, peuvent participer à un grand nombre de réactions, et ont donc une grande importance en synthèse organique. La réaction la plus importante faisant intervenir les composés diazoïques est la réaction de couplage avec des composés aromatiques. Les deux composés se condensent et forment une grande molécule dans laquelle les deux noyaux aromatiques sont reliés par un groupe diazoïque. Le composé ainsi formé est appelé composé azoïque ou colorant azoïque. Il est stable et coloré [4]. Dans le domaine pharmaceutique, la liaison azoïdale a été utilisée pour protéger le médicament contre les indésirables et les infections streptococciques [5].

Ces propriétés pharmacologiques importantes ont suscité notre intérêt dans l'étude de la réaction de condensation de la 4-hydroxycoumarine avec des colorants azoïques synthétisés dans le but de tester l'activité antioxydante des azo-coumarines obtenus.

Les coumarines constituent l'une des grandes classes des composés d'origine naturelle, leurs intérêts pour la chimie se poursuivent sans relâche en raison de leurs utilités en tant que molécules biologiquement actives. Elles représentent également la structure de base de plusieurs molécules de produits pharmaceutiques importants [6].

Le travail que nous présenterons dans ce mémoire est réparti en trois chapitres : Le premier chapitre sera consacré à une étude bibliographique répartie en deux étapes, la première sur les colorants azoïques, leurs synthèses et leurs applications. La deuxième sur les coumarines et leurs propriétés biologiques.

Dans le second chapitre, une stratégie efficace et économique sera donnée pour la préparation d'une série de colorants azoïques suivant une réaction de diazotation d'une amine primaire aromatique suivie d'une réaction de copulation avec le salicylaldéhyde, d'une part, et une réaction de condensation des colorants obtenus avec la 4-hydroxycoumarine pour synthétiser des azo-coumarines d'une autre part.

Dans le troisième chapitre, nous allons évaluer l'activité antioxydante des différents produits synthétisés par la méthode du radical libre DPPH[•].

Enfin, nous terminerons par une conclusion générale récapitulative de l'ensemble de nos résultats.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I-1-Généralités sur les colorants azoïques

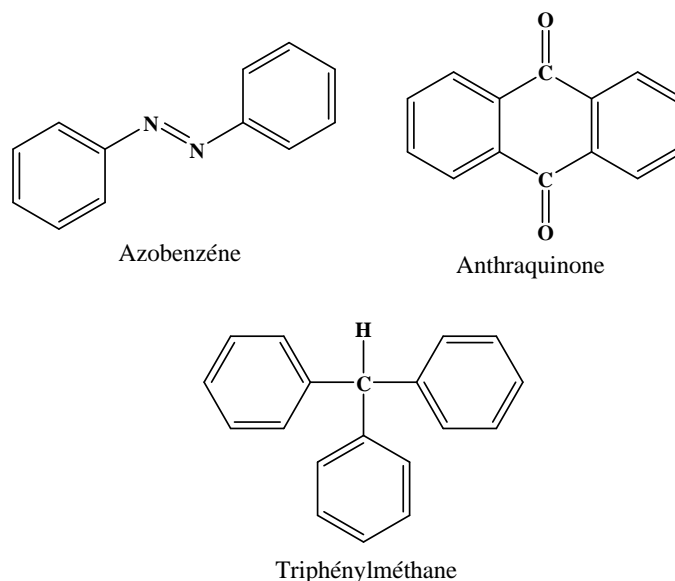
Nous vivons dans un monde où tout est coloré, ces colorants sont de plus en plus des colorants de synthèse, en raison de leur facilité et rapidité de production et aussi de leur grande variété de couleurs, si on les compare aux colorants naturels. Tous ces colorants sont des composés aromatiques, dont les électrons délocalisés peuvent absorber la lumière pour certaines longueurs d'onde. Les propriétés colorantes des composés organiques dépendent de leurs structures et de leurs compositions chimiques [4].

I-1-1-Définition de colorant

Un colorant est une substance fortement colorée qui interagit avec le milieu dans lequel elle est introduite, et le colore en s'y dispersant.

Un colorant est généralement constitué de trois parties :

✚ Un chromophore qui est en quelque sorte la portion responsable de la couleur du composé, il possède la propriété d'absorbance dans le domaine du visible et de l'ultraviolet. Les trois chromophores les plus importants en organique, sont l'azobenzène, le triphénylméthane et l'antraquinone, leurs structures sont les suivantes :



✚ Un auxochrome est la partie influençant l'intensité de la coloration, et il fixe avec efficacité le colorant sur le support, parmi ces substituant auxochrome, on peut citer les groupes : hydroxy, amino, méthoxy et diméthylamino.

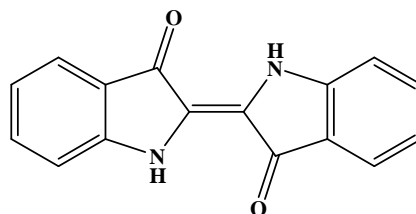
✚ Et enfin, le groupe solubilisant améliore la solubilité du colorant [7].

I-1-2- Nature des principaux colorants

On distingue deux grandes familles de colorants: naturels et ceux de la synthèse chimique.

a- Colorants naturels

Les colorants naturels sont extraits des plantes, des fruits, des arbres, des lichens, ou des insectes par des procédés simples comme le chauffage ou le broyage. Le jaune est le colorant naturel le plus répandu, mais l'indigo de couleur bleu foncé très puissante est aussi présent en grande quantité dans le règne végétal [8].



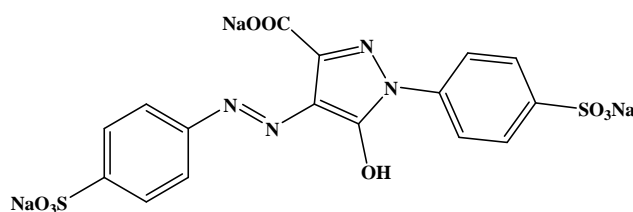
L'indigo

b- Colorants synthétiques

Aujourd'hui plus de 5000 colorants synthétiques sont disponibles donnant naissance à une industrie mondiale [7]. On connaît seulement une dizaine de colorants naturels, alors que plusieurs milliers de colorants synthétiques sont fabriqués par le marché industriel, sans cesse.

Ils sont plus populaires que les colorants naturels, car ils ont une plus grande durabilité et une plus grande brillance [8].

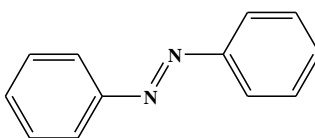
Par exemple la tartrazine est un composé azoïque de couleur jaune utilisée comme colorant alimentaire (chips, moutardes, soupes instantanées), colorant des produits cosmétiques et aussi colorant médical pour modifier l'alcool à usage médical, et le rendre impropre à la consommation [9].



La tartrazine

I-1-3- Colorant azoïque

On nomme "azoïque" les composés caractérisés par le groupe fonctionnel azo (N=N) unissant deux groupements identiques ou non.



L'azobenzène

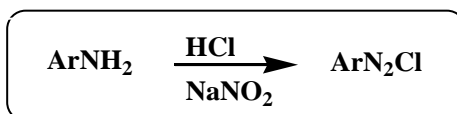
Cette catégorie de colorant est actuellement la plus utilisée, elle représente plus de 50% de la production mondiale de matières colorantes [10].

I-1-3-1- Préparation des azoïques

La méthode la plus courante pour la préparation des colorants azoïques comporte deux étapes; la diazotation d'une amine primaire aromatique, suivie d'une réaction de copulation.

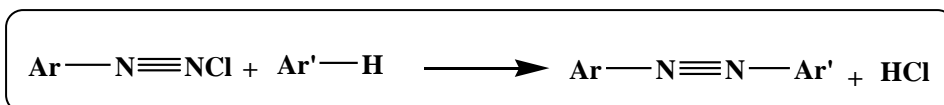
a-Réaction de diazotation

La diazotation correspond à l'action de l'acide nitreux sur les amines aromatiques pour former les sels de diazonium.



b- Copulation azoïque

La copulation azoïque peut être considérée comme une substitution électrophile par un cation diazonium. Le schéma réactionnel de la synthèse est :



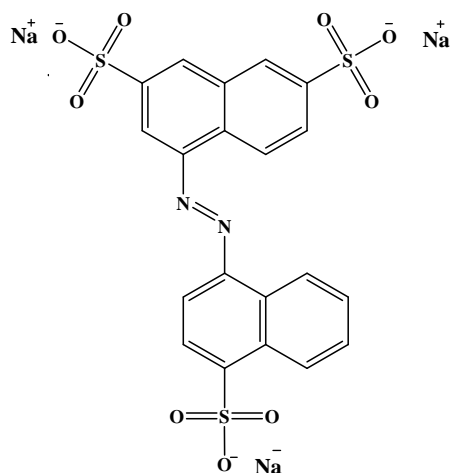
I-1-4- Colorants azoïques à usage alimentaire

Les colorants destinés à l'alimentation doivent satisfaire des critères très sévères de pureté et d'absence de toxicité. Ils sont, en effet, soumis à de nombreux tests sur de petits animaux avant d'être répertoriés comme colorants alimentaires.

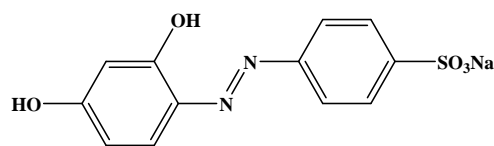
En Europe, l'emploi de tels colorants est réglementé depuis fort longtemps, afin d'éliminer ceux qui pourraient être dangereux pour la santé humaine [11].

Notons, par ailleurs, que des critères de toxicité due à la structure chimique des colorants doivent être pris en considération, de manière à ce que certains produits de dégradation dans l'organisme humain ne présentent de danger en quoi que ce soit [12].

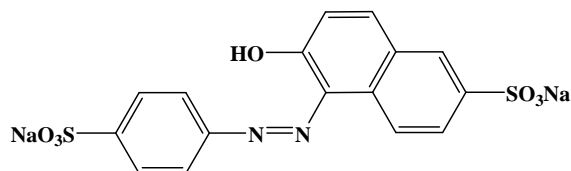
L'amarante est un colorant azoïque synthétique rouge pourpre utilisé dans les produits alimentaires (E103) et dans la confection du rouge à lèvres [13]. On peut citer aussi l'azorubine, qui est un colorant alimentaire rouge (E122), et fait partie des ingrédients de certains médicaments, et utilisé dans de nombreux produits sucrés, desserts, pâtisseries, glaces, conserves de fruits, et boissons [14].



Amarante



Azorubine



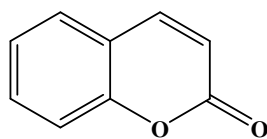
Crysoïne

I-2- Généralités sur les coumarines

La coumarine est une substance naturelle organique, isolée de la fève tonka par Vogel en 1820. Elle fut synthétisée en 1868 par Perkin à partir de l'aldéhyde salicylique et d'un anhydride d'acide, à haute température en présence d'une base faible. Son nom vient de l'arbre sur lequel pousse la fève tonka, que l'on appelle «kumarù» en amérindien.

Bien que ce soit la fève tonka qui l'illustre de façon significative (1 à 3%), la coumarine est contenue dans d'autres plantes et aliments comme le mélilot, la sauge, la lavande, le miel, le thé vert, la cannelle, ...etc [15].

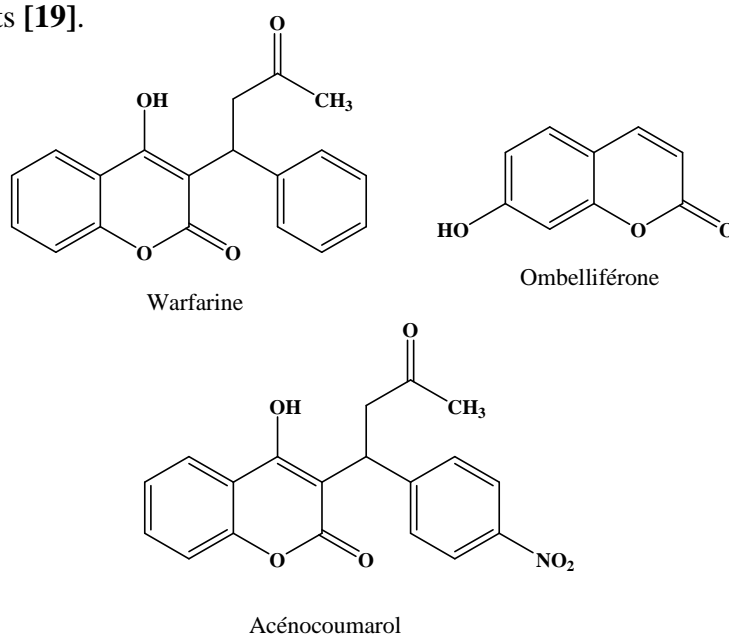
La coumarine est stockée dans la plante sous forme de glucoside de l'acide coumarinique qui se transforme en coumarine sous l'action d'enzymes ou du soleil. Ces glucosides sont formés dans les feuilles et s'accumulent surtout dans les racines et les écorces, ainsi que dans les tissus âgés ou lésés [16].



La coumarine

Les coumarines occupent une importante classe des produits naturels et synthétiques qui manifestent des propriétés variées. Elles ont une activité comme drogues et elles sont utilisées comme marqueurs fluorescents en biochimie. Leurs applications dans de nombreux domaines de la médecine humaine, animale et photochimie ont permis le développement d'une recherche intense de nouvelles molécules contenant comme noyau de base la coumarine dans leurs structures [17].

Les coumarines et leurs dérivés sont caractérisés par une excellente réactivité chimique, ce sont des espèces véridiques et connus pour présenter des activités pharmacologique et biologique remarquables. Notamment les anticoagulants, comme le dicoumarol [18], et aujourd'hui, la warfarine, aussi appelée coumaphène, est une des molécules les plus utilisées en tant qu'anticoagulant oral. De façon générale, les médicaments coumariniques sont utilisés dans le but de prévenir la formation des caillots sanguins ou d'empêcher leurs développements [19].



I-2-1- Propriétés biologiques des coumarines

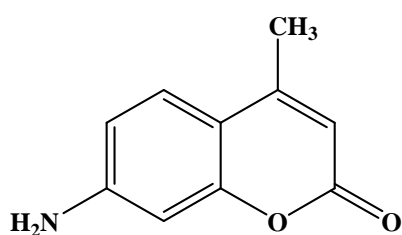
Différentes propriétés pharmacologiques ont été attribuées aux coumarines naturelles, notamment des effets vasoprotecteurs, antitumorale, antioxydants, anti-inflammatoires, antimicrobiens, antivirale, ...etc. Elles bloquent avec efficacité le cancer induit chimiquement par les radiations UV [20].

Les coumarines se révèlent être des composés thérapeutiques promoteurs dans l'amélioration du système immunitaire (action immunostimulante), une activité antifongique significative a également été rapportée pour certaines coumarines [21,22]. Par ailleurs, des chercheurs espagnols ont évalué l'activité anti-VIH de onze composés dérivés de la 4-phénylcoumarine [23]. Aussi, il a été montré que de nouvelles sondes dérivées de la coumarine sont utiles à l'imagerie médicale grâce à leurs propriétés fluorescentes.

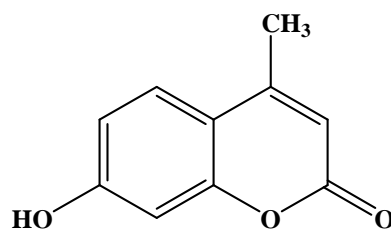
Les coumarines sont aussi employées dans la fabrication de denrées alimentaires (caramels, confiseries et gommes à mâcher), aussi dans l'étude de la viscosité membranaire, l'étude du repliement d'une protéine (dénaturation / renaturation), le séquençage de l'ADN, l'analyse génétique par hybridation...etc. [24]. La nature fluorescente des dérivés de la

coumarine odorante a conduit à son utilisation très répandue dans les industries comme des produits chimiques de parfumerie, des azurants optiques et des lasers dispersés et fluorescents [25]. Par exemple, la 7-hydroxy-4-méthylcoumarine est utilisée comme agent de blanchiment optique, colorant laser efficace, norme pour la détermination fluorométrique de l'activité enzymatique et en tant que matériau de départ pour la préparation d'insecticides et furanocoumarines [26,27].

De la même façon, le 7-amino-4-méthylcoumarine est principalement utilisé comme colorant laser et intermédiaire pour la synthèse de composés bioactifs [28].



7-amino-4-méthylcoumarine



7-hydroxy-4-méthylcoumarine

Chapitre II

Synthèse et condensation de colorants azoïques sur la 4-hydroxycoumarine

Introduction

Un grand nombre de chercheurs ont été intéressés par les composés azoïques biologiquement actifs isolés des extraits de plantes. Cette matière végétale contient un grand nombre de métabolites secondaires, qui ont des intérêts multiples en industrie alimentaire, cosmétique et en dermatopharmacie [29].

La synthèse des composés azo-coumariniques a attiré l'attention des chimistes durant plusieurs années, car les coumarines et leurs dérivés sont des molécules constitutives des principes actifs de plusieurs médicaments [30].

L'objectif de cette étude, est la condensation de la 4-hydroxycoumarine avec des colorants azoïques dérivés de salicylaldéhyde, afin de préparer une série de composé azo-coumarinique dont son application biologique sera étudié dans le chapitre suivant.

II-1- synthèse de colorants azoïques dérivés de salicylaldéhyde

Les colorants que nous avons synthétisés sont obtenus à partir des deux réactions successives : diazotation d'une amine primaire aromatique suivie d'une réaction de copulation avec le salicylaldéhyde.

II-1-1- Diazotation d'une amine primaire aromatique

La diazotation d'une amine aromatique se fait en milieu acide en présence du nitrate de sodium, sous agitation à froid selon le mécanisme suivant [31] :

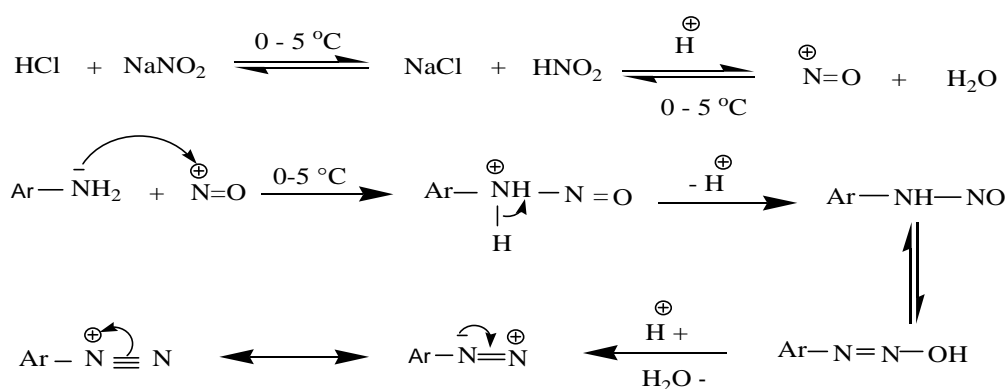


Schéma II-1 : Mécanisme réactionnel de diazotation des composés 2a-h.

II-1-2- Copulation du sel de diazonium obtenu avec le salicylaldéhyde

Après la préparation d'une série de huit sels de diazonium, nous avons fait réagir chacun de ces sels avec le salicylaldéhyde à température ambiante. Ce qui nous a permis de récupérer après filtration un solide (différemment colorés) avec un bon rendement.

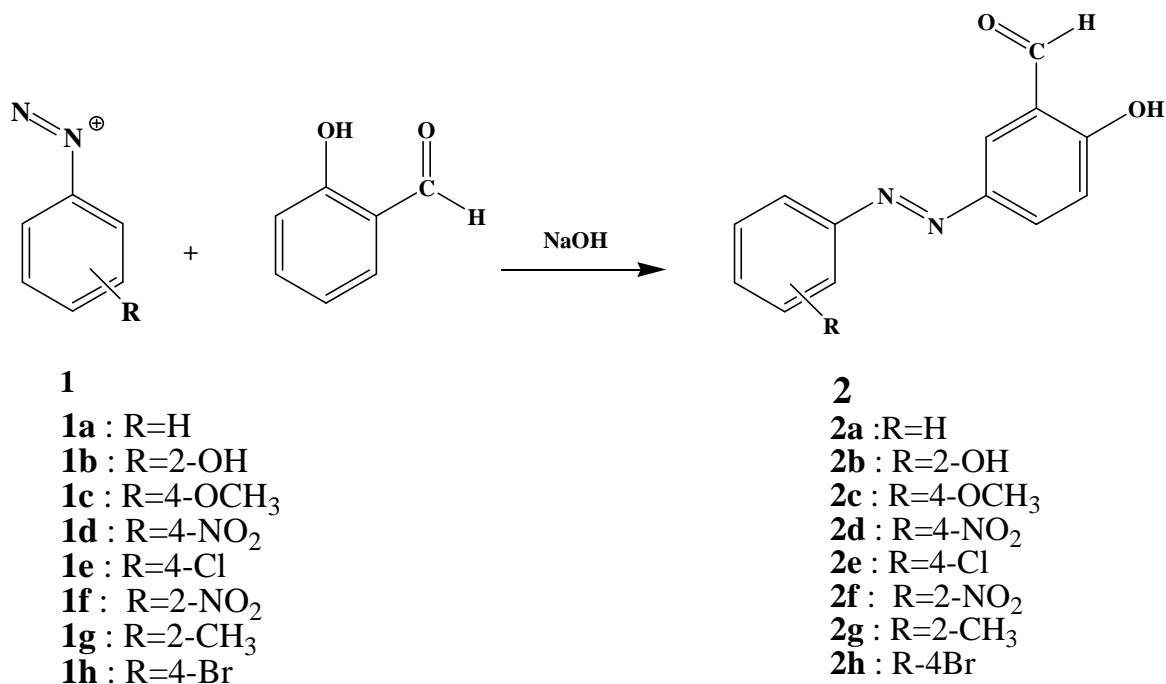


Schéma II-2 : Copulation du sel de diazonium avec le salicylaldéhyde.

Dans les conditions opératoires choisies, nous avons préparé une série de huit produits **2a-h** dont les données physico-chimiques : point de fusion, rendement et couleur sont reportés dans le tableau suivant :

Tableau II-1: Propriétés physico-chimiques des azo-colorants synthétisés.

Composé	Pf (°C)	Pf (°C) Litt. [32-35]	Rd (%)	Couleur
2a	110	128-130	41	Marron foncé
2b	191	-	57	Orange
2c	95	-	46	Gris
2d	179	195-198	21	Rouge brique
2^e	209	211-213	50	Jaune
2f	102	-	51	Noir
2g	109	113-115	65	Marron
2h	128	-	25	Jaune

La copulation du sel de diazonium obtenu avec le salicylaldéhyde est réalisée en milieu basique. L'hydroxyde de sodium NaOH, permet la transformation du salicylaldéhyde en salicylate de sodium. L'action du sel de diazonium sur ce dernier donne naissance à des nouveaux colorants azoïques **2a-h**, selon le mécanisme réactionnel suivant :

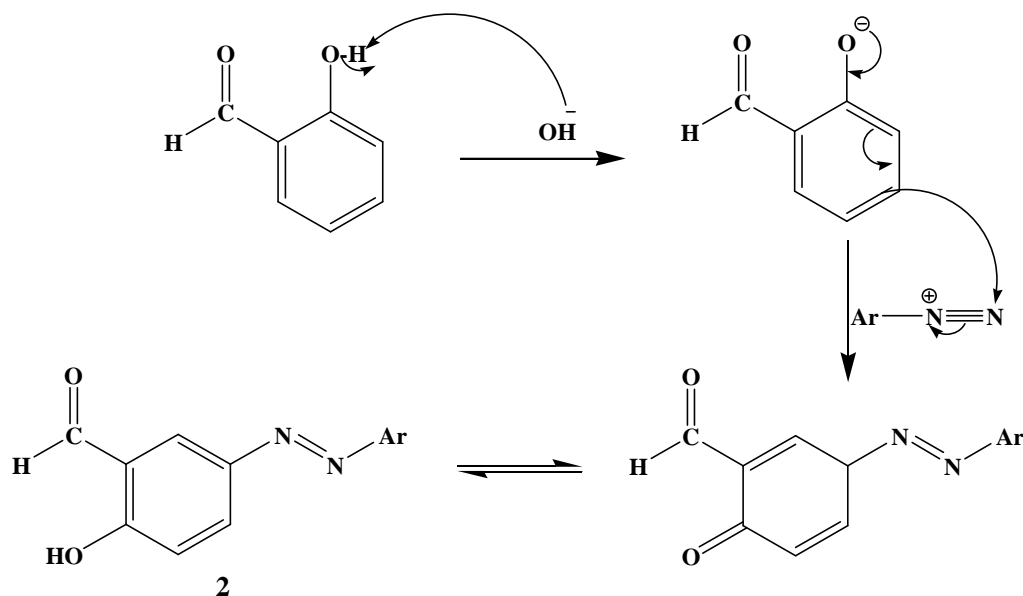


Schéma II-3 : Mécanisme réactionnel de copulation des composés 2a-h.

La pureté de ces produits a été confirmée par la chromatographie sur couche mince (CCM). Une étude spectroscopique en UV-Visible et IR est faite à fin de déterminer leurs structures exactes.

II-2- Analyse par chromatographie sur couche mince des colorants 2a-h

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélange complexes et métabolites) et aux échantillons biologiques. La phase stationnaire est constituée d'une couche mince et uniforme de 0,25 mm d'épaisseur, d'une substance séchée et finement pulvérisée, appliquée sur un support approprié ; dans notre cas, nous avons utilisé des plaques de gel de silice 60E254 (phase normale) prêtent à l'emploi à support en aluminium. La phase mobile ou éluant généralement un mélange binaire ou tertiaire de solvant qui migrent à la surface de la plaque par capillarité.

La CCM n'est pas suffisante pour identifier un produit, mais elle permet de vérifier sa pureté. Elle permet aussi de déterminer le temps nécessaire pour atteindre la fin d'une réaction chimique.

La pureté de chaque colorant obtenu **2a-h** a été confirmée en utilisant comme éluant un mélange de chloroforme et d'éthanol. Nous avons constaté la présence d'une seule tache dont les rapports frontaux R_f obtenus sont donnés par la relation suivante :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcouru par le composé}}{\text{Distance parcouru par l'éluant}}$$

Tableau II-2: Rapports frontaux des colorants 2a-h.

Composé	Eluant chloroforme/éthanol (ml/gouttes)	Rf
2a	2/14	0,76
2b	2/14	0,57
2c	2/14	0,32
2d	2/14	0,63
2e	2/14	0,70
2f	2/14	0,67
2g	2/14	0,57
2h	2/14	0,78

II-3- Analyse spectroscopiques des colorants 2a-h

II-3-1- Etude par spectroscopie UV-Visible des colorants 2a-h

La spectrophotométrie UV-Visible est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique et la longueur d'onde d'absorption maximale d'une substance chimique donnée, généralement en solution.

Les spectres d'absorptions des composés **2a-h** ont été réalisés juste après dissolution dans l'acétonitrile, en faisant un balayage du domaine 200 - 450 nm. Ils montrent une bande d'absorption correspondante à la fonction (-N=N-) du colorant qui apparaît habituellement entre 300 et 380 nm [36], et une autre bande d'absorption correspondante à la fonction -C=O entre 200 et 290nm [37].

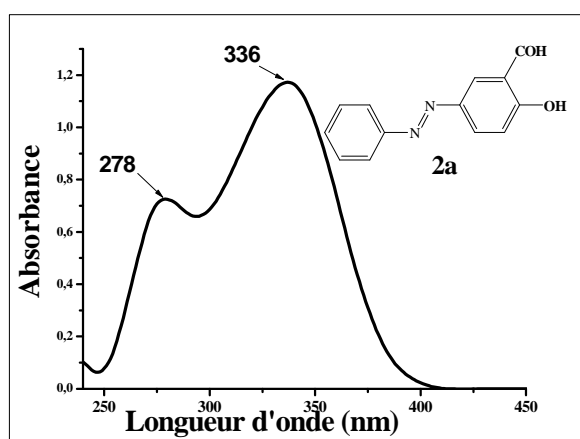


Figure II-1: Spectre UV-vis du composé 2a

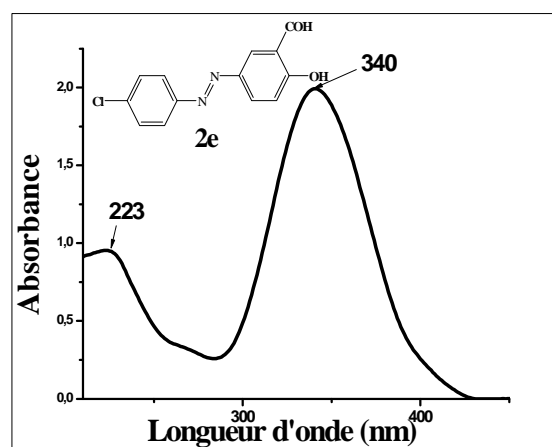
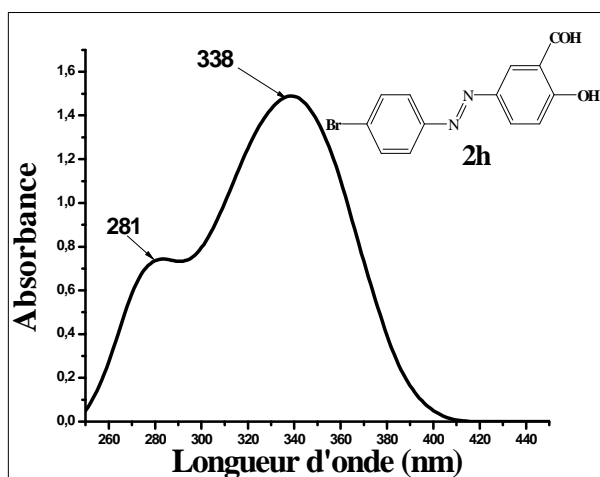


Figure II-2: Spectre UV-vis du composé 2e

Figure II-3: Spectres UV-Vis du composé **2h**

Les résultats de cette étude sont enregistrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau II-3: Résultats des spectres UV-Vis des composés **2a-h**.

Composé	λ_1 (nm)	λ_2 (nm)
2a	278	336
2b	272	349
2c	279	346
2d	-	367
2e	223	340
2f	-	346
2g	270	374
2h	281	338

II-3-2- Etude par spectroscopie infrarouge IR des colorants **2a-h**

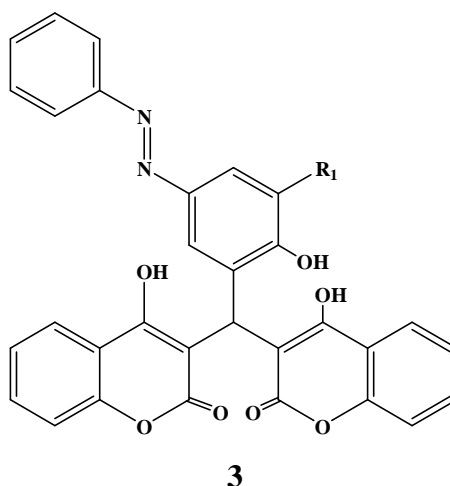
Cette étude a confirmé la formation du groupement azo, par la présence d'une bande intense dans le domaine qui le caractérise entre 1400 et 1500 cm^{-1} [38]. Les spectres ont montré la présence d'une bande large entre 3000 et 3600 cm^{-1} qui est attribué à la fonction -OH et une bande entre 1600 et 1670 cm^{-1} , relatif à la fonction -C=O. Le tableau suivant regroupe les bandes principales enregistrées :

Tableau II-4: Résultats des spectres IR des composés 2a-h.

Composé	Bandes caractéristiques enregistrées (cm ⁻¹)
2a	3213 (OH) ; 1667 (C=O) ; 1477 (N=N).
2b	3045 (OH) ; 1627 (C=O) ; 1463 (N=N).
2c	3060 (OH); 1615 (C=O); 1498 (N=N).
2d	3592 (OH) ; 1668 (C=O) ; 1498 (N=N).
2e	3218 (OH) ; 1668 (C=O) ; 1475 (N=N).
2f	3054 (OH) ; 1627 (C=O) ; 1504 (N=N).
2g	3212 (OH) ; 1662 (C=O) ; 1480 (N=N).
2h	3213(OH) ; 1606 (C=O) ; 1481(N=N).

II-4- Action des colorants azoïques dérivés de salicylaldéhyde 2a-h sur la 4-hydroxycoumarine

L'action de colorants analogues aux composés 2a-h, sur la 4-hydroxycoumarine a été déjà décrite dans la littérature, la réaction est réalisée au reflux du méthanol sans la présence de catalyseur, ce qui conduit à la formation d'un nouveau colorant azoïque avec la bis-4-hydroxycoumarine 3 [39-40].



Dans nos premières expériences, nous avons constaté que ce n'est pas facile de synthétiser les composés 4 selon les conditions qui ont été décrites par Panitsiri et *col.* [39].

Après la préparation d'une série de huit colorants azoïques **2a-h**, nous avons choisis trois colorants (**2a**, **2e** et **2h**) pour les condensés avec la 4-hydroxycoumarine. La réaction est faite en quantité équimolaire en présence de la triéthylamine, au reflux de toluène. La cinétique de cette réaction a été suivie par CCM, un solide a été récupéré (différemment colorés) avec un bon rendement.

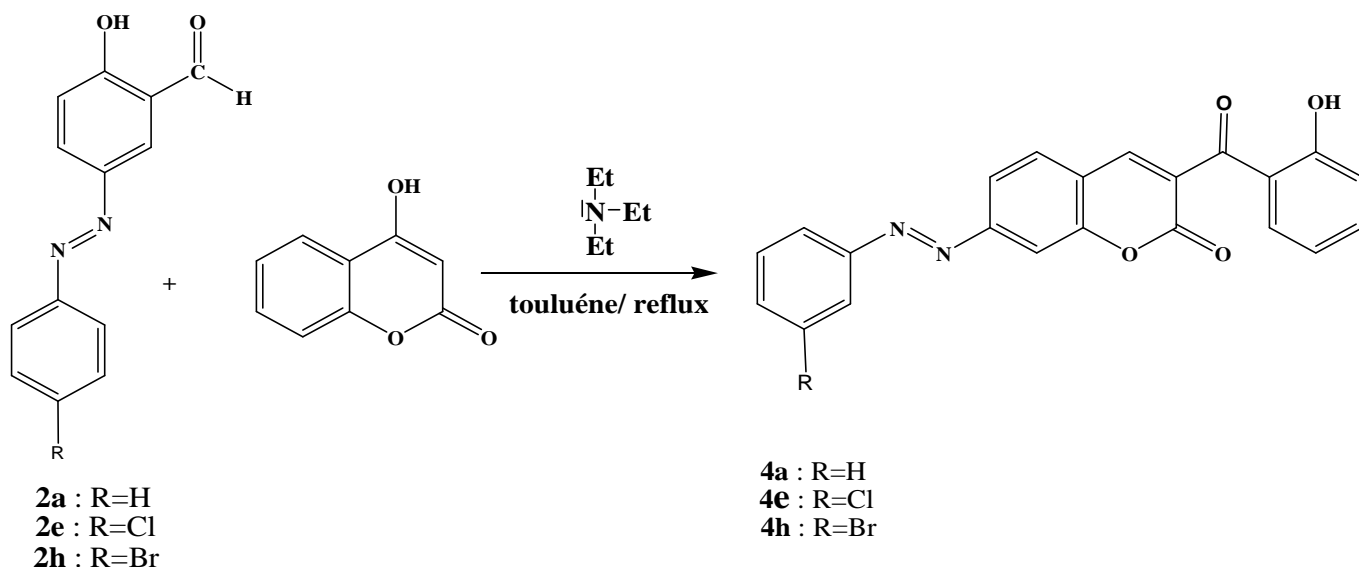


Schéma II-4 : Réaction de condensation des azo-coumarines **4a, **4e** et **4h**.**

Dans les conditions opératoires choisies, nous avons préparé trois produits **4a**, **4e** et **4h** dont les données physico-chimiques : temps de réaction, point de fusion et rendement sont reportés dans le tableau suivant :

Tableau II-5: Propriétés physico-chimiques des azo-coumarines synthétisés **4a, **4e** et **4h**.**

Composé	Temps (h)	Pf (°C)	Rd (%)	Couleur
4a	13	194-195	69	Jaune
4e	18	178-188	57	Jaune
4h	21	193-200	82	Blanc

II-5- Analyse par Chromatographie sur couche mince des azo-coumarines **4a**, **4e** et **4h**

L'analyse par CCM des composés **4a**, **4e** et **4h** a donné une seule tache dont les rapports frontaux sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau II-6: Rapports frontaux des azo-coumarines 4a, 4e et 4h.

Composé	Rf
4a	0,86
4e	0,88
4h	0,89

II-6- Analyse spectroscopiques des azo-coumarines 4a, 4e et 4h

La structure de chaque produit obtenu a été confirmée par les méthodes spectroscopiques suivantes

II-6-1- Analyse par spectroscopie UV-Visible des azo-coumarines 4a, 4e et 4h

Les spectres d'absorption des composés 4a, 4e et 4h montrent deux bandes d'absorption : une bande entre 300 et 400 nm correspondant au groupement (C=O) de la coumarine [40], et une autre autour de 300 nm correspondant au groupement azoïque (-N=N-) [41].

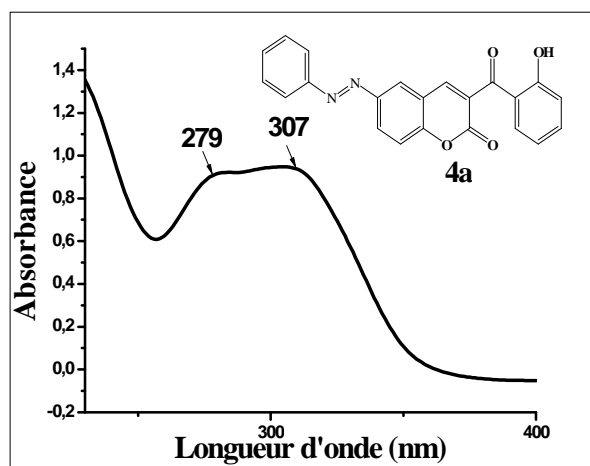


Figure II-4 : Spectre UV-vis du composé 4a.

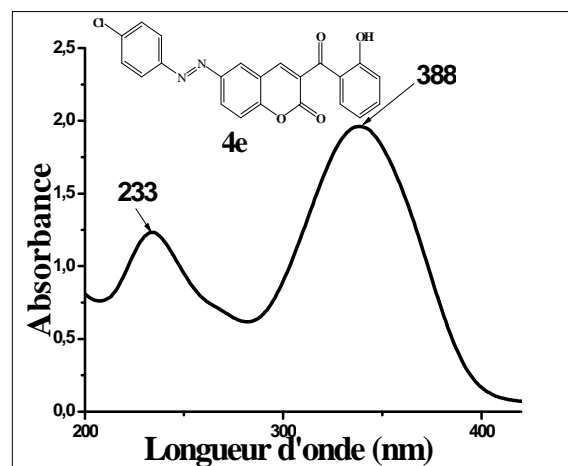


Figure II-5 : Spectre UV-vis du composé 4e.

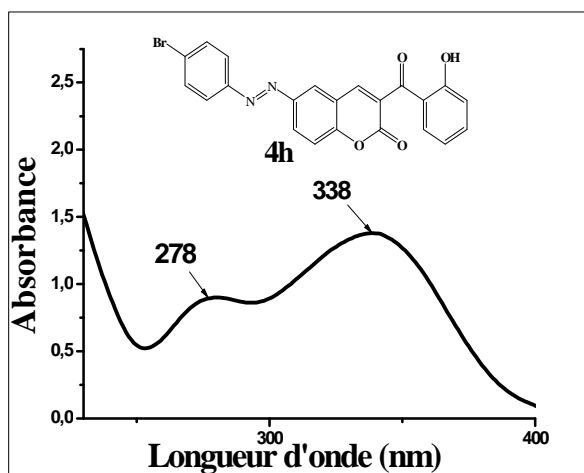


Figure II-6: Spectre UV-vis du composé 4h.

II-6-2- Analyse par spectroscopie IR des azo-coumarines 4a, 4e et 4h

Cette étude a confirmé la conservation de la fonction azo (-N=N-) par la présence d'une bande dans le domaine qui le caractérise entre 1481 et 1548 cm^{-1} [42].

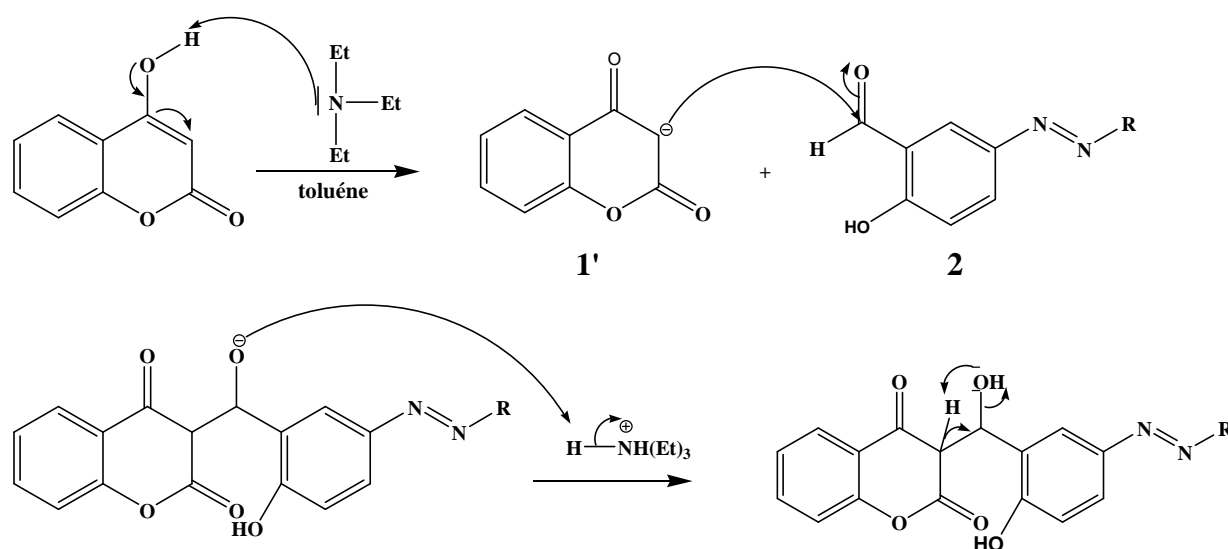
On remarque aussi l'apparition de deux bandes dans le domaine qui caractérise le cycle pyronique entre 1650-1750 cm^{-1} [43]. Ce qui confirme la condensation avec la 4-hydroxycoumarine. Le tableau suivant regroupe les données de cette méthode d'analyse.

Tableau II-7: Spectres IR des composées 4a, 4e et 4h.

Composé	Bandes caractéristiques enregistrées (cm^{-1})
4a	3441 cm^{-1} (O-H); 1658 cm^{-1} (C=O pyronique); 1638 cm^{-1} (C-O pyronique); 1610 cm^{-1} (C=O); 1548 cm^{-1} (N=N).
4e	3450 cm^{-1} (O-H); 1669 cm^{-1} (C=O pyronique); 1638 cm^{-1} (C-O pyronique); 1621 cm^{-1} (C=O); 1481 cm^{-1} (N=N).
4h	3444 cm^{-1} (O-H); 1616 cm^{-1} (C=O pyronique); 1602 cm^{-1} (C-O pyronique); 1571 cm^{-1} (C=O); 1481 cm^{-1} (N=N).

II-7- Mécanisme réactionnel de formation des azo-coumarines 4a, 4e et 4h.

Vu la mobilité du proton de la 4-hydroxycoumarine, celui-ci va être arraché par la base (triéthylamine) formant ainsi l'anion **1'**, qui attaquera le colorant azoïque **2** pour conduire au azo-coumarine **4** après une deuxième attaque de la base.



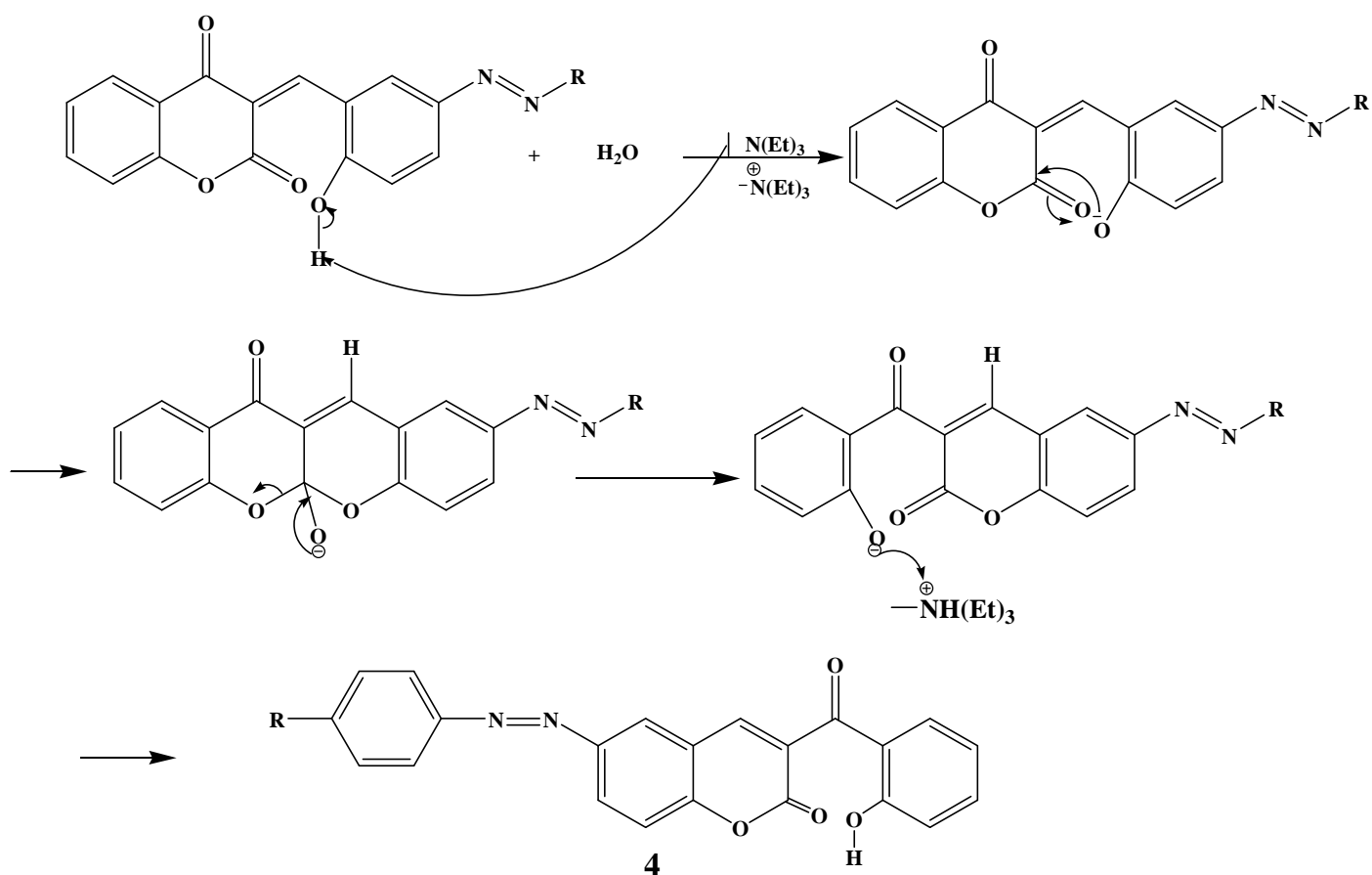


Schéma II-5 : Mécanisme réactionnel de formation des azo-coumarines 4a, 4e et 4h.

Conclusion

La réaction de condensation des sels de diazonium avec le salicylaldéhyde a permis d'obtenir une nouvelle série de colorants **2a-h** qui peuvent avoir un intérêt biologique important.

La réaction de condensation est réalisée dans le but d'avoir des azo-coumarines biologiquement actifs, en faisant réagir la 4-hydroxycoumarine avec les colorants azoïques synthétisés, en présence d'une base faible.

Après identification de nos produits de synthèse en utilisant les différentes techniques d'analyses usuelles (Pf, CCM, UV-Vis et I.R), nous avons procédé à la valorisation de ces derniers en étudiant leurs activités anti-oxydantes qui sera détaillée dans le chapitre suivant.

Chapitre III
Evaluation de l'activité
antioxydante des
azo-coumarines

Introduction

De nos jours, il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires ainsi la dégénérescence du système immunitaire [44].

L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydoréduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Bien que les réactions d'oxydation soient nécessaires à la vie, elles peuvent aussi produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices [45].

En effet, les antioxydants font l'objet de nombreuses recherches, et une nouvelle haleine vers l'exploitation des métabolites secondaires généralement et les polyphénols particulièrement, tant dans la santé et vis-à-vis des maladies pernicieuses (cancer), que dans l'industrie agro-alimentaire. Il existe une multitude de tests pour la mesure de l'activité antioxydante d'un composé, dans ce travail nous sommes intéressés à la méthode la plus courante qui est la méthode DPPH.

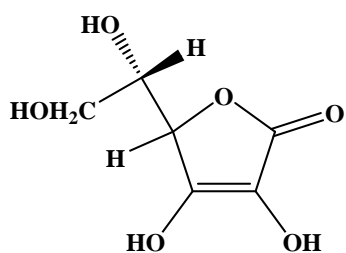
III-1- Définition de radicaux libres

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés, dits célibataires sur l'orbitale externe. Cette caractéristique rend les radicaux libres très électrophiles, car ils vont tenter de ré-apparier leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron. L'espèce agressée est rendue à son tour radicalaire initiant de cette façon un processus de réaction en chaîne [46].

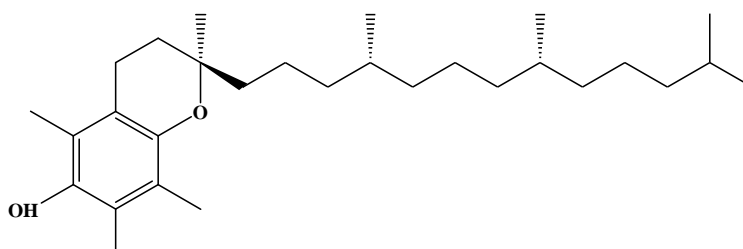
III-2- Définition des antioxydants

Les antioxydants sont des composés très divers qui regroupent des protéines à activité enzymatique et non enzymatique et des petites molécules liposolubles (vitamine E) ou hydrosolubles (vitamine C).

La définition large du terme antioxydant est : « toute substance qui, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation d'un substrat » [47].



Vitamine C (Acide ascorbique)



Vitamine E

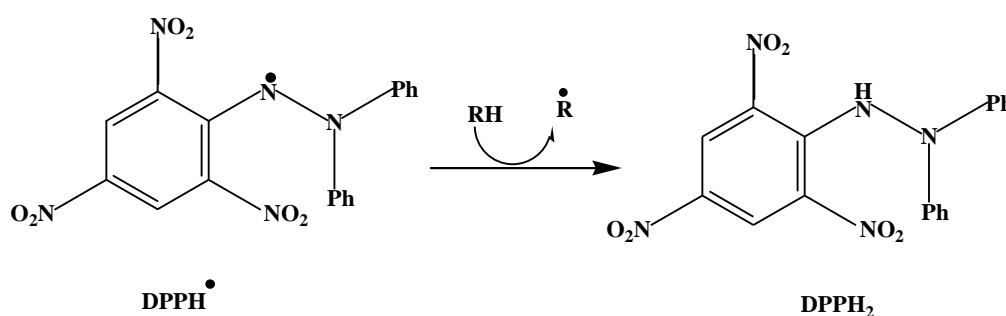
III-3- Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes ROO^\bullet . Par les méthodes ORAC (Oxygène Radical Absorbance Capacity), et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter), les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) ou les radicaux ABTS $^\bullet$ (Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazolint-6-sulfonique). Ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH $^\bullet$ (diphényl-picrylhydrazyle). Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise [48-50].

III-4- Evaluation du pouvoir anti-radicalaire par la méthode de DPPH $^\bullet$

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier l'activité antioxydante des composés phénoliques.

La réduction du radical DPPH $^\bullet$ par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits phénoliques. Le DPPH $^\bullet$ est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie [52]. On peut résumer la réaction comme suit :



III-5- Evaluation de l'activité antioxydante des azo-coumarines 4a, 4e et 4h

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits, la plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel.

Dans notre étude nous avons utilisé la méthode de piégeage du radical libre DPPH[•], cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH[•], l'effet de chaque extrait sur le DPPH[•] est mesuré par la procédure décrite par BENHAMMOU et col. [52].

En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH[•] est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•], qui est proportionnel au pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon [52].

L'évaluation de l'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition, calculée selon la relation suivante :

$$\% \text{ d' inhibition} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} * 100$$

Avec :

A₀ : Absorbance à 517 de la solution de DPPH en absence de l'extrait.

A₁ : Absorbance à 517nm de la solution de DPPH en présence de l'extrait.

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur d'IC₅₀, sachant que la IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH[•].

III-6- Résultats et discussion

Les résultats obtenus par cette étude sont représentés dans les figures ci-dessous, qui représente la densité optique des produits testés ainsi que la référence (l'acide ascorbique), en fonction de la concentration.

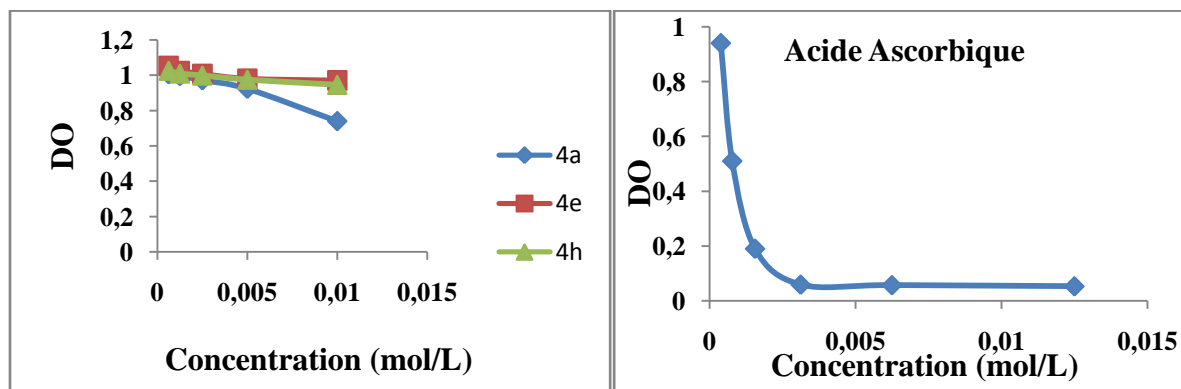


Figure III-1: Densité optique des composés **4a**, **4e** et **4h** et de l'acide ascorbique en fonction de la concentration.

Les figures **III-1** et **III-2** montrent que les produits **4a**, **4e** et **4h** présentent tous une activité antioxydante envers le radical DPPH[•] avec des densités optiques différentes.

Le produit **4a** s'avère le plus actif de cette série. En effet, à la plus grande concentration de la solution (colorant + DPPH[•]) 0,01 mol/l, il présente le pourcentage d'inhibition le plus important avec une valeur de 40 %. Alors que les composés **4e** et **4h** représentent respectivement un pourcentage d'inhibition de 20,49 % et 20,8 % (figure **III-2**).

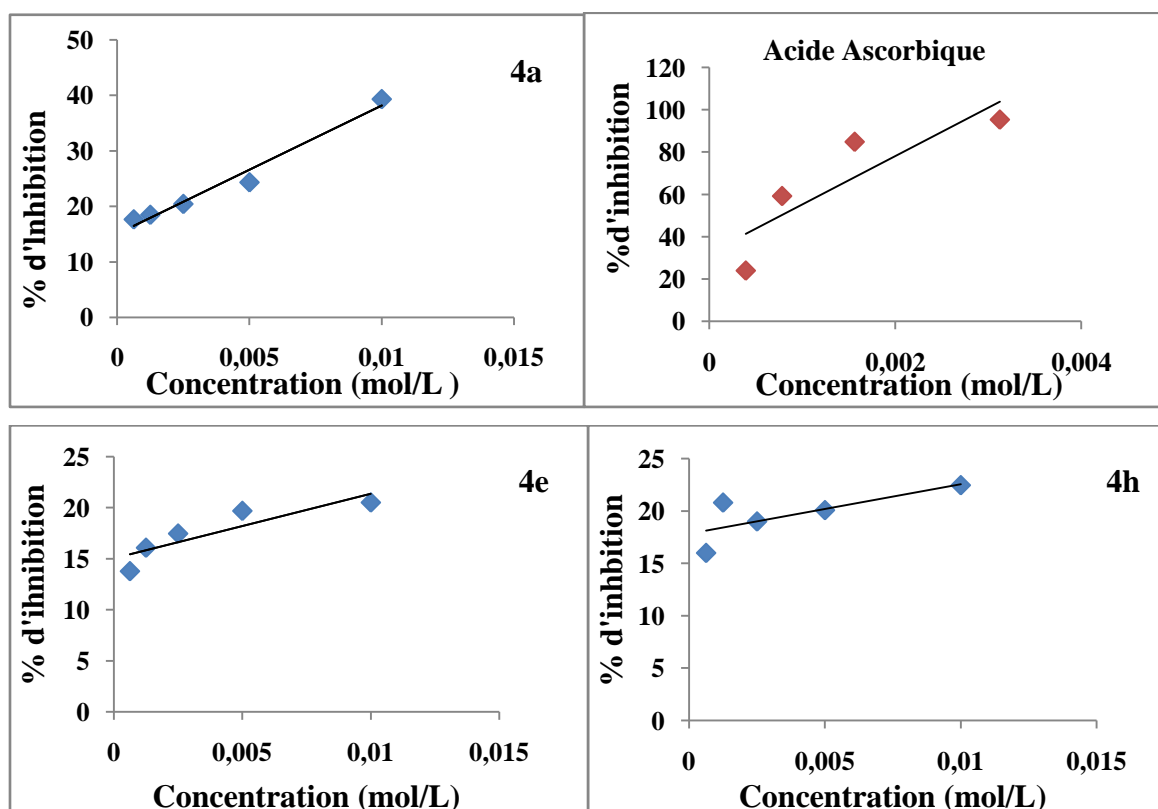


Figure III-2: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH[•] de l'acide ascorbique et des produits **4a**, **4e** et **4h** en fonction de la concentration.

Les pourcentages du DPPH[•] résiduels en fonction des concentrations des échantillons, nous permettent d'obtenir la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration de DPPH[•] initiale à 50%. Cette valeur est appelée la concentration efficace EC50 et parfois notée IC50 (concentration inhibitrice minimale). Plus cette valeur d'EC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est importante. La concentration inhibitrice minimale (IC50) est estimée par extrapolation à 50% d'inhibition en traçant la droite % inhibition en fonction de la concentration.

Les résultats sont donnés dans la figure suivante :

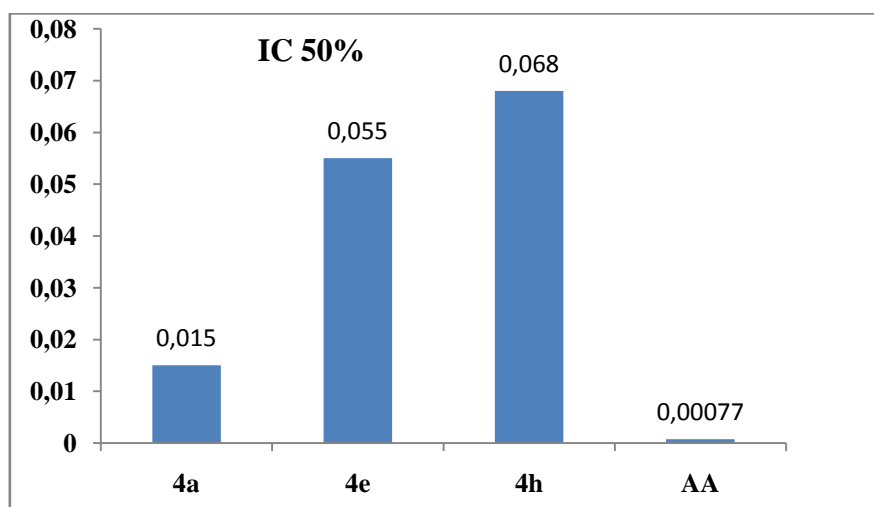


Figure III-3: Valeur d'IC 50% des composés **4a**, **4e**, **4h** et **AA**.

Notons que, les IC 50% des produits **4a**, **4e** et **4h** sont de 0,015 mol/l, 0,055 mol/l et 0,068 mol/l respectivement, et celle de l'acide ascorbique est de 0,00077 mol/l.

De là, nous pourrions conclure que tous les composés possèdent une activité antioxydante mais très inférieure à l'activité de la référence utilisée (l'acide ascorbique).

III-7- Conclusion

Dans le cadre de ce travail, nous avons évalué l'activité biologique de quelques composés azo-coumariniques synthétisés par l'étude de l'activité antioxydante.

L'activité antioxydante de ces composés a été évaluée par la méthode de piégeage des radicaux DPPH[•]. Les résultats obtenus ont montré que la réduction de DPPH[•] est enregistré pour tous les composés avec des IC 50% différentes, dont le composé **4a** présente la concentration inhibitrice minimal la plus basse, mais qui restent faibles par rapport à la référence utilisée.

Partie expérimentale

IV-1- Appareillages

Au cours de ce travail l'appareillage suivant a été utilisé :

IV-1-1- Point de fusion

Les points de fusion ont été déterminés par un appareil SPM30 équipé d'un microscope, réalisés au laboratoire de chimie pharmaceutique du département de chimie de L'UMMTO.

IV-1-2- Chromatographie sur couche mince

L'étude par chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée dans un éluant constitué d'un mélange de solvants chloroforme-méthanol, et les produits ont été dissouts dans le méthanol. Nous avons utilisé des plaques en aluminium recouverte de gel de silice 60 F254 (épaisseur : 0,2 mm). La révélation des taches a été faite avec l'iode.

IV-1-3- Spectrométrie UV-Visible

Les mesures par spectrophotométrie UV-Visible ont été réalisées dans le laboratoire de LPCM de l'UMMTO. Les bandes d'absorption ont été enregistrées sur un appareil de marque ThermoScientific EVOLUTION 220.

IV-1-4- Spectrométrie Infra Rouge

Les spectres IR des composés synthétisés ont été enregistrés sur un spectrophotomètre de marque Perkin Elmer FT-IR Spectrometer Spectrum two, à l'UMMTO en utilisant des pastilles en KBr, et à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) de modèle JASCO FT/IR- 4200, ATR PRO450-S, à l'université de Bouira.

IV-2- Matériels

- Les solvants utilisés pour l'analyse en CCM, chloroforme et éthanol ont été apportés de MerckEuroLab et de Sigma Aldrich de degré de pureté 99% - 99,6% et 99,7% respectivement.
- Les solvants utilisés pour l'analyse en spectroscopie UV-Vis : l'acétonitrile et le DMSO ont été apportés de Sigma Aldrich de degré de pureté 99,5% et 99,7% respectivement.
- Les solvants utilisés pour la recristallisation et le lavage : l'éthanol, l'éther de pétrole et l'éther ont été apportés de Sigma-Aldrich de degré de pureté 96%, 95% et 95% respectivement.
- Le toluène et la triéthylamine utilisés ont été apportés de Sigma Aldrich de degré de pureté 96%.
- Les amines sont commerciales et la 4-hydroxycoumarine utilisée a été apporté par FLUKA.

.- Les réactifs : acides chlorhydriques, nitrite de sodium et l'hydroxyde de sodium ont été apportés de Panreac et de Fluka Analytique Sigma Aldrich respectivement, de degrés de pureté de 98%.

IV-3- Manipulation

IV-3-1- Réactions de salicylaldéhyde sur les amines aromatiques

Le mode opératoire utilisé pour la synthèse des colorants azoïques a été décrit dans la littérature [53].

Le sel de diazonium a été préparé en mélangeant les deux solutions préparées séparément et refroidit (**1 et 2**).

Solution 1 : $6,6 \times 10^{-3}$ mole de l'amine aromatique a été dissoute dans 3 ml d'eau distillée au quel 30 gouttes de l'acide chlorhydrique concentré ont été ajouté, la solution a été introduite dans un bain de glace (0° - 5° C) sous agitation magnétique.

Solution 2 : une solution de NaNO_2 (10%) a été préparée et refroidi.

Après formation du sel de diazonium, une solution de salicylaldéhyde ($6,6 \times 10^{-3}$ mole dans 3 ml de NaOH 10% et 6 ml d'eau distillée) a été ajoutée goutte à goutte pendant 1 heure sous agitation magnétique dans un bain de glace.

Une solution de NaOH (30%) a été ajouté jusqu'à PH= 8-10, la réaction a été porté à l'ambiante et agité pendant 3 heure.

Les solides obtenus ont été récupérés par filtration ensuite recristallisés dans l'éthanol.

IV-3-2- Réactions de condensation des azo-colorants avec la 4-hydroxycoumarine

Dans un ballon de 250 ml, on a fait réagir 1 mmoles de la 4-hydroxycoumarine avec 1 mmoles de l'azo-colorant en présence d'une base organique faible qui est la triéthylamine (20 gouttes) au reflux du toluène.

La réaction a été suivie par CCM pour déterminer sa durée, celle-ci varie selon le colorant utilisé (plus la masse molaire du colorant est grande, plus la durée de la réaction augmente).

Après quelques min de chauffage, il se forme un précipité qui change de couleur au cours de la réaction.

Le solide formé a été récupéré par filtration et lavé plusieurs fois avec l'éther de pétrole. La pureté du produit formé a été contrôlée par CCM qui a donné une seule tache différente de celle du produit de départ.

IV-3-3- Evaluation de l'activité antioxydante des azo-coumarines

La solution de DPPH a été préparée en solubilisant 4 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol. Le blanc a été préparé à partir de 2 ml de la solution de DPPH et 40 µl de DMSO.

Un volume de 40 µl, de chaque échantillon (**4a**, **4e** et **4h**) de chacune des concentrations 0,01 ; 0,005 ; 0,0025 ; 0,00125 et 0,000625 mol/l, est ajouté à 2 ml d'une solution du radical DPPH. Le mélange est agité et laissé pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière. La mesure de l'absorbance a été faite à 517 nm.

Les résultats obtenus pour chaque produit testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique pris comme control positif.

Conclusion générale

Au terme de ce mémoire, le but que nous avons fixé, à savoir la maîtrise des méthodes de synthèse en chimie organique, a été atteinte. Nous avons synthétisé et caractérisé de nouveaux colorants organiques de type pyronique.

Ainsi, nous avons focalisé nos efforts sur la synthèse et la caractérisation des azo-colorants bioactifs. Les résultats essentiels obtenus ont été analysés comme suit :

Dans un premier temps, nous avons constaté que, la réaction de copulation des sels de diazonium avec le salicylaldéhyde en milieu basique a donné naissance à des colorants dits, azoïques avec des différents rendements.

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à l'étude de la réaction de condensation de quelques colorants synthétisés (**2a**, **2e** et **2h**) avec la 4-hydroxycoumarine au reflux de toluène et en présence de la triéthylamine comme catalyseur, dans le but d'avoir des azo-coumarines biologiquement actifs (**4a**, **4e** et **4h**).

La caractérisation des composés synthétisés en utilisant la combinaison de plusieurs méthodes (CCM, Pf, IR et UV-Visible), a permis de révéler les structures de ces composés d'une part et de compléter notre formation dans le domaine d'une autre part.

En analyse UV-Vis nous avons constaté qu'il ya formation d'une bande d'absorption correspondante à la fonction azo ($N=N$) aux alentours de 300 nm.

En analyse IR nous avons confirmé la présence de la fonction azo aux alentours de 1400 cm^{-1} , et la formation de la fonction ($C=O$ pyronique) aux alentours de 1600 cm^{-1} .

L'évaluation de l'activité biologique des composés **4a**, **4e** et **4h** a été faite par l'étude de l'activité antioxydante en utilisant la méthode du piégeage du radical DPPH. Les résultats ont montrés que le composé **4a** s'avère le plus actif avec une IC 50% de 0.015 mol/l mais qui reste faible par rapport à la référence acide ascorbique 0.00077 mol/l .

Les produits **4a**, **4e** et **4h** feront l'objet d'une étude particulière. Ainsi pour la détermination de leurs structures nous ferons appel à d'autres techniques d'analyses (RMN du proton et du carbone-13, spectrométrie de masse, analyse élémentaire).

Références bibliographiques

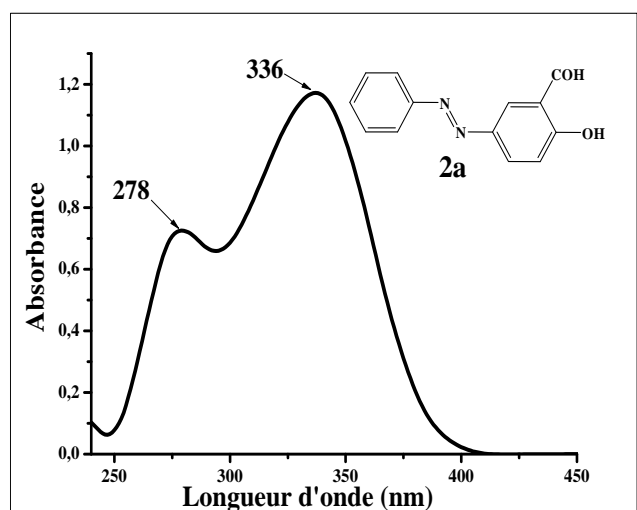
Références bibliographiques

- [1] Benosmane A., « Mémoire de magister en chimie université mentouri Constantine », 2009.
- [2] Abrahart E.N., «Dyes and their intermediates, Ed Edward Arnold», 1987.
- [3] Venkataramam K., « The chemistry of synthetic dyes», Vol.3, 1987.
- [4] Mili A., « Mémoire de magister en chimie université mentouri Constantine», 2009.
- [5] Sudhir kumar P. and al., « synthesis and antimicrobial evaluation of some novel 4-hydroxy coumarin derivatives bearing azo moiety », 6(2), 147, 2013.
- [6] Djemoui DJ., « Mémoire de master académique en chimie université kasdi merbah Ouargla», 2012.
- [7] Bouguerria H., « Mémoire de magister en chimie université mentouri Constantine», 2007.
- [8] Batra N., Devi J., « Journal of chemical and pharmaceutical research», 7(2), 183, 2015.
- [9] « Tartrazine » archive dans la base de données hazardous substances data bank, consulté le 27 septembre 2012.
- [10] Chetioui S., «Mémoire de magister en chimie université mentouri Constantine», 2010.
- [11] Fennerty M.B., «Gastrointest endosc», 47(3), 313, 1998.
- [12] Papazian A. and al., «Clin biol», 9, 16, 1985.
- [13] « Amaranth » sur Chem ID plus, consulté le 12 novembre 2009.
- [14] Azorubine sante-médecine. Journal des femmes.com.
- [15] Wu L. and al., « The structure and pharmacological functions of coumarins and their derivatives,16,4236,2009.
- [16] Tebakh C., Imerzoukene F., «Mémoire de master en chimie pharmaceutique a l'UMMTO», 2009.
- [17] Fylaktakidou K. and al., «Nicolaidis D. N. Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory-antioxidant activities», 10, 3813, 2004.
- [18] Curini M.and al., «Curr. Med. Chem. », 13, 199, 2006.
- [19] Cravotto G.and al., «An asymmetric approach to coumarin anticoagulants via hetero-diels-alder cycloaddition tetrahedron asymmetry», 12, 707, 2001.
- [20] O'neal MA., Griffin AC., « Cancer Res. » 17(9), 6, 1957.
- [21] Stefan ova T. and al., «Enhanced resistance to salmonella enteric sero var typhimurium infection in mice after coumarin treatment microbes and infection», 9, 7, 2007.
- [22] Khan I. and al., «Synthesis and biological evaluation of novel angularly fused polycyclic coumarins»; 15, 3584, 2005.

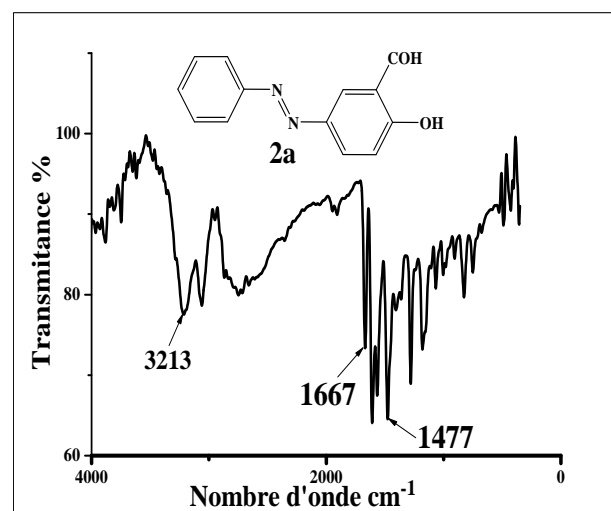
- [23] Redoyal L. and al., «Bioorganic and medicinal chemistry letters fitoterapa», 15, 4447, 2005.
- [24] Olimpo G. and al., «Synthesis of Coumarin derivatives as fluorescent probes for membrane and cell dynamics studies», 76, 79, 2014.
- [25] Zahradnik M., «The production and application of fluorescent brightening agents», 1992.
- [26] Kuznetsova N. A., Kaliya O. L., « Russ. Chem. Rev. », 61(7), 1992.
- [27] Murray R. and al., «The natural coumarins occurrence», 1982.
- [28] Nowakowska M. and al., «Inclusion phenom Macrocyclic chem. », 40, 213, 2001.
- [29] Lettre d'information de l'INRACQ, institut de recherches appliquées au contrôle de la qualité, 2011.
- [30] Yezza S., Bouchema S., «Projet de fin d'études en biologie universite kasdi merbah, Ouargla», 2013.
- [31] Sengupta S., Sadhukhan S. K, Org. Synth.; 10, 263, 2004.
- [32] Naqui J. S. and al., «Synthesis and characterization of schiff's bases incorporated with azo linkage and benzothiazole moiety», 2394, 2016.
- [33] Edward G. and al., «Synthesis and characterization of new azocoumarines dyes», 73, 1454, 2011.
- [34] Chandrashekhar P. and al., «Synthesis, characterization, and biological activity of 4-(2-Hydroxy-5-(aryl-diazenyl) phenyl)-6-(aryl) pyrimidin-2-ols derivatives», 10, 2013.
- [35] Asieh y. and al., «Synthesis of some unsymmetrical new schiff bases from azo dyes», 453, 2013.
- [36] Rezaeian K., Khanmohammadi H., «Spectrochim acta», 31, 133, 2014.
- [37] Reena V. and al., «Fluor chem. », 89, 153, 2013.
- [38] Faraji kamazani S. and al., «Highly efficient synthesis of new 2H-chromene dyes using Cu-SBA-15», 32(5), 2543, 2016.
- [39] Panitsiri A. and al., «Synthesis and anion recognition studies of novel bis (4-hydroxycoumarin) methane azo dyes», 14, 2015.
- [40] Nguyen tien cong, Train thi duong, Nguyen anh tien, UDC, 1, 547, 2014.
- [41] Harshal A. and al., «Synthesis, characterization and testing of biological activity of some novel chalcones derivatives of coumarin», 2, 621, 2013.
- [42] Hawaiz F. and al., 9, 1613, 2012.
- [43] Sudhir Kumar P. and al., «Synthesis and antimicrobial evaluation of some novel 4-hydroxy coumarin derivatives bearing azo moiety», 6, 147, 2013.
- [44] Guinebert E. et col., «Mesure de la résistance aux radicaux libres», 554, 2005.

- [45] Delattre J. et col., «Radicaux libres et stress oxydant, aspect biologiques et pathologiques», 2005.
- [46] Dacosta Y., «Les phytonutriments bioactifs», 669,2003.
- [47] Tiwari A. K., «Antioxydants new-generation therapeutic base for polygenic disorders, Curr. Sci. », 86 (8), 1092, 2004.
- [48] Ammar R. and al., «Antioxydant and freeradical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of rhamnus alaternus», 116, 258, 2009.
- [49] Attou A. «Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante ruta chalepensis (Fidjel) de la région d'ain témouchent», 47, 2011.
- [50] Benzie I. F. F., Strain, J. J., «The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power the frap assay», 239, 70, 1996.
- [51] Al-Ayed A. S., «Synthesis of new substituted chromen [4, 3-c] pyrazol-4-ones and their antioxidant activities molecules», 16, 10292, 2011.
- [52] Mohemmedi Z., «mémoire de magister université abou bakr belkaid, Tlemcen», 2006.
- [53] Kamazani S. ; Soltani S. ; Zonouzi A., 32, 2543, 2016.

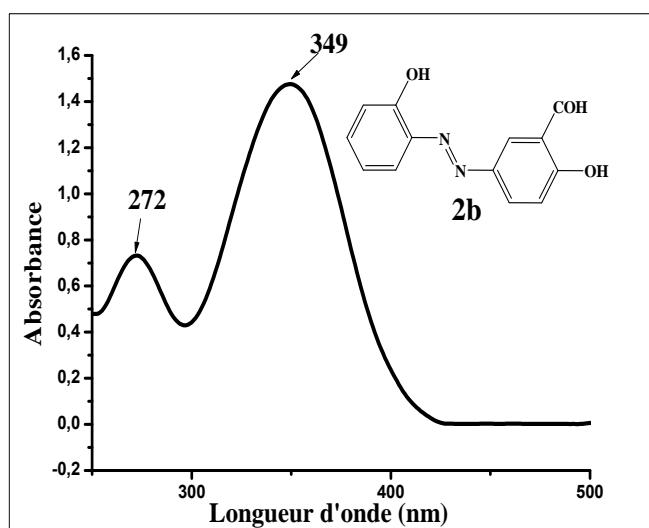
Annexes



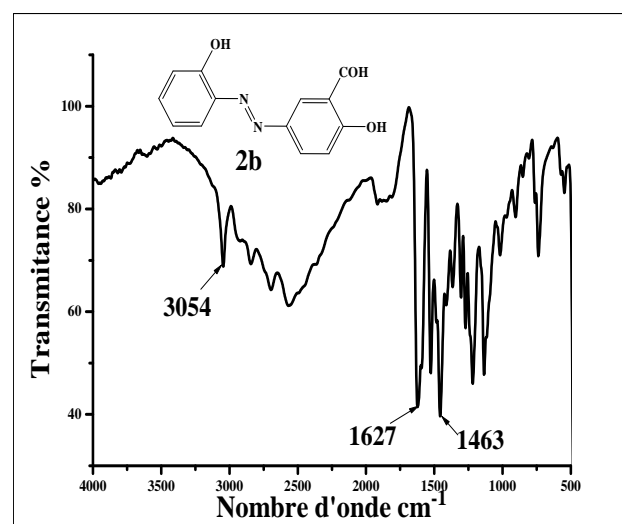
Spectre UV-Vis du composé 2a



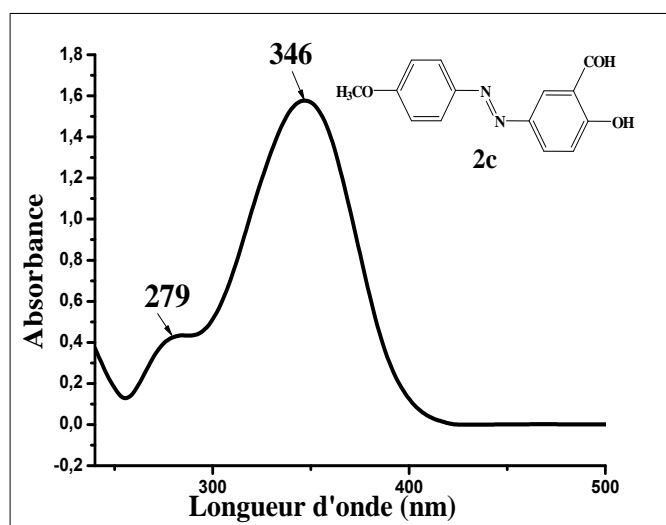
Spectre IR du composé 2a



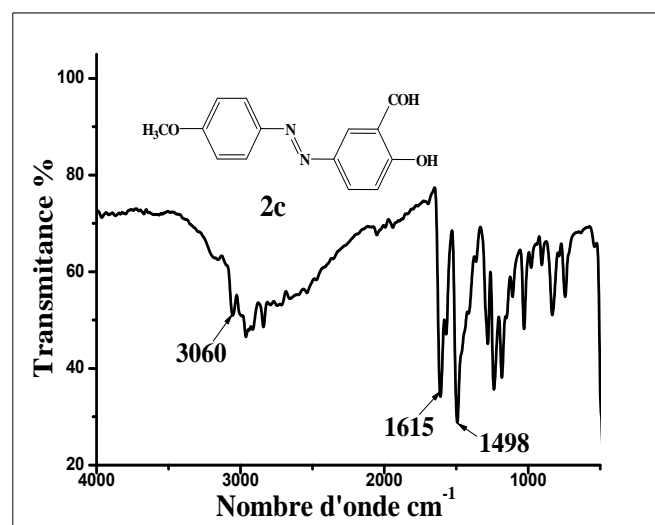
Spectre UV-Vis du composé 2b



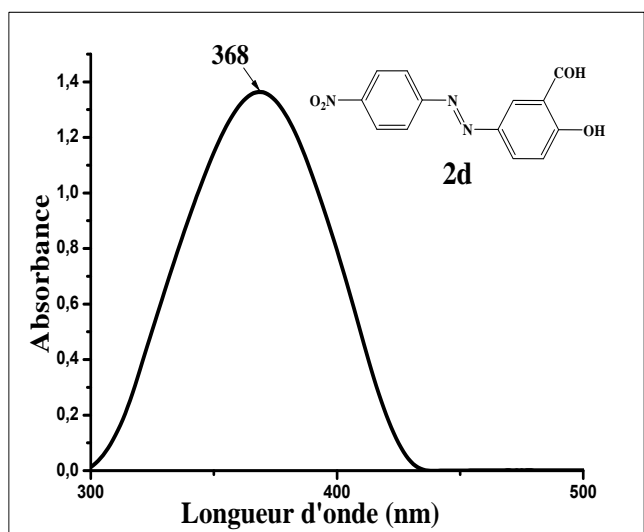
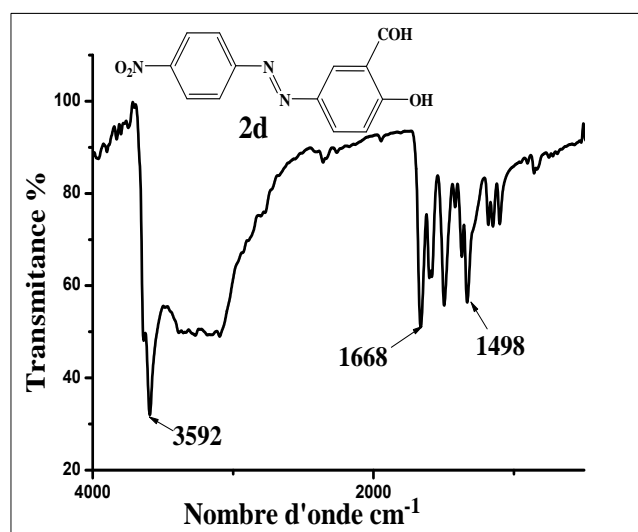
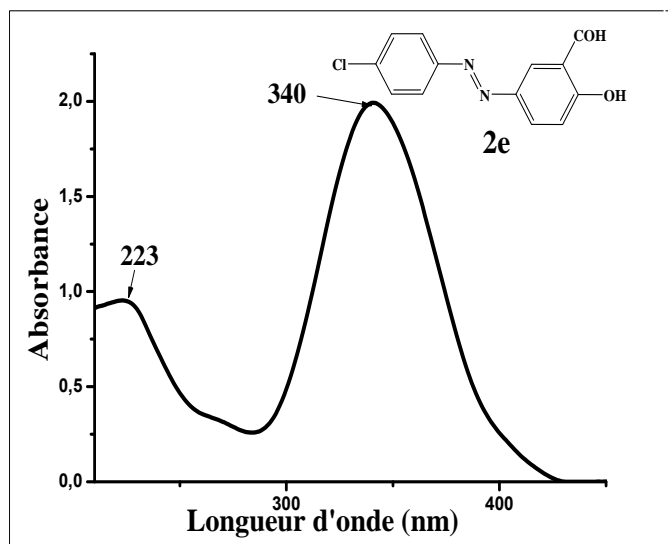
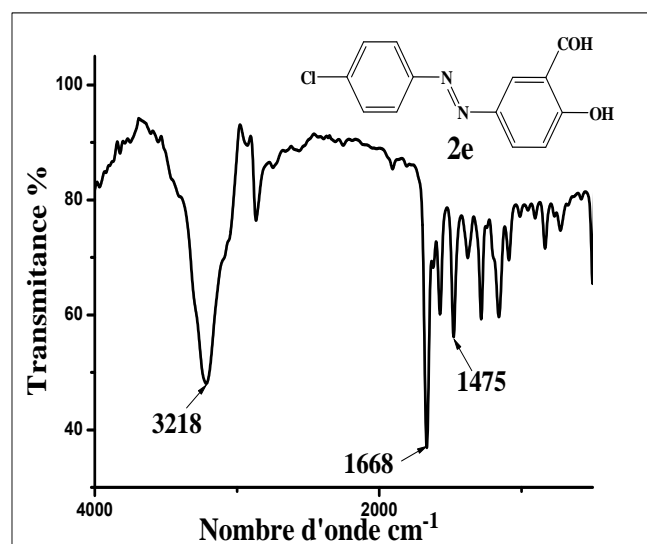
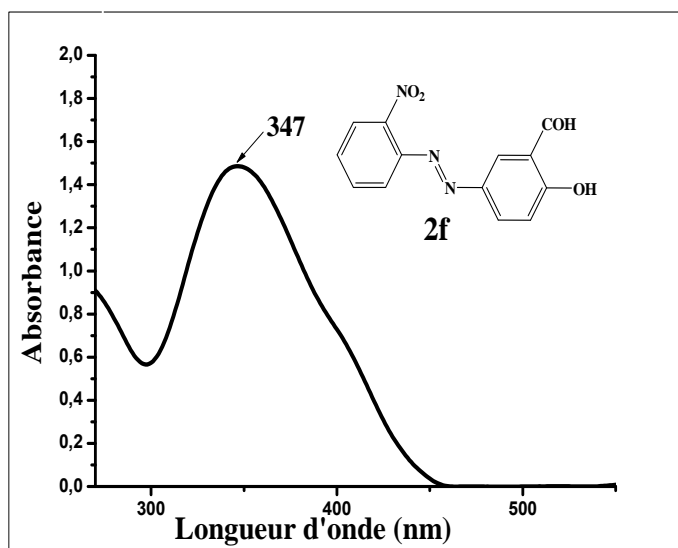
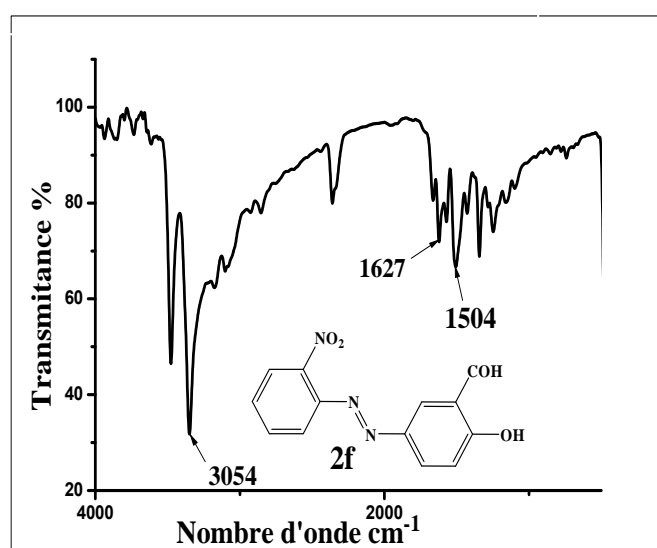
Spectre IR du composé 2b

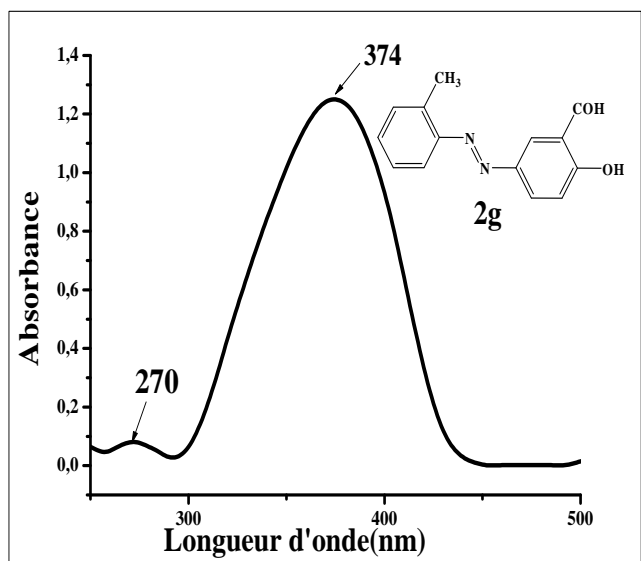
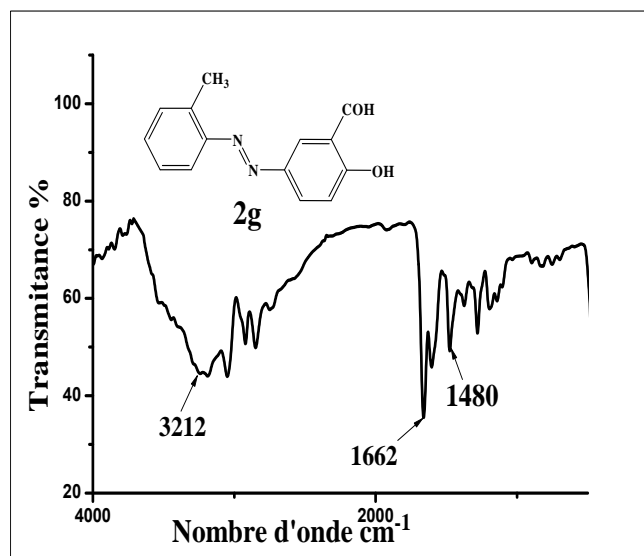
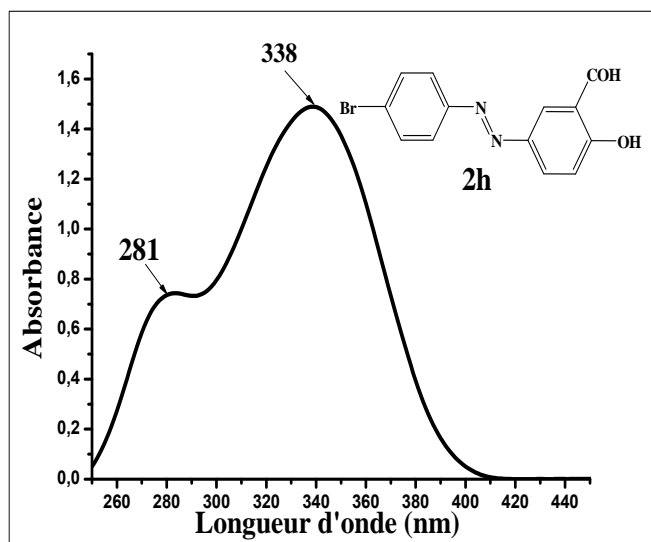
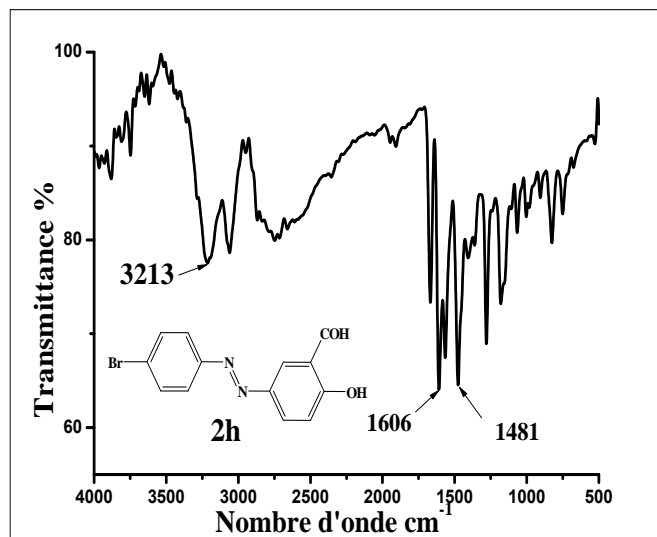
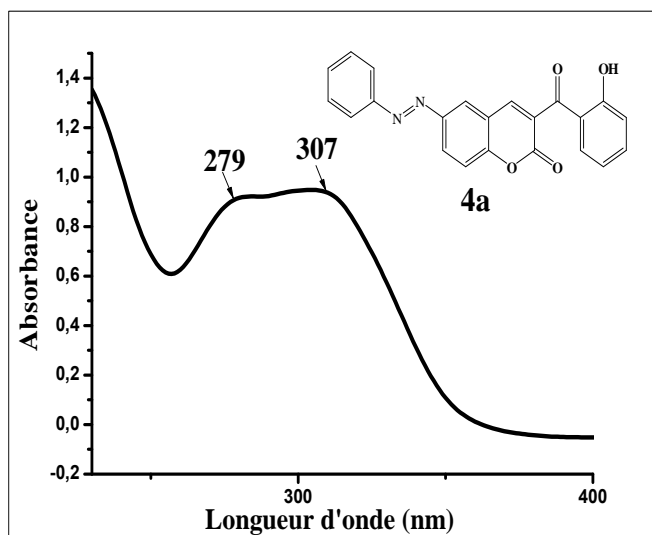
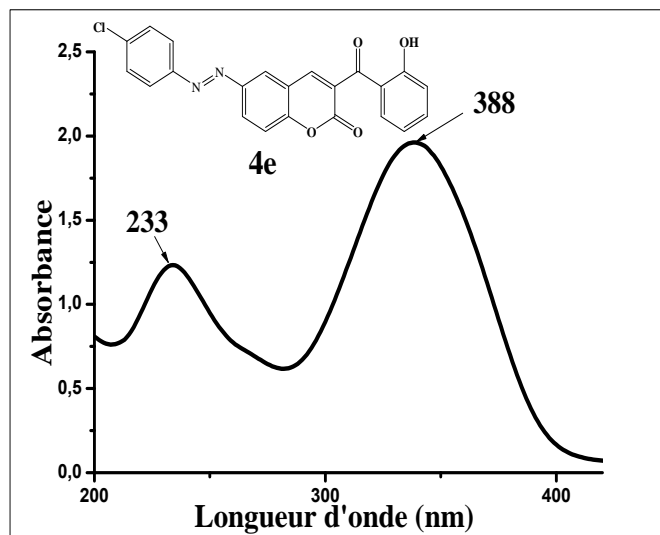


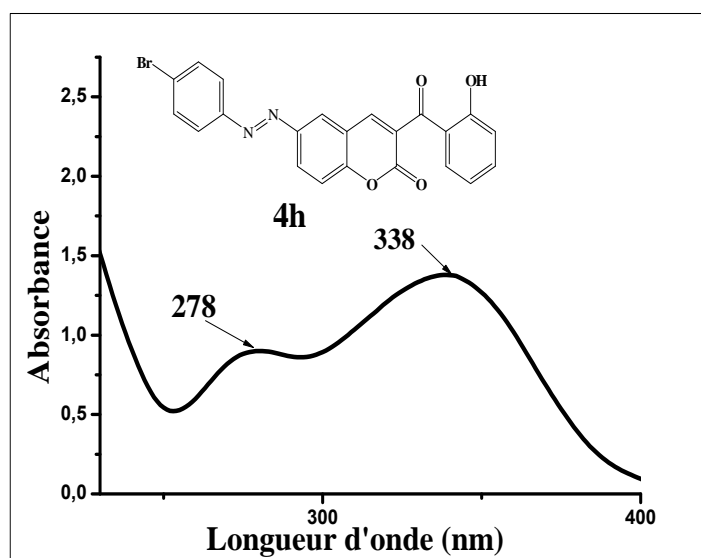
Spectre UV-Vis du composé 2c



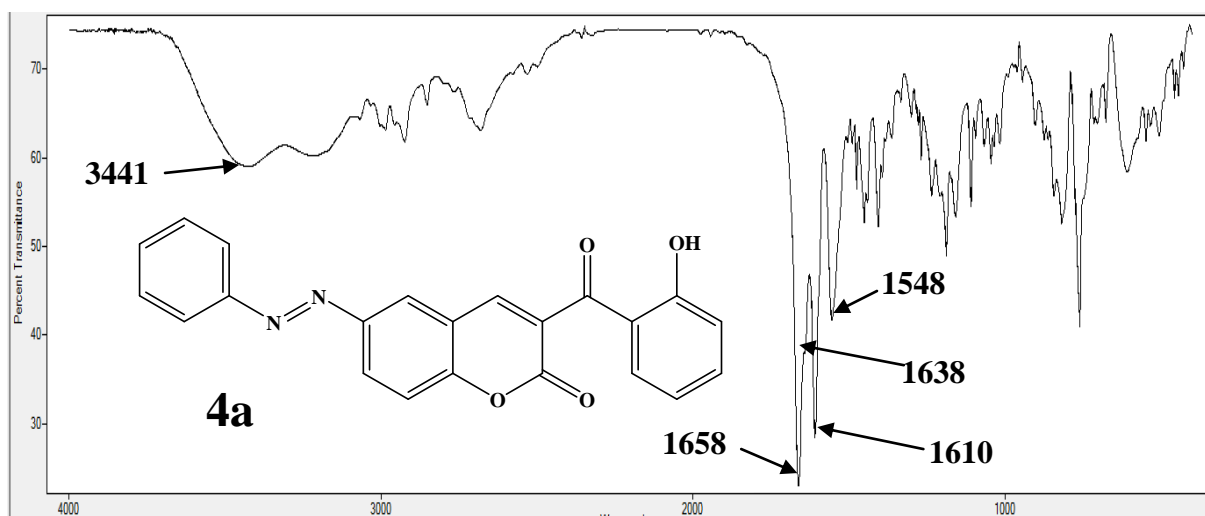
Spectre IR du composé 2c

Spectre UV-Vis du composé **2d**Spectre IR du composé **2d**Spectre UV-Vis du composé **2e**Spectre IR du composé **2e**Spectre UV-Vis du composé **2f**Spectre IR du composé **2f**

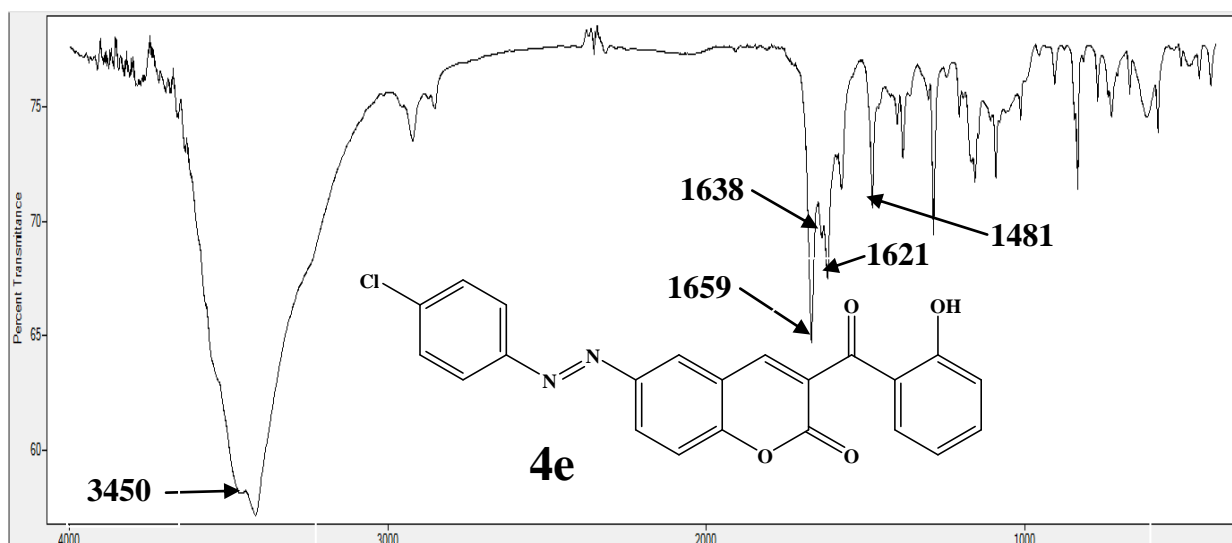
Spectre UV-Vis du composé **2g**Spectre IR du composé **2g**Spectre UV-Vis du composé **2h**Spectre IR du composé **2h**Spectre UV-Vis du composé **4a**Spectre UV-Vis du composé **4e**



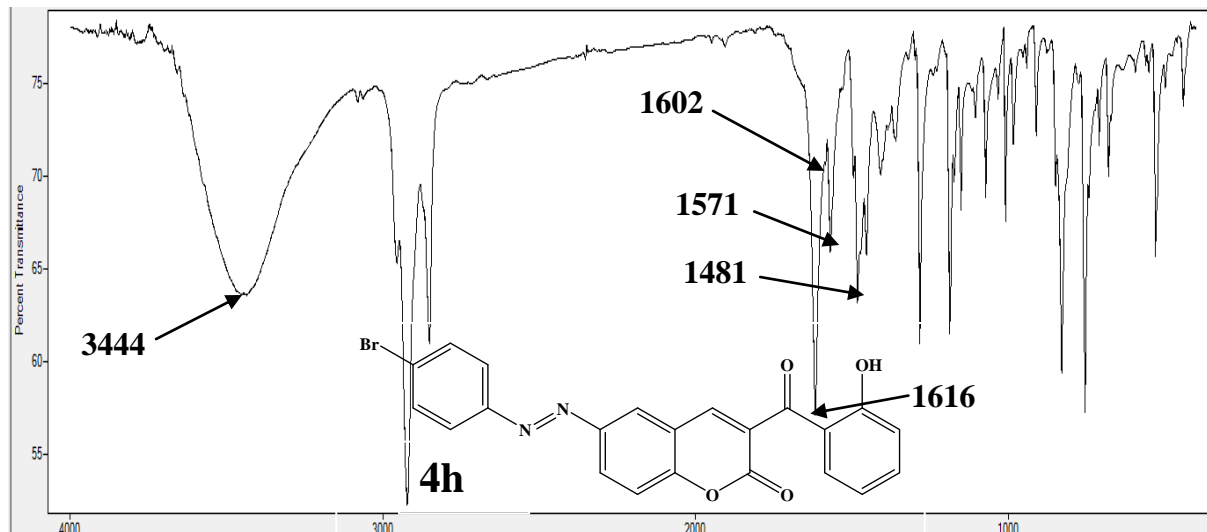
Spectre UV-Vis du composé 4h



Spectre IR du composé 4a

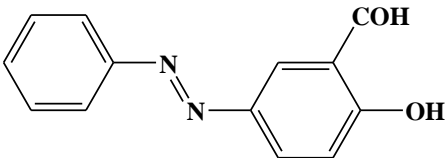
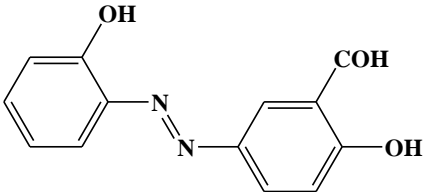
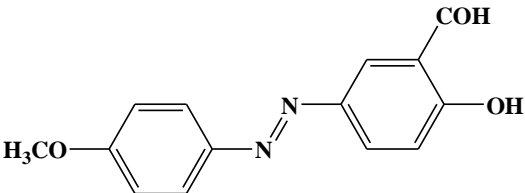
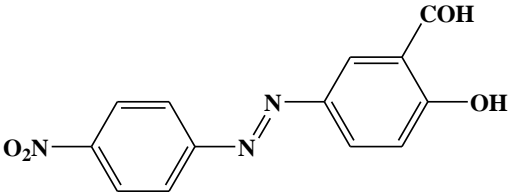
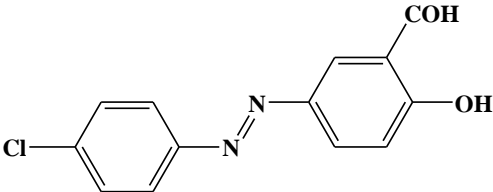
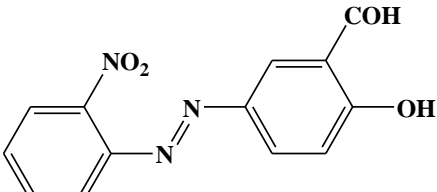


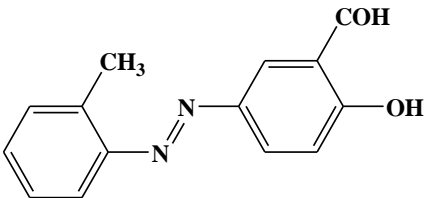
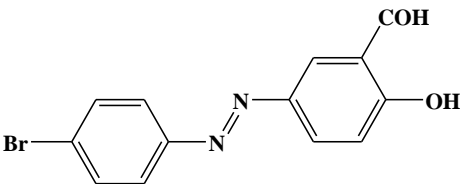
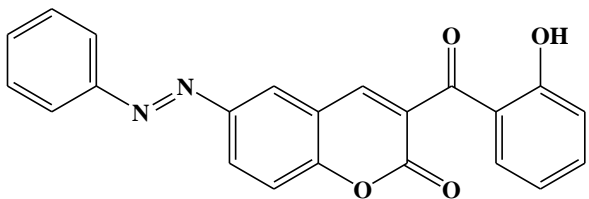
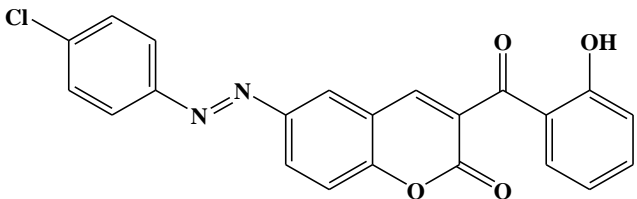
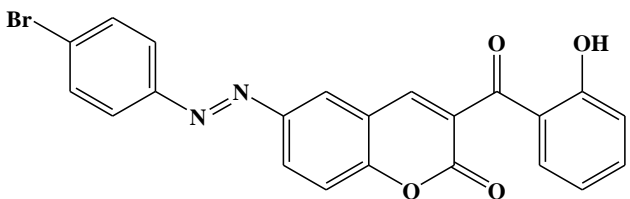
Spectre IR du composé 4e



Spectre IR du composé 4h

Récapitulatif des molécules synthétisées

Notation	Formule	Nom chimique	Masse molaire (g/mol)
2a		2-hydroxy-5-(phenyldiazenyl) benzaldehyde	226
2b		2-hydroxy-5-[(2- hydroxyphenyl) diazenyl] benzaldehyde	242
2c		2-hydroxy-5-[(4- methoxyphenyl) diazenyl] benzaldehyde	256
2d		2-hydroxy-5-[(4-nitrophenyl) diazenyl] benzaldehyde	271
2e		5-[(4-chlorophenyl) diazenyl]- 2-hydroxybenzaldehyde	260.5
2f		2-hydroxy-5-[(2-nitrophenyl) diazenyl] benzaldehyde	271

2g		2-hydroxy-5-[(2-methylphenyl) diazenyl] benzaldéhyde	240
2h		5-[(4-bromophenyl) diazenyl]-2-hydroxybenzaldehyde	305
4a		3-(2-hydroxybenzoyl)-7-(phenyldiazenyl)-2H-chromen-2-one	370
4e		7-[(4-chlorophenyl) diazenyl]-3-(2-hydroxybenzoyl)-2H-chromen-2-one	405.5
4h		7-[(4-bromophenyl) diazenyl]-3-(2-hydroxybenzoyl)-2H-chromen-2-one	450

Résumé

La synthèse des azo-coumarines a attiré l'attention des chimistes pour plusieurs années, car un grand nombre de produits naturels contient ce noyau hétérocyclique.

Dans notre travail, nous avons décrit une stratégie simple pour la synthèse et la caractérisation d'une série de colorants azoïques dérivés de salicylaldehyde, dans des conditions modérées en utilisant l'aniline et ses dérivés en tant que réactifs principaux.

La synthèse est réalisée en deux principales étapes, la diazotation d'une amine primaire aromatique suivi d'une copulation avec le salicylaldehyde.

Les composés de la série synthétisée ont été condensés avec la 4-hydroxycoumarine au reflux du toluène et en présence de la triéthylamine comme catalyseur, dans le cadre de la recherche de nouvelles molécules azo-coumarines biologiquement actives. Les produits synthétisés ont été identifiés par différentes techniques d'analyses usuelles (Pf, CCM, UV-Vis et I.R).

L'étude du pouvoir antioxydant des composés obtenus a été réalisée par la méthode de réduction du radical DPPH[•]. Les résultats obtenus ont montrés que tous les produits présentent une activité antioxydante mais qui varie d'un composé à l'autre.

Mots clés: synthèse, condensation, colorants azoïques, salicylaldehyde, 4- hydroxycoumarine, activité antioxydante.

Abstract

The synthesis of azo-coumarin has attracted the attention of chemists for several years, as a large number of natural products contain this heterocyclic ring.

In our work we have described a simple strategy for the synthesis and characterization of a series of azo dyes derived from salicylaldehyde, under moderate conditions using aniline and its derivatives as main reagents.

The synthesis is carried out in two main steps, diazotization of an aromatic primary amine followed by coupling with salicylaldehyde.

The compounds of the synthesized series were condensed with 4-hydroxycoumarin under reflux of toluene and in the presence of triethylamine as catalyst, in the context of the search for novel biologically active azo-coumarin molecules. The synthesized products have been identified by various usual analytical techniques (Pf, CCM, UV-Vis and I.R).

The study of the antioxidant power of the compounds obtained was carried out by the method of reduction of the DPPH[•] radical. The results obtained showed that the entire products exhibit an antioxidant activity but which varies from one compound to another.

Keywords: synthesis, condensation, azo dyes, salicylaldehyde, 4-hydroxycoumarin, antioxidant activity.

ملخص

لقد جذب تركيب الأزو كومارين انتباه الكيميائيين لسنوات عديدة، وذلك لأن العديد من المنتجات الطبيعية تحتوي على هذه الحلقة الغير متجانسة.

في عملنا، رسمنا استراتيجية بسيطة لتركيب وتوصيف سلسلة من الأصباغ مشتقات ساليسيل الدهيد تحت ظروف معتدلة باستخدام الأنيلين ومشتقاته ككواشف رئيسية.

يتم تنفيذ التركيب في خطوتين أساسيتين، تدييز على أمين أساسي عطري تليها اقتران مع ساليسيل الدهيد. المركبات المستخرجة تم تكتيفها مع 4- هيدروكسي كومارين في جزر التولوان وفي وجود ثلاثي الإيثيلامين كمحفز، وذلك كجزء من عملية البحث عن جزيئات جديدة نشيطة بيولوجيا الأزو كومارين. وقد تم التعرف على المركبات المستخرجة باستعمال تقنيات مختلفة من التحليل التقليدي (Pf، CCM، UV-vis و I.R).

تم إجراء دراسة النشاط المضادة للأكسدة للمركبات لمعرفة ايهم لديه هذه الخاصية وقد أظهرت النتائج أن جميع المركبات لديها نشاط مضاد للأكسدة ولكن يختلف من مركب لآخر.

كلمات مفتاحية: تنفيذ، تكتيف، الأصباغ، ساليسيل الدهيد، 4- هيدروكسي كومارين، النشاط المضاد للأكسدة.