

N° d'ordre :

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

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI 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 pouvoir antioxydant de quelques ligands de
type hydrazone**

Présenté par : NOM : OUMELLAL PRENOM : Dehbia

Soutenu publiquement, le 11 / 07 / 2019, *devant le Jury composé de :*

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>	<i>Affiliation</i>	<i>Qualité</i>
<i>M^{me} IGHILHRIZ Karima</i>	<i>MCB</i>	<i>UMMTO</i>	<i>Présidente</i>
<i>M^{me} FELLAH Amel</i>	<i>MAA</i>	<i>UMMTO</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>M^{me} KICHOU Nora</i>	<i>MCA</i>	<i>UMMTO</i>	<i>Promotrice</i>

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance.

Grâce à vous je suis arrivée à devenir ce que je suis maintenant Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder la santé et une longue vie

Mes très chères sœurs Maïssa, Youssa, Hayet et Céline et mon cher frère Salim. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Mon précieux ami Atrezki pour sa patience, son aide et son soutien. .

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

Remerciements

Ce travail a été réalisé au laboratoire de chimie physique du département de chimie de la faculté des sciences de l'U.M.M.T.O.

Je remercie en premier lieu Dieu tout en puissant de m'avoir accordé la puissance et la volanté d'achever ce travail.

Mes sincères remerciements vont à ma promotrice **M^{me} KICHOU Nora** Maître de Conférences classe A à l'UMMTO, pour son engagement à mes côtés, ses conseils précieux et sa très grande disponibilité tout au long de ce mémoire.

Je tiens à remercier avec plus gratitude **M^{me} IGHIL AHRIZ Karima** Maître de Conférences classe B à l'UMMTO, qui m'a fait l'honneur de prendre connaissance de ce travail et de présider le jury.

Je tiens à remercier également **M^{me} FELLAH Amel** Maitre Assistant classe A d'avoir bien voulu examiner ce travail. Trouvez ici Madame, l'expression de ma profonde reconnaissance.

Mes remerciements vont aussi à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin pour leur conseil, leur suggestion et pour leurs encouragements à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Chapitre I : synthèse bibliographique

I. Les hydrazones.....	3
I.1. Définition	3
I.2. Synthèse des hydrazones.....	4
I.3. Stabilité des hydrazones	5
I.4. Principales activités biologiques des hydrazones	5
I.4.1. Activité antiparasitaire	5
I.4.2. Activité Anti-tumorale	6
I.4.3. Activité antimicrobienne.....	7
I.4.4. Activité Anti-oxydante	8
I.4.5. Activité anti-inflammatoire.....	9
I.4.6. Activité Anti- dépression	9
II. La chimie de coordination	10
II.1. Complexes	10
II.2. Ligand	10
II.3. Métaux de transition	11
II.3.1. Cobalt.....	11

II.3.2. Nickel.....	12
II.3.3. Cuivre	12
III. Techniques expérimentales de caractérisatio	12
III.1. Point de fusion.....	12
III.2. Chromatographie sur couche mince	13
III.3. Méthodes spectrales d'analyse	13
III .3. 1. Spectroscopie infrarouge (IR)	13
III .3. 2. Spectroscopie UV-visible.....	14

Chapitre2 : Synthèse et caractérisation des ligands et leurs complexes

I. Synthèse des produits.....	15
I.1. Synthèse à base de benzaldéhyde et ses dérivés	15
I.2. Synthèse à base d'une cétone (DHA)	16
I.3. Caractérisation des ligands	17
I.3.1. Etude par chromatographie sur couche mince	17
I.3.2. Etude par Spectroscopie.....	19
I.3.3. Etude par spectroscopie UV/ Visible	20
II .Synthèse des complexes	21
II.1. Synthèse des Complexes Métal-Ligands.....	21
II.2. Caractérisation des Complexes.....	23

Chapitre III : l'activité antioxydante

I. Les antioxydants	27
I.1. Antioxydants endogènes (primaires)	27
I.1.1. Superoxyde dismutase (SOD).....	28
I.1.2. Catalase (CAT)	28
I.1.3. Glutathion peroxydase	28
I.2. Antioxydants exogènes (secondaire)	28
I.2.1. Vitamine E	29
I.2.2. Vitamine C	29
I.3. Mécanisme d'action d'un antioxydant.....	29
II. Stress oxydatif	30
III. Radicaux libres	30
IV. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	31
V. Mesure de l'activité antioxydante	31
V.1. Méthode de FRAP	31
V.2. Méthode de TRAP	31
V.3. Méthode de TEAC.....	32
V.4. Méthode de DPPH.....	32
VI. Evaluation de l'activité antioxydante avec la méthode de DPPH.....	33
VI.1. Principe	33
VI. 2. Mode opératoire	34
VI. Résultats de l'activité antioxydante	34
Conclusion générale	39

Liste des figures

Figure .1 : Structure d' hydrazone avec R= H, alkyl, aryl, hétéroaromatique.....	3
Figure 2 : Exemples de sources naturelles d'hydrazones.....	3
Figure 3 : 2-hydroxy-1-naphthylaldéhyde-4-méthyl-3-thiosemicarbazone	6
Figure 4 : 2,6-Diméthyl- <i>N'</i> -(2-hydroxyphenylmethylidene) imidazo [2,1-b] [1, 3,4] thiadiazole-5carbohydrazide	7
Figure 5 : Structure des dérivés hydrazinoquinoxalines.....	8
Figure 6 : hydrazone antioxydant	9
Figure 7 : <i>N</i> -((1 <i>H</i> -Indol-3-yl) méthylène)-4-méthylbenzenesulfonohydrazide	9
Figure 8 : structure des acétohydrazide II et II.....	10
Figure 9 : Structure chimiques des vitamines E.....	29
Figure 10 : Structure chimique de la vitamine C	30
Figure 11 : structure chimique de Trolox	32
Figure 12 : Densité Optique en fonction de la concentration du 3a , 3c , composé 5 et de l'acide ascorbique.....	35
Figure 13 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration du 3a , 3c , composé 5 et de l'acide ascorbique.....	35
Figure 14 : IC50 en fonction de la concentration du 3a , 3c , composé 5 et de l'acide ascorbique.....	38

Liste des tableaux

Tableau 1 : Propriétés physico-chimiques de cobalt.....	11
Tableau 2 : Points de fusion et Rendements des composés 3a-j et 5	17
Tableau 3 : Rapports frontaux des composés 3a-j	18
Tableau 4 : Principales vibrations des composés 3a-j et 5	19
Tableau 5 : Résultats du spectre UV/Vis des composés 3a-j et 5	20
Tableau 6 : Conditions opératoires de synthèse des complexes	22
Tableau 7 : Conditions opératoires de synthèse des complexes	23
Tableau 8 : Propriétés physico-chimiques des complexes.....	25
Tableau 9 : Résultats des pourcentages de capture du radical DPPH (%CR) du 3a , 3c , composé 5 et de l'acide ascorbique	36
Tableau 10 : Valeurs IC50 des produits 3a , 3c , composé 5 et de l'acide ascorbique	38

Liste des schémas

Schéma 1 : Synthèse d'hydrazone avec la méthode de la Condensation	4
Schéma 2 : Synthèse d'hydrazone avec la méthode Couplage de Japp-Klingemann	4
Schéma 3 : Principales formes de résonance de l'hydrazone	5
Schéma 4 : Réaction de condensation entre INH avec divers aldéhydes	15
Schéma 5 : Réaction de condensation entre INH avec DHA	16
Schéma 6 : Mécanisme général de réduction de 2,2-diphényl-1- picrylhydrazyle (DPPH)	34

Liste des abréviations

A	Absorbance
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
C	concentration de l'espèce (mol/L)
ϵ	Coefficient d'extinction molaire (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DHA	Dihydro acétique acide
FT-IR	Spectroscopie infrarouge à transformation de fourrier
IR	Infra Rouge
INH	Isonicotinique hydrazide acide
I₀	Intensité du rayonnement avant le passage dans la solution absorbante
I	Intensité du rayonnement après le passage dans la solution absorbante
KBr	Bromure de potassium
L	Ligand
nm	Nanomètre
pH	Potentiel d'hydrogène
Pf	Point de fusion
Pf litt	Point de fusion de littérature
R	Radical
Rf	Rapport frontale

Rdt	Rendement
UV-Vis	Ultraviolet-visible
λ	Longueur d'onde
%	Pourcentage
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
%CR	Pourcentages d'inhibition
IC50	Concentration inhibitrice minimale

Introduction générale

La chimie et la biologie font aujourd'hui partie de notre environnement quotidien, ces deux disciplines étant à la croisée de nombreuses industries et de nombreux secteurs. La chimie organique d'hier s'étend aujourd'hui aux molécules biologiques, aux molécules inorganiques et aux macromolécules. Elle crée des édifices plus ou moins complexes jusqu'à l'élaboration d'une chimie supramoléculaire fondée sur des interactions diverses entre molécules et explique leurs propriétés. Les complexes des métaux de transition ont été largement étudiés. Les chimistes ont commencé à se rendre compte que beaucoup de molécules biochimiques sont des composés de coordination impliquant un ou plusieurs ions métalliques coordonnés à des groupements organiques parfois volumineux et complexes.

La chimie des composés azotés est la source privilégiée de nombreux sujets d'étude. L'atome d'azote est présent dans de nombreuses molécules naturelles ou d'intérêt pharmacologique et de très nombreuses méthodes ont été mises au point pour accéder aux composés azotés, notamment hétérocycliques. Quelques-unes d'entre elles ont été explorées au laboratoire, à travers la chimie des hydrazones [1]. Ces derniers constituent une classe importante de composés qui a reçu beaucoup d'intérêts ces dernières années, à cause de leurs activités biologiques diverses et leurs propriétés thérapeutiques et pharmacologiques telles que les activités antimicrobiennes, anticonvulsivants, antioxydants, anti-inflammatoires, antiplaquettaires, antituberculeuses, antitumorales et anticancéreux. [2-7]

De plus les hydrazones se comportent comme des ligands mono-, bis- et polydentés pour former des complexes à base des métaux de transition tels que Ni (II), Co(II) et Zn(II) avec diverses applications : environnementales, biologiques et médicinales. [8]

Notre travail s'inscrit dans cette perspective. Il se focalise sur la synthèse, d'une série de composés organiques de type hydrazone. Leur pouvoir anti- oxydant à été évalué. Les molécules isolés possédant des atomes donneurs tels que N et O, ils présentent une cavité suffisante pour accueillir des ions métalliques. A ce titre, la réactivité de ces derniers sur quelques éléments de transition tels que Ni (II), Co(II), Cu (II) et Zn(II) a été étudiée .

En plus de l'introduction et de la conclusion générale ce travail est subdivisé en trois chapitres :

Dans le premier chapitre, nous présentons quelques généralités sur les hydrazones , la chimie de coordination et les techniques de caractérisations utilisées.

Le deuxième chapitre est consacré à la synthèse des ligands et leurs complexes ainsi que leurs caractérisations avec différentes techniques d'analyse physico-chimique.

Le dernier chapitre est réservé à la valorisation des composés synthétisés par une application biologique, en l'occurrence, l'activité anti-oxydante.

Nous dégagerons, en conclusion, les résultats les plus marquants de ce travail.

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

Les composés azotés attirent l'attention des chimistes depuis longtemps et possèdent beaucoup d'intérêt biologique. Parmi les différentes classes de ces composés, l'hydrazone et ses dérivés, ces derniers jouent un rôle intéressant comme squelette de base pour la synthèse de beaucoup d'autres composés en chimie organique en raison de leur facilité de synthèse, leur stabilité et leur diversité structurale.

I. Les hydrazones

I.1. Définition

Les hydrazones représentent une famille de composés organiques comportant une structure de type (Figure 1)

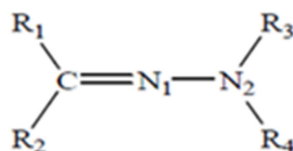
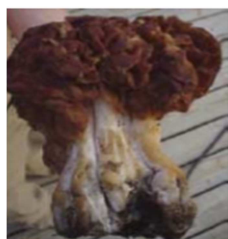


Figure 1 : la structure d hydrazone avec R= H, alkyl, aryl, hétéroaromatique.

La structure des hydrazones confère au carbone de la liaison double C=N à la fois un caractère électrophile, dû à la polarisation de la liaison double, et un caractère nucléophile, dû à la participation à la conjugaison du doublet non liant de l'azote terminal [9].

Les hydrazones sont largement présentes dans la nature. Deux exemples sont présentés: La toxine hémolytique (acétaldéhyde méthylformylhydrazone) est produite par la fausse morille [10]. Des alcaloïdes contenant une fonction hydrazone ont été isolés d'une éponge Marine [11] (Figure 2).



Fausse morille



éponge Marin

Figure 2 : Exemples de sources naturelles d'hydrazones.

I.2 .Synthèse des hydrazones

Pour la synthèse d'hydrazone en citent deux méthodes :

- Condensation entre une hydrazine et un composé carbonylé :

La méthode de synthèse la plus simple et la plus utilisée pour former une hydrazone consiste à condenser une hydrazine sur un aldéhyde ou une cétone (Schéma 1). L'hydrazine peut subir une double condensation du composé carbonylé. De plus, l'utilisation d'hydrazines mono- ou N,N-disubstituées permet d'éviter cette double condensation et de synthétiser facilement les hydrazones correspondante.

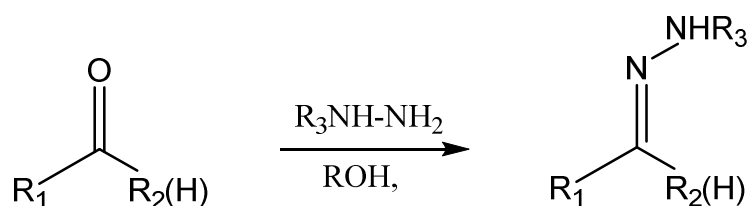


Schéma 1 : Synthèse d'hydrazone avec la méthode de la Condensation.

- Couplage de Japp-Klingemann :

Cette deuxième méthode est particulièrement adaptée à la synthèse des α -cétohydrazones, pour lesquelles les rendements sont médiocres par la voie classique du fait de la compétition entre les deux groupes carbonyles lors de la condensation de l'hydrazine.

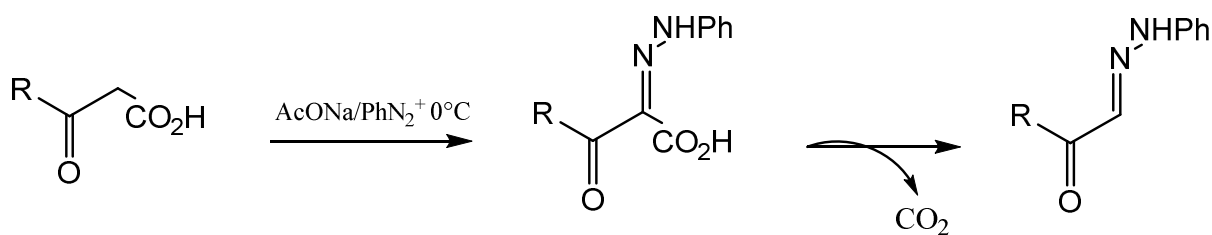


Schéma 2 : Synthèse d'hydrazone avec la méthode Couplage de Japp-Klingemann.

I.3. La stabilité des hydrazones:

Les molécules possédant une double liaison carbone-azote sont d'une importance capitale tant dans un contexte purement chimique que biologique. Les fondations de nos connaissances sur la formation et l'hydrolyse des liaisons C=N se trouvent dans les travaux de Bartlett, Westheimer Rutherford entre autres [12]. Les études et les analyses cinétiques approfondies de Jencks ont également impacté la connaissance des mécanismes mis en jeu lors de la formation et de l'hydrolyse de composés possédant des liaisons C=N. Les hydrazones, tout comme les oximes possèdent une plus grande stabilité intrinsèque que les imines qui pourrait être expliquée par une participation de X (=O ou N-R₃) dans la délocalisation électronique (Schéma 3).

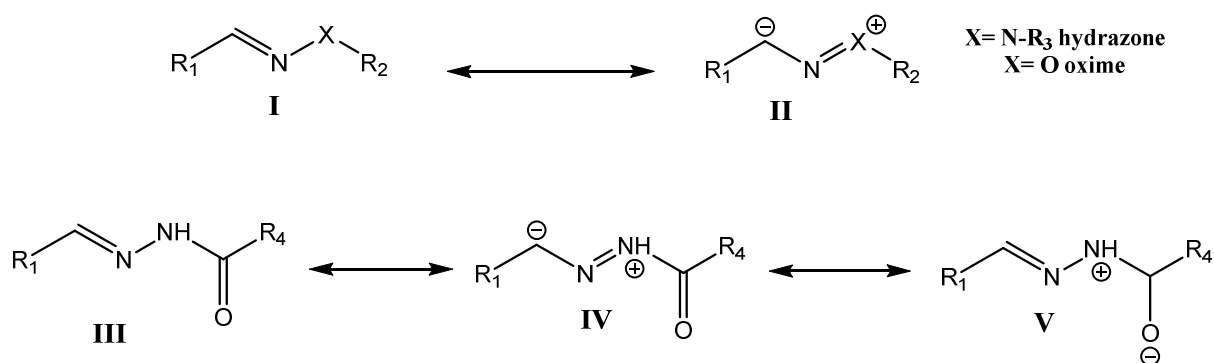


Schéma 3 : Principales formes de résonance de l'hydrazone.

La contribution de la forme de résonance II pour les alkylhydrazones et de la forme IV pour les acylhydrazones augmente la densité de charge négative sur l'atome de carbone, réduisant ainsi son électrophile et par conséquent sa sensibilité à l'hydrolyse. Les hydrazones sont ainsi plus stables en général que les imines [13].

I.4. Les principales activités biologiques des hydrazones

De nombreux travaux ont été réalisés sur les molécules contenant la fonction hydrazone (HC=NNH) ou hydrazine (NH-NH₂) pour leurs activités biologiques très diverses nous citons :

I.4.1. Activité antiparasitaire

Les parasites sont des petits êtres vivants appartenant au règne animal, végétal, bactérien ou mycosique (champignon), qui vivent ou se développent au sein d'un organisme

hôte pour survivre : ils s'y nourrissent et s'y reproduisent, ce qui peut créer des troubles plus ou moins graves chez leur hôte.

Chez l'homme, il existe différents types de parasites. Certains appartiennent à la famille des arthropodes comme les poux, les cestodes ou des nématodes, comme les vers du type ténia qui colonisent le tube digestif. D'autres, comme les organismes unicellulaires du genre plasmodium, colonisent le foie et le sang et ils sont responsables du paludisme. En 2004, Richardson et All. ont synthétisé des composés de la famille des hydrazones, on cite un exemple [8] (Figure 3).

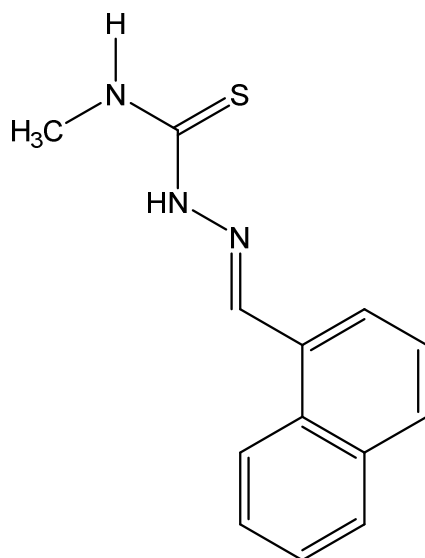


Figure 3 : 2-hydroxy-1-naphthylaldéhyde-4-méthyl-3-thiosemicarbazone .

I.4.2. Activité Anti-tumorale

Le mot « tumeur » est un terme générique correspondant au développement d'un tissu nouvellement formé au sein d'un tissu normal. Elle est provoquée par le dysfonctionnement du développement cellulaire. En 2003, Terzioglu et Gürsoy ont synthétisé une série de la 2,6-diméthylimidazo[2,1-b][1, 3,4]thiadiazole-5-carbohydrazide(Figure 4) présentant un potentiel thérapeutique comme agent contre lignées cellulaires [11].

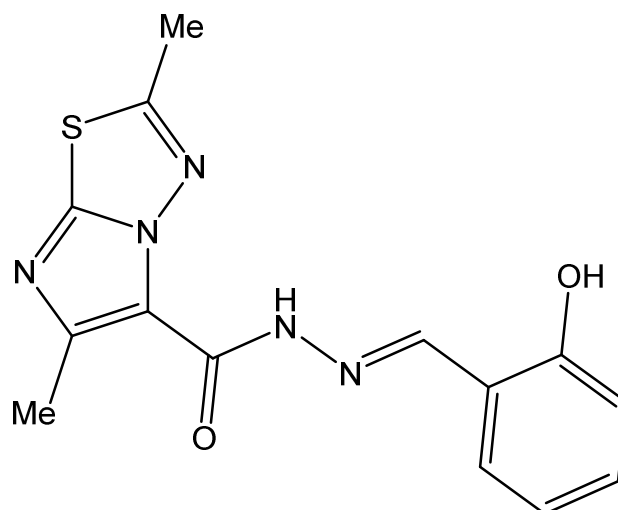


Figure 4 : 2,6-Dimethyl-N'-(2-hydroxyphenylmethylidene)imidazo [2,1-b] [1, 3,4] thiadiazole-5carbohydrazide.

Les cellules tumorales ont un besoin accru en fer de par leur prolifération rapide. Des familles d'hydrazones ont été conçues, synthétisées et évaluées par différents groupes, le plus important étant celui de Kalinowski et Richardson[14]. Ces auteurs ont rapporté la synthèse et l'évaluation des analogues de méthylpyrazinyl hydrazones (HMPIH) dont le dérivé isonicotinoyl présente une bonne séquestration du fer des cellules tout en montrant une activité antiproliférative [15].

I.4.3 Activité antimicrobienne

L'augmentation du taux de mortalité associé à des maladies infectieuses est directement liée à plusieurs bactéries présentant une résistance aux antibiotiques. Le manque de traitements efficaces est la principale cause de ce problème [16]. Le développement de nouveaux agents antibactériens avec des mécanismes d'action plus efficaces est sans aucun doute un besoin médical urgent [17]. Les hydrazones ont été présentées comme agents antibactériens. Metwally et coll. ont synthétisé une nouvelle série d'hydrazonoquinolines présentant une activité antimicrobienne (Gram positif, Gram négatif) et antifongique [18]. Les dérivés

d'isonicotinohydrazide sont des inhibiteurs de *Mycobacterium tuberculosis* (H37Rv), ces composés diminuent la charge bactérienne dans les tissus pulmonaire [19].

De nouveaux dérivés hydrazinoquinoxalines ont été synthétisés et évalués in vitro pour leurs activités antibactériennes contre *Escherichia coli* [20] (Figure 5).

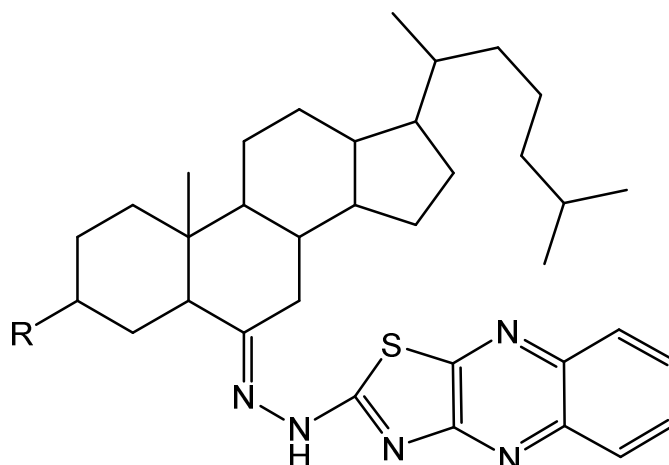


Figure 5 : Structure des dérivés hydrazinoquinoxalines .

1.4.4 Activité Anti-oxydante

Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient. Sandra Constantin et coll. ont synthétisé une série d'hydrazones présentant un pouvoir antioxydant [21] (Figure 6).

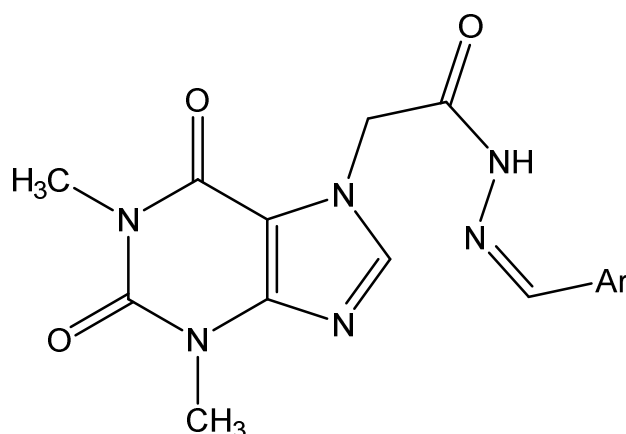


Figure 6: hydrazone antioxydant.

I.4.5. Activité anti-inflammatoire

Les réactions inflammatoires sont déclenchées dans le seul but de défendre l'organisme. Lorsqu'elles sont visibles, elles se manifestent classiquement par 4 signes cliniques: une rougeur, une douleur, une tuméfaction et une augmentation de la température à leur niveau. Sham et coll. ont décrit le *N*-((1*H*-Indol-3-yl) méthylène)-4-methylbenzenesulfonohydrazide comme étant un agent anti-inflammatoire [22] (Figure 7).

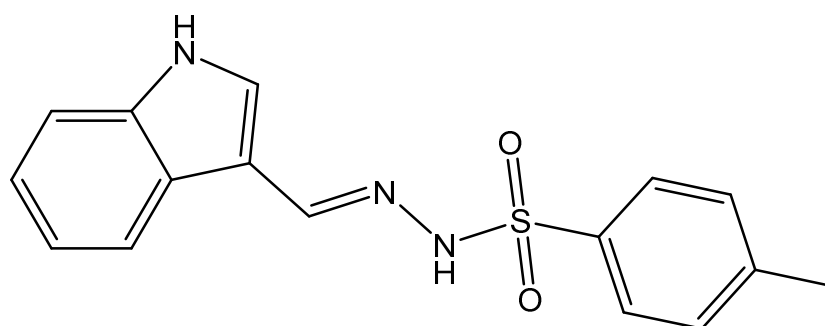


Figure 7 : *N*-((1*H*-Indol-3-yl) méthylène)-4-methylbenzenesulfonohydrazide .

I.4.6. Activité Anti- dépression

Dans certains travaux, il a été cité que le 2-cyano-*N*-(2-cyano-1-(4-méthoxyphényl) éthylidène) acétohydrazide I et le 2-cyano-*N*-(1-(4-méthoxyphényl)-2-thiocyanatoéthylidène) acétohydrazide II ont une bonne activité anti-dépression [23] (Figure 8).

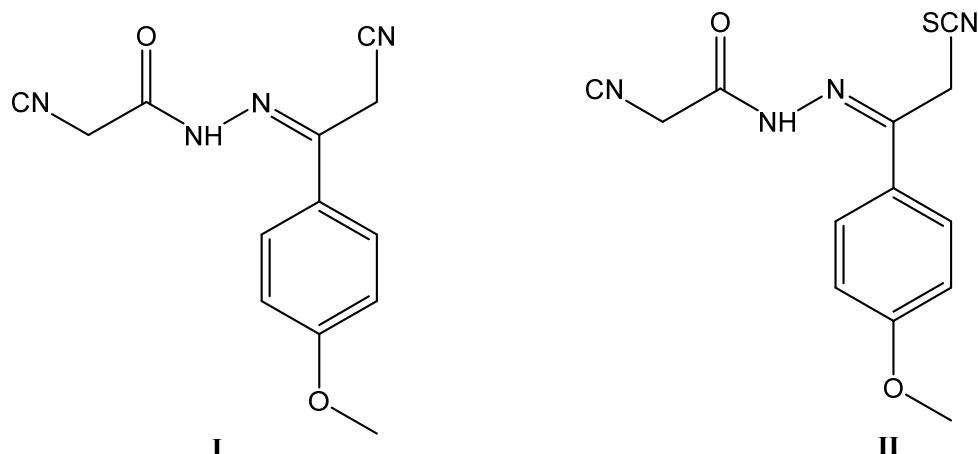


Figure 8 : structure des acétohydrazide I et II

II. La chimie de coordination

Alfred Werner au début (1866-1919, prix Nobel en 1913) est considéré comme le fondateur de la chimie de coordination [24]. Cette branche de la chimie s'occupe des molécules dites complexes.

II.1. Les complexes

Les complexes sont des édifices polyatomiques dans lesquels un cation métallique qui est le centre coordinateur se lie de façon covalente à des molécules neutres ou anioniques, qui présentent des ligands, ils participent de manière importante à un grand nombre de réactions biologiques, et font l'objet de recherche qui vise à déterminer leurs structures et leurs propriétés. Ils sont caractérisés par leur géométrie qui dépend de leur indice de coordination. Les métaux de transition avec leurs sous couches d incomplets jouent un rôle important dans la formation et la stabilité des complexes [25].

II.2. Le ligand

Un ligand est un atome, ion ou une molécule associé à l'atome central dans un complexe. Les ligands peuvent être constitués d'un seul atome tels que les halogénures, des molécules neutres comme l'eau et l'ammoniac ou des molécules complexes neutres ou chargées (organiques ou inorganiques) et sont généralement des donneurs d'électrons.

On appelle coordinaat unidenté, un coordinaat fixé en un seul point à l'ion métallique. Les molécules ou les ions possédant deux ou plusieurs atomes donneurs sont susceptibles de former deux, trois, quatre liaisons de coordination; de tels ligands sont alors bidentés, tridentés, tétradentés et plus généralement multidentés [25].

II.3. Les métaux de transition

Les éléments de transitions représentent une large fraction de la classification périodique. Ils constituent essentiellement le bloc d. leurs métaux et alliages possèdent des propriétés mécaniques, électriques remarquable utilisés dans la vie de tous les jours (fer, cuivre, zinc, cobalt...). Ils ont une chimie extrêmement riche, de multiples degrés d'oxydation, de nombreux types de liaison, des complexes moléculaires de structure très variable. En effet ils sont largement utilisés dans différents domaines (médical, biologique et alimentair...) [26].

II.3.1. Le Cobalt

Le cobalt est un élément de la première rangée des métaux de transition du groupe VIII-B , il possède une configuration électronique externe de $3d^74s^2$. À l'état pur, le cobalt est un métal dur et brillant, de couleur gris acier ou noire. Il peut manifester trois états d'oxydation, +3, +2 et +1, ce dernier étant très instable mais tout de même important en biologie. Le plus stable est l'état +2. Le cobalt est un élément relativement peu réactif, il n'est pas facilement attaqué par l'air et n'est oxydé que par un apport d'oxygène[27]. La découverte en 1948 de la vitamine B12 ou cobalamine, dont la molécule renferme un atome de cobalt (soit environ 4 % de Co) a permis d'entrevoir des relations possibles entre le cobalt et l'anémie . Depuis, un grand intérêt a été porté à la synthèse de complexes cobaltiques et à l'étude de leurs rôles dans le vivant [28].

Les propriétés physico-chimiques de cobalt sont regroupées dans le tableau suivant:

Tableau 1 : Les propriétés physico-chimiques du cobalt.

Nom, symbole et numéro atomique	Cobalt, CO, 27
La masse molaire (g/mol)	59
La densité (g/dm ³)	8900
Le point de fusion	1495 C°
Le point d'ébullition	2927 C°
Electronégativité	1.88EV
Degré d'oxydation	1, 2, 3,4
Volume molaire (cm ³ .mol ⁻¹)	6.67
Configuration électronique	[Ar] 3d ⁷ 4s ²
Etat physique	Solide
Structure cristalline	Hexagonal compact

II.3.2. Nickel

Le nickel est un métal blanc argenté de structure $[\text{Ar}] 3d^8 4s^2$, appartenant au groupe de fer. C'est un métal fait pour les alliages. Résistant à l'oxydation et à la corrosion, cette qualité va lui permettre d'être utilisé sur une vaste gamme d'alliages. Ainsi, l'alliage fer-nickel va permettre de créer les aciers inoxydables qui entourent notre quotidien.

Le nickel est aussi présent dans l'organisme à très petite dose et intervient dans divers processus biologiques. Pour un individu de 75 kg la teneur totale en nickel de son organisme est évaluée à environ 11 mg. Au sein de l'organisme le nickel intervient dans le métabolisme des acides ribonucléique, comme il joue le rôle d'un régulateurs de plusieurs systèmes enzymatiques, intervient dans la combustion des graisses et des hydrates de carbone (glucide : sucre). Et aussi l'activation des amylases qui sont des enzymes permettant de dégrader l'amidon présente dans la salive et au niveau du pancréas [29].

II.3.3. Cuivre

Le cuivre est un élément de transition appartenant au même groupe du tableau périodique que l'or et l'argent. En solution, il se retrouve généralement à deux degrés d'oxydation : +1 et +2. Le cuivre, à très faible dose est un oligo-élément indispensable à la vie. Il fait partie de nombreuses métallo-enzymes et joue un rôle crucial dans les processus biologiques. Il est notamment nécessaire à la formation de l'hémoglobine et remplace même le fer pour le transport de l'oxygène chez une espèce d'arthropode, la limule, dont le sang est bleu. Il a également des applications pharmacologiques en raison de ses activités anti-ulcères, anti-inflammatoires, anticonvulsives et anti-tremblements [30].

III. Techniques expérimentales de caractérisation

Dans cette partie. Nous ne traiterons que les techniques utilisées au cours de notre travail.

III.1. Point de fusion

Le point de fusion ou la température de fusion d'un corps représente la température à une pression donnée, à laquelle un élément pur ou un composé chimique fond, passe de l'état solide à l'état liquide [31].

Les points de fusions des composés étudiés sont déterminés en utilisant des tubes capillaires contiennent des petites quantités de nos échantillons placés dans un appareil digital de type Melting point Apparatus, SMP30, dont la température maximale est fixée à 390°C.

III.2. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est une méthode d'analyse qui est basée sur le phénomène d'adsorption où la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants (éluant) et une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre en gel de silice ou une feuille semi rigide d'aluminium. Les substances à analyser déposées sur la phase stationnaire migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et celle du solvant avec un rapport frontal (Rf) qui est défini par le rapport suivant [32] :

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

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur des plaques de silice *Merck60F254*, d'épaisseur 0.2 mm. Les solvants d'éluion varient en fonction des composés.

III.3. Méthodes spectrales d'analyse

La spectroscopie est basée sur l'étude des interactions entre la matière et un rayonnement électromagnétique. Ces interactions sont nombreuses, les plus intéressantes et les plus étudiées font appel au phénomène d'absorption, celui-ci peut être défini par sa fréquence, sa longueur d'onde et son nombre d'onde [33], les méthodes spectroscopiques l'émission et l'absorption des rayonnements UV- Visible et infrarouge par espèces atomique utilisées pour l'analyse qualitative et quantitative de composés inorganiques et organiques sont basées sur et moléculaire [34].

III .3. 1. Spectroscopie infrarouge (IR)

L'infrarouge est le domaine classique des molécules organiques donnant des informations sur les groupements fonctionnels présents dans une molécule. Les modes de vibration d'un groupement chimique dépendent fortement du reste de la molécule, chaque molécule produit un spectre d'absorption que lui est caractéristique [35].

Le domaine qui représente le plus grand intérêt pour le chimiste est très limité et s'étend de 4000 à 600 cm^{-1} . Les molécules absorbent l'énergie de ces radiations en modifiant leurs énergies de vibration.

L'absorption de l'infrarouge s'observe aussi pour des complexes métalliques liés par covalence qui sont généralement actifs dans la région infrarouge de grande longueur d'ondes [36].

III .3. 2. Spectroscopie UV-visible

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. Le domaine UV-visible s'étend environ de 800 à 180 nm.

Cette méthode est fondée sur le phénomène d'absorption d'énergie lumineuse par une substance. Lorsque cette dernière absorbe une partie d'énergie de la radiation électromagnétique, cette absorption est automatiquement accompagnée d'une transition électronique d'un niveau fondamental à un niveau d'énergie supérieur, ces changements dans la structure électronique se produisant à l'échelle moléculaire de la matière. A cet effet , on peut appliquer la loi de Beer-Lambert qui montre une relation de proportionnalité entre l'absorbance et la concentration [37].

La loi de Beer-Lambert qui relie l'absorbance à la concentration : $A = \log (I/I_0) = \epsilon l C$

Où I et I_0 : Intensité du rayonnement respectivement avant et après le passage dans la solution absorbante.

ϵ : coefficient d'absorptivité de l'espèce ($l \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

l : longueur de la cellule ou trajet optique (cm)

C : concentration de l'espèce (mol/l)

Les spectres UV-Visible représentent graphiquement l'absorbance A en fonction de la longueur d'onde λ (nm).

Chapitre 2

Synthèse et caractérisation des ligands et leurs complexes

Dans ce chapitre, nous rapportons la procédure de synthèse d'une série de composés de type hydrazone, à effets thérapeutiques. Leurs complexes présentent plusieurs centres d'intérêt, en raison de la diversité de leurs structures et de leurs propriétés électroniques. De plus, ils offrent une large gamme d'applications, notamment en biologie. Pour cela, leur réactivité vis-à-vis de quelques éléments de transition bivalents, notamment, le Cobalt, le Nickel, le cuivre et le Zinc, a été étudiée.

I. Synthèse des produits

La synthèse des composés a été effectuée selon le mode opératoire, décrit dans des travaux antérieurs, réalisés au sein de notre laboratoire.

I.1 Synthèse à base du benzaldéhyde et ses dérivés

Dans un ballon de 250 ml, ont été introduites un mélange équimolaire d'isoniazide (isonicotinique hydrazide acide, INH) et d'aldéhyde dans 10 ml d'éthanol. Le mélange réactionnel a été porté sous reflux sous agitation pendant (2 à 20 heures). Un solide s'est formé après refroidissement. Ce dernier est récupéré par filtration et purifié par lavage à l'éthanol.

Les ligands que nous avons synthétisés sont obtenus par condensation d'isoniazide avec des divers aldéhydes selon la réaction suivante (schéma 4) :

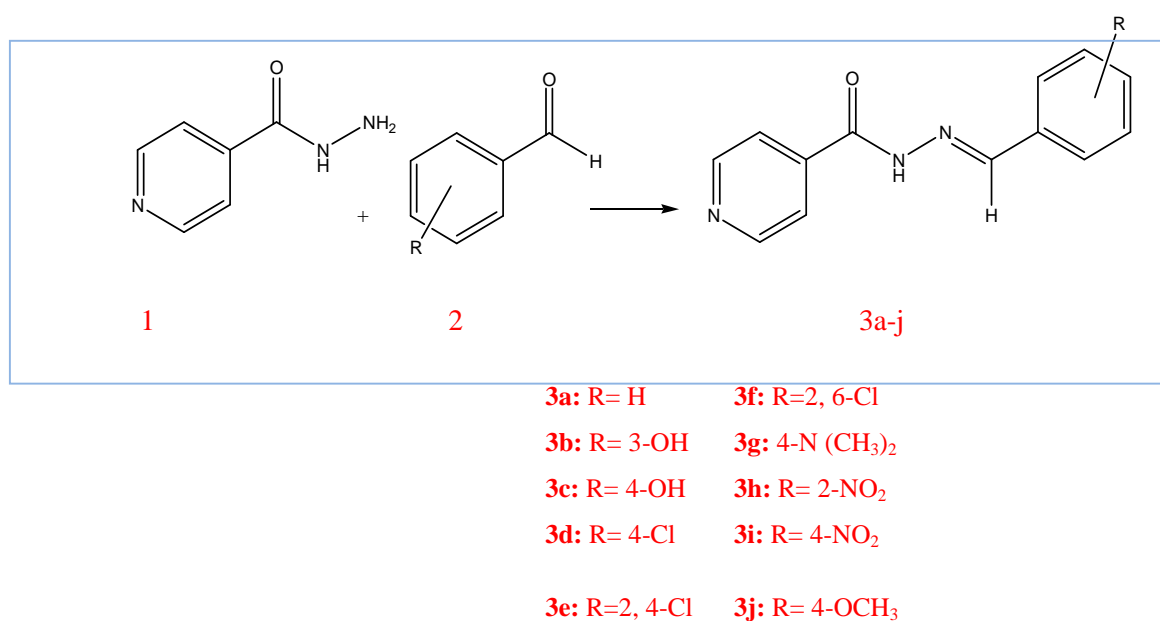


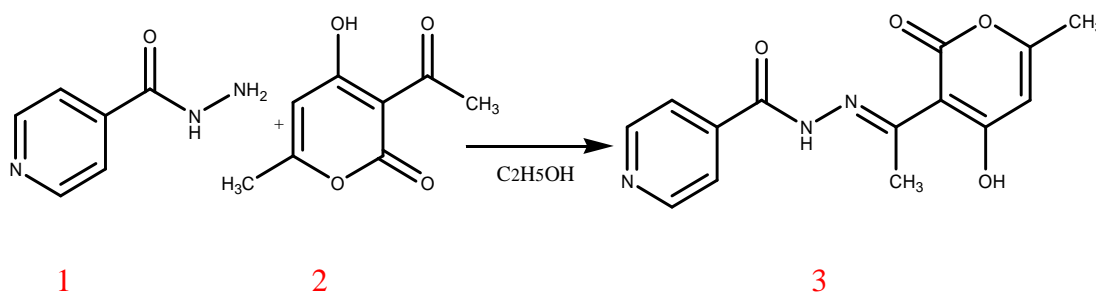
Schéma 4: Réaction de condensation entre INH avec divers aldéhydes.

I.2.Synthèse à base d'une cétone (DHA)

Dans un ballon de 250 ml, ont été introduites un mélange équimolaire 1,37g (10 mmoles) d'isoniazide (isonicotinique hydrazide acide, INH) et 1,68g (10mmoles) de cétone (Dihydro acétique acide, DHA) dans 10 ml d

Le mélange réactionnel a été porté sous reflux sous agitation pendant 2 heures. Un précipité orange s'est formé après refroidissement. Ce dernier est récupéré par filtration et purifié par lavage avec l'éthanol.

Le ligand que nous avons synthétisé est obtenu par condensation d'isoniazide avec le DHA selon la réaction suivante :



Composé5

Schéma5: Réaction de condensation entre INH avec DHA

Le tableau suivant récapitule les résultats de ces études.

Tableau 2: Points de fusion et Rendements des composés **3a-j** et **5**

Composé	Pf (°C)	Pf lit. (°C)	Rdt (%)	Couleur
3a	192	148	73	Blanc
3b	268	260-269	99	Blanc
3c	291	264-268	93	Blanc cassé
3d	212	218-221	89	Blanc
3^e	215	210-220	94	Blanc
3f	200	190-195	60	Blanc
3g	199	104-106	40	Jaune
3h	228	229-231	83	Beige
3i	274	255-257	42	Jaune orangé
3j	160	170-173	47	Blanc
5	222	220-225	99	Orange

I.3. Caractérisation des ligands

I.3.1. Etude par chromatographie sur couche mince

La pureté des ligands synthétisés a été contrôlée par CCM en utilisant des plaques prêtes à l'emploi en gel de silice de type 60 F254 à support en aluminium. Les produits sont dissous dans le méthanol et l'éluant utilisé est un mélange de chloroforme/méthanol (9ml/1ml). La révélation des produits a été effectuée en utilisant l'iode sublimé.

Les résultats des Rf sont reportés dans le tableau ci-dessous

Tableau 3 : Rapports frontaux des composés **3a-j**

Composé	R	Rf
3a	H	0,66
3b	3-OH	0,59
3c	4-OH	0,70
3d	4-Cl	0,68
3^e	2,4-Cl ₂	0,87
3f	2,6-Cl ₂	0,69
3g	4-N(CH ₃) ₂	0,61
3h	2-NO ₂	0,72
3i	4-NO ₂	0,70
3j	4-OCH ₃	0,55

Pour le composé 5 Nous avons obtenu une seule tache différente de celle de produit de départ. Son rapport frontale est de Rf=0,49.

I.3.2. Etude par Spectroscopie Infra-rouge

Le tableau suivant résume les principales bandes de vibration correspond aux différents groupements fonctionnels des composés **3a-j** et **5**.

Tableau 4 : les principales vibrations des composés **3a-j** et **5**

Fonction Composés	(v) NH	(v) C=O	(v) C=N	(v) OH
3a	3451	1691	1565	-
3b	3240	1658	1576	-
3c	3231	1658	1555	3448
3d	3458	1668	1592	-
3e	3086	1670	1590	-
3f	3468	1681	1597	-
3g	3416	1665	1592	-
3h	3194	1680	1562	-
3i	3436	1685	1562	-
3j	3441	1656	1599	-
5	3415	1697	1572	3500

Le spectre IR confirme la structure des dérivés du composé **3a-j** et le composé **5** par l'apparition des bandes caractéristiques à $3100-3500\text{cm}^{-1}$, $1650-1780\text{cm}^{-1}$ et $1550-1650\text{cm}^{-1}$ [38-39] qui correspondent respectivement aux bandes d'élongation des groupements -NH, du carbonyle et du groupement imine C=N.

I.3.3. Etude par spectroscopie UV/ Visible

Les spectres UV-Visible ont été enregistrés en solution dans l'actéonitrile de concentration de 10^{-5} M.

Les spectre UV-Visibles des composés **3a-jet 5** enregistrent deux bandes à 221-358 nm et à 290-333 nm qui sont attribuées, respectivement, aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$.

Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 5 : Résultats du spectre UV/Vis des composé **3a-j** et **5**

Composé	λ (nm)	transition
3a	240	$\pi \rightarrow \pi^*$
3b	240	$\pi \rightarrow \pi^*$
	319	$n \rightarrow \pi^*$
3c	242	$\pi \rightarrow \pi^*$
	322	$n \rightarrow \pi^*$
3d	242	$\pi \rightarrow \pi^*$
	295	$n \rightarrow \pi^*$
3^e	221	$\pi \rightarrow \pi^*$
	290	$n \rightarrow \pi^*$
3f	240	$\pi \rightarrow \pi^*$
	295	$n \rightarrow \pi^*$
3g	358	$\pi \rightarrow \pi^*$
3h	240	$\pi \rightarrow \pi^*$
	333	$n \rightarrow \pi^*$
3i	277	$\pi \rightarrow \pi^*$
	325	$n \rightarrow \pi^*$
3j	312	$\pi \rightarrow \pi^*$
5	240	$\pi \rightarrow \pi^*$

II .Synthèse des complexes

Au début, le choix des ligands s'est porté sur les composés qui contiennent le groupement R en position para : **3a**, **3c**, **3d**, **3g**, **3i** et **3j** notés **L¹**, **L²**, **L³**, **L⁴**, **L⁵** et **L⁶** respectivement, ces derniers ont été complexé avec des sels de nitrates métalliques de cobalt, de nickel, de Cuivre et de Zinc.

II.1. Synthèse des Complexes Métal-Ligands

Dans un ballon de 100 ml, on introduit 2 mmol de ligand dissout dans 5 ml de l'éthanol avec 1 mmol du Nitrate de métal dissoute dans 5 ml de l'éthanol. Le mélange est chauffé à reflux sous agitation pendant 3h. Aucun précipité n'a été formé.

La littérature relate que l'ajout d'une base au milieu réactionnel de synthèse renforce le pouvoir complexant des ligands vis à vis du métal [40].

Pour ceci, quelques gouttes de NH₃ concentré sont ajoutées jusqu'à pH = 11, un précipité apparaît instantanément pour quelques mélanges.

Par contre, pour d'autres mélanges, un changement de couleur est observé. Ce phénomène peut être expliqué par la formation des complexes en solution. Le mélange est maintenu sous reflux pendant 3h. Après refroidissement, les complexes qui se précipitent sont filtrés puis lavés avec l'éthanol et enfin sont séchés.

Le tableau suivant résume les conditions opératoires de synthèse ainsi que la notation des complexes :

Tableau 6 : Conditions opératoires de synthèse des complexes

Masse des sels métalliques (g)	Ligands	Masse Des Ligands (g)	PH du Mélange	Temps de réaction (heures)	Masse expérimentale du complexe (g)	Notation des complexes
Co(NO₃)₂,6H₂O m=0,1455	L¹	0,06	11	6	0,028	C1
	L²	0,07	11	6	0,080	C2
	L³	0,07	11	7	0,004	C3
	L⁴	0,06	11	6	0,042	C4
	L⁵	0,06	11	6	0,024	C5
	L⁶	0,06	11	6	0,022	C6
Zn(NO₃)₂,4H₂O m=0,1487	L¹	0,06	11	6	0,026	C1'
	L²	0,07	11	5	0,039	C2'
	L³	0,07	11	6	0,004	C3'
	L⁴	0,06	11	6	0,050	C4'
	L⁵	0,06	11	6	0,051	C5'
	L⁶	0,06	11	6	0,043	C6'
Ni(NO₃)₂,6H₂O m=0,1454	L¹	0,06	11	6	0,060	C1''
	L²	0,07	11	6	0,050	C2''
	L³	0,07	11	5	0,010	C3''
	L⁴	0,06	11	6	0,047	C4''
	L⁵	0,06	11	5	0,001	C5''
	L⁶	0,06	11	6	0,005	C6''
Cu (NO₃)₂,6H₂O m=0,1208	L¹	0,06	11	6	/	/
	L²	0,07	11	6	/	/
	L³	0,07	11	6	/	/
	L⁴	0,06	11	6	/	/
	L⁵	0,06	11	6	/	/
	L⁶	0,06	11	6	/	/

Par la suite, nous avons pensé qu'il était judicieux d'aborder la réactivité des composés **3 e**, **3f** et **5**, notés **L⁷**, **L⁸** et **L⁹** respectivement, en adoptant le même procédé de synthèse utilisé pour la 1^{ère} série de ligands.

Les conditions opératoires de synthèse ainsi que la notation des complexes sont résumées

Tableau 7: Conditions opératoires de synthèse des complexes

Masse des sels métalliques (g)	ligands	Masse Des Ligands (g)	PH du Mélange	Temps de réaction (heures)	Observations Formation de complexe en solution	Notation des complexes
Co(NO ₃) ₂ ,6H ₂ O m=0,1455	L ⁷	0,230	11	6	marron	/
	L ⁸				Marron	/
	L ⁹ (composés 5)	0.325	11	8	marron	/
Zn(NO ₃) ₂ ,4H ₂ O m=0,1487	L ⁷				Blanc pale	/
	L ⁸				Blanc pale	/
	L ⁹	0.240	11	8	jaune	/
Ni(NO ₃) ₂ ,6H ₂ O m=0,1454	L ⁷				Vert –bleu	/
	L ⁸				Vert –bleu	/
	L ⁹	0.220	11	11	orange	/
Cu (NO ₃) ₂ ,6H ₂ O m=0,1208	L ⁷				Vert	/
	L ⁸				Vert	/
	L ⁹	0.239	11	11	Précipité Vert foncé	C ⁹

II.2. Caractérisation des Complexes

Les complexes ont été isolés sous forme de poudre avec des rendements faible. Ils sont stables à l'air et à température ambiante.

La nature monomérique de nos complexes est déduite par les valeurs des points de fusion qui sont inférieure à 390°C.

Les tests de solubilité sur l'ensemble des complexes synthétisés montrent qu'ils sont insolubles dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques. En revanche, ils sont peu solubles dans le DMSO et dans l'éthanol.

Le tableau suivant récapitule les résultats de ces études.

Tableau 8: Propriétés physico-chimiques des complexes

Complexe	Couleur	Pf (°c)	Solubilité						
			Eau	Ether	Ethanol	Méthanol	Acétone	DMSO	Acétonitrile
C ¹	Orange claire	79			S	S	S		I
C ²	Moutarde	60			PS	I	I		I
C ³	Marron foncé	50			S	S	PS		PS
C ⁴	Marron claire	80			S	S	S	S	PS
C ⁵	Marron	85			S	S	S		PS
C ⁶	Orange	35			PS	S	I	S	I
C ^{1'}	Beige	70			S	S	S		S
C ^{2'}	Jaune	80			S	I	I		I
C ^{3'}	Jaune	60			S	S	I		I
C ^{4'}	Jaune	71			S	S	PS		I
C ^{5'}	Jaune claire	70			PS	I	I		I
C ^{6'}	Beige	09			S	S	I		I
C ^{1''}	Beige	30			S	I	PS		PS
C ^{2''}	Beige	81			S	I	PS		S
C ^{3''}	Rouge	80			PS	I	I		I
C ^{4''}	Jaune	60			PS	I	PS		I
C ^{5''}	Jaune claire	10			PS	S	I		I
C ^{6''}	Orange	61			PS	I	I		I
C ⁹	Vert foncé	73			I	S	I		I

I : insoluble, P.S : partiellement soluble et S : soluble.

En raison de contraintes de temps et à cause du manque des moyens de caractérisation nécessaires pour analyser les composés inorganiques (Analyse élémentaire, résonance paramagnétique électronique et résonance magnétique nucléaire), les complexes isolés à l'état solides n'ont pas été identifiés.

Il semblerait que ces résultats sont encourageants, néanmoins, l'optimisation d'autres conditions s'impose afin d'améliorer les rendements de synthèse. Cette optimisation représente les perspectives de ce travail et consiste à utiliser les radiations micro-onde, ce protocole offre plusieurs avantages, notamment, un temps de réaction réduit et une procédure de synthèse facile environnemental.

Chapitre 3

L'activité antioxydante

Les radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public. Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisqu'il faut rappeler que dans le milieu des années 50, cette découverte était le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants [41].

Si bien que les tests d'activité antioxydante ont été largement développés pour évaluer l'efficacité de nouveaux composés. De nombreuses méthodologies sont disponibles, permettant d'évaluer les différents aspects physico-chimiques du potentiel antioxydant dans différentes conditions [42].

I. Les antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion [41].

Les antioxydants sont classés selon différents critères :

- leur origine : naturelle ou synthétique.
- leur nature : hydrosoluble ou liposoluble.
- leur mode d'action : primaires ou secondaires.

I.1. Les antioxydants endogènes (primaires)

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire [43].

I.1.1. Le superoxyde dismutase (SOD)

Le superoxyde dismutase est une enzyme qui élimine l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, elle produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène [44].

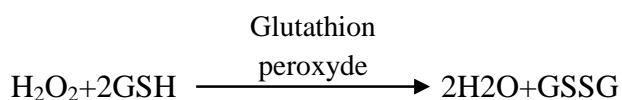
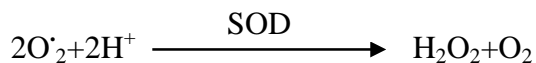
I.1.2. La catalase (CAT)

La catalase présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques, elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire [46].

I.1.3. La glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase est une enzyme qui constitue l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elle est capable non seulement de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydés résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras [47].

Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



I.2. Les antioxydants exogènes (secondaire)

Les composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit. La bilirubine capable de piéger les radicaux peroxydes et l'oxygène singulier, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires. D'autres substances exogènes sont apportées par l'alimentation, telles que la vitamine E (tocophérol), la vitamine C (acide ascorbique), l'ubiquinone, et les caroténoïdes. D'autres composés comme les alcaloïdes, les polyphénols et les huiles essentielles sont également considérés comme antioxydants exogènes [48].

I.2.1. La vitamine E

La vitamine E est une vitamine liposoluble présente en grande quantité dans les huiles végétales (l'huile de palme, d'olive et de tournesol). La vitamine E est en réalité formée de huit composés chimiques différents regroupés en deux sous-ensembles en fonction de la présence de groupements de substitution et de doubles liaisons. Nous trouvons donc le sous-ensemble des tocopherols (α -, β -, γ -, ou δ -tocopherol) et des tocotrienols (α -, β -, γ -, ou δ -tocotrienol) (Figure 9).

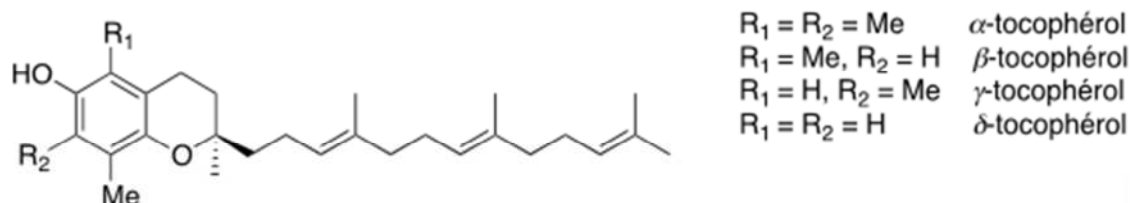


Figure 9: Structure chimiques des vitamines E

Elle va agir comme antioxydant contre les ROS (en parallèle de la vitamine C et du glutathion) et plus particulièrement dans l'inhibition de la peroxydation lipidique. La chaîne carbonée augmente en effet le caractère lipophile de la molécule et ainsi facilite la pénétration dans les bicouches lipidiques, et permet une action directe intracellulaire.

L' α -tocopherol est considéré comme un antioxydant de référence servant d'étalon pour les nouvelles molécules que l'on souhaite évaluer comme antioxydants.

I.2.2. La vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble, sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène. Après ingestion, elle passe rapidement dans le sang puis diffuse de façon variable dans tous les tissus. Un apport quotidien minimal d'origine alimentaire est donc nécessaire, celui-ci provient essentiellement des fruits et légumes frais. La vitamine C est nécessaire pour de nombreuses fonctions physiologiques de la biologie humaine. C'est un piègeur très efficace des anions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène et de l'oxygène singulet (Figure 10)

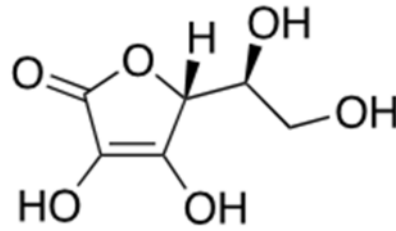


Figure 10: Structure chimique de la vitamine C

1.3. Mécanisme d'action d'un anti-oxydant

Les principaux mécanismes d'activité antioxydante sont :

- Le piégeage direct des EOR .
- L'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production des EOR .
- Protection des systèmes de défense antioxydants.

Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action : éliminateurs de radicaux libres, chélateurs d'ions métalliques, piègeurs d'oxygène dans des systèmes fermés [49].

II. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est définie comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et réparer les dommages oxydatifs.

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant.

Le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré.

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires [50].

III. Les radicaux libres

Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron ou plus non apparié. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé. Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxy $\text{ROO}\bullet$, radical alkoxy $\text{RO}\bullet$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [50].

IV. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Parmi les espèces radicalaires les plus actives se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation d'oxygène [51].

V. Mesure de l'activité antioxydante

Il existe une multitude de tests pour la mesure de l'activité antioxydante d'un composé telles que :

V.1. La méthode de FRAP

Le test FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) est une méthode basée sur le changement de coloration lors de la réduction du fer, de l'ion ferrique (Fe^{3+}) à l'ion ferreux (Fe^{2+}) par transfert d'électrons. Cette réduction se fait en présence d'un antioxydant. L'absorbance est mesurée à 700 Nm [52].

V.2. La méthode de TRAP

Test TRAP (Telomeric Repeat Amplification Protocol) est spécifique de l'action des antioxydants sur les radicaux peroxy $\text{ROO}\bullet$. Ces radicaux vont être produits par des générateurs de radicaux libres. Dans ce test, le BAP [2,2-azo-bis(2-amidinopropane) chlorhydrate] ou le AAPH [2,2'-azobis(2- amidinopropane)] seront utilisés.

Cette méthode permet de quantifier les antioxydants non enzymatiques (glutathion...) ainsi que de mesurer la capacité antioxydante du plasma et du sérum. En revanche, cette méthode se base sur le fait que chaque antioxydant possède un temps de **latence** avant son action. Ainsi la corrélation avec d'autres méthodes d'évaluation est particulièrement compliquée [53].

V.3. La méthode de TEAC

TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) permet de mesurer la capacité d'un candidat à piéger le radical cation ABTS•+ (obtenu à partir de sels d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). La particularité de cette méthode est l'aspect compétitif puisque la mesure sera comparée à la capacité d'un antioxydant de référence le Trolox. Il est important de noter que le Trolox est un analogue chimique de la vitamine E (Figure.11) [53].

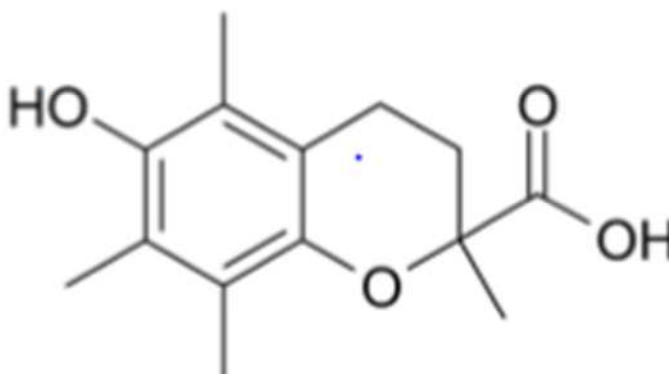


Figure 11 : structure chimique de Trolox

V.4. Méthode DPPH

Le DPPH• (ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical stable à température ambiante et de couleur violet caractéristique. Sa stabilité provient de la haute délocalisation des électrons π le long de la molécule. Il est un des premiers radicaux à avoir été utilisé pour étudier la relation structure/activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède dans sa structure un électron non apparié sur un atome du pont azote-azote. Sa particularité provient de la modification de ses propriétés d'absorption UV/Visible selon son état, la forme réduite absorbe à 515-518 nm. La méthode de DPPH, est largement utilisée, vu qu'elle

est rapide et facile à réaliser; il permet de comparer un grand nombre de composés. De plus, contrairement aux autres tests, les conditions utilisées (solvants organiques et faible température) évitent l'auto-oxydation des molécules testées [54-55].

VI. Evaluation de l'activité antioxydante avec la méthode de DPPH

VI.1. Principe

La méthode du DPPH est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non- radicalaire, le DPPH-H.

La réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle, initialement violet foncé sous sa forme libre, devient jaune pâle après transfert d'électron par des composés antioxydants [56]. Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques [57]. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote [58].

L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est généralement estimée par le pourcentage d'inhibition donné par la relation suivante :
(% RC) d'inhibition = $[(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$. (1)

A_0 : Absorbance à 517 nm du standard (2 ml de méthanol avec 40 µl de la solution méthanoïque de DPPH).

A_1 : Absorbance à 517 nm de l'échantillon après une heure de temps.

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur d'IC₅₀, Cette dernière est déterminée graphiquement par (%CR) d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés à l'aide de logiciel Origin 5.0.

Sachant que la IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50 % de la forme réduite du radical DPPH.

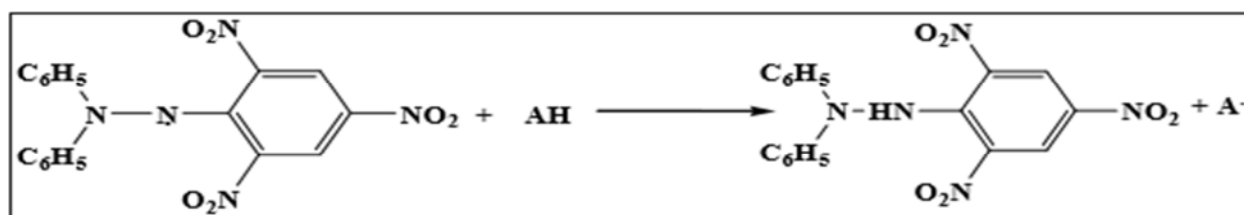


Schéma 6: Mécanisme général de réduction de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH).

VI. 2. Mode opératoire

L'activité oxydante a été mesurée selon le protocole décrit par (Athamena et al.,2010). Les produits testés sont préparés à des concentrations de 0,1mol/l dans le DMSO puis dilués à un demi pour avoir des concentrations de 0.05 M ; 0,025M ; 0,012 M et 0,006M. Une solution méthanoïque du DPPH aussi préparée (en solubilisant 2 mg de DPPH dans 50 ml de méthanol. Parallèlement, un essaie blanc est préparé en mélangeant 2 ml de méthanol avec 40 μ l le la solution méthanoïque de DPPH en solubilisant 2 mg de DPPH dans 50 ml de méthanol.

Un volume de 40 μ l, de chaque échantillon de chacune des concentrations est ajouté à 2 ml de la solution méthanoïque de DPPH.

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 60 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

VI . Résultats de l'activité antioxydante

L'activité anti oxydante a été réalisée sur tous les ligands isolés. Que les composés 3a, 3b et le composé 5 qui se comportent comme des composés antioxydants.

Le DPPH sous sa forme radicalaire absorbe à 515 nm, après sa réduction par l'antioxydant, l'absorption diminue.

La figure 12 représente l'absorbance des produits testés ainsi que la référence utilisé l'acide Ascorbique en fonction de la concentration.

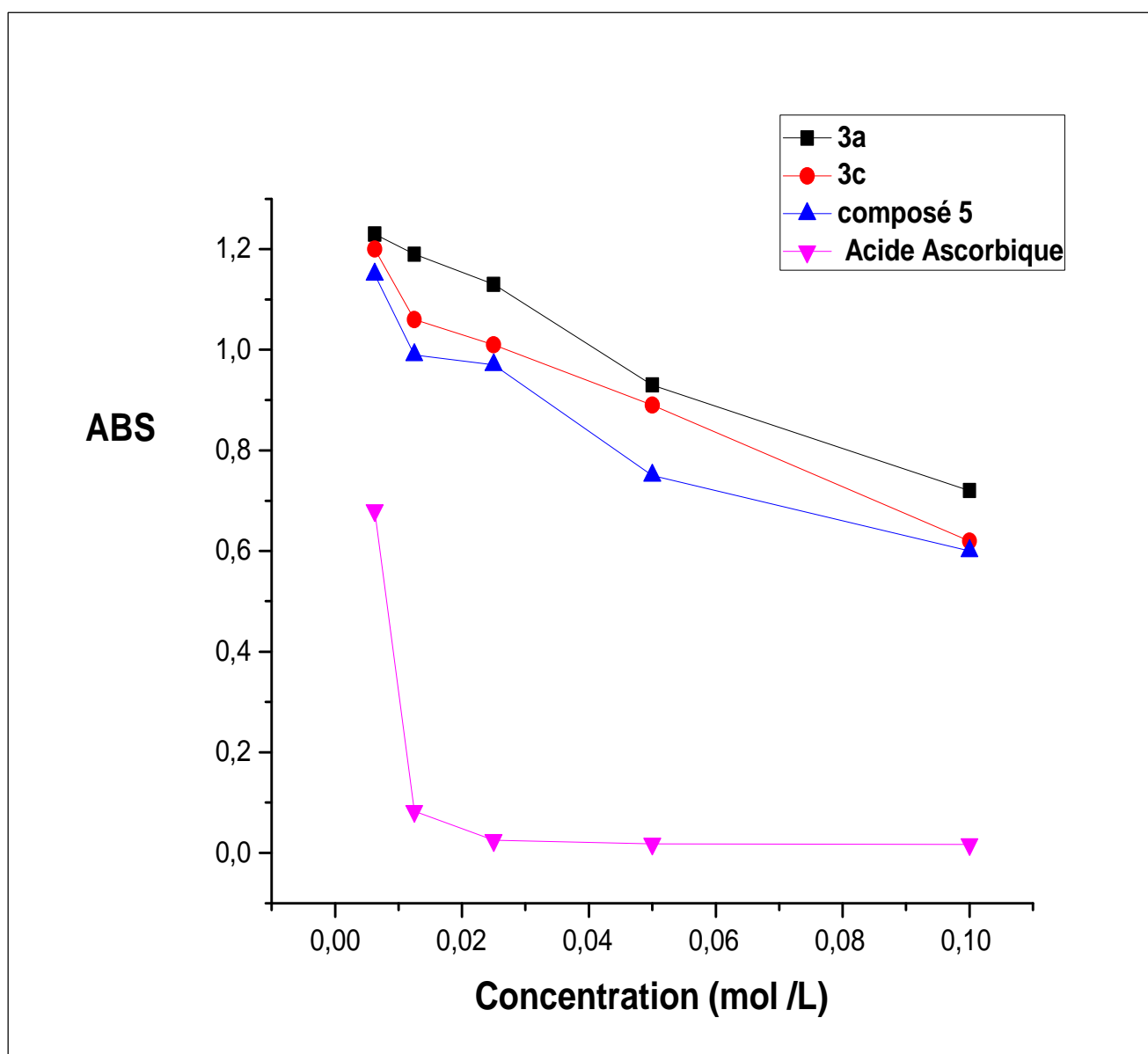


Figure 12 : Densité Optique en fonction de la concentration du **3a**, **3c**, **composé 5** et de l'**acide ascorbique**

Cette figure montre que la densité optique du DPPH \cdot diminue avec l'augmentation de la concentration du produit testé. Ceci pourrait avoir un lien avec la présence de groupements NH et OH sur le composé.

Le (%CR) pourcentages d'inhibition en fonction de la [C] de nos trois produits et de l'acide ascorbique calculés par la relation (1). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 9 et la figure 13.

Tableau 9 : Résultats des pourcentages de capture du radical DPPH (%CR) du **3a**, **3c**, composé **5** et de l'acide ascorbique.

Concentration (mol/L)	%CR			
	3a	3c	Composé 5	Acide Ascorbique
$C_0=1*10^{-1}$	43	51	52	98
$C_1=5*10^{-2}$	26	29	40	97
$C_2=2,5*10^{-2}$	10	20	23	96
$C_3=1,25*10^{-2}$	6	16	21	95
$C_4=6.25*10^{-2}$	2	4	8	95

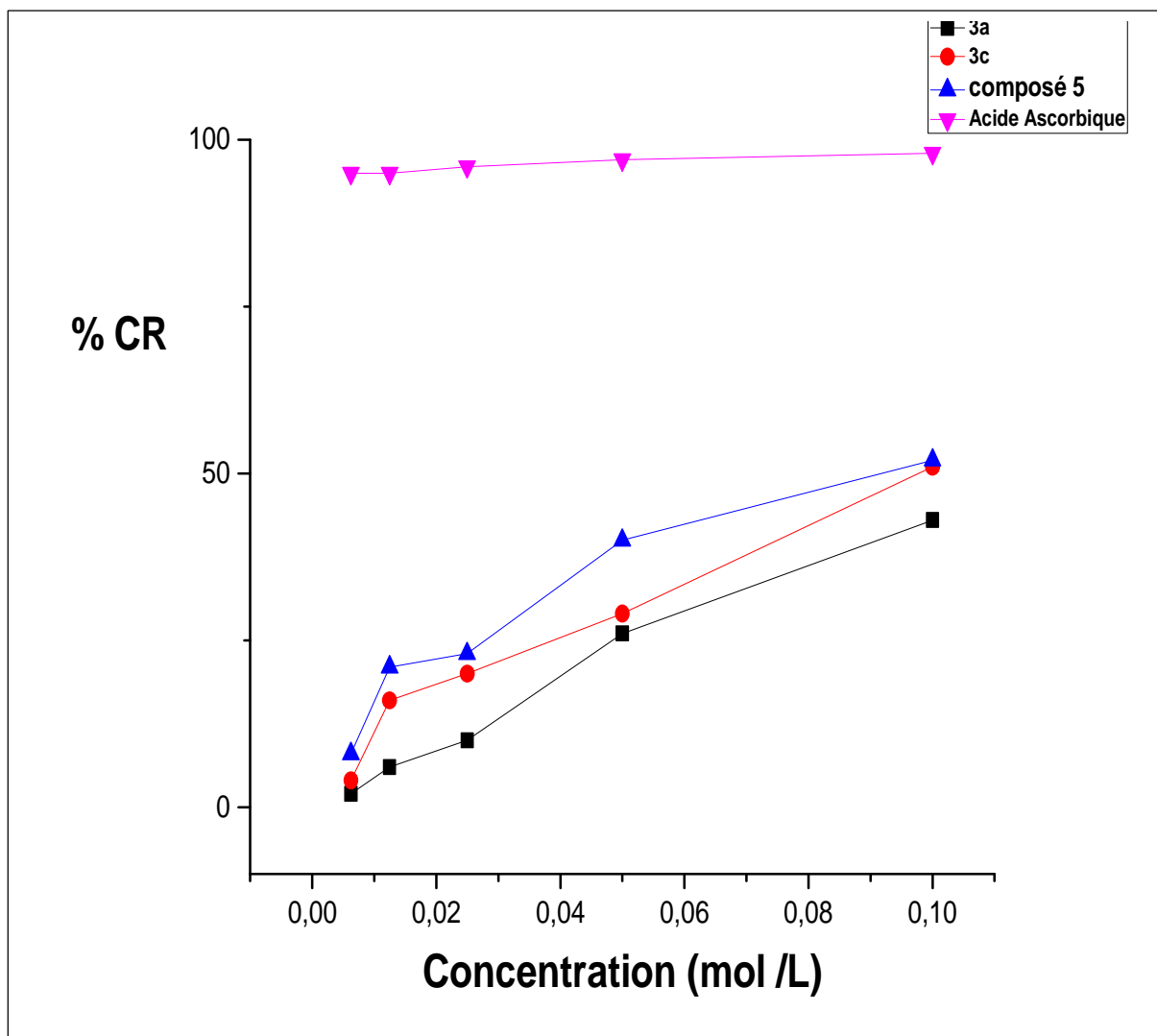


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration du **3a**, **3c**, **composé 5** et de l'acide ascorbique.

La concentration inhibitrice minimale (IC50) ou la concentration efficace (CE50) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur de CE50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. La concentration inhibitrice minimale (IC50) est estimée par extrapolation à % CR= 50% en traçant la courbe % CR en fonction de la concentration ou bien en utilisant la formule de la droite % CR en

fonction de la [C], $y = a [C] + b$, où a est la pente de cette droite. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 10.

Tableau 10 : les valeurs IC50 des produits 3a, 3c, composé 5 et de l'acide ascorbique :

Produits	IC50 (mol/L)
Acide ascorbique	0.0077
3a	0.112
3c	0.097
Composé 5	0.088

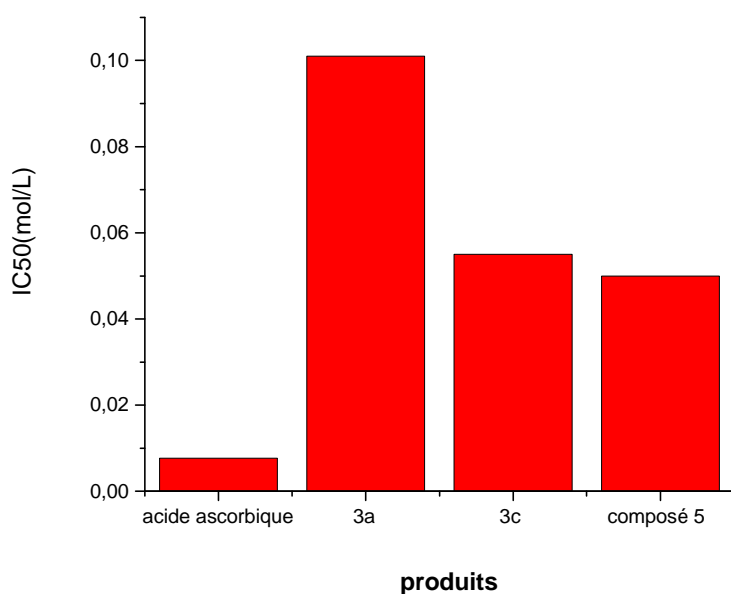


Figure 14: l'IC50 en fonction de la concentration du **3a**, **3c**, **composé 5** et de l'**acide ascorbique**.

D'après tous les résultats, nous arrivons à montrer que le composé 5 et le 3c possèdent une bonne activité antioxydante et le 3a présente une moyenne activité antioxydante.

Conclusion générale

Au cours de ce travail, nous avons synthétisé une série de ligands de type hydrazone, par la condensation de l'hydrazine ou l'isonicotinique hydrazide acide avec un aldéhyde ou une cétone. Les ligands obtenus ont été identifiés par les méthodes d'analyses usuelles telles que : l'Infrarouge (IR), l'Ultraviolet-Visible (UV), ainsi que par les points de fusion, qui nous a permis de confirmer leur pureté.

La diversité des domaines d'application des complexes de coordination à base de l'hydrazone, nous a incité à étudier leur réactivité vis-à-vis de quelques éléments de transition notamment ; le Ni(II); Co(II), Cu(II) et le Zn(II). Les complexes isolés à l'état solides, sont stables à l'air libre.

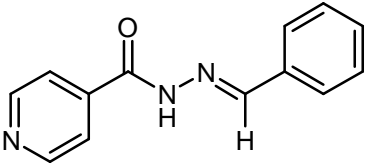
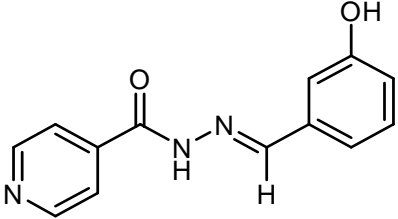
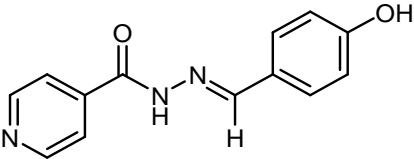
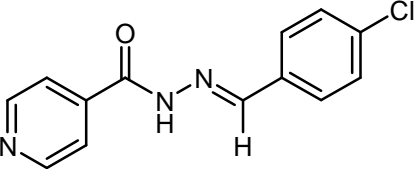
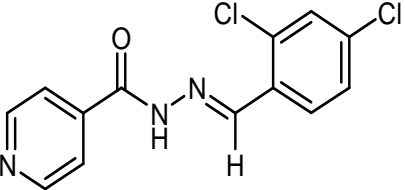
Notant que nos ligands synthétisés ont été soumis à des tests biologiques notamment ; le test d'activité anti-oxydante. Cette évaluation montre que les composés 3c et 5 possèdent une activité antioxydante assez importante et le 3a est doté une activité antioxydante modérée.

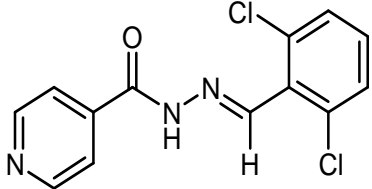
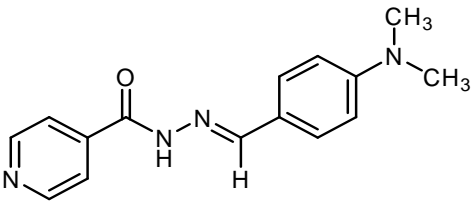
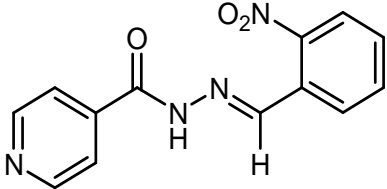
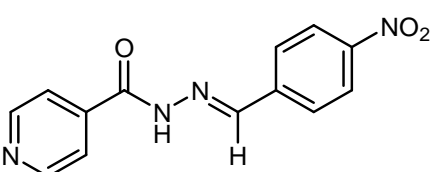
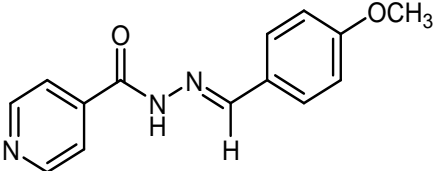
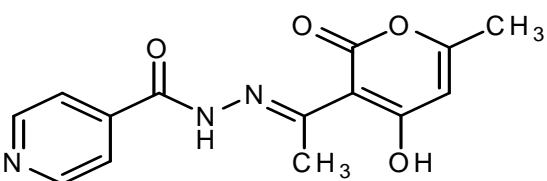
Afin d'approfondir les aspects entrevus dans ce travail, un certains nombres de perspectives peuvent être envisagés :

- Mener une étude plus efficace avec d'autres méthodes de synthèse comme, l'irradiation par micro-ondes ou ultrasons et l'utilisation d'autres techniques d'analyse spectroscopiques notamment la résonance magnétique nucléaire (RMN) de ^1H et ^{13}C , la spectroscopie de masse et l'analyse élémentaire.
- D'autres activités biologiques des composés synthétisés peuvent être entreprises, telles que l'activité antibactérienne, antifongique et autres.

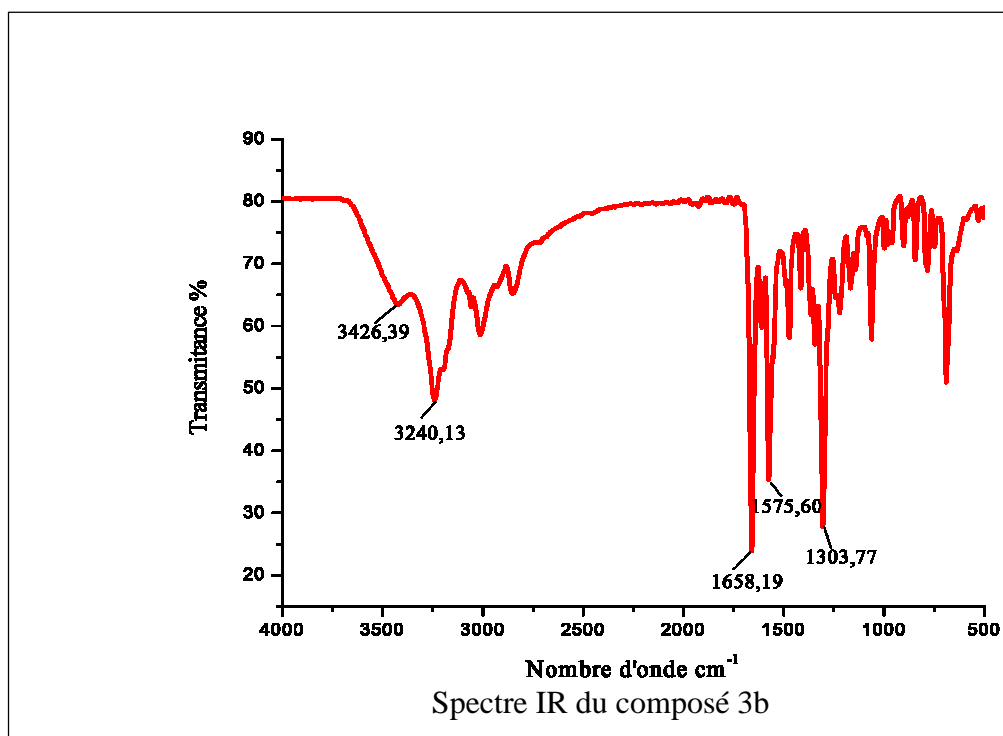
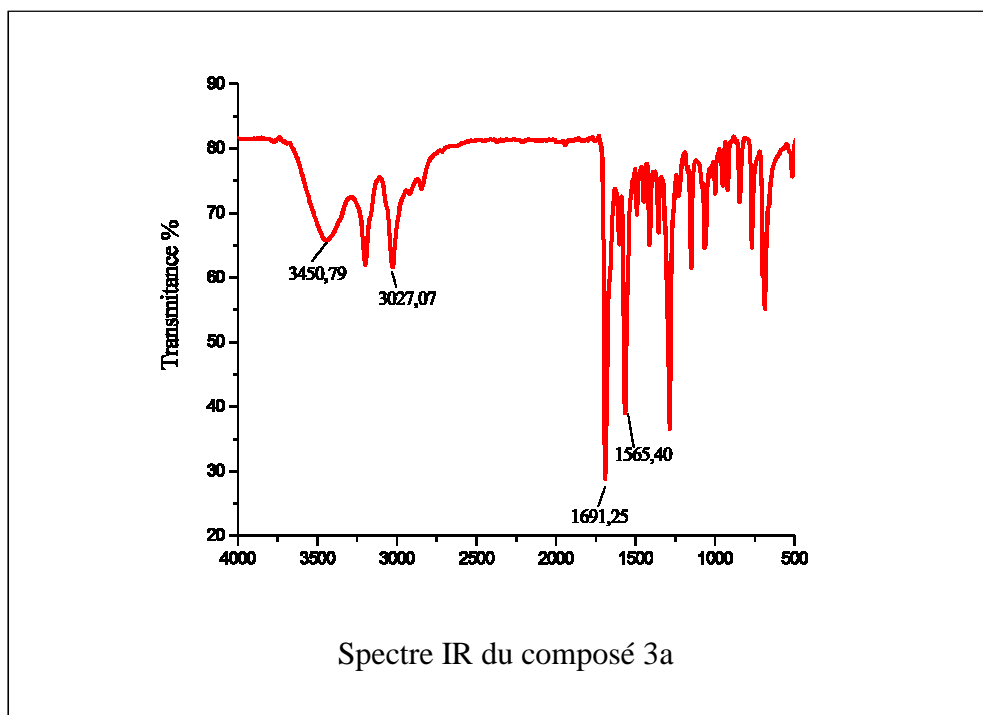
ANNEXE I

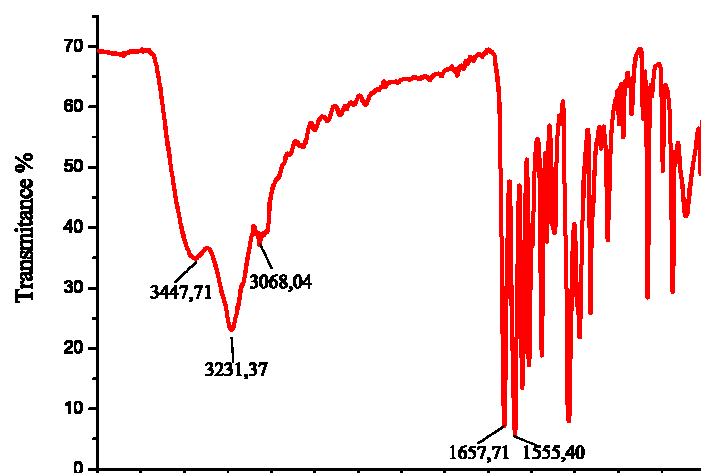
Récapitulatif des molécules synthétisées

Notation	Formule	Non chimique	Masse molaire (g/mol)
3a		N-benzylidene isonicotinohydrazide	252
3b		N-(3-hydroxybenzylidene) isonicotinohydrazide	241
3c		N-(4-hydroxybenzylidene) isonicotinohydrazide	241
3d		N-(4-chlorobenzylidene) isonicotinohydrazide	260
3e		N-(2,4-dichlorobenzylidene) isonicotinohydrazide	294

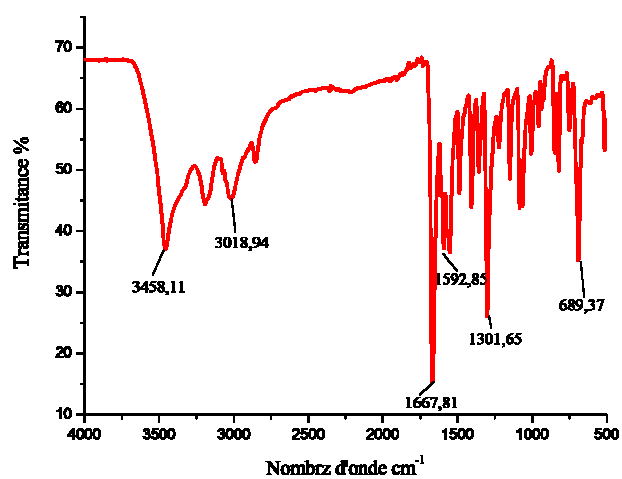
3f		<i>N</i> -(2,6-dichlorobenzylidene) isonicotinohydrazide	294
3g		<i>N</i> -(4-(dimethylamino)benzylidene) isonicotinohydrazide	268
3h		<i>N</i> -(2-nitrobenzylidene) isonicotinohydrazide	270
3i		<i>N</i> -(4-nitrobenzylidene) isonicotinohydrazide	270
3j		<i>N</i> -(methoxybenzylidene) isonicotinohydrazide	255
5		<i>N</i> -(1-(4-hydroxy-6-methyl-2-oxo-2 <i>H</i> -pyran-3-yl)ethylidene) isonicotinohydrazide	287

ANNEXE II

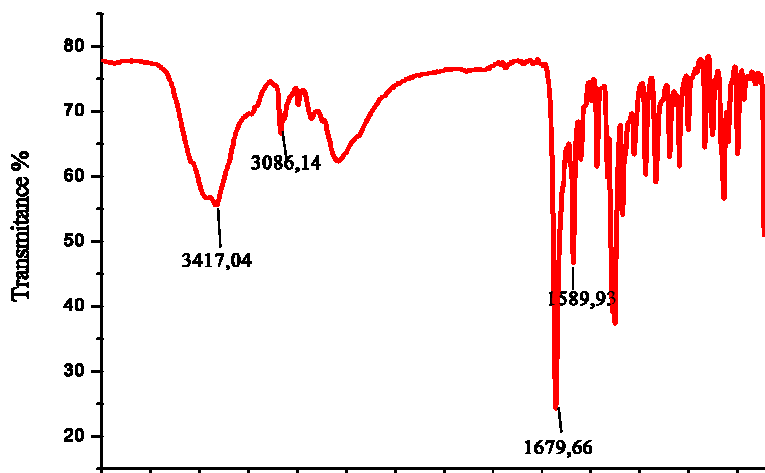




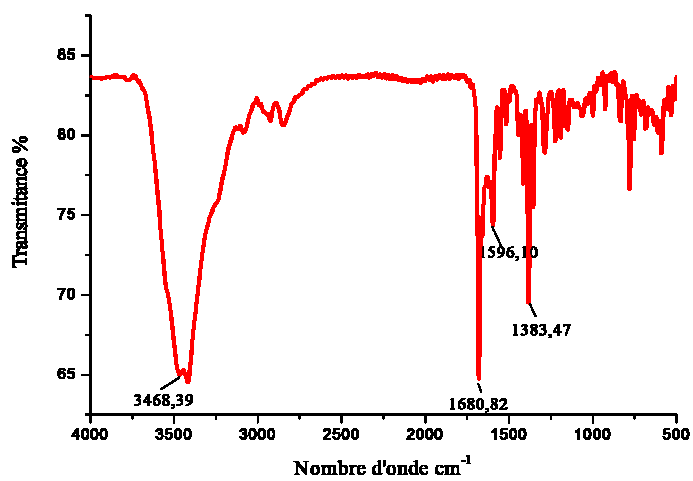
Spectre IR du composé 3c



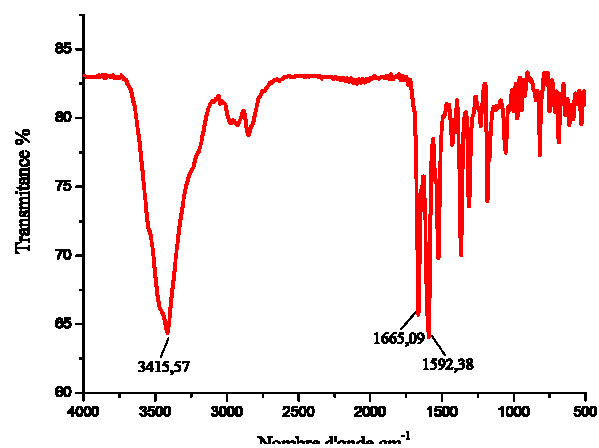
Spectre IR du composé 3d



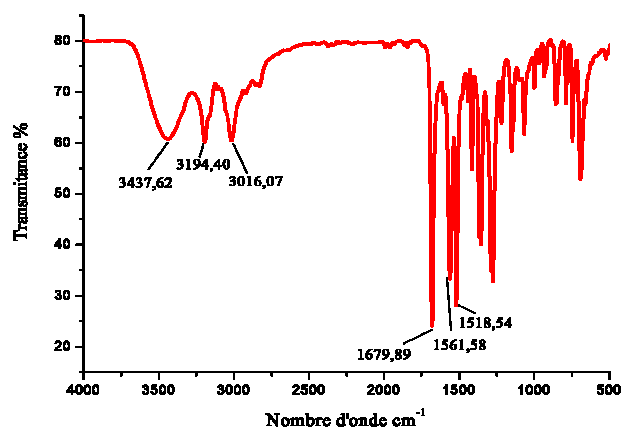
Spectre IR du composé 3e



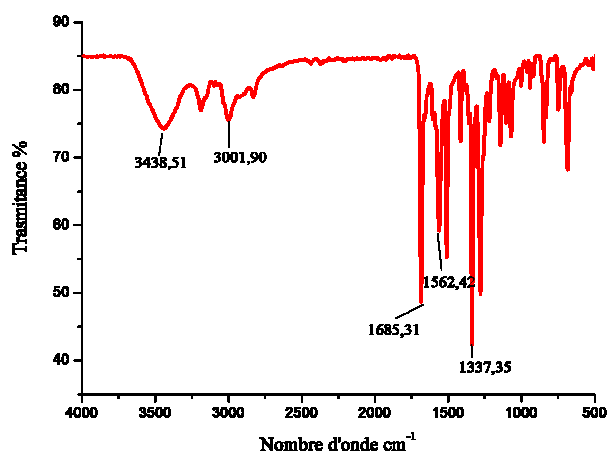
Spectre IR du composé 3f



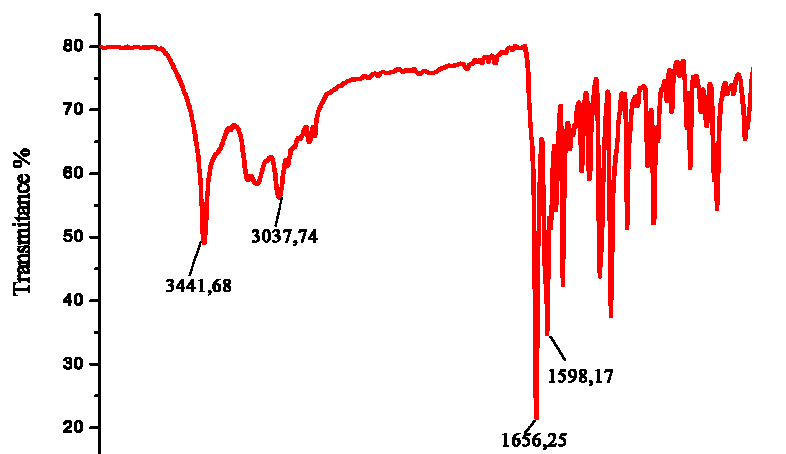
Spectre IR du composé 3g



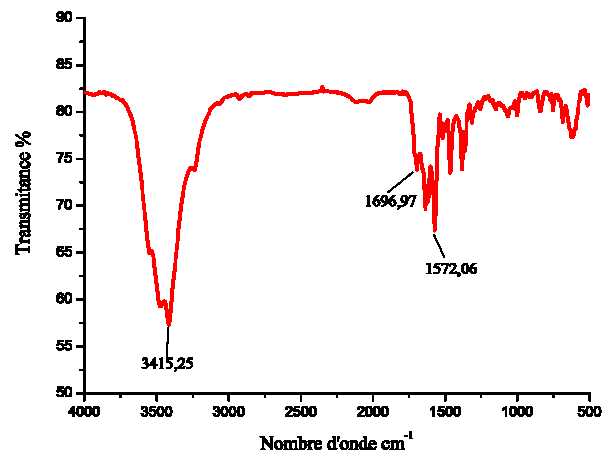
Spectre IR du composé 3h



Spectre IR du composé 3i

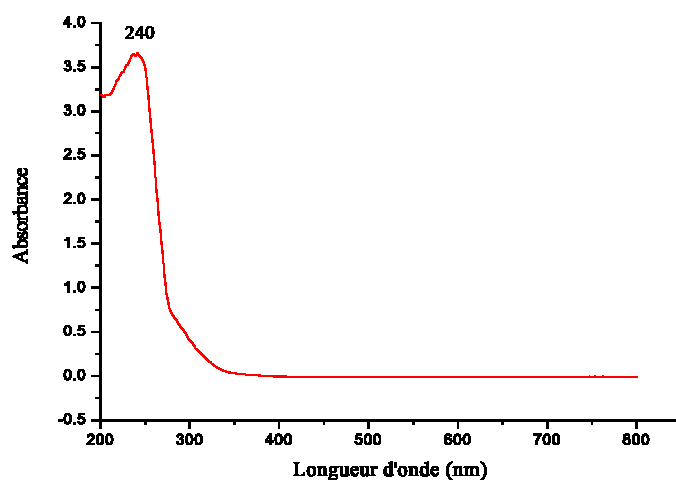


Spectre IR du composé 3j

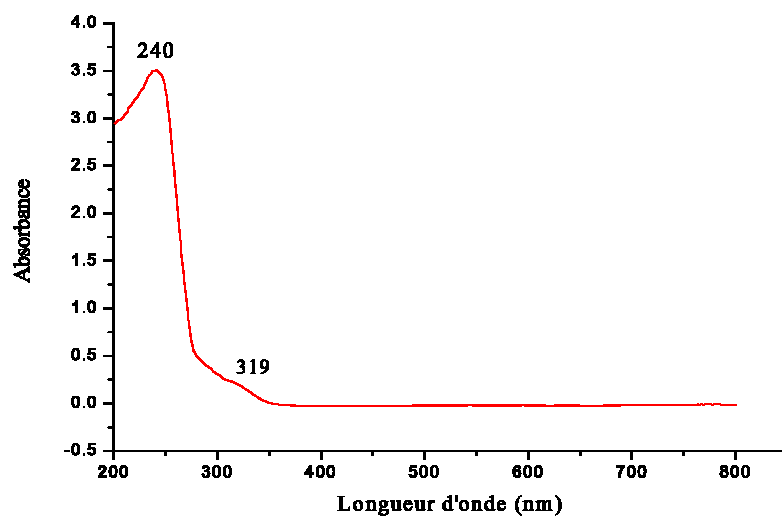


Spectre IR du composé 5

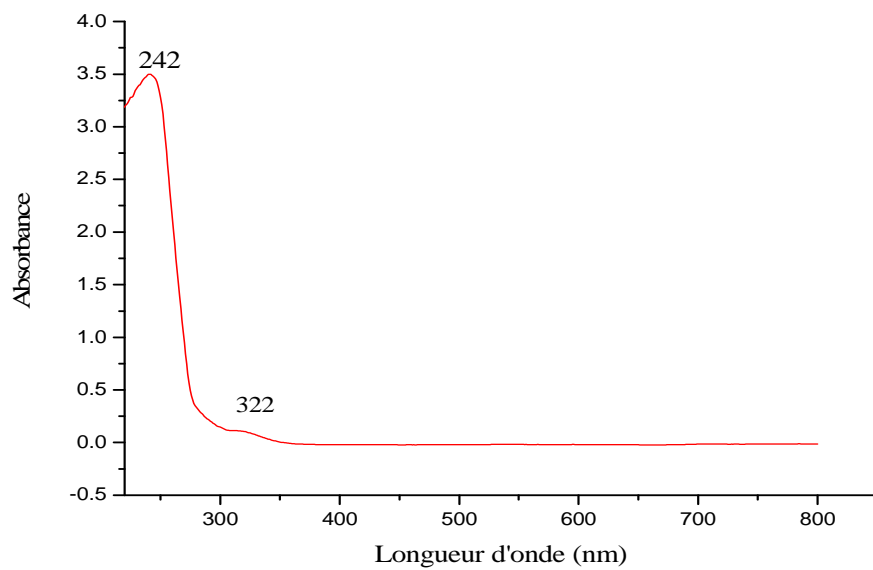
ANNEXE III



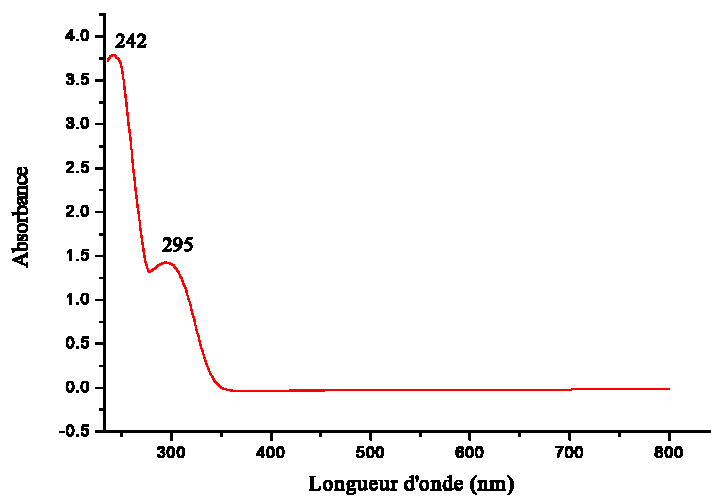
Spectre UV-Visible du composé 3a



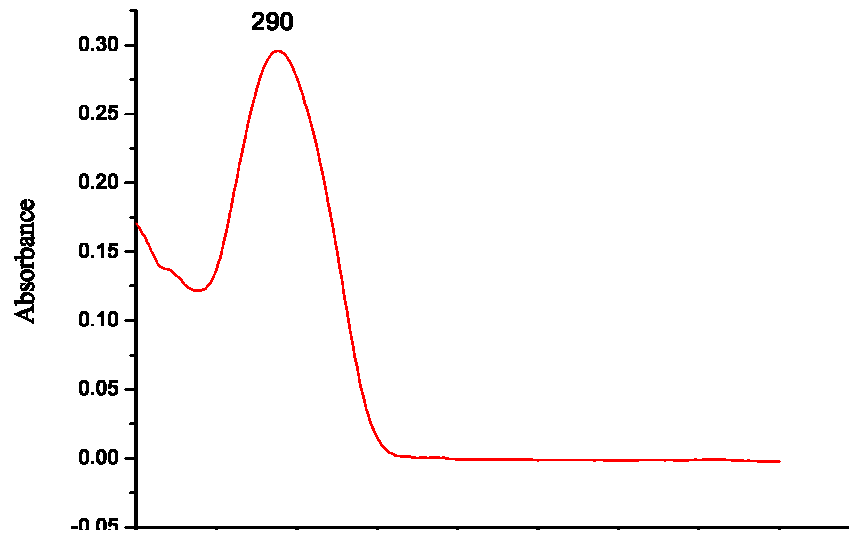
Spectre UV-Visible du composé 3b



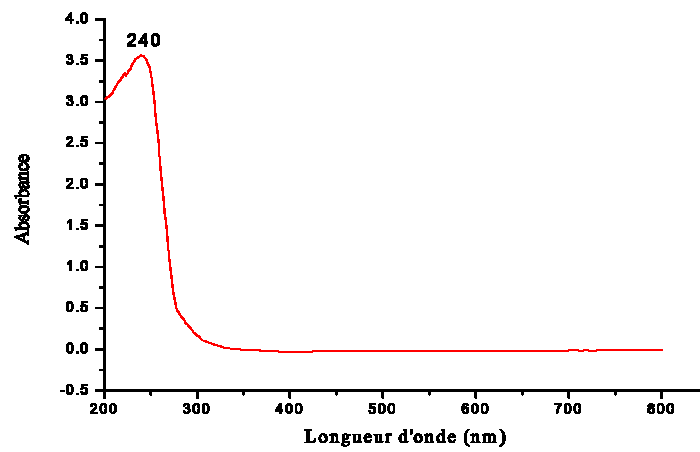
Spectre UV-Visible du composé 3c



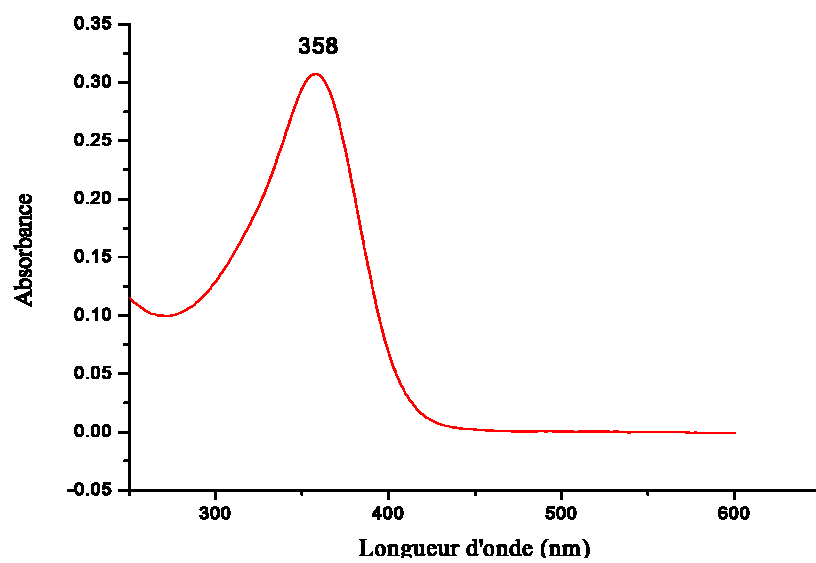
Spectre UV-Visible du composé 3d



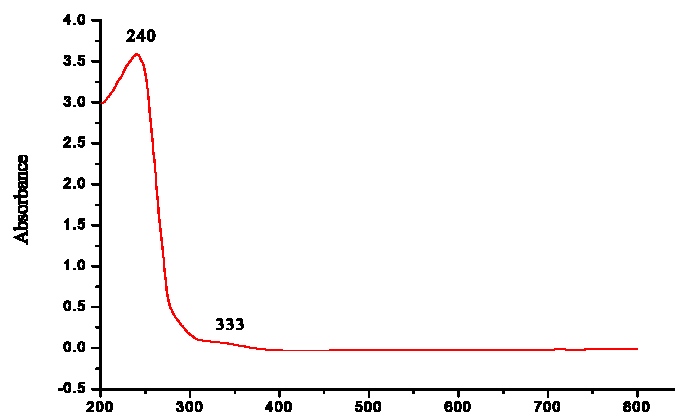
Spectre UV-Visible du composé 3e



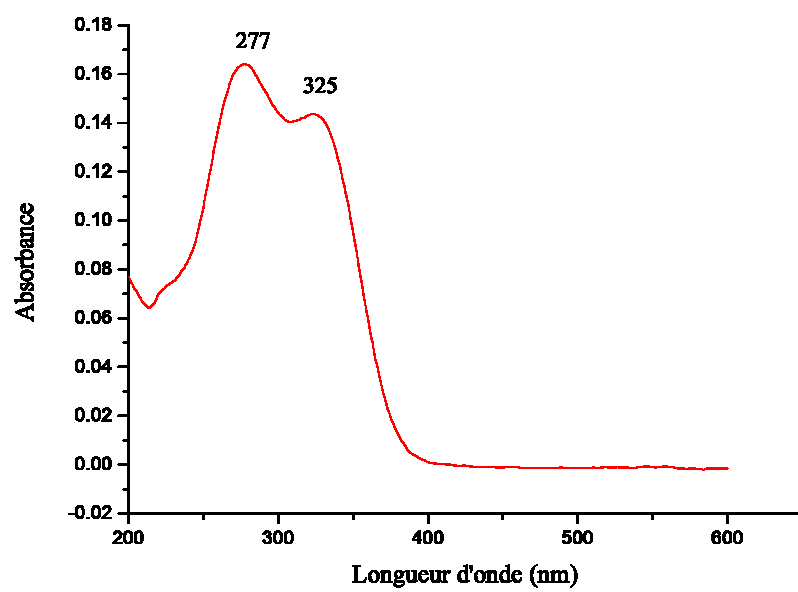
Spectre UV-Visible du composé 3f



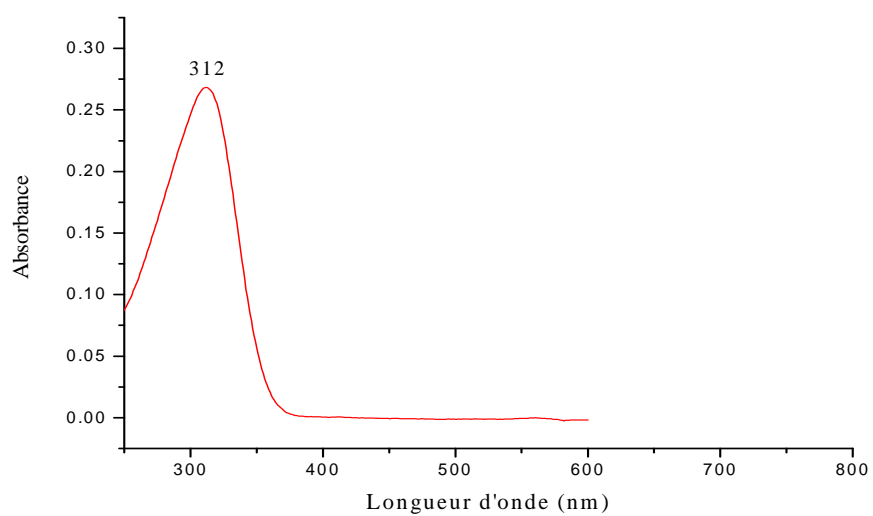
Spectre UV-Visible du composé 3g



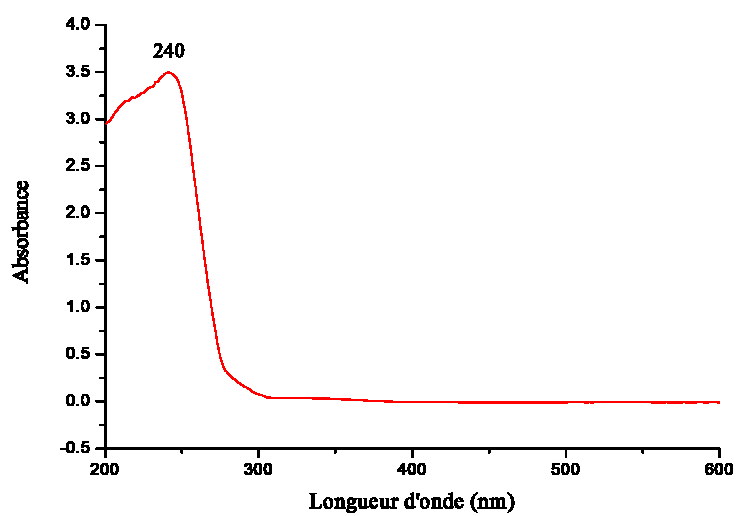
Spectre UV-Visible du composé 3h



Spectre UV-Visible du composé 3i



Spectre UV-Visible du composé 3j



Spectre UV-Visible du composé 5

Références bibliographiques

- [1] y. Benmasour: Synthèse, étude physico-chimique et activité biologique des complexes de Cuivre et/ou nickel dérivés d'Hydrazone et Thiadiazole. , thèse de doctorat ,Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.2014.
- [2] D. Kovala-Demertzi, M.A. Demertzis, J.R. Miller, C. Papadopoulou, C.Dodorou,G. Filousis, J. Inorg. , 86, 555.,2001.
- [3] H. Cerecetto, M. González, Curr. Topic. Med. Chem, 2, 1185, 2002.
- [4] S.K Sridhar, S.N Pandeya, J.P Stables, A. Ramesh, Eur.J. Med. Chem., 2002.
- [5] A. Kolocouris, K. Dimas, C. Pannecouque, M. Witvrouw, G.B Boscolos, G. Stamatiou, G. Fytas, G. Zoidis, N. Kolocouros, G. Andrei, R. Snoeck, E. DeClerq, Bioorg. Med. Chem. Letters., 12, 723, 2002.
- [6] G. Domag, R. Behnisch, F. Mietzch, H. Schmidt, Naturwissenschaften. , 33, 315. 1946.
- [7] G. Verma, A. Marella, M. Shaquiquzzaman, M. Akhtar, M. R. Ali, M. M. Alam, J. Pharm. Bioallied Sci. 6, 69, 2014.
- [8] V. J. Negi, A. K. Sharma, J. S. Negi, V. Ram, Int. J. Pharm. Chem. 4, 100,2012.
- [9] M. V. Angelusiu, G. L. Almajan, T. Rosu, M. Negoiu, E. R. Almajan, J. Roy, J. Eur, Med. Chem, 44, 3323, 2009.
- [10] A. Jamadar, A. K. Duhme-Klair, K. Vemuri, M. Sritharan, P. Dandawate, S. Padhye, T. Dalton, 41, 9192 , 2012.
- [11] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, et al., Gaussian09, Revision D. 01;Gaussian Inc.: Pittsburgh, PA, 2009.
- [12] F. Baquero, Antimicrob. Chem. other, 1, 39,1997.
- [13]L.B. Rice. Unmet medical needs in antibacterial therapy. Biochem. Pharmacol, 71, 2006.

- [14] N. Belkheiri.. Dérivés phénoliques à activités Antiatherogènes. Thèse de Doctorat. L'Université Toulouse III - Paul Sabatier.2010.
- [15] R.M.Mohareb , K.A .EL-Sharawy , M. M. Hussein ., J.EL-H.M.Sehrawi, . , 24, 185, 2010.
- [16] S. A. Khan, K. Saleem; Z. Khan, Eur. J. Med. Chem. 42, 103,2007.
- [17] M. sham, M. Dinodia, A. Kumai, Bioorganic . 14, 4657,2006.
- [18] K. A. Metwally, L. M. Abdel-Aziz, S. M. Lashine, M. I. Husseiny, R. H. Badawya, B. Chem, 14, 8675,2006.
- [19] D.R., Richardson, P.C. Sharpe, D. B. Lovejoy, D. Senaratne, D.S. Kalinowski, M. Islam, P P.V. Bernhardt, G.J. Wilson, P.C. Sharpe, D.S. Kalinowski, D.R., Richardson, J. Biol. , 13,107 , 2008.
- [20] T. Simune, I. Klimtova, J. Kaplanova, M. Sterba, Y. Mazurova, M. Adamcova, R. Hrdina, V. Gersl, P.Ponka, 51, 223 ,2005.
- [21] S. Constantin, A. Panzariu, I. Vasincu, M. Apotrosoaei, L. Confederat, F. Buron, S. Routier, L. Profire, Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat, Iasi, 3, 119 , 2015.
- [22] R. M. Mohareb, K.A. El-Sharawy, M. M. Hussein, H.M El-Sehrawi, 24, 185,2010.
- [23] D.S. Kalinowski, P.C. Sharpe, P.V. Bernhardt, D.R. Richardson, 51, 331,2008.
- [24]N. Ben Belkacem ,(Synthèse et caractérisation de complexes mixtes de Cobalt (III)avec l'éthylènediamine, une série d'acides aminés et des bases azotées, Mémoire Master Académique, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, 2012.
- [25] J.Diwakerawadh, J.Inter . pharm., 2, 110, 2011.
- [26] F.Baquero ., Antimicrob. Chem. other. 39, 1, 1997.
- [27] N. Terzioglu, A. Gursoy, Eur. J. Med. Chem, 38, 781 ,2003
- [28] J. E. Courtois, R. Perles, *Précis de Chimie Biologique*, 1971
- [29] S.Rollas; S.G.Kucukguzel,. Molecules. 12, 1910.2007.
- [30] W.Kaim , B.Schwederski ., An Introduction and Guide, John Wiley.1994.

- [31] G. Domagk, Nordisk Medici., 39, 1322, 1948.
- [32] J.Breman, . G. J. Trop. Med. Hyg., 64, 1, 2001.
- [33]: M.Chavanne, A.Jullien et G.J.Odermato ; 1991.
- [34]: S.Westholle, Chimie analytique, D. Boeck University, 1999.
- [35] S.Moamen, A. Refat, A. Sabry ,. El-Korashy and Mostafa A. Hussien Ligational., 2 , 35 , 2014.
- [36] D.R.Browning; Méthodes spectroscopiques, Paris,2000.
- [37] T.J .Pelouze ,E. Fremy. ,593.1865.
- [38] V.V.Dhande , V.B.Badwaik , 8, 1206.2007.
- [39] N. Benbelkacem,. Synthèse et caractérisation de complexes mixtes de Cobalt (III) avec l'éthylènediamine, une série d'acides aminés et des bases azotées. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou: Tizi Ouzou.2012.
- [40] B. Springer , U. Orendi ,P. Much ,G. Hoeger , W.Ruppitsch ,K. Krziwanek ,S. Metzgercek. ,H.Mittermayer. Wien Klin Wochenschr. 121, 86,2009.
- [41] K. .Bouhadjra, étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. . Dacosta, Paris, 2011.
- [42].A. Favier ,Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'Actualité chimique ;2003.
- [43]M. Ghanem, H. Radwan, E ; Mahdy;Y. Elkholy ; H. Hassanein,; A.A.Shahat, . 4, 108,2012.
- [44] M. Kaplan ,M. Aviram ,T. Hayek. ,136,175,2012.
- [45] P.M .Kahkonen, ; A.I.Hopia, ; M.Heinonen, .49, 4082,2001.
- [46] Jadot, , J.Jakupovic ,L. Paredes , F.Bohlmann , L.Watson ,. 27 , 3273 ,1994.
- [47] Z.Mohemmedi ,. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Thèse pour l'obtention du diplôme de magister Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen ,2006.

- [48] N.J. Mille , C.A, Rice-Evans, . ., 60,337,1997.
- [49] K.Bouhadjra, étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. . Dacosta, Paris, 2011.
- [50] J.Goudable, A. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme, 11,120, 1997.
- [51] M.Gardès-Albert , Dominique Bonnefont-Rousselot, Zohreh Abedinzadeh Z et Daniel Jore D.. Espèces réactives de l'oxygène , 8,96,2003.
- [52] W.Brand-Williams ,M. Cuvelier ,C. Berset . ;28,30,1995.
- [53] D. Huang , B.Prior RL. , J Agric Food Chem. 53,56,2005.
- [54] L.G. Meimetis, J.C.T. Carlson, R.J. Giedt, R.H. Kohler, R. Weissleder, Angew. . 53 , 7534,2014.
- [55] Q. Sun, J. Qian, H. Tian, L. Duan, W. Zhang, Chem. Commun. 50 , 8518–8521,2014.
- [56] Adida, H., Benariba, N., Bechiri, A., Chekroun, E.,R. Djaziri, . ,14,212.,2016.
- [57] M.S.Blois., 181, 1200,1958.
- [58] C. Popovici, I.Saykova, and B. Tylkowski. , 2010.