

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahim de Bordj Bou Arréridj



Faculté des Sciences et Technologie  
Département Sciences de la matière

THÈSE

Présentée par

LOUAILECHE Tinhinane

Pour l'obtention du diplôme de

**DOCTORAT**

Spécialité : **chimie.**

Option : **Chimie organique**

**THEME :**

## **Etude biologique et calculs théoriques de quelques molécules hétérocycliques**

Soutenue le : 21/06/2025

Devant le jury composé de :

AYECHE Riad	Professeur	Université BBA	Président
TABTI Salima	Professeur	Université BBA	Directrice de thèse
AMAMRA Samra	MCA	Université BBA	Co-directrice
BELHADDAD Oumelkheir	MCA	Université M'sila	Examinatrice
HANNACHI Douniazed	Professeur	Université Batna-1	Examinatrice
DEKAR Souad	MCA	Université Sétif-1	Examinatrice
DJEDOUANI Amel	Professeur	ENS-Constantine	Invitée
WARAD Ismail	Professeur	Université An-Najah Palestine	Invité

## *Dédicace*

Je dédie ce travail à ceux que les mots ne suffisent pas à remercier

À mes chers parents, qui ont été et seront toujours ma source de force et de soutien dans la  
vie,

À ma chère sœur Sihem et son époux Nassim, Kahina et son époux Hichem, à ma petite sœur  
Massilia, qui m'ont soutenue à chaque étape.

À mes neveux et nièces qui ont apporté joie et espoir dans ma vie,

À mon Oncle Othmane et mes grands parents

À toute ma famille

À mes amis fidèles, qui m'ont soutenue dans les moments difficiles

À vous tous, j'offre cet effort comme un gage de gratitude et de reconnaissance pour votre  
soutien inestimable.

# Remerciement

Il n'a pas été facile d'arriver à ce stade final de la rédaction, le chemin a été semé d'embûches et a nécessité patience et persévérance. Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à tous ceux qui y ont contribué, directement ou indirectement, dans le soutien que j'ai apporté au cours de ce voyage scientifique.

Tout d'abord, je remercie Allah tout-puissant de m'avoir aidé à terminer ce travail et de m'avoir donné la force et la patience dans tout mon parcours.

Ce travail a été mené au sein du laboratoire Matériaux et Systèmes Electroniques (LMSE) de la Faculté des Sciences et Technologies de l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arréridj sous la direction du Professeur TABTI Salima.

J'exprime ma profonde gratitude à ma directrice de thèse professeur TABTI SALIMA, pour son soutien indéfectible et ses précieux conseils, qui ont considérablement influencé l'achèvement de ce travail. Son engagement en faveur de la précision et de l'orientation scientifiques a contribué de manière significative à améliorer et à affiner la recherche.

J'apprécie le temps et les efforts qu'elle a consacrés à mon suivi et ses encouragements inébranlables, qui ont été une source d'inspiration. Je lui suis reconnaissant et je m'attends à ce que ce travail réponde à ses attentes.

Je tiens à exprimer mes respectueux remerciements à Pr. DJEDOUANI Amel, professeur à l'école normale supérieure de Constantine, pour ses instructions, ses conseils et son soutien permanent, qui m'ont grandement aidé à mener à bien ce travail.

Un merci pour la co-directrice de thèse Dr. AMAMRA Samra maitre de conférence classe A à l'université de Mohamed El Bachir El Ibrahim de Bordj Bou Arréridj.

Un grand merci à Pr. WARAD Ismail, professeur à l'université An-Najah-Palestine, pour ses conseils, son enrichissement scientifique et son soutien continu. Et pour nous avoir fait l'honneur d'accepter notre invitation, ce qui a ajouté à l'importance de cette occasion et a enrichi la discussion scientifique.

Je remercie infiniment, Pr. AYECHÉ Riad, professeur à l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahim de Bordj Bou Arréridj, d'avoir accepté de présider le jury de soutenance et d'avoir

mis à notre disposition les installations nécessaires à la réalisation de l'étude catalytique dans le laboratoire du département génie d'environnement.

J'exprime mes respectueux remerciements à Dr. BELHADDAD Oumelkheir, maître de conférence classe A à l'université de M'sila, Pr. HANNACHI Douniazed professeur à l'université de Batna-1 et Dr. DEKAR Souad maître de conférence classe A à l'université de Ferhat Abbas Sétif-1 d'avoir accepté examiner ce travail.

Un remerciement particulier à l'ingénieur du laboratoire Matériaux et Systèmes Electroniques (LMSE) M. ZIANI Issam pour les installations et les conditions de travail favorables tout au long de mon séjour dans le laboratoire.

Je tiens à remercier chaleureusement les ingénieurs de laboratoire notamment (M. MIHOUB Fouad et M<sup>me</sup>. CHETOUAH Farida) pour leur assistance technique indispensable tout au long de ce travail.

Un grand merci à toute l'équipe de la faculté SNV Université Mohamed El Bachir El Ibrahim de Bordj Bou Arréridj, pour leur accueil, leur encadrement et leurs précieux conseils durant mon travail sur l'activité antibactérienne.

Je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères au Pr. A. Atahan pour m'avoir ouvert les portes de son laboratoire lors de mon stage, une expérience qui a enrichi considérablement mon travail.

Un grand merci en particulier à mes collègues (MAOUCHE Chaima, ACHOUR Mahdi, ABLOUL Mohamed) pour leurs échanges constructifs, leur aide technique et leur bienveillance.

À tous ceux qui m'ont soutenu, encouragé et aidé et à toute personne pris part de manière directe ou indirecte, ne serait-ce que par un mot gentil, j'exprime ma plus profonde reconnaissance et ma gratitude.

# Sommaire

Introduction générale .....	1
Références bibliographiques: .....	4

## Chapitre I : Recherche bibliographique

I.1 Introduction : .....	4
I.2 Généralités sur l'acide déhydroacétique : .....	4
I.2.1 Etude structurale de DHA: .....	4
I.2.2 Synthèse de l'acide déhydroacétique : .....	6
I.2.3 Réactivité de DHA : .....	7
I.3 Les bases de Schiff : .....	8
I.4 Quelques Bases de Schiff dérivées de DHA et leurs applications : .....	8
Conclusion : .....	16
Références bibliographiques : .....	17

## Chapitre II : Synthèse et caractérisation des ligands

II.1 Introduction : .....	20
Partie I : Caractérisation physico-chimique .....	21
II.2 Réactifs et Materials: .....	21
II.3 Protocole générale de synthèse des ligands dérivés de DHA : .....	21
II.4 Mécanisme réactionnel : .....	22
II.5 Propriétés physicochimiques des ligands : .....	22
II.6 Caractérisation et identification structural des ligands : .....	23
II.6.1 (L1) : 4-hydroxy-3-[(1E)-N-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) ethanimidoyl]-6-methyl-2H-pyran-2-one .....	23
II.6.1.1 Spectroscopie UV-Vis : .....	23
II.6.1.2 Spectroscopie FT-IR : .....	24
II.6.1.3 Spectroscopie RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C : .....	25
II.6.2 (L2) : 3,3'-((1E,1'E)-((oxybis(4,1-phenylene))bis(azanylylidene))bis(ethan-1-yl-1 ylidene))bis(4-hydroxy-6-méthyll-2H-pyran-2-one) .....	26
II.6.2.1 Spectroscopie UV-Vis : .....	27
II.6.2.2 Spectroscopie FT-IR : .....	27
II.6.2.3 Spectroscopie RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C : .....	28
II.6.3 (L3) : 3,3'-((1E,1'E)-((méthylènebis(4,1-phenylene))bis(azanylylidene))bis(ethan-1-yl-1-ylidene))bis(4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one) .....	30
II.6.3.1 Spectroscopie UV-Vis : .....	30
II.6.3.2 Spectroscopie FT-IR : .....	31
II.6.3.3 Spectroscopie RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C : .....	31

II.6.4 (L4) : 4-hydroxy-6-methyl-3-[(1E)-N-(naphthalen-2-yl)ethanimidoyl]-2H-pyran-2-one .....	33
II.6.4.1 Spectroscopie UV-Vis : .....	33
II.6.4.2 Spectroscopie FT-IR : .....	33
II.6.4.3 Spectroscopie RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C : .....	34
II.6.5 (L5) : methyl 2-[(1E)-1-(4-hydroxy-6-methyl-2-oxo-2H-pyran-3-yl)ethylidene]amino}-4,5-dimethoxybenzoate .....	36
II.6.5.1 Spectroscopie UV-Vis : .....	36
II.6.5.2 Spectroscopie FT-IR : .....	37
II.6.5.3 Spectroscopie RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C : .....	37
II.6.6 (L6): (E)-4-hydroxy-6-methyl-3-(1-((2-methylquinolin-4-yl) imino) ethyl)-2H-pyran-2-one: .....	39
II.6.6.1 Spectroscopie UV-visible: .....	39
II.6.6.2 Spectroscopie FT-IR : .....	40
II.6.6.3 Spectroscopie RMN <sup>1</sup> H : .....	40
II.6.7 (L7) : (E)-3-(1-((4-(diethylamino) phenyl)imino)ethyl)-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one .....	41
II.6.7.1 Spectroscopie UV-Visible : .....	41
II.6.7.2 Spectroscopie FT-IR : .....	42
II.6.7.3 Spectroscopie RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C : .....	43
<b>Partie II : Cristallographie .....</b>	<b>44</b>
<b>II.7 Etude structural de ligand L2 : .....</b>	<b>44</b>
II.7.1 Description de la structure : .....	45
<b>Discussion et Conclusion : .....</b>	<b>48</b>
<b>Références bibliographiques : .....</b>	<b>50</b>

### **Chapitre III : Etude catalytique des ligands synthésés**

<b>III.1 Introduction : .....</b>	<b>52</b>
<b>III.2 Définitions et concepts liés à l'activité catécholase : .....</b>	<b>52</b>
III.2.1 Metalloenzyme : .....	52
III.2.2 Cuivre enzyme : .....	53
III.2.3 Catechol : .....	53
III.2.4 Quinone : .....	54
III.2.5 Catéchol oxydase : .....	54
<b>III.3 Partie expérimental : .....</b>	<b>55</b>
III.3.1 Etude cinétiques de l'oxydation du catéchol en présence des complexes, formés in-situ : .....	55
III.3.2 Méthodes et Équipements Utilisés : .....	55
III.3.3 Vitesse d'oxydation du catéchol en o-quinone : .....	55
<b>III.4 Résultats et discussion : .....</b>	<b>56</b>
III.4.1 Etude de l'effet de la nature de contre anion sur la réaction d'oxydation de catechol en o-quinone : .....	56

III.4.1.1	Oxydation du catéchol en présence des complexes in situ formés avec L1 :	56
III.4.1.2	Oxydation du catéchol en présence des complexes formés in situ avec L2 :	57
III.4.1.3	Oxydation du catéchol en présence des complexes formés in situ avec L3 :	58
III.4.1.4	Oxydation du catéchol en présence des complexes formés in situ avec L4 :	59
III.4.1.5	Oxydation du catéchol en présence des complexes in situ formés avec L5 :	60
III.4.2	Effet de la nature du ligand sur l'oxydation de catéchol :.....	61
III.4.3	Etude de l'effet de la nature du solvant sur la réaction d'oxydation du catechol en o-quinone : .....	64
III.4.4	Etude de l'effet de concentration sur la réaction d'oxydation du catechol en o-quinone :.....	65
III.4.5	Etude cinétique par l'équation de Michaelis-Menten : .....	66
<b>Conclusion :</b> .....		<b>68</b>
<b>Références bibliographiques :</b> .....		<b>69</b>

## **Chapitre IV : Etude biologique de molécules synthétisées**

<b>IV.1</b>	<b>Introduction :</b> .....	<b>72</b>
<b>Partie I : Mode opératoire</b> .....		<b>72</b>
<b>IV.2</b>	<b>L'activité antioxydants :</b> .....	<b>72</b>
IV.2.1	Test du DPPH :.....	73
IV.2.2	Test du l'ABTS : .....	75
IV.2.3	Test de phénanthroline : .....	75
<b>IV.3</b>	<b>L'activité antibactérienne :</b> .....	<b>76</b>
IV.3.1	Méthode de diffusion sur disque en milieu de Mueller-Hinton : .....	76
IV.3.2	Mode opératoire : .....	77
<b>IV.4</b>	<b>L'activité anticancéreuse :</b> .....	<b>78</b>
IV.4.1	Études antiprolifératives :.....	79
IV.4.1.1	Lignées cellulaires et culture : .....	79
IV.4.1.2	Test de viabilité cellulaire : .....	79
<b>Partie II : Résultats et discussion</b> .....		<b>79</b>
<b>IV.5</b>	<b>Evaluation de l'activité antioxydante :</b> .....	<b>79</b>
IV.5.1	Piégeage du radical DPPH : .....	79
IV.5.2	Piégeage du radical ABTS : .....	82
IV.5.3	Teste de phénanthroline : .....	85
<b>IV.6</b>	<b>Evaluation de l'activité antibactérienne :</b> .....	<b>88</b>
<b>IV.7</b>	<b>Evaluation de l'activité anti-cancéreuse de cancer gastrique :</b> .....	<b>90</b>
IV.7.1	Analyse des valeurs d'IC <sub>50</sub> : .....	91
IV.7.2	Analyse des images microscopiques :.....	92

<b>Conclusion :</b> .....	<b>93</b>
<b>Références bibliographiques:</b> .....	<b>94</b>

## **Chapitre V : Etude théorique**

<b>V.1 Introduction :</b> .....	<b>96</b>
<b>V.2 Principes de la théorie de la fonctionnelle de densité (DFT) :</b> .....	<b>96</b>
V.2.1 Fondements Théoriques .....	96
a) Le postulat fondamental .....	96
b) Théorèmes de Hohenberg-Kohn (1964) .....	96
V.2.2 Méthode de Kohn-Sham (1965) .....	97
a) Réduction du problème à un système fictif non-interactif .....	97
b) Équations de Kohn-Sham .....	97
V.2.3 Fonctionnelle d'Échange-Corrélation $E_{xc}[\rho]$ .....	97
V.2.4 Analyse des Orbitales moléculaires HOMO-LUMO : .....	98
V.2.5 Indices de réactivité chimique dans la théorie de la densité fonctionnelle : .....	99
V.2.6 Potentiel électrostatique moléculaire (MEP) : .....	102
<b>V.3 Analyse de surface Hirshfeld :</b> .....	<b>102</b>
<b>V.4 Docking moléculaire d'inhibition de NADPH oxydase :</b> .....	<b>104</b>
<b>Conclusion :</b> .....	<b>108</b>
<b>Références bibliographiques:</b> .....	<b>109</b>
<b>Conclusion générale</b> .....	<b>112</b>

**Avant propos**

**ANNEXES**

## Liste des figures

<b>Figure I- 1:</b> Structure de DHA proposé par Feist (1890). .....	5
<b>Figure I- 2:</b> la structure finale de DHA .....	5
<b>Figure I- 3:</b> principales formes tautomères d'acide déhydroacétique.....	6
<b>Figure I- 4:</b> sites actifs de DHA. ....	8
<b>Figure I- 5:</b> Structures des bases de Schiff synthétisé par V. G. Mane et al. ....	11
<b>Figure I- 6:</b> Structure de ligand (4-hydroxy-6-méthyl-3-(1-(2-(2-nitrophenyl) hydrazineylidene) ethyl)-2H-pyran-2-one.....	13
<b>Figure I- 7:</b> Structure de base de Schiff synthétisé par S. Boukerche et al. ....	14
<b>Figure II- 1:</b> Structure de ligand L1. ....	23
<b>Figure II- 2:</b> Spectres UV-Vis du ligand L1 dans MeOH. ....	24
<b>Figure II- 3:</b> Spectre IR de ligand L1. ....	25
<b>Figure II- 4:</b> RMN de ligand L1 (a)RMN $^1\text{H}$ (b) RMN $^{13}\text{C}$ .....	26
<b>Figure II- 5:</b> Structure de ligand L2. ....	27
<b>Figure II- 6:</b> Spectres UV-Vis du ligand L2 dans MeOH. ....	27
<b>Figure II- 7:</b> Spectre IR de ligand L2. ....	28
<b>Figure II- 8:</b> RMN de ligand L2 (a)RMN $^1\text{H}$ (b) RMN $^{13}\text{C}$ . ....	29
<b>Figure II- 9:</b> Structure de ligand L3. ....	30
<b>Figure II- 10:</b> Spectres UV-Vis du ligand L3 dans MeOH. ....	30
<b>Figure II- 11:</b> Spectre IR de ligand L3. ....	31
<b>Figure II- 12:</b> RMN de ligand L3 (a)RMN $^1\text{H}$ (b) RMN $^{13}\text{C}$ . ....	32
<b>Figure II- 13:</b> Structure de ligand L4. ....	33
<b>Figure II- 14:</b> Spectres UV-Vis du ligand L4 dans MeOH. ....	33
<b>Figure II- 15:</b> Spectre IR de ligand L4. ....	34
<b>Figure II- 16:</b> RMN de ligand L4 (a)RMN $^1\text{H}$ (b) RMN $^{13}\text{C}$ . ....	35
<b>Figure II- 17:</b> Structure de ligand L5. ....	36
<b>Figure II- 18:</b> Spectre électronique du ligand L5 dans le méthanol. ....	36
<b>Figure II- 19:</b> Spectre IR de ligand L5. ....	37
<b>Figure II- 20:</b> RMN de ligand L5 (a) RMN $^1\text{H}$ (b) RMN $^{13}\text{C}$ . ....	38
<b>Figure II- 21:</b> Structure de ligand L6. ....	39
<b>Figure II- 22:</b> spectre électronique du ligand L6.....	39
<b>Figure II- 23:</b> Spectre IR du ligand L6.....	40
<b>Figure II- 24:</b> RMN $^1\text{H}$ du ligand L6.....	41
<b>Figure II- 25:</b> Structure de ligand L7. ....	41
<b>Figure II- 26:</b> spectre électronique de ligand L7 dans méthanol.....	42
<b>Figure II- 27:</b> spectre IR du ligand L7. ....	43
<b>Figure II- 28:</b> RMN de ligand L7 (a) RMN $^1\text{H}$ (b) RMN $^{13}\text{C}$ . ....	44
<b>Figure II- 29:</b> Vue de la structure moléculaire avec numérotation des atomes et les liaisons hydrogène intramoléculaire.....	45
<b>Figure II- 30:</b> Vue partielle de la structure cristalline de L2, montrant la formation du motif de l'anneau R 22(16). ....	47
<b>Figure II- 31:</b> Vue partielle de la structure cristalline de L2, montrant la formation du motif de l'anneau R 22(16) lié à l'hydrogène (C-H...O). ....	48
<b>Figure III- 1:</b> structure de catéchol.....	54
<b>Figure III- 2:</b> structure de l' <i>o</i> -quinone .....	54
<b>Figure III- 3:</b> réaction d'oxydation de catéchol en <i>o</i> -quinone .....	55

<b>Figure III- 4:</b> Oxydation du catéchol en présence de différents sels métalliques et du ligand L1 dans le méthanol.....	57
<b>Figure III- 5:</b> Oxydation du catéchol en présence de différents sels métalliques et du ligand L2 dans le l'ACN.....	58
<b>Figure III- 6:</b> Oxydation du catéchol en présence de différents sels métalliques et du ligand L3 dans l'acétonitrile.....	59
<b>Figure III- 7:</b> Oxydation du catéchol en présence de différents sels métalliques et du ligand L4 dans l'acétonitrile.....	60
<b>Figure III- 8:</b> Oxydation du catéchol en présence de différents sels métalliques et du ligand L5 dans le méthanol.....	61
<b>Figure III- 9:</b> oxydation de catéchol en <i>o</i> -quinone en présence des ligands (L2, L3 et L4) pour chaque anion dans l'ACN.....	62
<b>Figure III- 10:</b> oxydation de catéchol en <i>o</i> -quinone en présence des ligands (L1 et L5) pour chaque anion dans MeOH.....	63
<b>Figure III- 11:</b> Oxydation du catéchol en présence de L1 / CuBr <sub>2</sub> dans différents solvants.....	65
<b>Figure III- 12:</b> Oxydation du catéchol en présence de différentes propositions de L2/Cu(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> dans l'acétonitrile.....	66
<b>Figure III- 13:</b> représentation graphique par l'équation de Michaelis-Menten de complex formé <i>in situ</i> [L2-Cu].....	67
<b>Figure IV- 1:</b> lecteur de microplaque EnSpire de PerkinElmer.....	74
<b>Figure IV- 2:</b> les microplaques de l'activité de piégeage de radicale DPPH après 30 min d'incubation.....	80
<b>Figure IV- 3:</b> Pourcentage d'inhibition de DPPH contre les ligands synthétisés, BHA et BHT en fonction des différentes concentrations.....	81
<b>Figure IV- 4:</b> histogramme des valeurs IC <sub>50</sub> du ligand L1 et des références (BHA et BHT).....	82
<b>Figure IV- 5:</b> les microplaques de l'activité de piégeage de radicale ABTS <sup>•+</sup> après 10 min d'incubation.....	83
<b>Figure IV- 6:</b> Pourcentage d'inhibition l'ABTS contre les ligands synthétisés, BHA et BHT en fonction des différentes concentrations.....	84
<b>Figure IV- 7:</b> Histogramme des valeurs IC <sub>50</sub> de ligand L1 et des références (BHA et BHT).....	84
<b>Figure IV- 8:</b> les microplaques de l'activité de phénanthroline après 20 min d'incubation à 30 °C. ..	85
<b>Figure IV- 9:</b> Absorbance des composés testés et des standards (BHA et BHT) en fonction de la concentration.....	86
<b>Figure IV- 10:</b> Histogramme des valeurs C <sub>A0.5</sub> des ligands L1, L5 et des références (BHA et BHT)..	87
<b>Figure IV- 11:</b> Résultats de l'activité antibactérienne des molécules synthétisées (a-f) → (L1-L6) contre <i>Enterococcus faecalis</i> (ATTC 49532).....	89
<b>Figure IV- 12:</b> Résultats de l'activité antibactérienne des molécules synthétisées (a-f)→ (L1-L6) contre <i>Escherichia coli</i> (ATTC 25922).....	89
<b>Figure IV- 13:</b> Viabilité cellulaire en fonction de concentration des cellules cancéreuses AGS et cellules normal HUVEC.....	91
<b>Figure IV- 14:</b> Histogramme représente la viabilité cellulaire des cellules AGS et HUVEC.....	91
<b>Figure IV- 15:</b> vue microscopique des cellules AGS sous l'effet des ligands L6 à différentes concentrations après 24 h.....	92
<b>Figure V- 1:</b> Les diagrammes HOMO et LUMO du ligand L2.....	99
<b>Figure V- 2:</b> Potentiel électrostatique moléculaire.....	102
<b>Figure V- 3:</b> (a) tracés d'empreintes digitales de la surface de Hirshfeld, et (b) et la surface d <sub>norm</sub> de ligand L2.....	103
<b>Figure V- 4:</b> Distribution des interactions intermoléculaires du ligand L2 par type d'interaction. ....	104
<b>Figure V- 5:</b> Structures cristalline de NADPH-oxydase.....	105

<b>Figure V- 6:</b> Meilleure visualisation de la pose d'interaction des ligands étudiés avec le site actif de NADPH-Oxydase.....	105
<b>Figure V- 7:</b> Diagrammes 3D de liaison-interaction des ligands L1 et L2 avec la NADPH-Oxidase	106
<b>Figure V- 8:</b> Diagrammes 2D de liaison-interaction des ligands avec la NADPH-Oxidase <b>(a)</b> L1, <b>(b)</b> L2 .....	107

## Liste des Schémas

<b>Schéma I- 1:</b> les différentes voies de synthèse de DHA ( <b>a</b> )condensation de deux molécules d'acétoacétate d'éthyle ( <b>b</b> ) dimérisation de dicétène et polymérisation de quatre molécules de cétène ( <b>c</b> )l'acylation de la lactone de l'acide triacétique. ....	7
<b>Schéma I- 2:</b> Structures des ligands synthétisés à partir des dérivés de l'aniline. ....	9
<b>Schéma I- 3:</b> Réactions de formation des ligands dérivés de thiosemicarbazones et 4-thiazolidinones synthétisé par R. Nechak et al. ....	10
<b>Schéma I- 4:</b> Réaction de formation de ((E)-N-(1-(2-hydroxy-6-méthyl-4-oxo-4H-pyran-3-yl)éthylidène benzohydrazide) ....	11
<b>Schéma I- 5:</b> Réaction de formation de 3-[1-(4-fluoro-phénylimino)-éthyl]-4-hydroxy-6-méthyl-pyran-2-one (HL) . ....	12
<b>Schéma I- 6:</b> Réaction de formation de 4-hydroxy-3-(1-{2-[(2-hydroxybenzylidène)amino]-4-méthylphényl}imino) éthyl)-6-méthyl-2H-pyran-2-one. ....	12
<b>Schéma I- 7:</b> Réaction de formation de ligand (HL) et ces complexes [Pd <sub>2</sub> (HL)Cl <sub>4</sub> ] et [Ru(HL)Cl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O]. 3H <sub>2</sub> O. ....	14
<b>Schéma II- 1:</b> Schéma réactionnel général de la synthèse des bases de Schiff dérivés de DHA. ....	22
<b>Schéma II- 2:</b> mécanisme réactionnel de formation des ligands dérivés de DHA. ....	22
<b>Schéma IV- 1:</b> mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant. ....	73

## Liste des tableaux

<b>Tableau I- 1:</b> Activité antimicrobienne des composés synthétisés .....	10
<b>Tableau I- 2:</b> L'activité enzymatique de DHA et leur base de Schiff synthétisé.....	13
<b>Tableau I- 3:</b> Les bases de Schiff dérivés de DHA utilisés en activité catecholase.....	15
<b>Tableau II- 1:</b> Eluants utilisés pour CCM des ligands synthétisés.....	21
<b>Tableau II- 2 :</b> propriétés, données analytiques des ligands synthétisés.....	22
<b>Tableau II- 3:</b> Détails de l'affinement de la structure cristalline de ligand L2 résolue.....	44
<b>Tableau II- 4:</b> Angles (°) et distances de liaison (Å) pour le ligand L2.....	46
<b>Tableau II- 5:</b> Paramètres des liaisons hydrogènes dans du ligand L2.....	46
<b>Tableau III- 1:</b> Vitesse d'oxydation du catéchol de [L1/Cu] ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) dans MeOH.....	57
<b>Tableau III- 2:</b> Vitesse d'oxydation du catéchol de [L2/Cu] ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) dans ACN.....	58
<b>Tableau III- 3:</b> Vitesse d'oxydation du catéchol de [L3/Cu] ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) dans ACN.....	59
<b>Tableau III- 4:</b> Vitesse d'oxydation du catéchol de [L4/Cu] ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) dans ACN.....	60
<b>Tableau III- 5:</b> Vitesse d'oxydation du catéchol de [L5/Cu] ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) dans MeOH.....	61
<b>Tableau III- 6:</b> vitesse d'oxydation de catéchol en présence des complexes résultants de différents ligands.....	64
<b>Tableau III- 7:</b> Vitesse d'oxydation du catéchol dans différents solvants.....	65
<b>Tableau III- 8:</b> Vitesse d'oxydation du catéchol avec différentes propositions de L2/Cu(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> dans l'acétonitrile ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ).....	66
<b>Tableau III- 9:</b> les paramètres $V_{\text{max}}$ , $K_m$ et $K_{\text{cat}}$ de ligand L2.....	67
<b>Tableau IV- 1:</b> Valeurs d'IC <sub>50</sub> et A <sub>0.5</sub> (mM) des méthodes utilisées (DPPH, ABTS et phénanthroline).....	88
<b>Tableau IV- 2:</b> zone d'inhibition (mm) de molécules testées.....	88
<b>Tableau IV- 3:</b> valeur d'IC <sub>50</sub> des molécules testés pour les cellules AGS et HUVEC.....	92
<b>Tableau V- 1:</b> Descripteurs de réactivité (en eV) et différents paramètres du ligand L2, calculés au niveau théorique B3LYP/6-31G (d, p).....	100
<b>Tableau V- 2 :</b> Répartition de l'énergie des ligands étudiés entre les forces de van der Waals, la liaison hydrogène et les interactions électrostatiques.....	108

## Liste des abréviations

**ABTS** : 2,2'-Azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-acide sulfonique).

**ACN**: Acétonitrile.

**AGS**: Human gastric adenocarcinoma cell line.

**ATTC** : American Type Culture Collection.

**BHT** : Hydroxytoluène butylé.

**BHA** : Butylhydroxytoluène.

**BSA** : L'albumine de sérum bovin.

**C** : Concentration.

**CCM** : Chromatographie en couche mince.

**CDCl<sub>3</sub>** : Chloroforme deutéré.

**CH<sub>3</sub>Cl** : Chloroforme.

**Cu** : cuivre.

**Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>** : Acétate de cuivre.

**CuSO<sub>4</sub>** : Sulfate de cuivre.

**Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>** : Nitrate de cuivre.

**CuCl<sub>2</sub>** : Chlorure de cuivre.

**CuBr<sub>2</sub>** : Bromure de cuivre.

**d**: doublet.

**DCM** : Dichlorométhane.

**DMEM** : Dulbecco's modified eagle medium

**DMF** : Diméthylformamide.

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde.

**DFT** : Théorie de la fonctionnelle de la densité.

**DHA** : Acide déhydroacétique.

**DPPH** : 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle.

**Et<sub>3</sub>N** : Triéthylamine.

**Et<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup>** : Sel du chlorure de triéthylammonium.

**EtOH** : Ethanol.

**FBS** : Fetal bovine serum (sérum foetal bovin)

**FT-IR** : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.

**HOMO** : l'orbitale moléculaire la plus occupée.

**HUVEC** : Cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibant 50% de la réaction

**I%** : Pourcentage d'inhibition.

**K<sub>m</sub>** : constante de Michaelis Menten (la concentration de substrat qui sature l'enzyme à moitié)

**K<sub>cat</sub>** : Constante catalytique.

**LUMO** : L'orbitale moléculaire la moins occupée.

**m**: Multiplet.

**MeOH** : Méthanol.

**MHz** : Mégahertz.

**mmol** : Millimol

**mM** : Millimolaire

**nm** : Nanomètre.

**μmol** : Micro mol.

**ppm**: Partie par millions.

**q**: Quadruplet.

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire.

**RMN <sup>1</sup>H** : Résonance magnétique nucléaire du proton.

**RMN <sup>13</sup>C** : Résonance magnétique nucléaire du carbone.

**s**: singulet.

**t**: Triplet.

**T<sub>f</sub>**: Température de fusion

**UV-Vis** : Spectroscopie ultraviolet-visible.

**PDA** : Potato Dextrose Agar (milieu de culture à base de pomme de terre et de dextrose)

**V<sub>max</sub>** : La vitesse maximale.

**ZnCl<sub>2</sub>** : Chlorure de zinc.

**δ**: Déplacement chimique

# **Introduction générale**

### **Introduction générale**

D'après la littérature l'histoire de la chimie hétérocyclique a commencé lorsque Brugnatelli a isolé l'alloxane à partir de l'acide urique en 1818 [1].

Les composés hétérocycliques constituent une branche fondamentale de la chimie organique qui trouve ses racines dans la synthèse organique et la chimie médicinale [2]. Les composés hétérocycliques sont des molécules organiques cycliques qui incorporent au moins un hétéroatome ; les hétéroatomes les plus courants sont l'azote, l'oxygène et le soufre, les anneaux hétérocycliques contenant d'autres hétéroatomes sont également très répandus [2, 4].

Les hétérocycles sont essentiels à de nombreuses disciplines scientifiques, notamment la chimie médicinale, la biochimie, l'agrochimie, et aussi comme inhibiteurs de corrosion [5-6]. Les composés hétérocycliques constituent la catégorie prédominante des médicaments pharmaceutiques. Il existe de nombreuses molécules hétérocycliques qui ont des applications dans de nombreuses maladies courantes telles que anticonvulsivant, anti-allergique, et anticancéreux, anti-Alzheimer etc [7-10]. Présentant une large gamme d'activités biologiques, notamment des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, etc [11-13].

Aujourd'hui, le nombre de composés hétérocycliques ne cesse d'augmenter, grâce au développement de la recherche synthétique et à l'intérêt croissant pour leurs diverses applications dans la synthèse chimique, ce qui ouvre des perspectives prometteuses pour la découverte de nouveaux composés dotés d'une efficacité distinctive.

L'acide déhydroacétique (3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one) avec la formule moléculaire  $C_8H_8O_4$  commercialement abrégée comme DHA est l'un des composés hétérocycliques importants contenant de l'oxygène. Le DHA est un composé important et biologiquement actif, c'est une substance très populaire en chimie organique, possède plusieurs centres actifs qui en font un composé organique très réactif et une molécule vulnérable aux processus nucléophiles et électrophiles. Ce qui nous a motivés à travailler sur cet axe de recherche.

Récemment, cet acide a été largement utilisé dans la synthèse de nombreux composés actifs. Les bases de Schiff dérivées de DHA se sont révélées très efficaces dans les études catalytiques, en particulier celles basées sur l'imitation de réactions biologiques spécifiques. En outre, leur efficacité dans de nombreuses fonctions biologiques.

La présente étude vise à synthétiser, purifier et caractériser de nouvelles molécules dérivées de l'acide déhydroacétique. L'étape suivante consiste à tester la capacité des complexes formés *in situ* à partir des molécules synthétisées à agir en tant que catalyseurs dans les réactions d'oxydation du catéchol et à étudier leur potentiel et leur efficacité dans les activités biologiques. Nous avons effectué des tests *in vitro* pour étudier diverses activités biologiques, en nous concentrant particulièrement sur l'activité anticancéreuse, en raison du nombre limité d'études sur cette activité impliquant des composés dérivés d'acide déhydroacétique et plus particulièrement les bases de Schiff.

Le manuscrit de la thèse comprend cinq chapitres principaux :

Dans le premier chapitre, nous avons abordé les différentes généralités de l'acide déhydroacétique inclus les différentes voies de synthèse, les sites actifs....etc. Nous avons ensuite discuté des études antérieures sur les différentes bases de Schiff dérivées de l'acide déhydroacétique, et de leurs diverses utilisations en particulier dans les activités biologiques.

Nous nous sommes concentrés dans le deuxième chapitre sur la description de la synthèse de divers composés, leurs purifications et leurs paramètres physico-chimique, ensuite la caractérisation utilisant plusieurs techniques d'analyse spectroscopiques et une étude structurale d'un ligand par la diffraction des rayons X (DRX).

Le troisième chapitre basé sur l'étude catalytique des complexes formés *in situ* par les ligands synthétisés et les sels métalliques de cuivre Cu(II) dans la réaction d'oxydation de catéchol en *o*-quinone, nous avons exposé les concepts liés à l'activité catécholase, le mode opératoire et les résultats obtenus.

Le quatrième chapitre présente l'évaluation de l'activité biologique des molécules synthétisées, ce chapitre est divisé en deux parties : le mode opératoire des activités biologiques appliquées (activité antioxydante, activité antibactérienne, et activité anticancéreuse), puis l'évaluation des discussions des résultats obtenus.

Le cinquième chapitre regroupe l'ensemble des calculs théoriques effectués sur les molécules étudiés, en première partie nous avons exposé les résultats de la DFT et l'analyse de surface de Hirshfeld. La seconde partie se focalise sur les résultats de docking moléculaire de deux ligands avec une protéine responsable de production des radicaux libres (NADPH-oxydase).

## *Introduction générale*

---

On termine notre modeste travail par une conclusion générale des résultats obtenus et les perspectives.

### **Références bibliographiques:**

- [1] P. Arora, V. Arora, H.S. Lamba, D. Wadhwa, Importance of Heterocyclic Chemistry: A Review, *IJPSR*. 3 (2012) 2947-2954.
- [2] T. H. Chan, and L. T. L. Wong, Benzo [b] phosphole and derivatives, *Can. J. Chem.* 49 (1971) 530-531.
- [3] P. Arsenyan, E. Paegle, S. Belyakov, I. Shestakova, E. Jaschenko, I. Domracheva, J. Popelis, Synthesis, Structure and cytotoxicity of 3-C, N, S, Se substituted benzo[b]selenophene derivatives, *Eur. J. Med. Chem.* 46 (2011) 3434-3443.
- [4] K. Tamao, M. Uchida, T. Izumizawa, K. Furukawa, S. Yamaguchi, Silole Derivatives as Efficient Electron Transporting Materials, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 11974–11975.
- [5] R. Sapra, D. Patel, D. A. Meshram, Mini-review: Recent developments of heterocyclic chemistry in some drug discovery scaffolds synthesis. *J. Med. Chem. Sci.* 3 (2020) 71-78.
- [6] Y. S. Higasio, T. Shoji, Heterocyclic compounds such as pyrroles, pyridines, pyrrolidins, piperdines, indoles, imidazol, and pyrazines. *Appl. Catal. A: Gen.* 221 (2001) 197-207.
- [7] M. Lingappa, V. Guruswamy, V. Bantal, Synthesis and characterization of 4-amino4H-1, 2, 4-triazole derivatives: Anticonvulsant activity. *Curr. Chem. Lett.* 9 (2021) 33-42.
- [8] R.R. Putta, S. Donthamsetty, D.R. Guda, P. Adivireddy, P. Venkatapuram, Synthesis and Anti-allergic Activity of Bis-heteroaryl Hydrazines, *J. Heterocycl. Chem.* 54 (2017) 2216–2222.
- [9] L. Yurttas, Y. Ozkay, G. Akalin-Çiftçi, S. Ulusoylar-Yildirim, Synthesis and anticancer activity evaluation of N-[4-(2-methylthiazol-4-yl)phenyl]acetamide derivatives containing (benz)azole moiety, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 29 (2014) 175–184
- [10] M.M. Abdalla, M.A. Al-Omar, R.A. Al-Salahi, A-G.E. Amr, N.M. Sabrye, A new investigation for some steroidal derivatives as anti-Alzheimer agents, *Int. J. Biol. Macromol.* 51 (2012) 56-63.
- [11] Y. F. Mustafa, Synthesis, characterization and antibacterial activity of novel heterocycle, coumacine, and two of its derivatives, *Saudi Pharm. J.* 26 (2018) 870-875.
- [12] S.V. Blokhina, A.V. Sharapova, M.V. Ol'khovich, I.A. Doroshenko, I.B. Levshin, G. L. Perlovich, Synthesis and antifungal activity of new hybrids thiazolo[4,5-d]pyrimidines with (1H-1,2,4)triazole, *Bioorganic. Med. Chem. Lett.* 40 (2021) 127944.
- [13] M. Horchani, N.V. Heise, R. Csuk, H. Ben Jannet, A.H. Harrath, A. Romdhane, Synthesis and In Silico Docking Study towards M-Pro of Novel Heterocyclic Compounds Derived from Pyrazolopyrimidinone as Putative SARS-CoV-2 Inhibitors, *Molecules.* 27 (2022) 5303.

# **Chapitre I : Recherche bibliographique**

## I.1 Introduction :

Les molécules hétérocycliques, en particulier celles qui contiennent de l'oxygène, sont des modèles stimulants pour un large éventail d'applications en chimie organique. Les hétérocycles sont la plus grande classe de molécules organiques, par conséquent, plus de 70 % des médicaments utilisés aujourd'hui contiennent un noyau hétérocyclique [1]. Il était donc très souhaitable de créer des procédés nouveaux et efficaces pour la synthèse de molécules hétérocycliques.

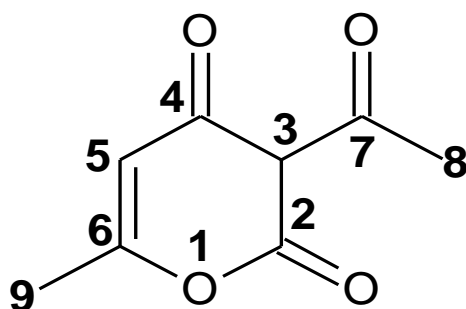
Dans cette recherche, nous rapportons la synthèse de quelques nouveaux dérivés de bases de Schiff avec la DHA, en condensant la DHA avec différentes amines primaires.

## I.2 Généralités sur l'acide déhydroacétique :

L'acide dehydroacétique (3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one) avec la formule moléculaire  $C_8H_8O_4$  commercialement abrégée comme DHA, est l'un des composés hétérocycliques importants contenant de l'oxygène, il a été isolé de sources naturelles (*Solandra nitida*) [2]. Le DHA est un composé important et biologiquement actif, c'est une substance très populaire en chimie organique. Il a quatre sites actifs, c'est une molécule vulnérable aux processus nucléophiles et électrophiles.

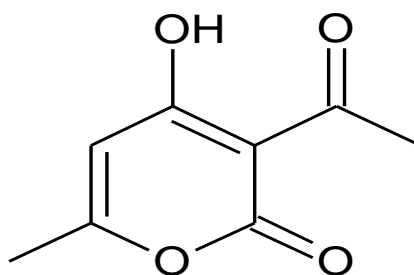
### I.2.1 Etude structurale de DHA:

La formule chimique  $C_8H_8O_4$  de l'acide déhydroacétique a plus de 180 isomères, ce qui peuvent être cycliques ou linéaires [3, 4]. La structure du DHA ou du 3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one a longtemps été suggérée par de nombreux chercheurs, parmi les études effectuées sur la structure de l'acide dehydroacétique (DHA) ; celles apportées par le chercheur Feist [5] que l'acide dehydroacétique est un hétérocycle  $\delta$ -lactone acétylé **Figure I-1**. La position privilégiée de l'hydrogène sur le C(3) permet trois énolisations différentes. Les protons présents dans les hydroxydes peuvent ioniser, conférant ainsi à ce composé une nature acide, c'est pourquoi il est communément appelé acide.



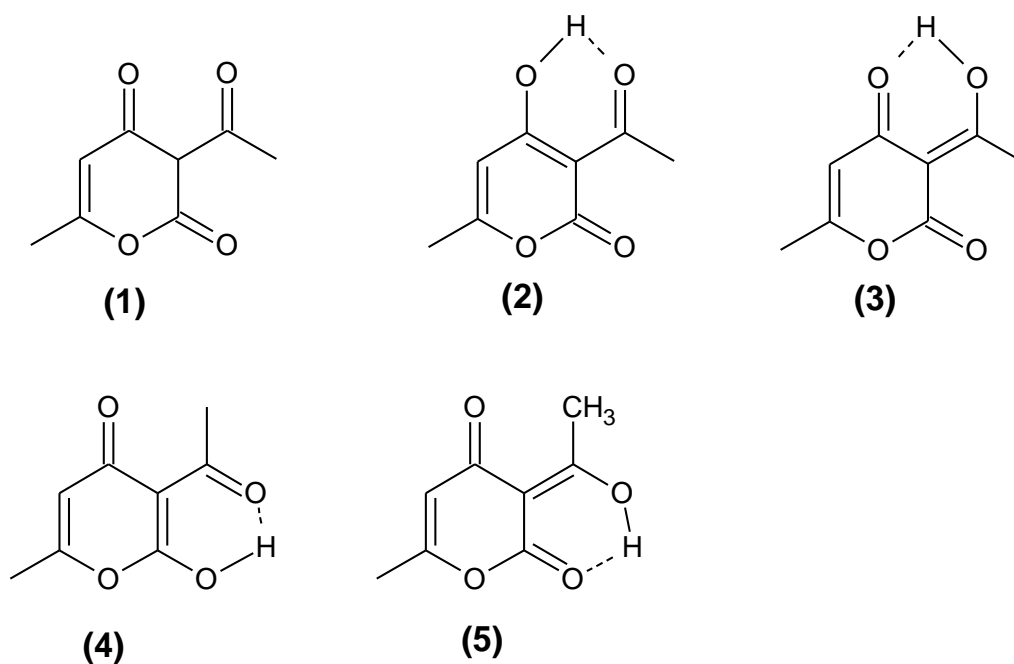
**Figure I- 1:** Structure de DHA proposé par Feist (1890).

Après cela, Forsen et Nilsson [6] ont constaté en se basant sur la spectroscopie infrarouge et RMN, que l'acide déhydroacétique avait une structure pyranique qui est un cycle à 6 chaînons avec un atome d'oxygène en position 1.



**Figure I- 2:** la structure finale de DHA

Cette forme sous le nom de 3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one, est le tautomère le plus stable [7] car il possède le plus grand système conjugué étendu parmi tous les tautomères aussi il ne contient pas de doubles liaisons exocycliques, et il est connu que les doubles liaisons endocycliques sont généralement plus stables que les doubles liaisons exocycliques dans les cycles à six chaînons [8,9].

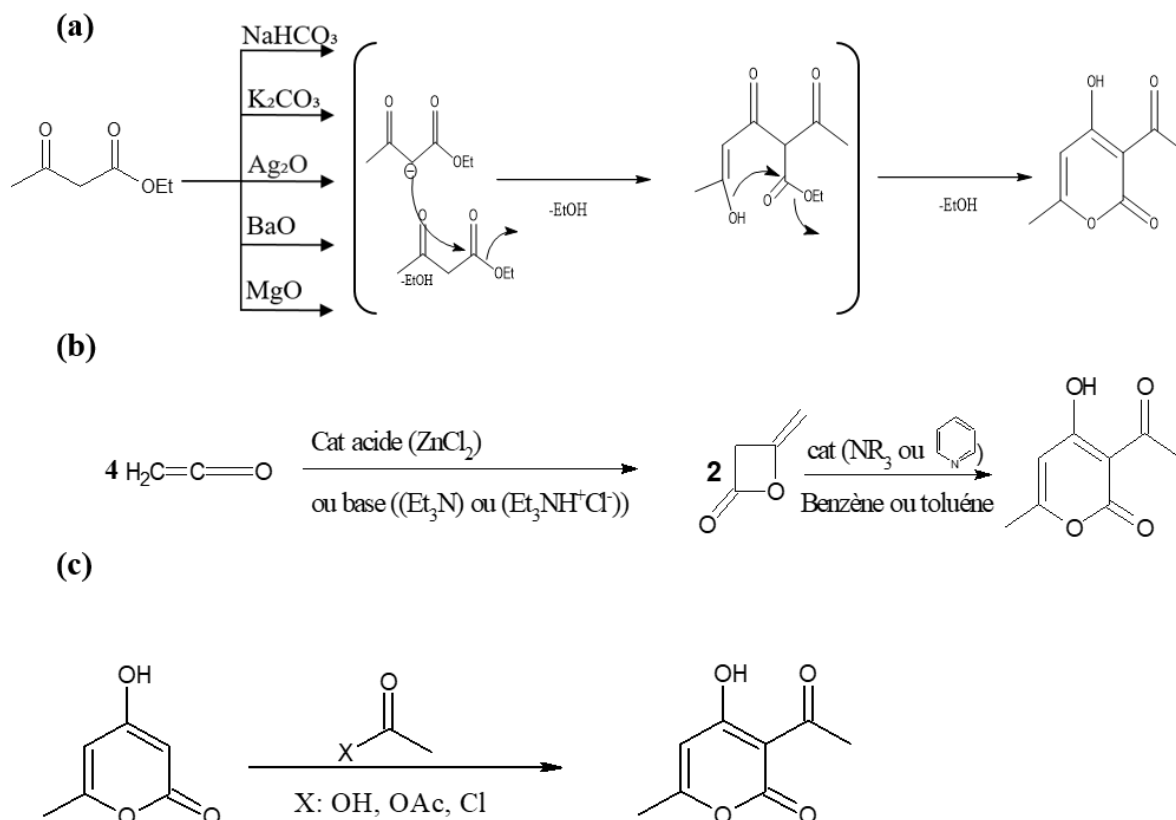


**Figure I- 3:** principales formes tautomères d'acide déhydroacétique.

### I.2.2 Synthèse de l'acide déhydroacétique :

L'acide déhydroacétique est synthétisé par diverses réactions, y compris la condensation de deux molécules d'acétoacétate d'éthyle en présence d'agents de condensation tels que le bicarbonate de sodium [10], le carbonate de potassium [11], l'oxyde d'argent, l'oxyde de baryum et l'oxyde de magnésium [12] **Schéma I-1(a)**. D'une autre manière par dimérisation de dicétène en présence d'une petite quantité de catalyseur basique (amines tertiaires tels que pyridine, triéthylamine) utilisant des hydrocarbures aromatique comme solvant tel que le toluène, le benzène [13] ou par polymérisation de quatre molécules de cétène en présence de catalyseurs acides comme  $ZnCl_2$  un acide de Lewis qui favorise l'électrophilie du carbonyle du cétène, ce qui rend l'attaque nucléophile de l'oxygène de la deuxième molécule de cétène plus facile, ou catalyseurs basiques comme l'amine tertiaire ( $Et_3N$ ) ou du sel du chlorure de triéthylammonium ( $Et_3NH^+Cl^-$ ) [14] **Schéma I- 1(b)**.

Une autre méthode de synthèse du DHA consiste à acyler le lactone d'acide triacétique à l'aide d'acide acétique, d'anhydride acétique ou de chlorure d'acétyle en présence d'acide sulfurique, de pyridine ou d'acétate de sodium [15, 3] **Schéma I- 1(c)**.



**Schéma I- 1:** les différentes voies de synthèse de DHA (a)condensation de deux molécules d'acétoacétate d'éthyle (b) dimérisation de dicétène et polymérisation de quatre molécules de cétène (c)l'acylation de la lactone de l'acide triacétique.

### I.2.3 Réactivité de DHA :

L'acide déhydroacétique possède divers centres de réactivité qui en fait un composé organique très réactif ; sa structure en **Figure I-4** montre la présence de 4 sites d'attaque nucléophile en position C2 du carbonyle de la lactone, en position C7, sur le carbone du groupe carbonyle C4 et sur le carbone avec une double liaison en position 6 [16]. Les carbones en position C3 et C5 sont considérés comme des centres d'attaque électrophiles [17]. En général, les attaques nucléophiles sur les carbones en position 2 et 6 entraînent l'ouverture du cycle, suivie de multiples cyclisations, aboutissant à la formation de nouveaux systèmes hétérocycliques ou à la substitution des cycles benzéniques, contrairement aux centres C3 et C5, la structure pyranique reste intacte lors de l'attaque électrophile [15, 3].

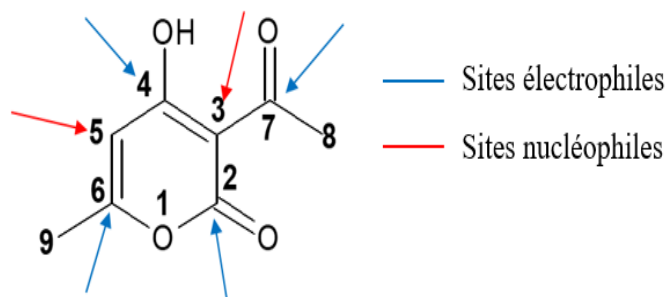


Figure I- 4: sites actifs de DHA.

### I.3 Les bases de Schiff :

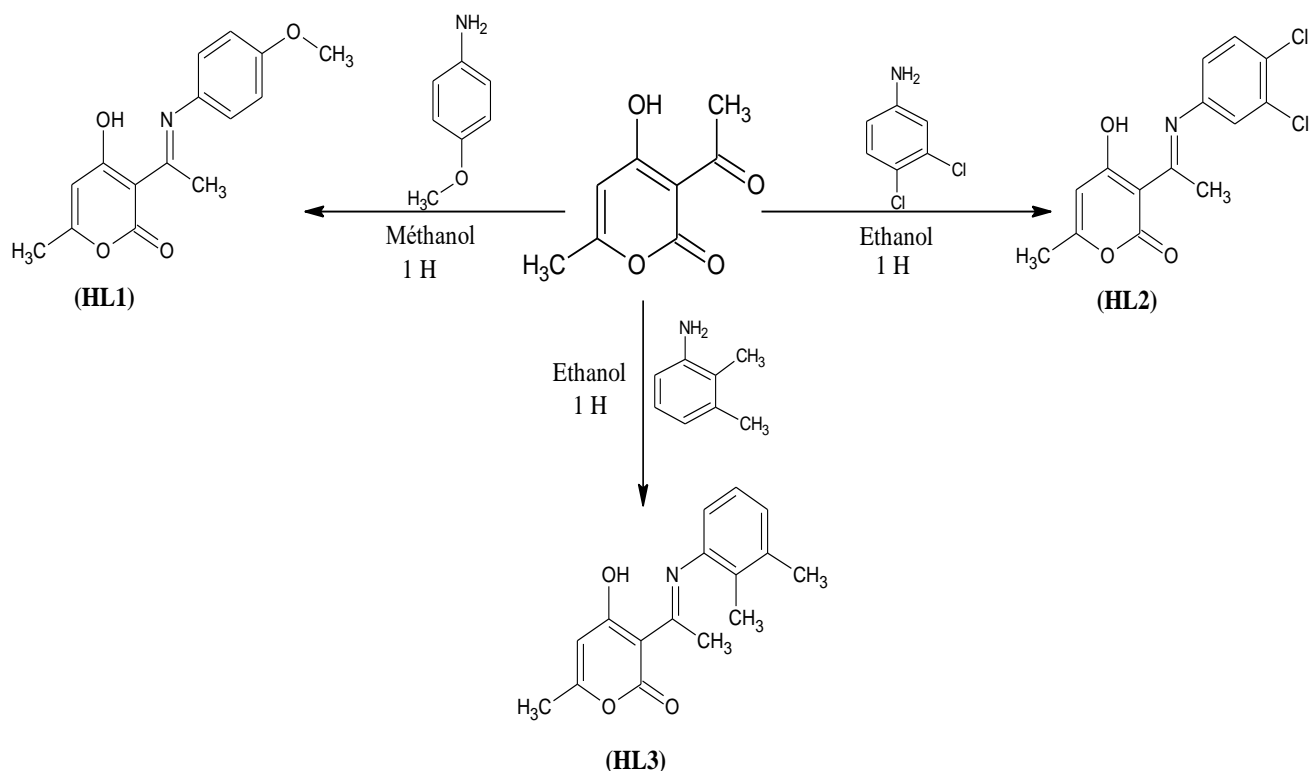
Les bases de Schiff sont des composés organiques synthétisés pour la première fois par Hugo Schiff en 1864 [18]. La caractéristique de ce genre de composé réside dans la présence d'un groupe imine ou azométhine (-HC=N-), les ligands de base de Schiff sont préférés en raison de leur facilité de préparation par condensation en une seule étape d'un aldéhyde ou cétone avec une amine primaire. Les bases de Schiff sont des composés organiques fréquemment employé comme pigments et colorants, catalyseurs, intermédiaires dans la synthèse organique et stabilisateurs de polymères [19], elles ont aussi une grande variété d'activités biologiques y compris l'activité antibactérienne, antifongique, anticancéreuse, antioxydante [20-24].

### I.4 Quelques Bases de Schiff dérivées de DHA et leurs applications :

Les bases de Schiff produites à partir de l'acide déhydroacétique jouent un rôle crucial en raison de leurs diverses caractéristiques chimiques et biologiques, ce qui les rend bénéfiques dans de nombreux domaines de la biologie, de la catalyse, de la science des matériaux et de la chimie médicinale.

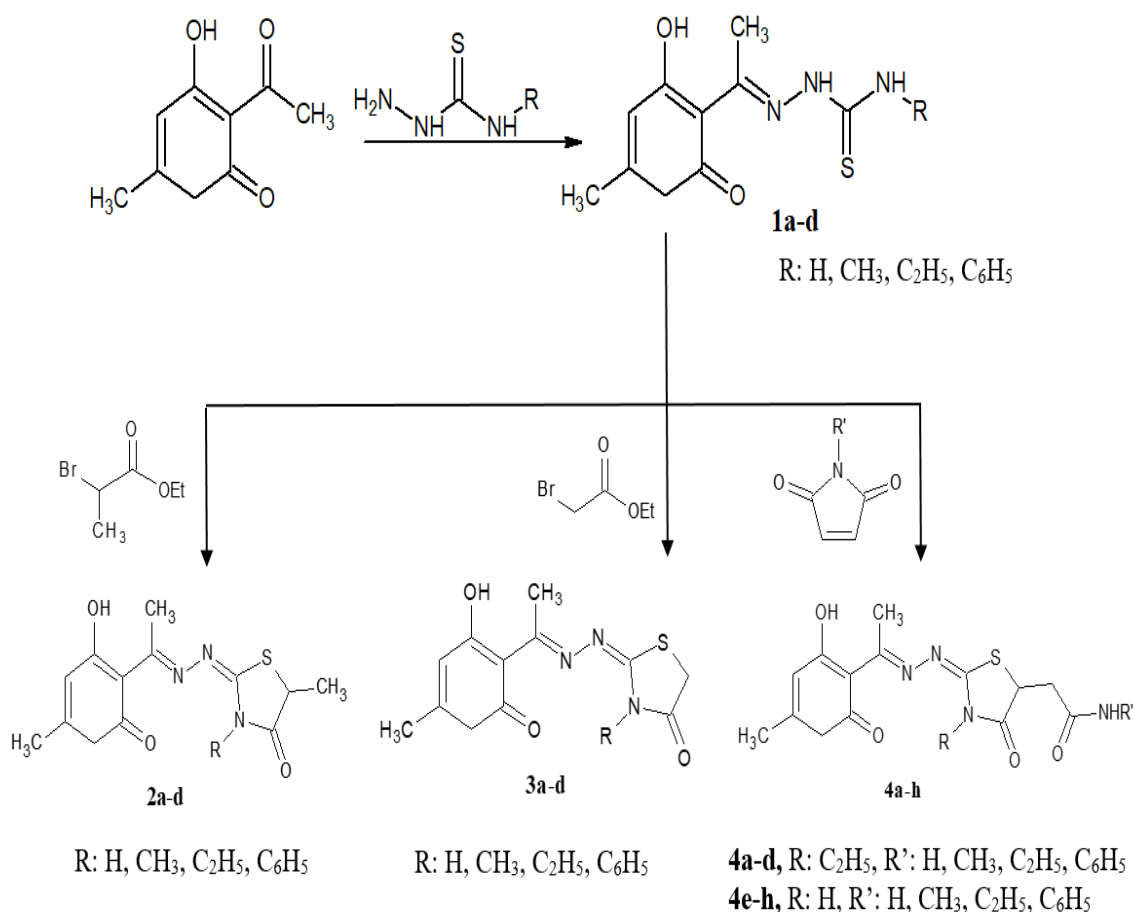
Leur affinité pour plusieurs métaux, leur diversité de structures et leurs propriétés biologiques les rendent constamment intéressants dans la recherche scientifique et le développement industriel.

H. Ullah et al [25] ont synthétisé trois ligands dérivé de l'acide déhydroacétique avec diverses anilines substituées : [4-hydroxy-3-(1-(4-methoxyphenylimino)ethyl)-6methyl-2H-pyran-2-one](HL1), [3-(1-(2,3 dichlorophenylimino)ethyl)- 4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one](HL2) et Synthèses de [3-(1-(2,3-dimethylphenylimino)ethyl)- 4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one](HL3) (Schéma I-2). Ces composés possèdent de bonnes activités antibactériennes contre quatre souches bactériennes, deux bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, et deux bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aureginosa*.



**Schéma I- 2:** Structures des ligands synthétisés à partir des dérivés de l'aniline.

Dans une autre étude, une série de base de Schiff a été synthétisé par *R. Nechak et al* [26] **schéma I-3**, les tests in vitro ont révélé que la plupart de ces composés possèdent des propriétés antibactériennes et antifongiques contre cinq microorganismes pathogènes connus pour provoquer certaines infections chez l'homme trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) et un champignon (*Candida albicans*) **tableau I-1**.



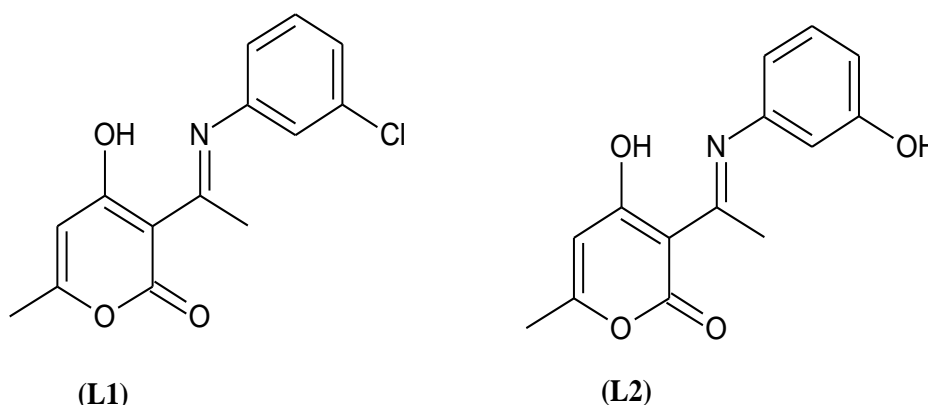
**Schéma I- 3:** Réactions de formation des ligands dérivés de thiosemicarbazones et 4-thiazolidinones synthétisé par *R. Nechak et al* [26].

**Tableau I- 1:** Activité antimicrobienne des composés synthétisés [26].

Composés	Bactéries				Champignon
	<i>Staphylococcus Aureus</i> 1	<i>Staphylococcus aureus</i> 2	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<b>1a</b>	activité bactéricide	—	12	—	20
<b>1b</b>	activité bactéricide	—	—	20	18
<b>1c</b>	—	—	—	17	—
<b>1d</b>	—	—	—	20	18
<b>2a</b>	—	—	—	—	—
<b>2b</b>	—	—	—	—	—
<b>2c</b>	—	—	—	—	—
<b>2d</b>	—	—	—	—	—
<b>3a</b>	—	20	—	—	—
<b>3b</b>	17	—	—	—	14
<b>3c</b>	activité bactéricide	28	13	25	—
<b>3d</b>	26	22	—	13	22
<b>4a</b>	activité bactéricide	—	14	15	—
<b>4b</b>	activité bactéricide	—	—	10	12
<b>4c</b>	activité bactéricide	—	15	18	—
<b>4d</b>	activité bactéricide	—	10	—	—
<b>4e</b>	activité bactéricide	—	—	25	—

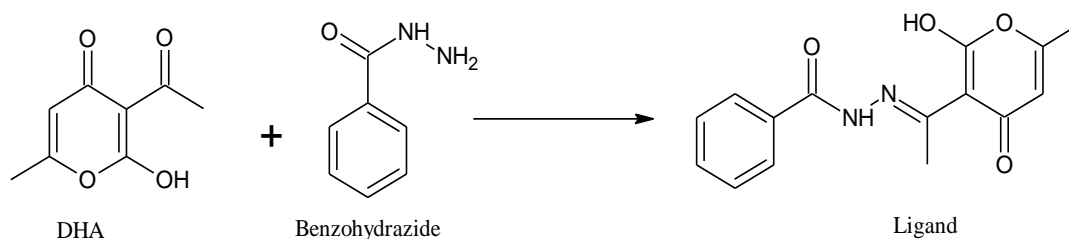
4f	15	—	14
4g	activité bactéricide	—	—
4h	activité bactéricide	10	—

Deux bases de Schiff dérivé de 3-chloroaniline (**L1**) et 3-amino phenol (**L2**) ont été synthétisées et caractérisées par *V. G. Mane et al* [27], l'activité antifongique de ces composés a été réalisée.



**Figure I- 5:** Structures des bases de Schiff synthétisé par *V. G. Mane et al.*

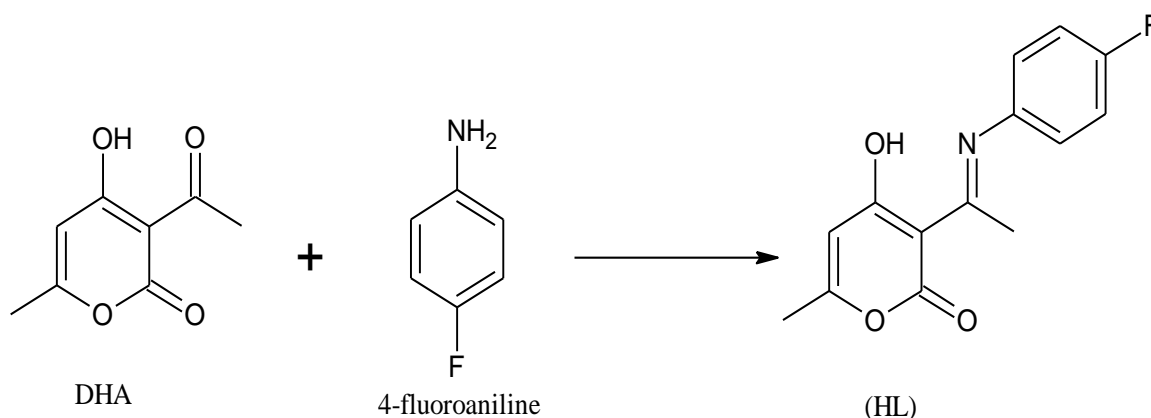
Une autre application sur les bases de Schiff dérivées de DHA a été démontrée par *D. Vashisht et al* [28], en développant un chimiosenseur colorimétrique sélectif et sensible qui peut détecter le  $\text{Cu}^{2+}$  dans un milieu aqueux à faible concentration en produisant un changement de couleur visible. Le but de cette étude est pour détecter les ions métalliques dans les aliments/eau car la surconsommation de ces dernier ont de graves conséquences pour la santé, donc les niveaux d'ions métalliques doivent être surveillé.



**Schéma I- 4:** Réaction de formation de ((E)-N-(1-(2-hydroxy-6-méthyl-4-oxo-4H-pyran-3-yl) ethylidene benzohydrazide) [28].

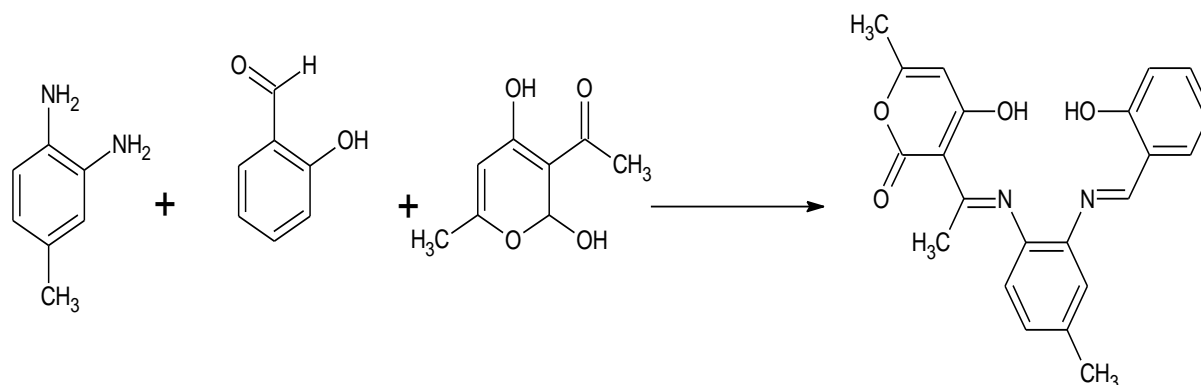
Dans le même axe de recherche *A. Goel et all* [29] ont également préparé et caractérisé par FT-IR, RMN et spectroscopie de masse un nouveau ligand (**HL**) dérivé du 4-fluoroaniline avec 3-acetyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one schéma I-5. Ce ligand est utilisé comme

un chemiosensor pour la détection sélective de l'acide picrique ; un acide organique hautement toxique il a un comportement explosif mais très couramment utilisé en industrie. L'excès d'utilisation de ce composé entraîne une pollution aisée des eaux souterraines et du sol, qui présente des risques considérables pour la santé.



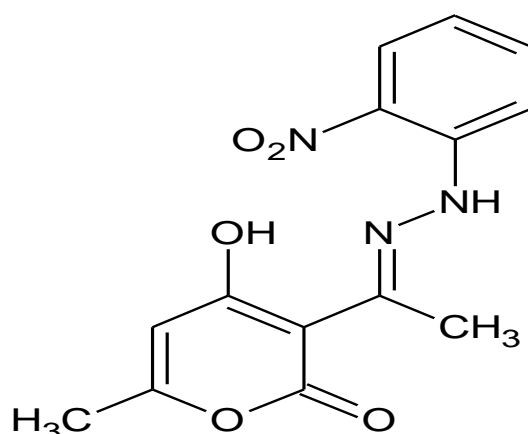
**Schéma I- 5:** Réaction de formation de 3-[1-(4-fluoro-phénylimino)-ethyl]-4-hydroxy-6-méthyl-pyran-2-one (HL) [29].

A. S. Munde *et al* [30] ont synthétisé un nouveau ligand asymétrique tétradenté O<sub>2</sub>N<sub>2</sub> en combinant l'acide déshydroacétique, de la 4-méthyl-o-phénylènediamine et de l'aldéhyde salicylique **Schéma I-6**, le ligand est analysés à l'aide de plusieurs méthodes d'analyse spectrale, y compris l'analyse élémentaire, la conductométrie, la susceptibilité magnétique, UV-Vis, Spectroscopie IR, RMN-<sup>1</sup>H, analyse par diffraction des rayons X d'échantillons en poudre et analyse thermique. Le ligand et leur complexe ont fait l'objet d'une évaluation de leur efficacité antibactérienne contre diverses souches bactériennes telle que *E coli* et *Staphylococcus aureus*, ainsi que l'activité fongicide contre *Aspergillus niger* et *Trichoderma viride*.



**Schéma I- 6:** Réaction de formation de 4-hydroxy-3-(1-{{2-[(2-hydroxybenzylidène)amino]-4-méthylphényl}imino} ethyl)-6-méthyl-2H-pyran-2-one [30].

Dans le but d'explorer la chimie et le potentiel thérapeutique de divers dérivés de l'acide déhydroacétique, *R. Lakhia et al* [31] ont synthétisé un nouveau ligand (4-hydroxy-6-méthyl-3-(1-(2-(2-nitrophenyl) hydrazineylidene) ethyl)-2H-pyran-2-one **Figure I-6**. Le DHA et son ligand base de Schiff ont été évalués pour leur inhibition enzymatique. Les résultats ont montré que le dérivé hydrazone pouvait être utilisé comme anti-inflammatoire prometteur, et bon l'inhibiteur de cathepsine, trypsine, lipase, amylase. Les tests d'inhibition enzymatique ont révélé que la nitrohydrazone a plus de propriétés thérapeutiques mieux que la molécule mère DHA **Tableau I-2**.

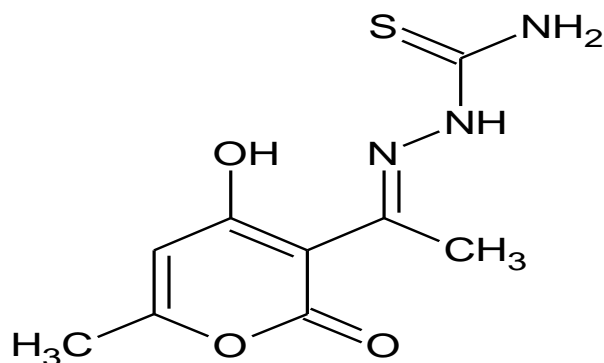


**Figure I- 6:** Structure de ligand (4-hydroxy-6-méthyl-3-(1-(2-(2-nitrophenyl) hydrazineylidene) ethyl)-2H-pyran-2-one.

**Tableau I- 2:** L'activité enzymatique de DHA et leur base de Schiff synthétisé.

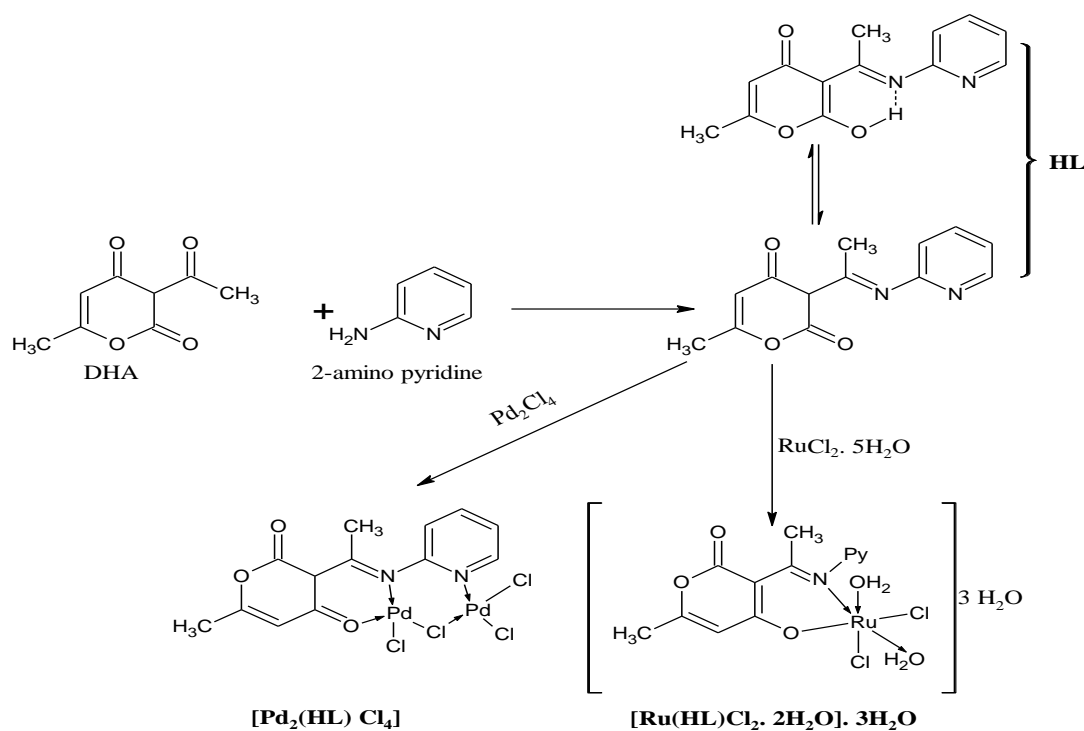
	% Inhibition à C= 10 mM	
	DHA	Ligand
BSA	104.31	151.79
Trypsin	42.27	52.78
Amylase	59.75	79.77
Lipase	51.14	63.89
CathpB	63.68	73.50
CathpH	55.19	65.38

Une étude menée par *S. Boukerche et al* [32] en utilisant des méthodes électrochimiques, des techniques spectroscopiques et des calculs théoriques sur un composé de base de Schiff dérivé de l'acide déhydroacétique et thiosemicarbazide, montre un rendement élevé de la base de Schiff récemment synthétisée, en inhibant la corrosion de l'acier doux XC38 dans 1 M HCl.



**Figure I- 7:** Structure de base de Schiff synthétisé par S. Boukerche et al.

En 2021 *T. I. Kashar et al* [33] ont développé et caractérisé un ligand dérivé de l'acide dehydroacétique et 2-amino pyridine et ces complexes de métal de transition **Schéma I-7**, les composés ont montré un arrangement d'activité antitumorale contre les cellules hépatiques HEPG2  $[\text{Pd}_2(\text{HL}) \text{Cl}_4] > [\text{Ru}(\text{L})\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}] \cdot 3\text{H}_2\text{O} > \text{HL}$  et contre les cellules mammaires MCF7 ont dans l'ordre suivant  $\text{HL} > [\text{Pd}_2(\text{HL}) \text{Cl}_4] > \text{Ru}(\text{L})\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ . MCF7  $\text{HL} > [\text{Pd}_2(\text{HL}) \text{Cl}_4] > [\text{Ru}(\text{L})\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , en plus de posséder une activité antibactérienne contre toutes les bactéries a Gram négatives (*Pseudomonas aeruginosa* et *Sarcina SP*) et positives (*Bacillus subtilis* et *Micrococcus lutes*) et les champignons (*Aspergillus niger* et *Candida albicans*).

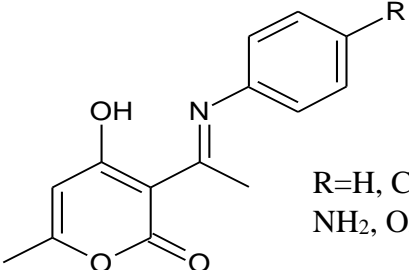
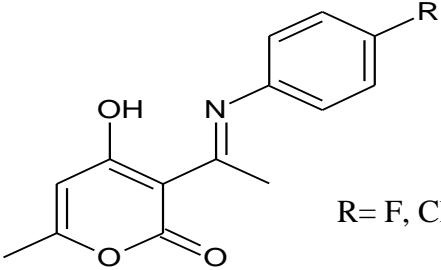
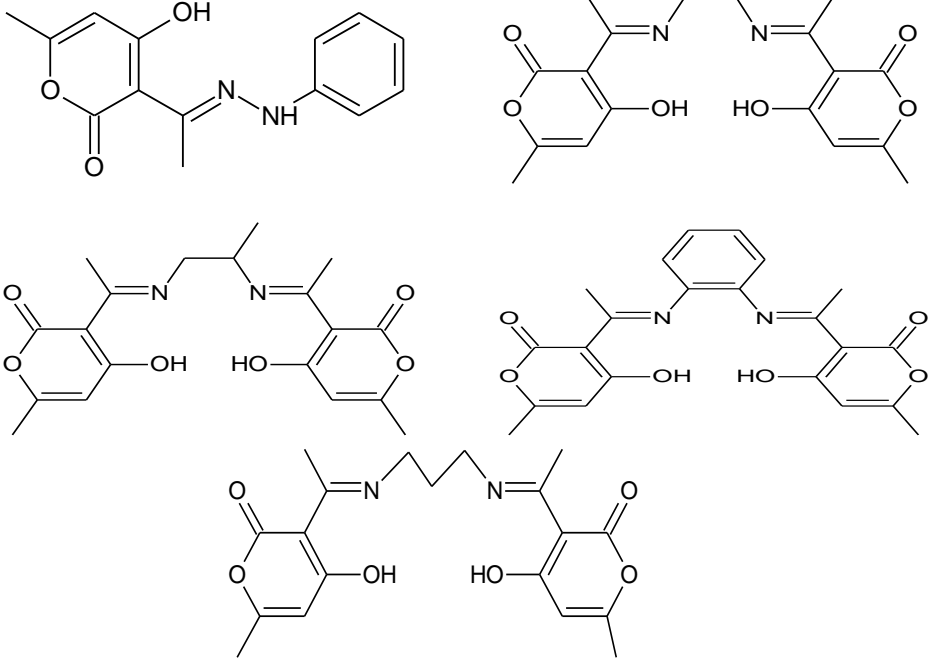


**Schéma I- 7:** Réaction de formation de ligand (HL) et ces complexes  $[\text{Pd}_2(\text{HL})\text{Cl}_4]$  et  $[\text{Ru}(\text{HL})\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  [33].

En catalyse, les bases de Schiff dérivé de l'acide déhydroacétique sont largement utilisées comme catalyseur dans le processus d'oxydation de catéchol conduisant à la formation de l'*o*-quinone connu sous le nom de l'activité Catecholase, son importance significative dans de nombreux processus biologiques en fait un sujet de recherche pour plusieurs chercheurs

**Tableau I-3.**

**Tableau I- 3:** Les bases de Schiff dérivés de DHA utilisés en activité catecholase.

Composés	Références
 <p>R=H, CH<sub>3</sub>, Cl, OCH<sub>3</sub>, COOH, NH<sub>2</sub>, OH</p>	[34]
 <p>R= F, Cl, Br</p>	[35]
	[36]

**Conclusion :**

L'étude bibliographique qu'on a réalisée sur l'acide déhydroacétique (DHA) et leurs dérivés bases de Schiff en se basant sur les différentes méthodes de synthèse et les applications réalisés sur les ligands, montre la diversité d'utilisation de ces derniers dans plusieurs domaines. Notre étude est basé beaucoup plus sur les applications biologiques et d'après cette étude bibliographiques on constate qu'il y a de nombreuses activités n'ont pas été testés par ce type de molécules, cela nous a motivés a synthétisé nouveaux molécules bases de Schiff dérivé de DHA et les caractérisés par les différentes méthodes spectroscopiques pour les testés ensuit pour leur activité biologiques et catalytique.

**Références bibliographiques :**

- [1] S. Haider, Heterocycles, back bone of drug design, *J. Phytochem. Biochem.* 1 (2017) e101.
- [2] C. Rivera, E. Piñeyro, F. Giral, Dehydroacetic acid in anthers of *Solandra nitida* (Solanaceae). *Experientia.* 32 (1976) 1490.
- [3] A. E. Jilalat, W. H. A. H. Al-Garadi, K. Karrouchi et E. M. Essassi, Dehydroacetic acid (part 1): chemical and pharmacological properties, *J. Mar. Chim. Heterocycl.* 16(1) (2017) 1-47.
- [4] E. A. Ghaith, H. H. Zoorob, M. E. Ibrahim<sup>1</sup>, M. Sawamura et W. S. Hamama, The Scope of 3-acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one (DHA), *Curr. Org. Chem.* 24 (2020) 1459-1490.
- [5] F. Feist, *Justus Liebigs Annalen der Chemie.* 257(1890) 253-297.
- [6] S. Forsen, M. Nilsson, Spectroscopic studies on enols. 3. Dehydroacetic acid, *Arkiv för kemi,* 17 (1961) 523-528.
- [7] R.I. Reed, V.V. Takhistov, Electron impact and molecular dissociation—XVI :  $\beta$ -Keto esters, *Tetrahedron,* 23 (1967) 2807-2815.
- [8] M. Z. Chalaça, J. D. Figueroa-Villar. A theoretical and NMR study of the tautomerism of dehydroacetic acid, *J. Mol. Struct.* 554 (2000) 225-231.
- [9] M. Gorodetsky, Z. Luz, Y. Mazur, Oxygen-17 Nuclear Magnetic Resonance Studies of the Equilibria between the Enol Forms of  $\beta$ -Diketones, *J. Am. Chem. Soc.* 89 (5) (1967) 1183–1189.
- [10] F. Arndt, Dehydroacetic acid In: *Organic Syntheses Collective*; John Wiley & Sons: New York, 3 (1940) 26.
- [11] T. Mistri, R. Alam, R. Bhowmick, A. Katarkar, K. Chaudhuri, M. Ali, A rhodamine embedded bio-compatible smart molecule mimicking a combinatorial logic circuit and ‘key-pad lock’ memory device for defending against information risk, *New J. Chem.* 40 (2016) 330-339.
- [12] K. Miyaki, S. Yamagishi. Antibacterial properties of pyranes I: synthesis of dehydroacetic acid in liquid phase, *J. Pharm. Soc. Japan.* 73 (1953) 982-985.
- [13] A. B. Steele, A. B. Boese, M. F. Dull, A study of the polymerization products of diketene<sup>1,2</sup>, *J. Org. Chem.* 14 (1949) 460-469.
- [14] N. Hayki, Synthèse et caractérisation de nouveaux polymères obtenus à partir de l'éthylcétène. *Chimie organique.* INSA de Rouen, 2011. Français. ffNNT: 2011ISAM0006ff.
- [15] D. V. Bondar, Study of dehydro acetic acid: chemical and biological activity, *Research Journey.* 7 (2019) 131-135.
- [16] J. F. Stephen, E. Marcus, Reactions of dehydroacetic acid and related pyrones with secondary amines, *J. Org. Chem.* 34 (1969) 2527-2534.

- [17] G. Kumar Gupta, A. Mittal, V. Kumar, DHA: an excellent source of bioactive heterocycles, *Lett. Org. Chem.* 11 (2014) 273-286.
- [18] H. Schiff, The syntheses and characterization of Schiff base, *Ann. Chem. Suppl.* 3 (1864) 343-349.
- [19] D. N. Dhar, C. L. Taploo, Schiff bases and their applications, *J. Sci. Ind. Res.* 141(8) (1982) 501-506.
- [20] A.M. Abu-Dief, I.M.A. Mohamed, A review on versatile applications of transition metal complexes incorporating Schiff bases, *Beni-Suef univ. j. basic appl. Sci.* 4 (2) (2015) 119-133.
- [21] I. Warad, O. Ali, A. Al Ali, N.A. Jaradat, F. Hussein, L. Abdallah, N. Al-Zaqri, A. Alsalmeh, F.A. Alharthi, Synthesis and spectral Identification of three Schiff bases with a 2-(piperazin-1-yl)-N-(thiophen-2-yl methylene) ethanamine moiety acting as novel pancreatic lipase inhibitors: Thermal, DFT, antioxidant, antibacterial, and molecular docking investigations, *Molecules.* 25 (2020) 2253.
- [22] S. Bhagwatrao Biradar, D. Vithal Narte, R. Pradip Kale, K.I. Momin, M.S. Sudewad, K.C. Tayade, D.G. Palke, Synthesis, spectral and biological studies of DHA Schiff bases, *J. Appl. Organometal. Chem.* 1 (2021) 41-47.
- [23] S. Liu, J. Peng, H. Yang, Y. Bai, J. Li, G. Lai, Highly efficient and convenient asymmetric hydrosilylation of ketones catalyzed with zinc Schiff base complexes, *Tetrahedron.* 68 (2012) 1371-1375.
- [24] U. U. Janjua, M. Pervaiz, F. Ali, A. Saleem, A. Ashraf, U. Younas, M. Iqbal, Schiff base derived Mn(II) and Cd(II) novel complexes for catalytic and antioxidant applications, *Inorg. Chem. Commun.* 57 (2023) 111233.
- [25] H. Ullah, F. H. Wattoo, M. H. S. Wattoo, M. Gulfraz, S. A. Tirmizi, S. Ata, A. Wadood, Synthesis, spectroscopic characterization and antibacterial activities of three Schiff bases derived from dehydroacetic acid with various substituted anilines, *Turk. J. Biochem.* 37(4) (2012) 386-391.
- [26] R. Nechak, S. A. Bouzroua, Y. Benmalek, L. Salhi, S. P. Martini, V. Morizur, E. Dunach, and B. N. Kolli, Synthesis and antimicrobial activity evaluation of novel 4-thiazolidinones containing a pyrone moiety, *Synthetic Communications.* 45 (2015) 262-272.
- [27] V. G. Manea, V. N. Patangeb and B. R. Arbadb, Synthesis, structural and thermal characterization and antifungal study of manganese(II), iron(III), cobalt(II) and copper(II) complexes of N,O donor ligands, *J. Indian Chem. Soc.* 84 (2007) 1086-1091.
- [28] D. Vashisht, S. Sharma, R. Kumar, V. Saini, V. Saini, A. Ibhaddon, S. C. Sahoo, S. Sharma, S. K. Mehta, R. Kataria, Dehydroacetic acid derived schiff base as selective and sensitive colorimetric chemosensor for the detection of Cu(II) ions in aqueous medium, *Microchem. J.* 155 (2020) 104705.
- [29] A. Goel, R. Malhotra, Efficient detection of picric acid by pyranone based schiff base as a chemosensor, *J. Mol. Struct.* 1249 (2022) 131619.

- [30] A. S. Munde, A. N. Jagdale, S. M. Jadhav and T. K. Chondhekar, Synthesis, characterization and thermal study of some transition metal complexes of an asymmetrical tetradentate Schiff base ligand, *J. Serb. Chem. Soc.* 75 (3) (2010) 349–359.
- [31] R. Lakhia, N. Raghav, R. Pundeer, Dehydroacetic acid hydrazones as potent enzyme inhibitors: design, synthesis and computational studies, *Computational Toxicology*. 24 (2022) 100239.
- [32] S. Boukerche, H. Ferkous, A. Delimi, A. Sedik, A. Djedouani, K. O. Rachedi, H. Bouchoukh, M. Berredjem, M. Zahzouh, A. Himouri, S. Bellucci, M. Alam, Y. Benguerba, Anti-corrosion performance of dehydroacetic acid thiosemicarbazone on XC38 carbon steel in an acidic medium, *Arab. J. Chem.* 16 (2023) 105061.
- [33] T. I. Kashar, S. A. Aal, Spectral, DFT—TDDFT computational investigation and biological studies of transition metal complexes of dehydroacetic acid Schiff base, *J. Iran. Chem. Soc.* 18 (2021) 1625–1640.
- [34] A. Djedouani, F. Abrigach, M. Khoutoul, A. Mohamadou, A. Bendaas, A. Oussaid, R. Touzani, Catecholase Activity Investigations using in situ Copper Complexes Continuing Schiff Base Derivatives with a Theoretical Calculation, *Orient. J. Chem.* 31 (1) (2015) 97-105.
- [35] H. Boulemche, B. Anak, A. Djedouani, R. Touzani, M. François, S. Fleutot, F. Rabilloud, Synthesis, X-ray crystallography, computational studies and catecholase activity of new zwitterionic Schiff base derivatives, *J. Mol. Struct.* 1178 (2019) 606-616.
- [36] S. Rahmouni, synthèse, caractérisation structurale de complexes et ligands dérivés de DHA : étude électrochimique, théorique et cathecolase activité. Thèse de doctorat, université Ferhat Abbas-Sétif, 2018.

# **Chapitre II : Synthèse et caractérisation des ligands**

## II.1 Introduction :

Comme nous l'avons expliqué précédemment, les bases de Schiff dérivées de DHA ont une grande importance et sont largement employées dans divers domaines en tant que molécules hétérocycliques. Ce chapitre est réparti en deux parties :

La première partie : abordera les divers protocoles de synthèse et les différentes méthodes de caractérisation et d'identification structurales (FT-IR, UV-Vis, RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ ) des ligands synthétisés, à savoir :

- ✓ 4-hydroxy-3-[(1E)-N-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethanimidoyl]-6-methyl-2H-pyran-2-one (**L1**)
- ✓ 3,3'-((1E,1'E)-((oxybis(4,1-phenylene))bis(azanylylidene))bis(ethan-1-yl-1-ylidene))bis(4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one) (**L2**)
- ✓ 3,3'-((1E,1'E)-((méthylènebis(4,1-phenylene))bis(azanylylidene))bis(ethan-1-yl-1-ylidene))bis(4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one) (**L3**)
- ✓ 4-hydroxy-6-methyl-3-[(1E)-N-(naphthalen-2-yl)ethanimidoyl]-2H-pyran-2-one (**L4**)
- ✓ methyl 2-[[[(1E)-1-(4-hydroxy-6-methyl-2-oxo-2H-pyran-3-yl)ethylidene]amino]-4,5-dimethoxybenzoate (**L5**)
- ✓ (E)-4-hydroxy-6-methyl-3-(1-((2-méthylquinolin-4-yl)imino)ethyl)-2H-pyran-2-one (**L6**)
- ✓ (E)-3-(1-((4-(diéthylamino) phenyl)imino)ethyl)-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one (**L7**)

La deuxième partie, se déroule sur l'étude structurale du ligand L2.

## Partie I : Caractérisation physico-chimique

### II.2 Réactifs et Materials:

Dans cette étude, tous les réactifs chimiques et solvants ont été utilisés sans subir de purification supplémentaire.

Le suivi et le contrôle de pureté des molécules synthétisées a été effectué par chromatographie en couche mince (CCM), utilisant des plaques de gel de silice (60 F254) de Merck (0,25 mm). Les points de fusion ont été établis à l'aide d'un banc Kofler. Les données d'absorption électronique ont été obtenues à l'aide d'un spectrophotomètre UV-1900I (Shimadzu). Les spectres infrarouges ont été enregistrés à des longueurs d'onde de 400 à 4000  $\text{cm}^{-1}$  sur un spectromètre Shimadzu IRSpirit-T à l'état solide. Les données de spectrométrie RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  ont été enregistrées sur un spectromètre Burkert 400 MHz en utilisant  $\text{CDCl}_3$  comme solvant.

### II.3 Protocole générale de synthèse des ligands dérivés de DHA :

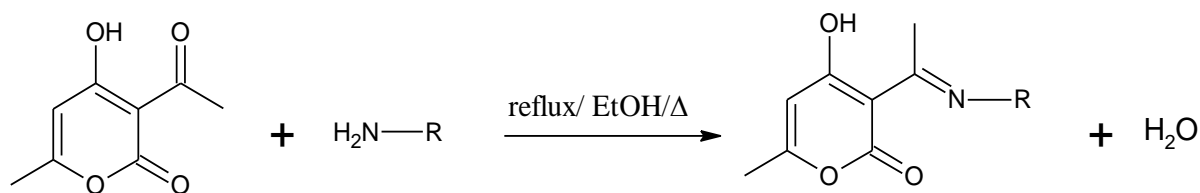
Dans un ballon de 50 ml, on fait régir à reflux un mélange équimolaire de DHA (10 mmol) avec (10 mmol) des amines primaires suivant : 5-amino-2-méthoxyphénol, 4,4'-oxydianiline, 4,4'-méthanediyldianiline, naphthalen-2-amine, méthyl-2-amino-4,5-diméthoxybenzoate, N,N-diéthylbenzène-1,4-diamine, 4-Aminoquinoline, dans 25 ml éthanol. La réaction a été suivie par chromatographie sur couche mince (CCM). Le mélange réactionnel obtenu est soumis à une filtration, puis rincé plusieurs fois avec de l'éthanol froid, la pureté des produits a été vérifiée par CCM en utilisant l'éluant correspondant pour chaque produit **Tableau II-1**.

Les résultats des tests de solubilité des molécules synthétisées avec quelques solvants ont été rassemblés dans le **Tableau 1 (voir annexe I)**.

**Tableau II- 1:** Eluants utilisés pour CCM des ligands synthétisés.

Ligand	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7
Eluant (v/v/v)	DCM/n-hexane (50/50)	DCM+ quelques gouttes EtOH	DCM/Acet d'éthyle/EtOH (50/30/20)	DCM	DCM/Acet d'éthyle/EtOH (75/30/20)	n-hexane /acétate d'éthyle (80/20)	DCM/n-hexane (50/50)

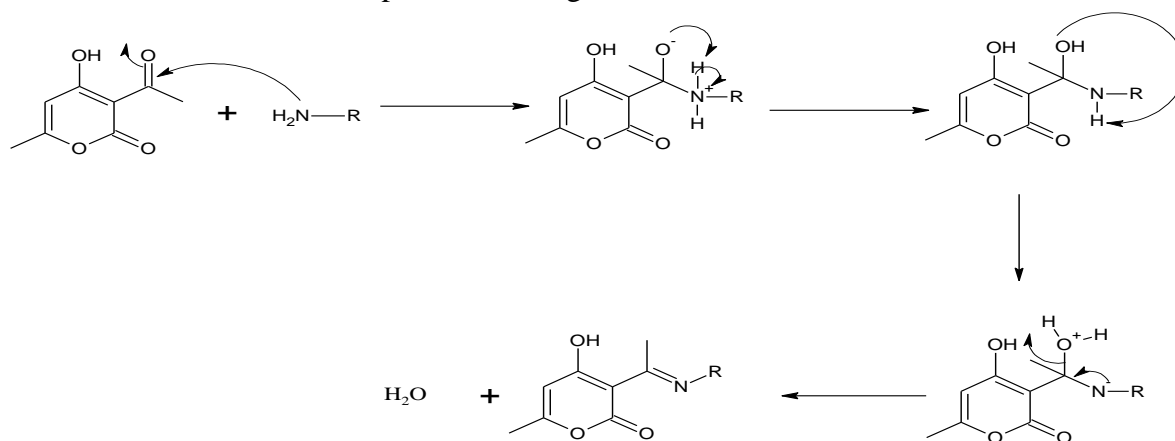
Le schéma réactionnel général est représenté comme suit :



**Schéma II- 1:** Schéma réactionnel général de la synthèse des bases de Schiff dérivés de DHA.

#### II.4 Mécanisme réactionnel :

Dans cette réaction, l'atome d'azote de l'amine attaque le carbonyle de l'acétyle, ce qui entraîne la création d'une carbinolamine. Cet intermédiaire se déshydrate, perdant une molécule d'eau, et forme une double liaison C=N (imine), caractéristique des bases de Schiff. Cette réaction est souvent facilitée par un chauffage.



**Schéma II- 2:** mécanisme réactionnel de formation des ligands dérivés de DHA.

#### II.5 Propriétés physicochimiques des ligands :

Après purification des produits synthétisés, il est importante d'identifier les propriétés physicochimiques de chaque composé donnent un aperçu général sur chaque composé.

Les produits obtenus sont des composés solides, stables à l'air. Le **tableau II-2** récapitule les données analytiques, les rendements, les points de fusion ainsi que les temps de réaction pour chaque synthèse.

**Tableau II- 2:** propriétés, donnés analytiques des ligands synthétisés.

Ligand	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Aspect et couleur	Temps (h)	Rendements %	Température de fusion (T <sub>f</sub> ° C)
L1	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> O <sub>5</sub> N	289	Monocristaux Noir	3	85	175

L2	C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> O <sub>7</sub> N <sub>2</sub>	500	Monocristaux blanche	4	99	228
L3	C <sub>29</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub> N <sub>2</sub>	498	Poudre blanc	1	96	247
L4	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> N	293	Poudre gris	2	75	175
L5	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> O <sub>7</sub> N	361	Poudre jaunâtre	3	85	226
L6	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	308,2	Poudre blanche	5	47	212-217
L7	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	314, 25	Poudre marron foncé	1	91	140-146

## II.6 Caractérisation et identification structural des ligands :

Pour identifier la structure de chaque ligand trois méthodes spectroscopiques ont été utilisés (UV-Vis, FT-IR, RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C).

### II.6.1 (L1) : 4-hydroxy-3-[(1E)-N-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) ethanimidoyl]-6-methyl-2H-pyran-2-one

La structure du premier ligand synthétisé est donnée comme suit :

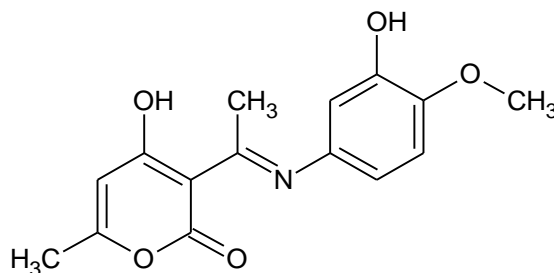
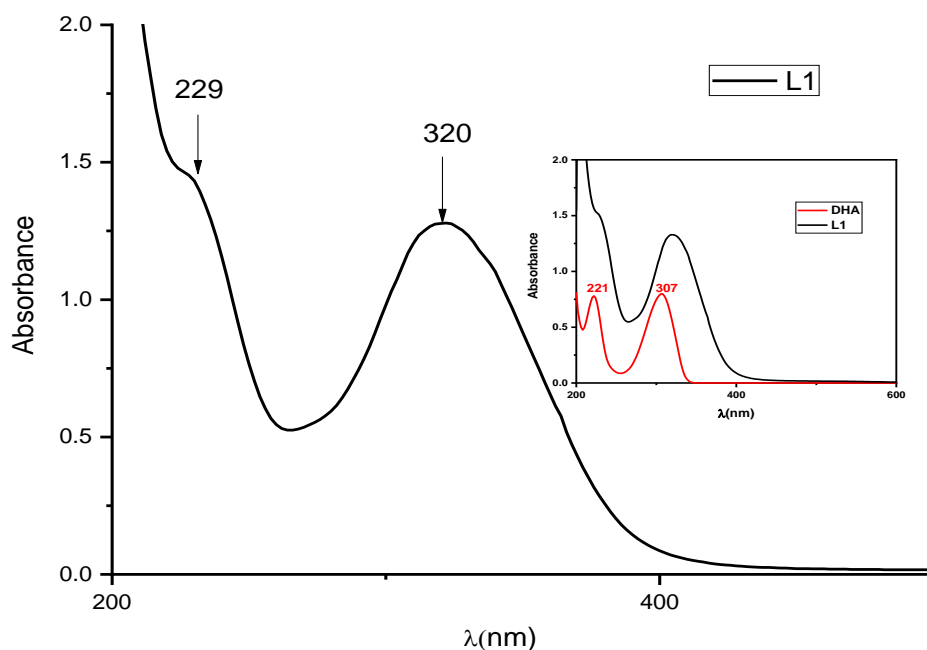


Figure II- 1: Structure de ligand L1.

#### II.6.1.1 Spectroscopie UV-Vis :

Le spectre UV-visible a été obtenu dans le méthanol dans la région entre 200 à 1100 nm à température ambiante. Les spectres électroniques du ligand L1 présentent deux bandes, la première à 320 nm en raison de la transition  $n \rightarrow \pi^*$  représentant le groupe azométhine (C=N). La bande à 229 nm peut être attribuée à la transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  de l'anneau benzénique.



**Figure II- 2:** Spectres UV-Vis du ligand L1 dans MeOH.

### II.6.1.2 Spectroscopie FT-IR :

Les fréquences spectrales IR ont été enregistrées dans la région de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . L'apparition d'une bande à un nombre d'ondes 3182  $\text{cm}^{-1}$  dans l'analyse indique l'existence de groupement O-H. Les vibrations d'élongation  $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ , atteignent une fréquence inférieure à 3010  $\text{cm}^{-1}$ . Les vibrations d'élongation  $\text{C}_{\text{Me}}\text{-H}$  sont détectées dans toute la région spectrale de 2980-2860  $\text{cm}^{-1}$ . La bande carbonyle lactonique O-C=O de l'acide déhydroacétique est assignée à environ 1674  $\text{cm}^{-1}$ . La bande de groupement C=N a été trouvée à une longueur d'onde de 1562  $\text{cm}^{-1}$  qui est une caractéristique distinctive des bases de Schiff [1]. Les bandes de vibration d'élongation caractéristiques pour (C=C) aromatiques sont apparues à environ 1436  $\text{cm}^{-1}$ , 1461  $\text{cm}^{-1}$ . La bande d'élongation à 1126  $\text{cm}^{-1}$  est attribuée à la liaison O-C pour le groupe O-CH<sub>3</sub>, la liaison C-O-C est apparait à une vibration d'élongation 1021  $\text{cm}^{-1}$ .

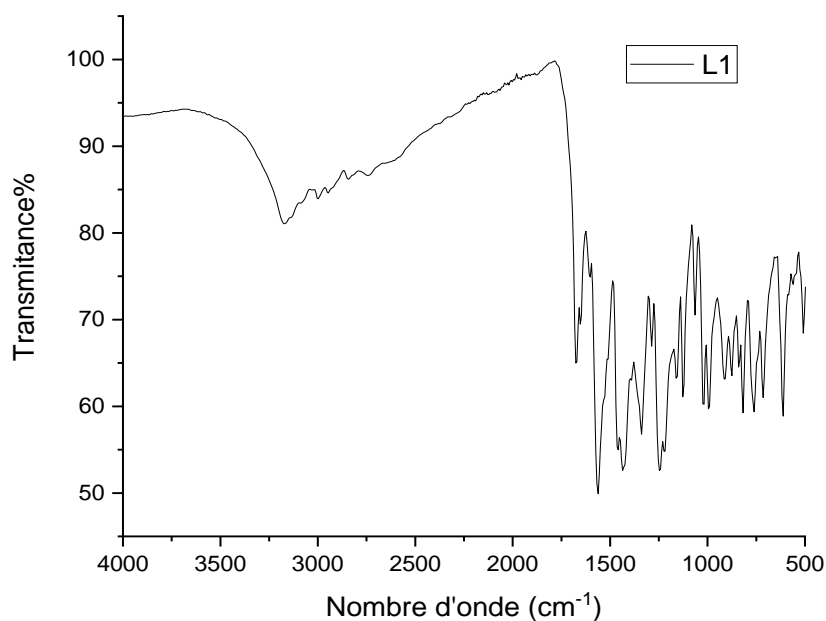


Figure II- 3: Spectre IR de ligand L1.

### II.6.1.3 Spectroscopie RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ :

L'analyse a donné les déplacements chimiques suivant :

➤ **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 2.15 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 2.58 (s, 3H,  $\text{N}=\text{C}-\text{CH}_3$ ); 3.91 (s, 3H,  $\text{O}-\text{CH}_3$ ); 5.76 (s, 1H,  $\text{C}-\text{H}_{\text{pyr}}$ ); 6.34 (s, 1H,  $\text{C}-\text{H}$ ); 6.64-6.66 (d, 1H,  $\text{C}-\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 6.75 (s, 1H,  $\text{Ar}-\text{OH}$ ); 6.86-6.88 (d, 1H,  $\text{C}-\text{H}$ ); 15.5 (s, 1H, enolic OH of DHA).

➤ **RMN  $^{13}\text{C}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 19.88 ( $\text{C}_6-\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 20.27 ( $\text{N}=\text{C}-\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 56.17( $\text{O}-\text{CH}_3$ ); 97.22( $\text{C}_5$ ); 107.18( $\text{C}_2'$ ); 110.99( $\text{C}_5'$ ); 112.22( $\text{C}_6'$ ); 117.10( $\text{C}_3$ ); 129.64( $\text{C}_1'$ ); 146.49( $\text{C}_4-\text{O}$ ); 146.56( $\text{C}_3'-\text{OH}$ ); 163.34( $\text{C}=\text{N}$ ); 163.55( $\text{C}_6$ ); 175.62 ( $\text{C}=\text{O}$ ); 184.86 ( $\text{C}-\text{OH}$ )<sub>pyr</sub>.

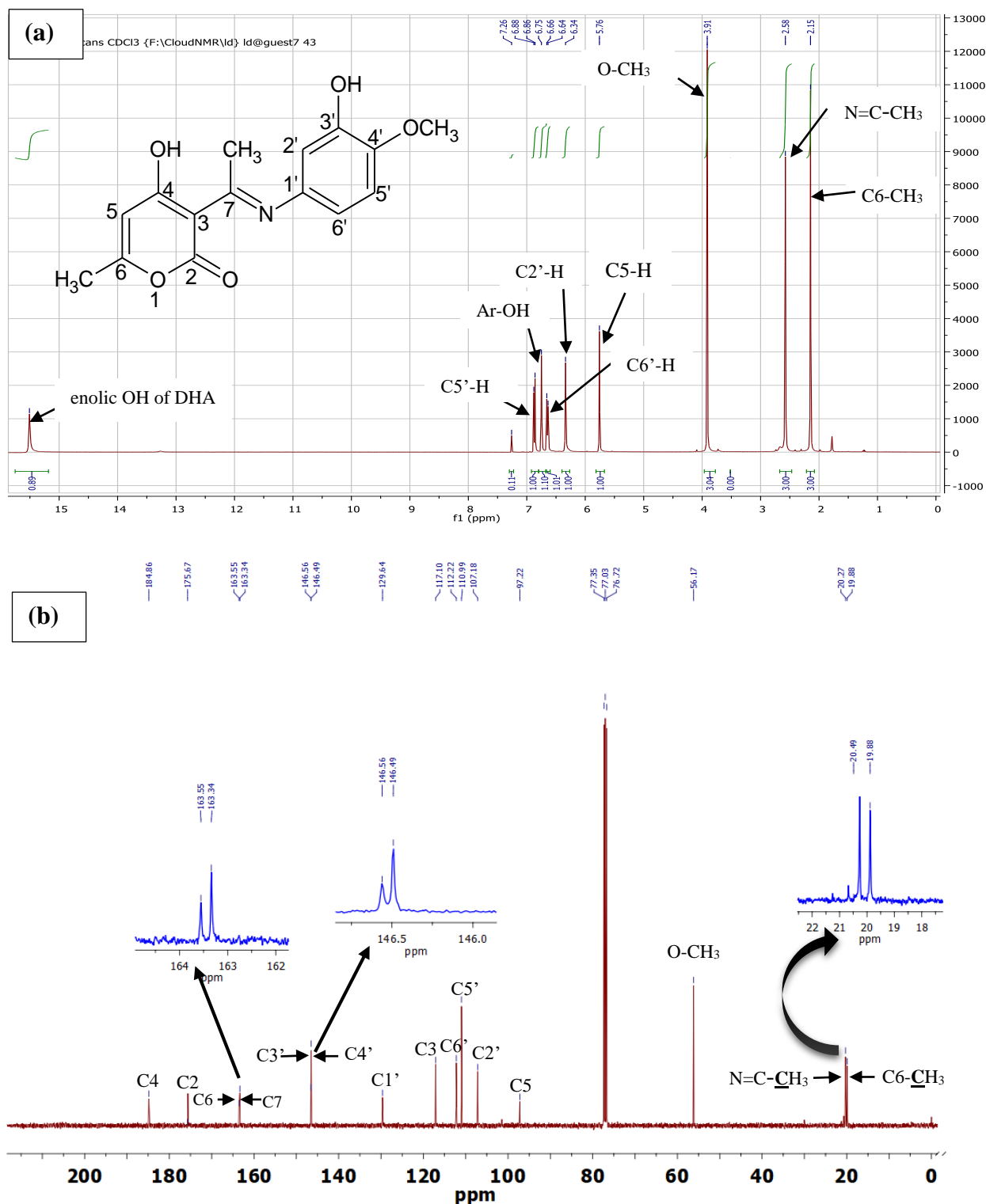


Figure II- 4: RMN de ligand L1 (a)RMN  $^1\text{H}$  (b) RMN  $^{13}\text{C}$ .

**II.6.2 (L2) : 3,3'-((1E,1'E)-((oxybis(4,1-phenylene))bis(azanylylidene))bis(ethan-1-yl-1-ylidene))bis(4-hydroxy-6-méthyll-2H-pyran-2-one)**

La structure de ce ligand est donnée comme suit :

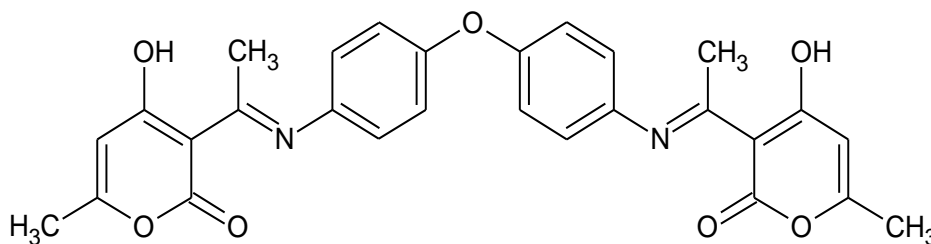


Figure II- 5: Structure de ligand L2.

### II.6.2.1 Spectroscopie UV-Vis :

Le spectre électronique du ligand L2 a été enregistré dans du méthanol dans des conditions ambiantes. La **Figure II-6** montre la présence de deux bandes intenses, la première à 234 nm due à la transition électronique  $\pi \rightarrow \pi^*$  des anneaux benzéniques, et la seconde apparue à 326 nm due à la transition  $n \rightarrow \pi^*$  du groupe azométhine ( $C=N$ ).

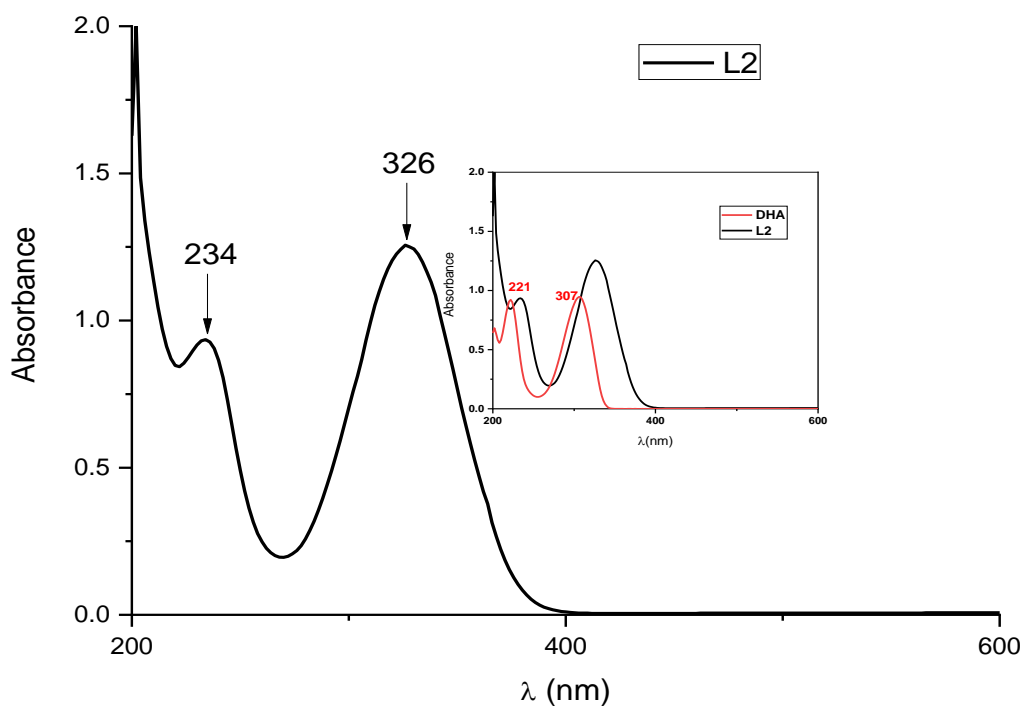
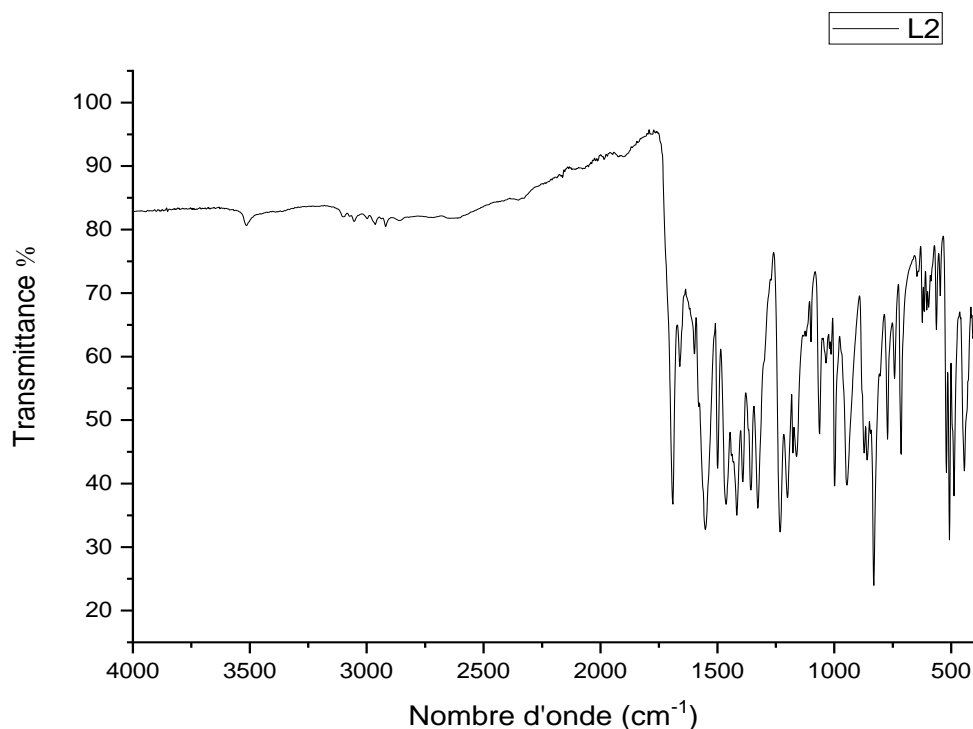


Figure II- 6: Spectres UV-Vis du ligand L2 dans MeOH.

### II.6.2.2 Spectroscopie FT-IR :

Le spectre infrarouge du ligand montre plusieurs bandes d'absorption distinctives dans la région de  $4000-400 \text{ cm}^{-1}$  qui fournissent des informations sur sa structure moléculaire. La bande

représentée à  $3516\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration de la fonction OH. Les vibrations d'élongation  $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$  à  $3054\text{ cm}^{-1}$ . Une bande intense du carbonyle de la cétone a été observée à  $1690\text{ cm}^{-1}$ . La vibration d'élongation  $\text{C}=\text{N}$  correspondant au groupe azométhine apparaît à environ  $1662\text{ cm}^{-1}$ . Deux bandes avec une bonne résolution sont apparues à  $1460$  et  $1500\text{ cm}^{-1}$  en raison de la vibration d'élongation aromatique  $\text{C}=\text{C}$ . La bande à  $1233\text{ cm}^{-1}$  est associée à la vibration d'élongation de liaison  $\text{C-O}$ , et la bande à  $1021\text{ cm}^{-1}$  pour la liaison  $(\text{C-O-C})$ .

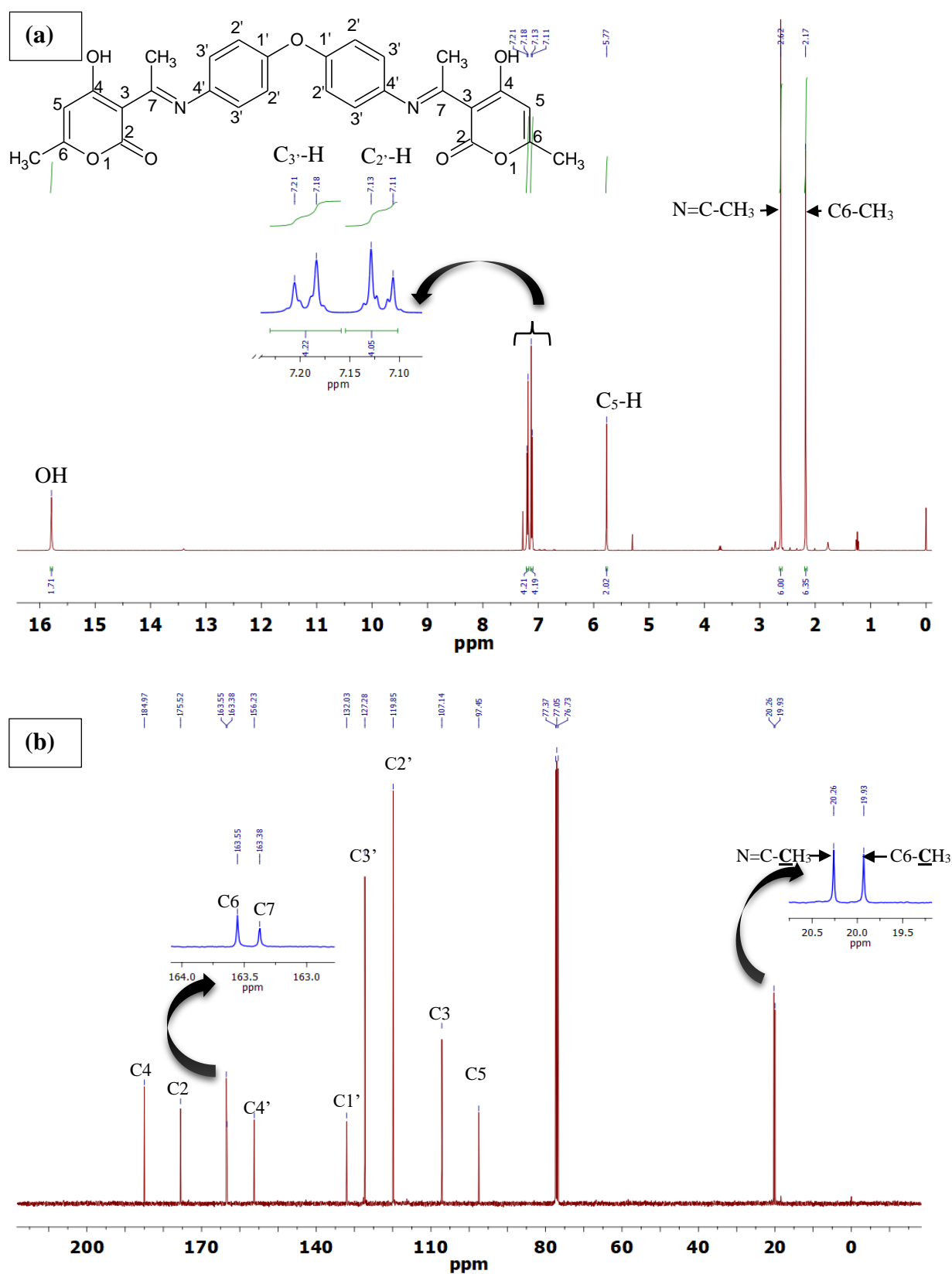


**Figure II- 7:** Spectre IR de ligand L2.

### II.6.2.3 Spectroscopie RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ :

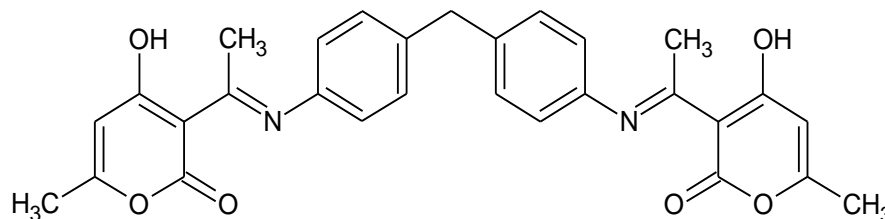
Les résultats sont résumés comme suit :

- **NMR  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm):  $\delta$  2.1 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.6 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 5.8 (s, 2H, 2CH), 7.0–7.5 (d, 8H, 8CH), 15.4 (s, 2H, 2OH).
- **RMN  $^{13}\text{C}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 19.93 (2 CH<sub>3</sub>), 20.26 (2 N=C-CH<sub>3</sub>), 97.46(2 C=CH)<sub>pyr</sub>, 107.14(2 C=C)<sub>pyr</sub>, 119.85(4 CH=CH)<sub>Ar</sub>, 127.28(4 CH=CH)<sub>Ar</sub>, 132(2 C-O), 156.23(2 C-N), 163.38(2 C=N), 163.56(2 C-CH<sub>3</sub>), 175.52 (2 C=O), 184.97 (2 C-OH).



**II.6.3 (L3) : 3,3'-((1E,1'E)-((methylenebis(4,1-phenylene))bis(azanylylidene))bis(ethan-1-yl-1-ylidene))bis(4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one)**

La structure de ce ligand est donnée comme suit :



**Figure II- 9:** Structure de ligand L3.

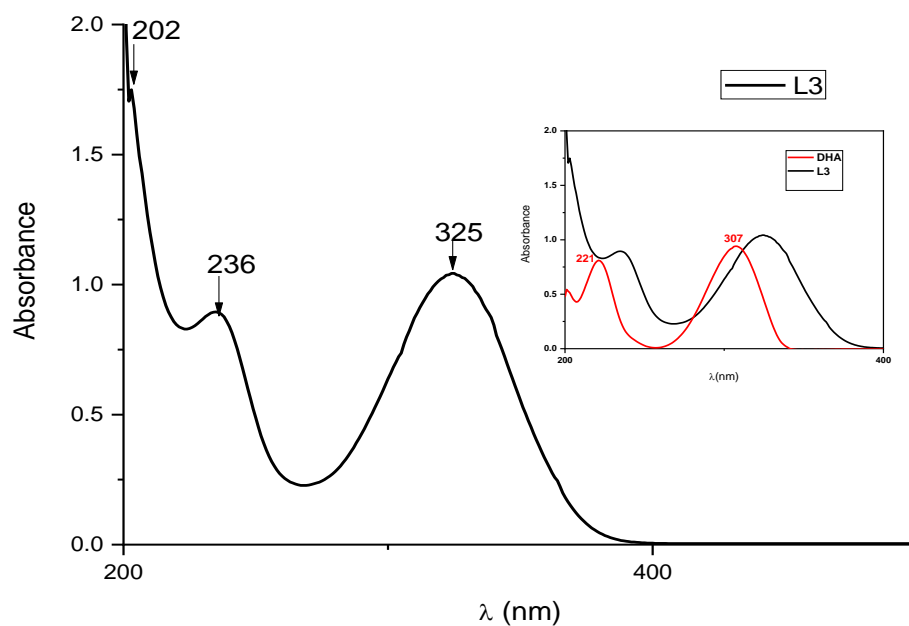
**II.6.3.1 Spectroscopie UV-Vis :**

Selon les longueurs d'onde indiquées dans la **Figure II-10**, il existe trois types de transition électronique :

La bande à 202 nm, 236 nm correspond à la transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  de cycle aromatique et cycle pyranique.

236 nm correspond à la transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  de cycle aromatique.

La bande à 325 nm présente la transition  $n \rightarrow \pi^*$  de groupe azométhine C=N.



**Figure II- 10:** Spectres UV-Vis du ligand L3 dans MeOH.

### II.6.3.2 Spectroscopie FT-IR :

Les bandes caractéristiques de ligand L3 sont présentés dans la figure ci-dessous comme suit : la bande à  $3037\text{ cm}^{-1}$  représente la vibration d'élongation de liaison  $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ , les vibrations de liaison  $\text{C}_{\text{Met}}\text{-H}$  apparaît à  $2754\text{-}2923\text{ cm}^{-1}$ . La vibration de groupement  $\text{C}=\text{O}$  apparaît à vers  $1692\text{ cm}^{-1}$  et celle de groupement azométhine  $\text{C}=\text{N}$  apparaît à vers  $1553\text{ cm}^{-1}$ . Les deux bandes à  $1064$  et  $1000\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration de liaison  $\text{C-O}$  et  $\text{C-O-C}$  respectivement.

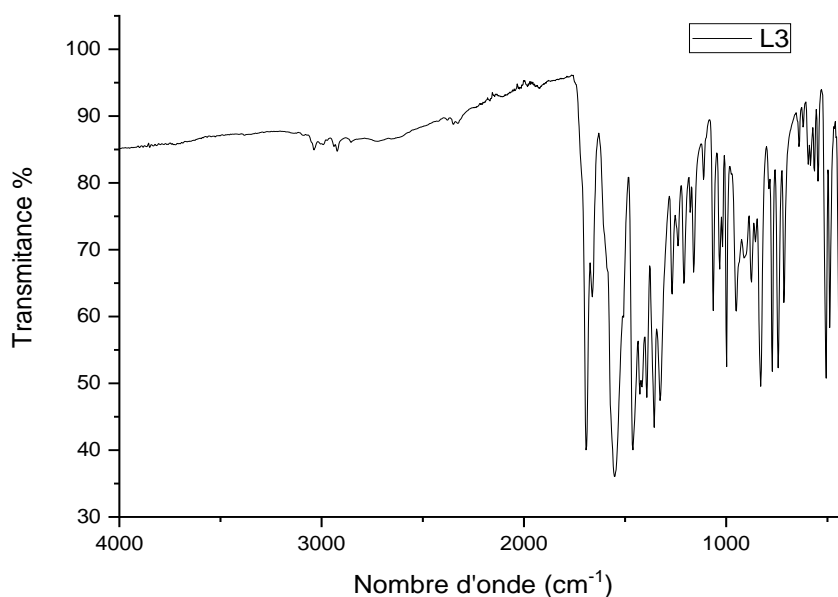
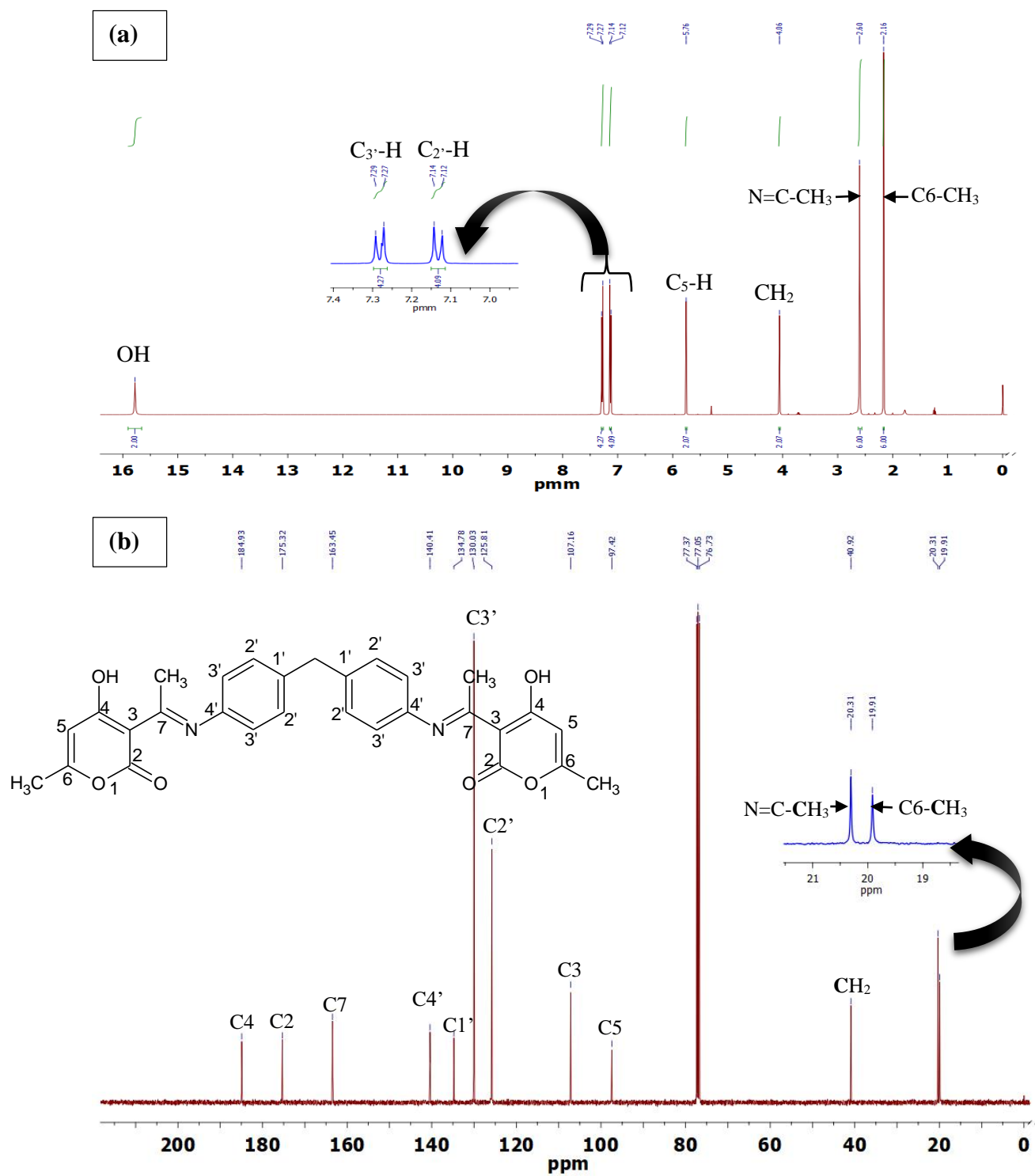


Figure II- 11: Spectre IR de ligand L3.

### II.6.3.3 Spectroscopie RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ :

**RMN $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm):  $\delta$  2.16 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.6 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 4.05 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.76 (s, 2H, 2CH), 7.12–7.29 (d, 8H, 8CH), 15.78 (s, 2H, 2OH).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 19.91 (2 CH<sub>3</sub>), 20.30 (2 N=C-CH<sub>3</sub>), 40.92 (CH<sub>2</sub>), 97.42(2 C=CH)<sub>pyr</sub>, 107.16 (2 C=C)<sub>pyr</sub>, 125.81 (4 CH=CH)<sub>Ar</sub>, 130.03 (4 CH=CH)<sub>Ar</sub>, 134.76 (2 C-CH<sub>2</sub>), 140.41 (2 C-N), 163.45(2 C=N), 163.56(2 C-CH<sub>3</sub>), 175.32 (2 C=O), 184.93(2 C-OH).



### II.6.4 (L4) : 4-hydroxy-6-methyl-3-[(1E)-N-(naphthalen-2-yl)ethanimidoyl]-2H-pyran-2-one

La structure de ce ligand est donnée comme suit :

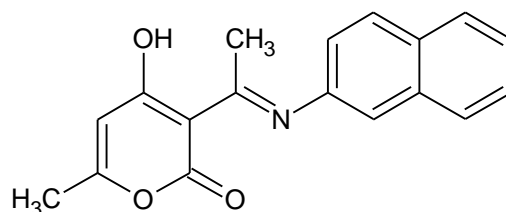


Figure II- 13: Structure de ligand L4.

#### II.6.4.1 Spectroscopie UV-Vis :

Les spectres électroniques du ligand L4 présentent différentes bandes (Figure II-14). Une bande à 319 nm est attribuée à la transition  $n \rightarrow \pi^*$  pour le groupe azométhine (C=N), deux autres bandes à 216 nm et 270 nm due aux transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  pour le groupe C=C de cycle pyranique et de naphthalène.

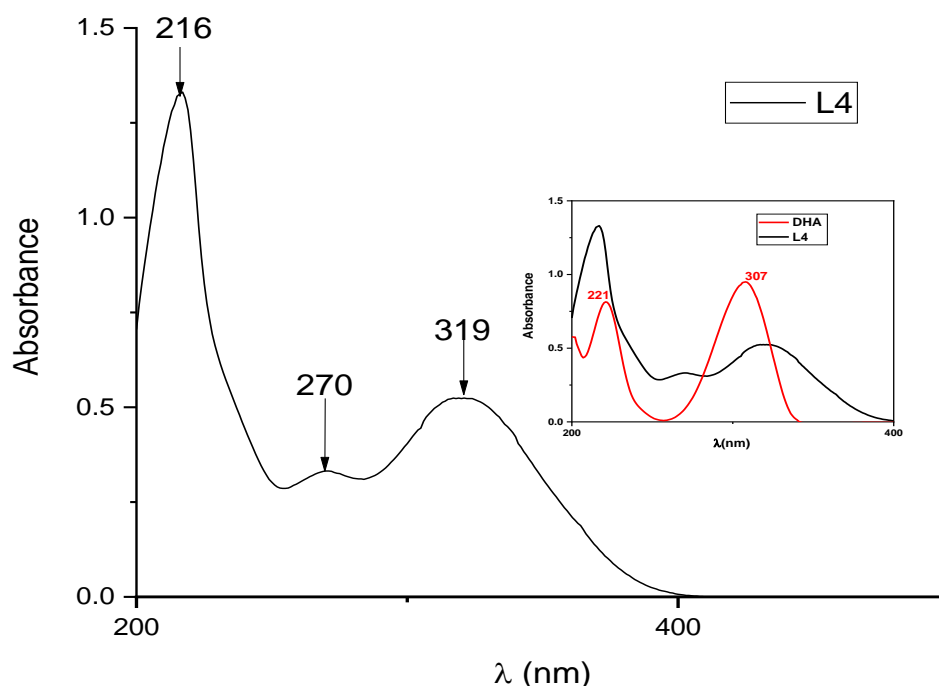


Figure II- 14: Spectres UV-Vis du ligand L4 dans MeOH.

#### II.6.4.2 Spectroscopie FT-IR :

Les bandes de vibration caractéristiques du ligand L4 sont illustrées dans la Figure II-15, la bande de vibration d'élongation à  $3055 \text{ cm}^{-1}$  est dû à la vibration du groupement C-H de système

aromatique. Les bandes à 2990-2919  $\text{cm}^{-1}$  correspondent à la vibration de groupement  $\text{C}_{\text{Met}}\text{-H}$ , les deux bandes intenses qui apparaissent à 1697  $\text{cm}^{-1}$  et 1564  $\text{cm}^{-1}$  correspondent à la vibration de deux groupements (C=O) et (C=N) respectivement. Les trois bandes d'intensité variable 1445  $\text{cm}^{-1}$ , 1460  $\text{cm}^{-1}$  et 1470  $\text{cm}^{-1}$  correspondent à la vibration C=C, et la bande qui apparaît vers 1064  $\text{cm}^{-1}$  est associée à la liaison C-O et celle de 1000  $\text{cm}^{-1}$  pour C-O-C.

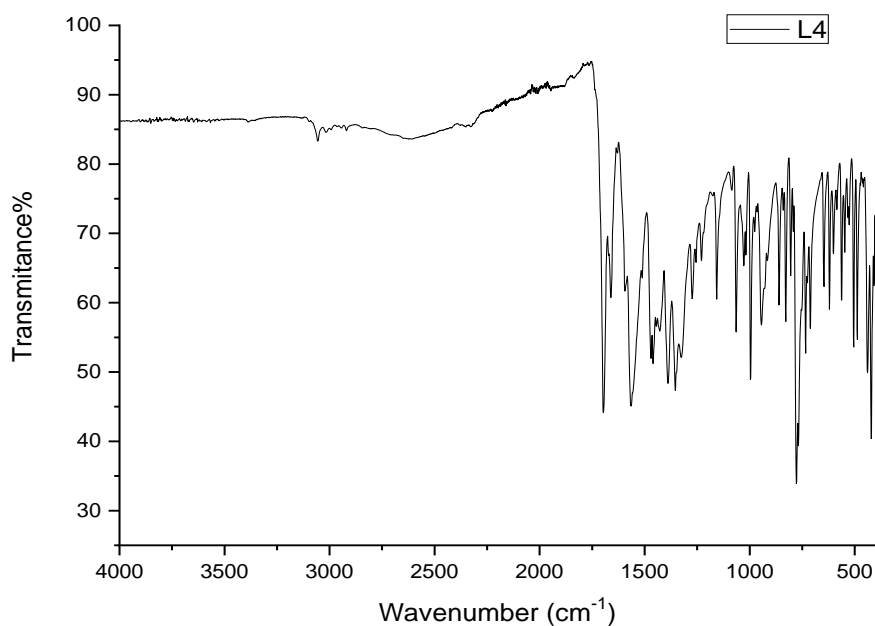
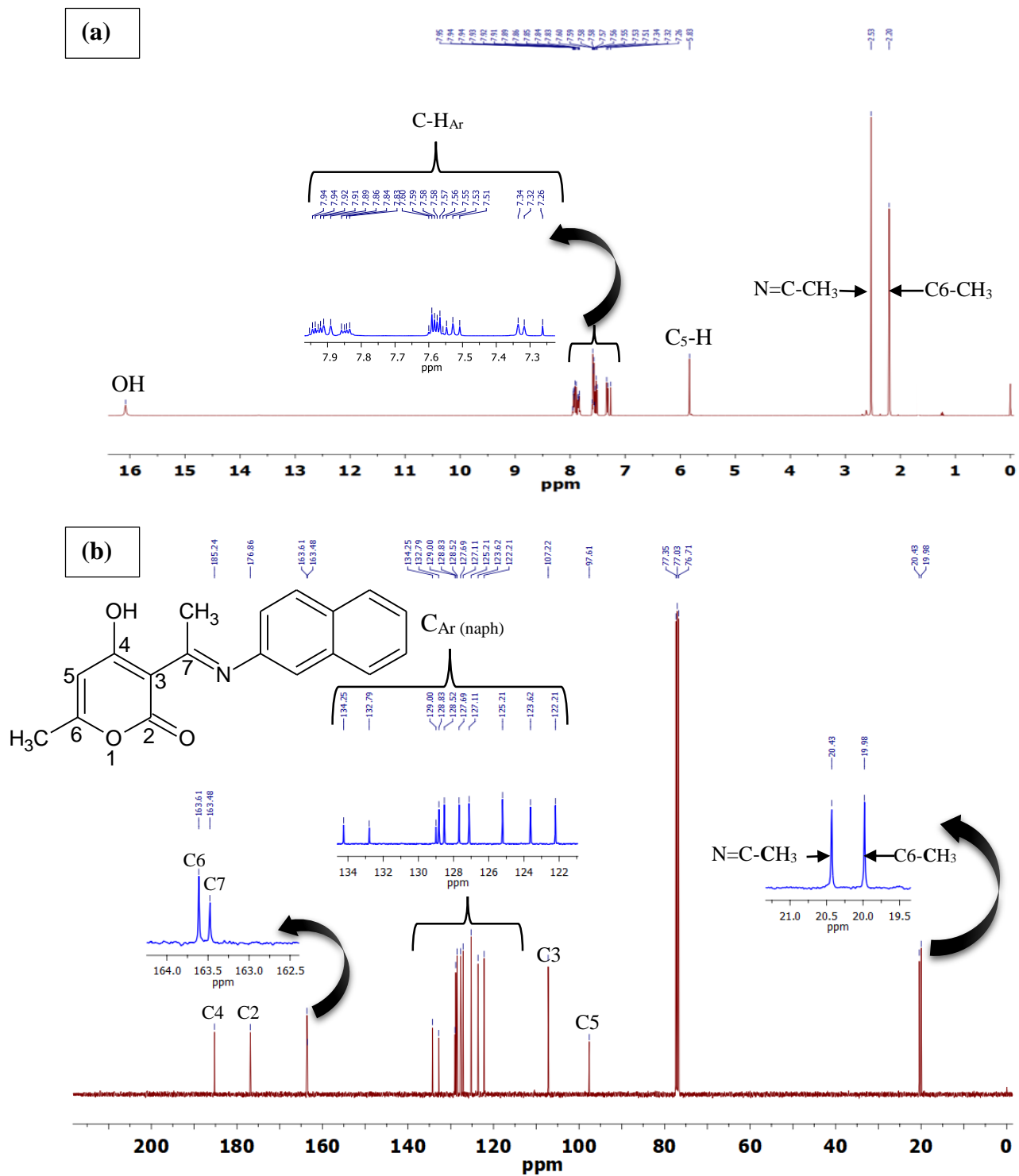


Figure II- 15: Spectre IR de ligand L4.

#### II.6.4.3 Spectroscopie RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ :

➤ RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 2.2 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 2.53 (s, 3H,  $\text{N}=\text{C}-\text{CH}_3$ ); 5.83 (s, 1H, C-H<sub>pyr</sub>); 7.26-7.96 (m, 7H,  $\text{C-H}_{\text{naph}}$ ); 16.08 (s, 1H, enolic OH of DHA).

➤ RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 19.98 ( $\text{CH}_3$ ); 20.43 ( $\text{N}=\text{C}-\text{CH}_3$ ); 97.61 ( $\text{C}=\text{CH}_{\text{pyr}}$ ); 107.22 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{pyr}}$ ); 122.21-134.25 (10  $\text{C}=\text{C}_{\text{naph}}$ ); 163.48 (C=N); 163.61 ( $\text{C}-\text{CH}_3$ ); 176.86 (C=O); 185.24 (C-OH)<sub>pyr</sub>.



### II.6.5 (L5) : methyl 2-[[*(1E)*-1-(4-hydroxy-6-methyl-2-oxo-2H-pyran-3-yl)ethylidene]amino]-4,5-dimethoxybenzoate

La structure de ce ligand est donnée comme suit :

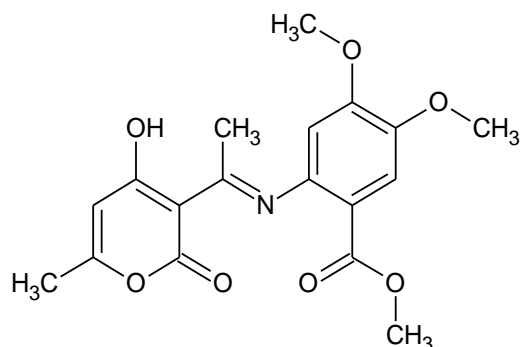


Figure II- 17: Structure de ligand L5.

#### II.6.5.1 Spectroscopie UV-Vis :

Le spectre UV-Vis de ce ligand a été enregistré en solution dans du méthanol à température ambiante. Le spectre électronique du ligand L5 révèle la présence de bandes à diverses longueurs d'onde (Figure II-18). Un epaulement à 342 nm et une bande vers 310 nm due à la transition  $n \rightarrow \pi^*$  qui représente le groupe azométhine ( $C=N$ ) et le groupe ( $C=O$ ). Les pics d'absorption à 226 nm et 260 nm peuvent être associés à la transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  du système conjugué de l'anneau pyranique et du cycle benzénique.

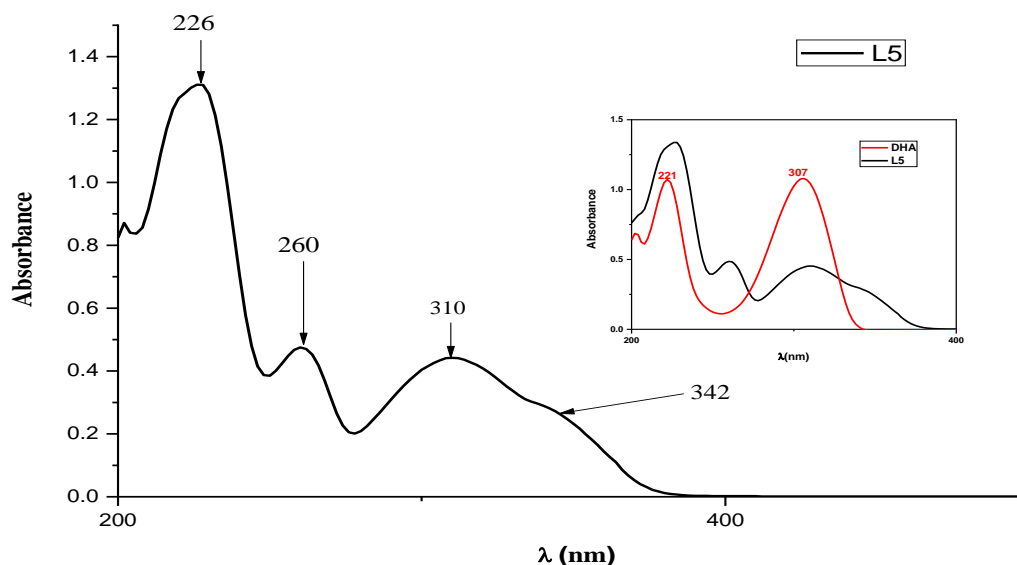


Figure II- 18: Spectre électronique du ligand L5 dans le méthanol.

### II.6.5.2 Spectroscopie FT-IR :

Le spectre infrarouge du ligand L5 révèle une bande à  $3016\text{ cm}^{-1}$  associée à la vibration du groupe  $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ , les bandes faibles à  $2979\text{-}2908\text{ cm}^{-1}$  peuvent être associées à la liaison  $\text{C}_{\text{Met}}\text{-H}$ . La présence de deux bandes intenses vers  $1698\text{ cm}^{-1}$  et  $1555\text{ cm}^{-1}$  correspondant à la vibration de groupement  $\text{C=O}$  et la double liaison imine ( $\text{C=N}$ ) respectivement. Les autres bandes caractéristiques sont indiquées comme suit : les bandes de la région  $1524\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$  correspondent à la liaison  $\text{C=C}$  aromatiques, la bande à  $1199\text{ cm}^{-1}$  attribué à la vibration de liaison  $\text{C-O}$ , la vibration de liaison  $\text{C-O-C}$  de pyrane apparait vers  $1000\text{ cm}^{-1}$ .

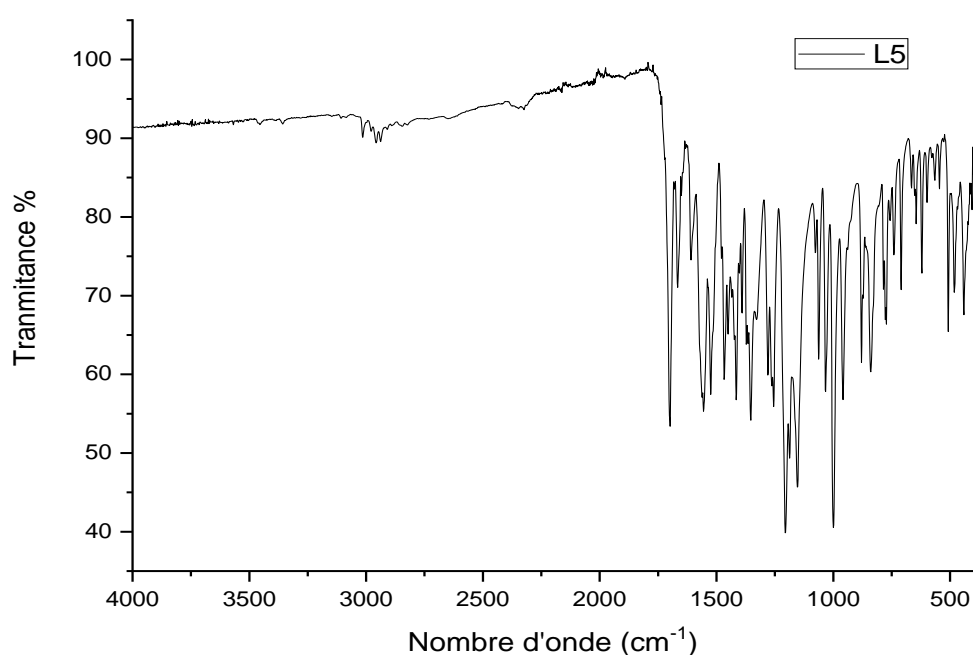


Figure II- 19: Spectre IR de ligand L5.

### II.6.5.3 Spectroscopie RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ :

➤ **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 2.17 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ; 2.51 (s, 3H,  $\text{N=C-CH}_3$ ); 3.84 (s, 3H,  $\text{O-CH}_3$ ); 3.93 (s, 3H,  $\text{O-CH}_3$ ); 3.97 (s, 3H,  $\text{O=C-O-CH}_3$ ); 5.78 (s, 1H,  $\text{C-H}_{\text{pyr}}$ ); 6.64 (s, 1H,  $\text{C-H}_{\text{Ar}}$ ); 7.56 (s, 1H,  $\text{C-H}_{\text{Ar}}$ ); 15.88 (s, 1H, OH).

➤ **RMN  $^{13}\text{C}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 19.91 ( $\text{C6-CH}_3$ ); 20.62 ( $\text{N=C-CH}_3$ ); 52.42 ( $\text{O-CH}_3$ ); 56.31 ( $\text{O-CH}_3$ ); 56.42 ( $\text{O=C-O-CH}_3$ ); 97.43 ( $\text{C5}$ ); 107.27 ( $\text{C=C}_{\text{pyr}}$ ); 110.50 ( $\text{CH=C}_{\text{Ar}}$ ); 113.40 ( $\text{CH=C}_{\text{Ar}}$ ); 118.33 ( $\text{C=C}_{\text{Ar}}$ ); 130.98 ( $\text{C=C}$ ); 148.34 ( $\text{C=C}$ ); 152.66 ( $\text{C=C}_{\text{Ar}}$ ); 163.29 ( $\text{C=N}$ ); 163.55 ( $\text{C-CH}_3$ ); 164.90 ( $\text{C=O}$ ); 175.69 ( $\text{O=C-O-CH}_3$ ); 184.85 ( $\text{C-OH}$ ).

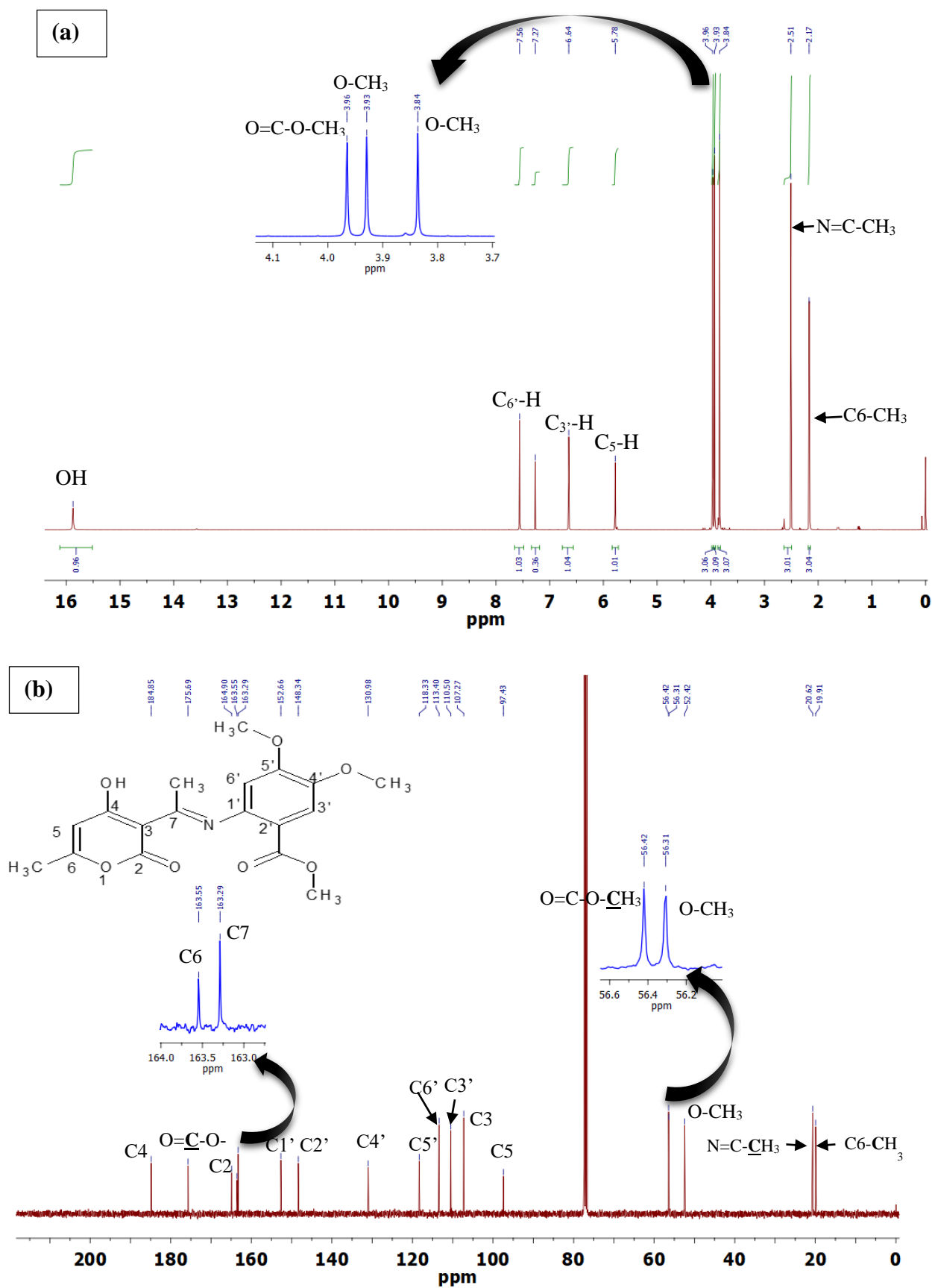


Figure II- 20: RMN de ligand L5 (a) RMN  $^1\text{H}$  (b) RMN  $^{13}\text{C}$ .

### II.6.6 (L6): *(E)*-4-hydroxy-6-méthyl-3-(1-((2-méthylquinolin-4-yl) imino) éthyl)-2H-pyran-2-one:

La structure de ce ligand est donnée comme suit :

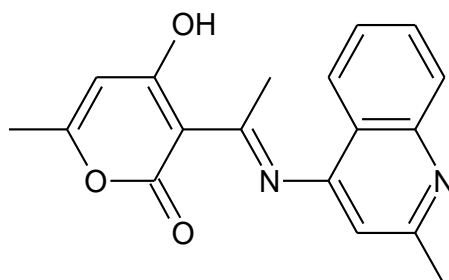


Figure II- 21: Structure de ligand L6.

#### II.6.6.1 Spectroscopie UV-visible:

D'après le spectre électronique de ligand L6, il existe trois bandes remarquables qui sont attribuées aux transitions électroniques suivantes :

$\lambda = 216 \text{ nm}$  et  $229 \text{ nm} \rightarrow$  transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  de cycle aromatique et système conjugué de cycle aromatique.

$\lambda = 316 \text{ nm} \rightarrow$  transition  $n \rightarrow \pi^*$  qui peut attribuer au groupement azométhine  $C=N$ .

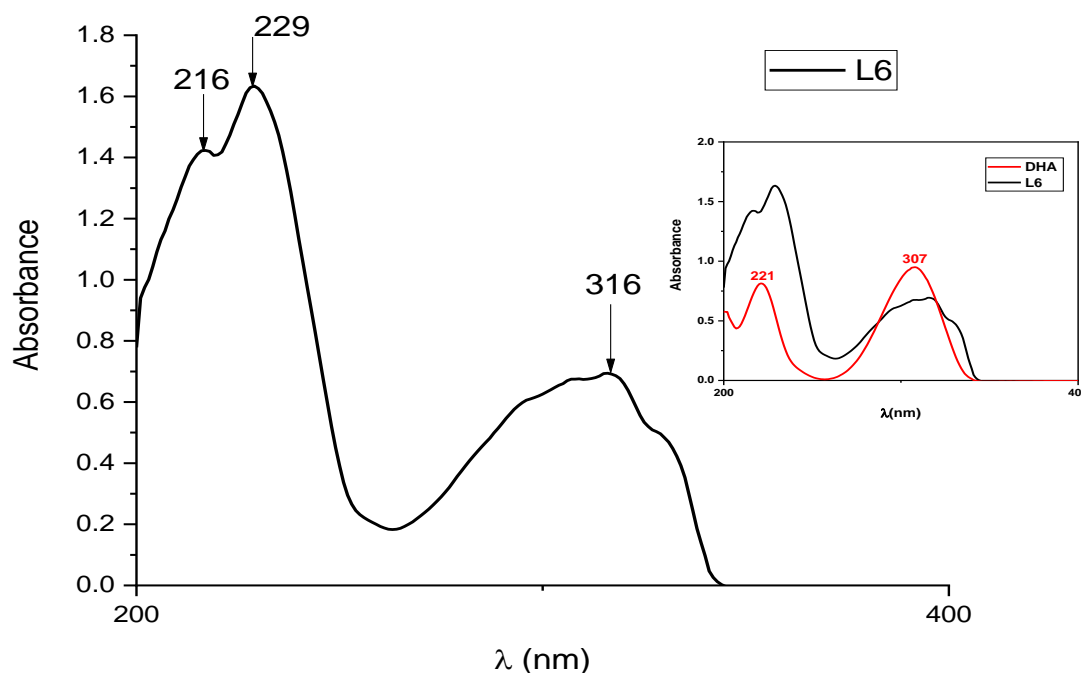


Figure II- 22: spectre électronique du ligand L6

### II.6.6.2 Spectroscopie FT-IR :

Le spectre infrarouge du ligand L6 montre la présence des groupements caractéristiques qui caractérise la structure de ce composé, apparaissent sous forme des vibrations d'élongation ou de déformation dans la région 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ , chaque fonction apparaissant à son propre nombre d'ondes. La bande à 3296  $\text{cm}^{-1}$  correspond à la vibration d'élongation de groupement OH. La bande à 3090  $\text{cm}^{-1}$ , et les bandes entre 2959- 2831  $\text{cm}^{-1}$  sont attribué au groupement C-H<sub>Ar</sub> et C-H<sub>Meth</sub> respectivement. La bande intense à 1651  $\text{cm}^{-1}$  représente le groupement carbonyle (C=O), et le groupement azométhine (C=N) apparaît sous forme d'une bande à 1600  $\text{cm}^{-1}$ . On observe aussi l'apparition de 3 pics de vibration d'élongation d'une intensité variables 1547-1475  $\text{cm}^{-1}$  correspond à la liaison C=C aromatique, et deux autres bandes ont été observés à 1154  $\text{cm}^{-1}$  et 1000  $\text{cm}^{-1}$ , correspondant respectivement aux vibrations d'élongation des liaisons C-O et C-O-C du cycle pyranique.

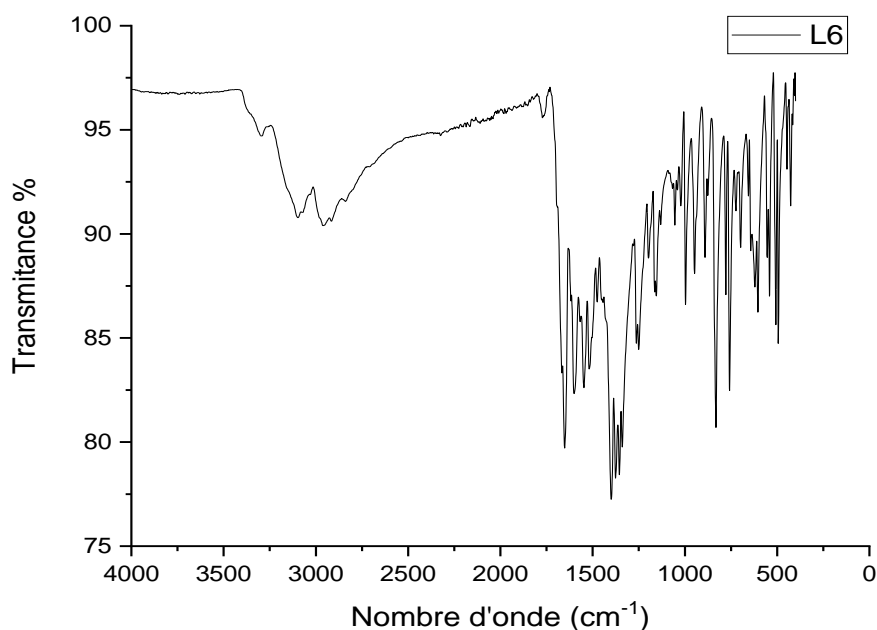


Figure II- 23: Spectre IR du ligand L6.

### II.6.6.3 Spectroscopie RMN <sup>1</sup>H :

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 2.29 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2.61 (s, 3H, N=C-CH<sub>3</sub>); 2.69 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 5.95 (s, 1H, C-H<sub>pyr</sub>); 7.40 (s, 1H, C-H<sub>AR</sub>), 7.40-7.44 (t, 1H, C-H<sub>AR</sub>); 7.63-7.67 (t, 1H, C-H<sub>AR</sub>); 7.74-7.76 (d, 1H, C-H<sub>AR</sub>); 7.93-7.96 (d, 1H, C-H<sub>AR</sub>).

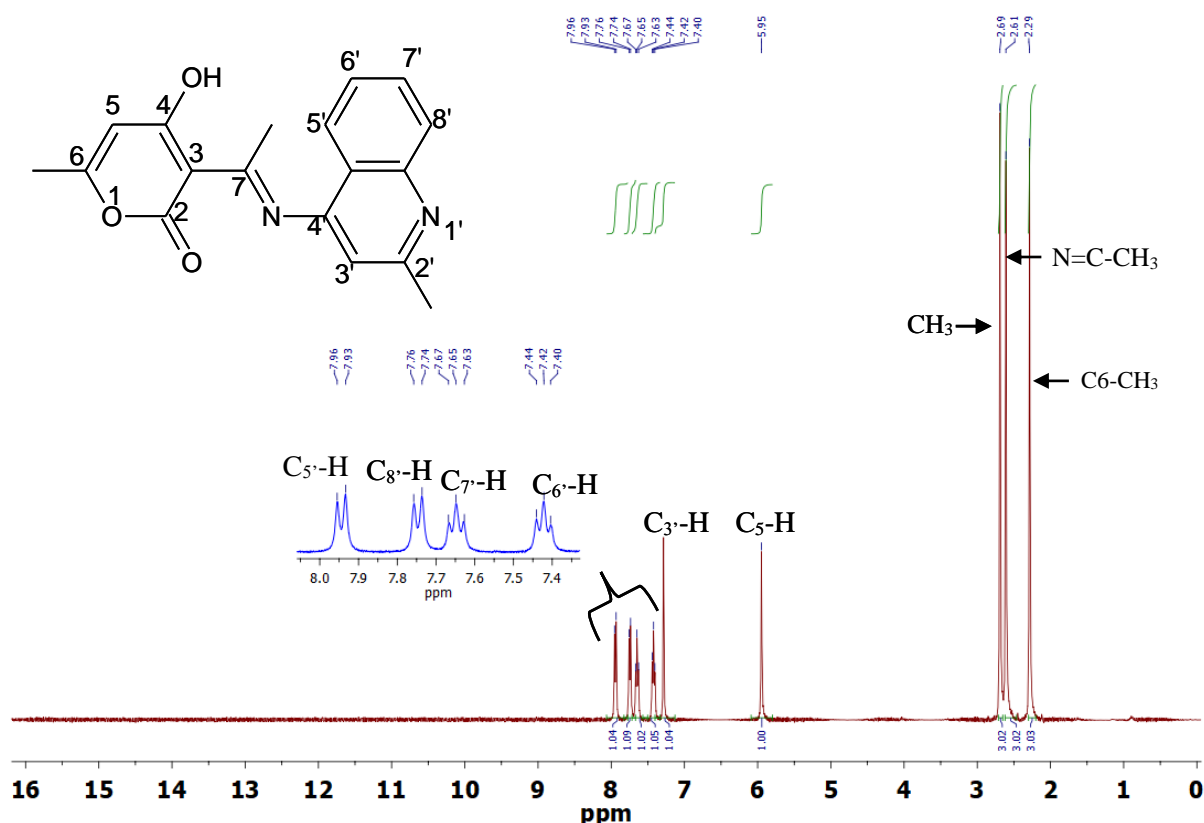


Figure II- 24: RMN 1H du ligand L6.

### II.6.7 (L7) : (E)-3-(1-((4-(diethylamino) phenyl)imino)ethyl)-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one

La structure de ce ligand est donnée comme suit :

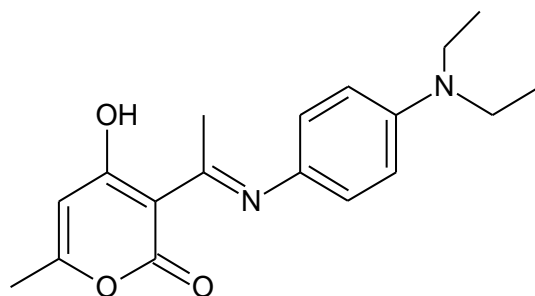


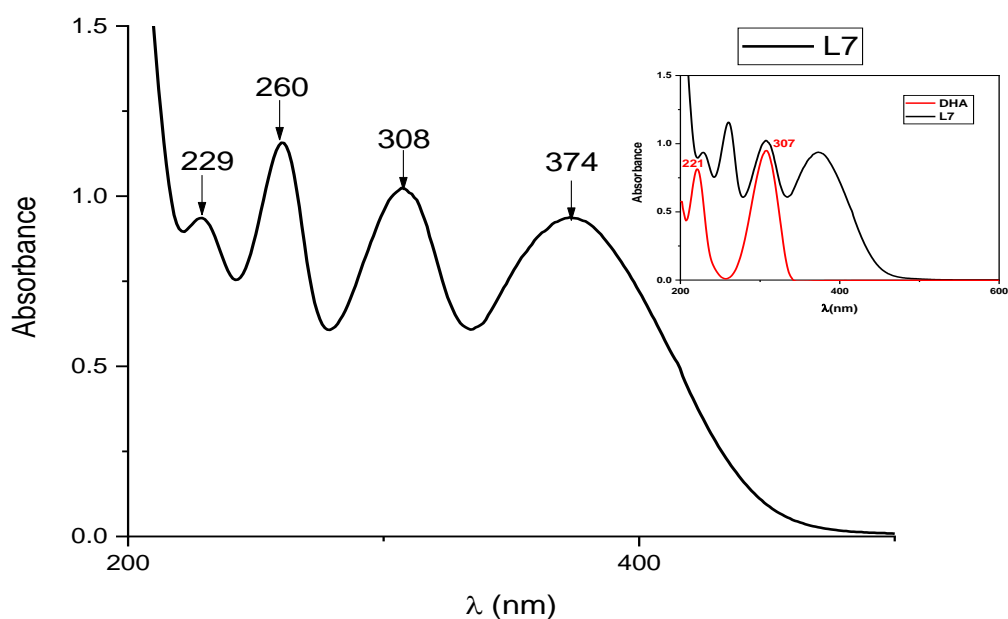
Figure II- 25: Structure de ligand L7.

#### II.6.7.1 Spectroscopie UV-Visible :

Le spectre UV-visible de ligand L7 montre la présence des absorptions à plusieurs longueurs d'onde indiquant la présence de plusieurs transitions électroniques.

$\lambda = 229$  et  $260$  nm : transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  de cycle aromatique et système conjugué de l'acide déhydroacétique.

$\lambda = 308$  et  $374$  nm : transition  $n \rightarrow \pi^*$  de groupement azométhine (C=N) et de carbonyle de l'acide déhydroacétique.



**Figure II- 26:** spectre électronique de ligand L7 dans méthanol.

### II.6.7.2 Spectroscopie FT-IR :

Le spectre IR de ligand L7 présente les bandes caractéristiques suivantes ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ ) : 3057  $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$ , 2968-2891 ( $\text{C}_{\text{Met}}\text{-H}$ ), 1700 (C=O), 1600 (C=N), 1359 (C-N), (1567-1461) C=C, 1195 (C-O), 1000 (C-O-C).

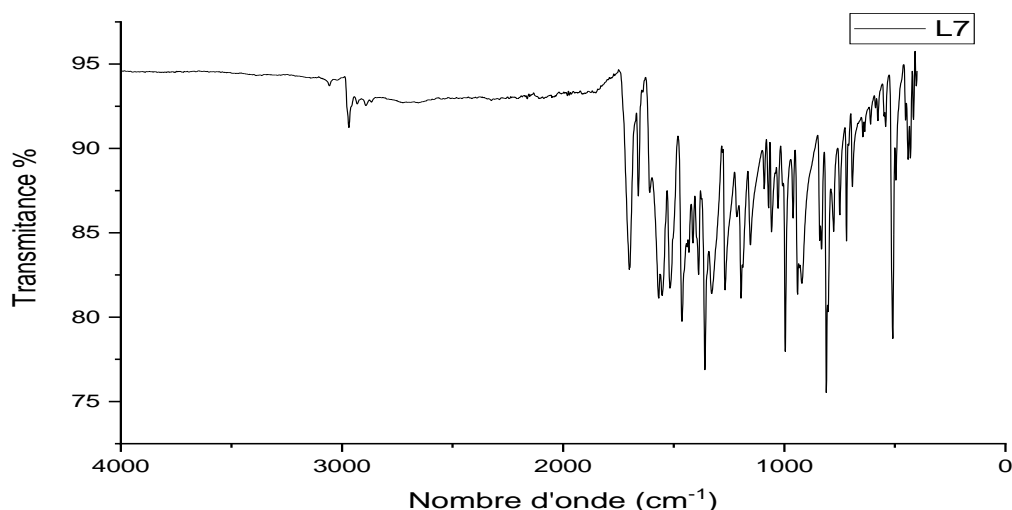
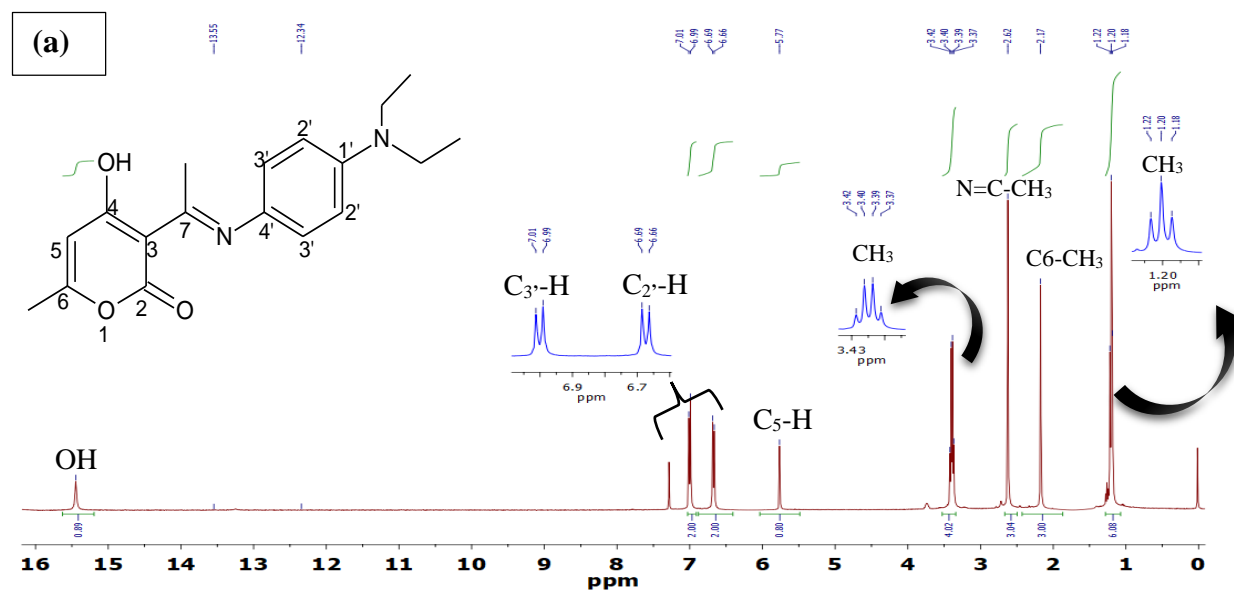


Figure II- 27: spectre IR du ligand L7.

### II.6.7.3 Spectroscopie RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ :

**RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 1.18-1.22 (t, 6H,  $2\text{CH}_3$ ); 2.17 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ; 2.62 (s, 3H,  $\text{N}=\text{C}-\text{CH}_3$ ); 3.37-3.42 (q, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 5.77 (s, 1H,  $\text{C}-\text{H}_{\text{pyr}}$ ); 6.66-6.69 (d, 2H,  $2\text{C}-\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 6.99-7.01 (d, 2H,  $2\text{C}-\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 15.45 (s, 1H, enolic OH de DHA).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 12.48 ( $2\text{CH}_3$ ); 19.91 ( $\text{C}_6-\text{CH}_3$ ); 20.34 ( $\text{N}=\text{C}-\text{CH}_3$ ); 44.48 ( $2\text{CH}_2-\text{N}$ ); 97.11 ( $\text{C}-\text{H}_{\text{pyr}}$ ); 107.37 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{pyr}}$ ); 111.54 ( $2\text{CH}=\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 123.79 ( $\text{C}_{\text{Ar}}-\text{N}$ ); 126.32 ( $2\text{CH}=\text{CH}_{\text{Ar}}$ ); 147.23 ( $\text{C}_{\text{Ar}}-\text{N}$ ); 162.86 ( $\text{C}=\text{N}$ ); 163.83 ( $\text{C}-\text{CH}_3$ ); 174.84 ( $\text{C}=\text{O}$ ); 184.67 ( $\text{C}-\text{OH}$ ).



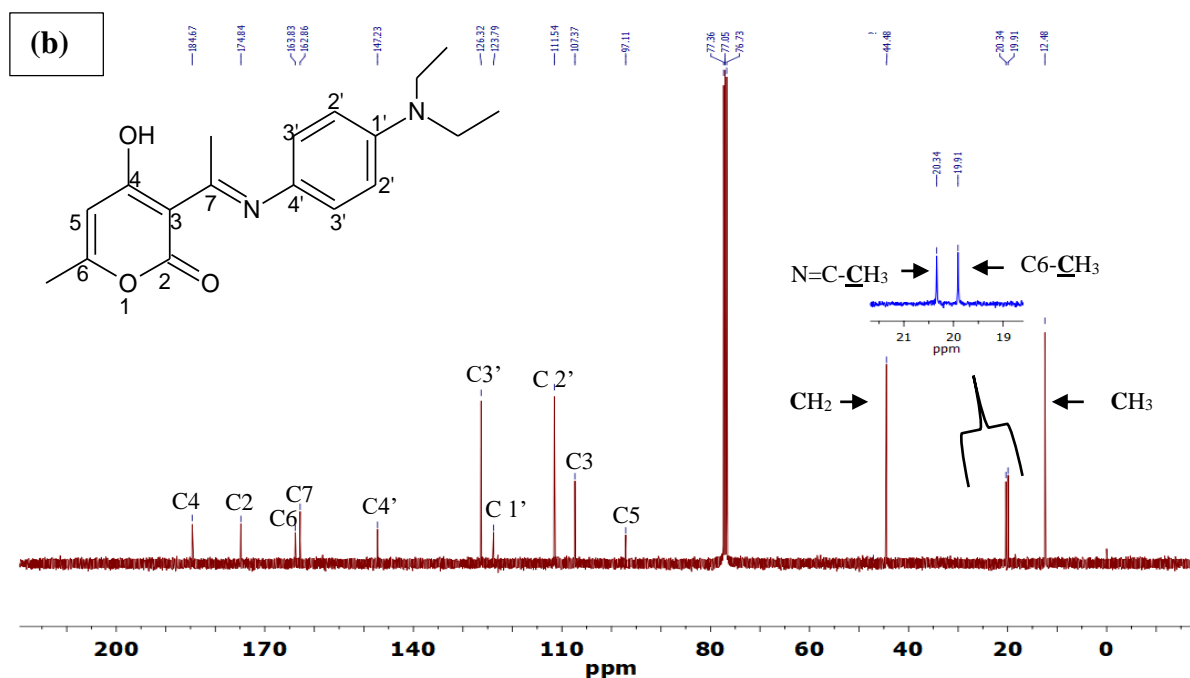


Figure II- 28: RMN de ligand L7 (a) RMN  $^1\text{H}$  (b) RMN  $^{13}\text{C}$ .

## Partie II : Cristallographie

### II.7 Etude structural de ligand L2 :

Les cristaux ont été choisis à l'aide d'un microscope optique polarisant pour une étude de diffraction des rayons X sur un seul cristal. La structure a été résolue à l'aide de méthodes directes avec SHELXS [2], et l'affinement et les calculs ont été effectués avec SHELXL-3/2019 [3]. Les atomes H NH ont été localisés dans une carte de différence-Fourier et affinés librement. Les atomes H liés au C ont été inclus dans les positions calculées et traités comme des atomes de circonscription. Les atomes non H ont été affinés de manière anisotrope. Les données cristallines et les détails de l'affinement sont fournis dans le tableau **tableau II-3**.

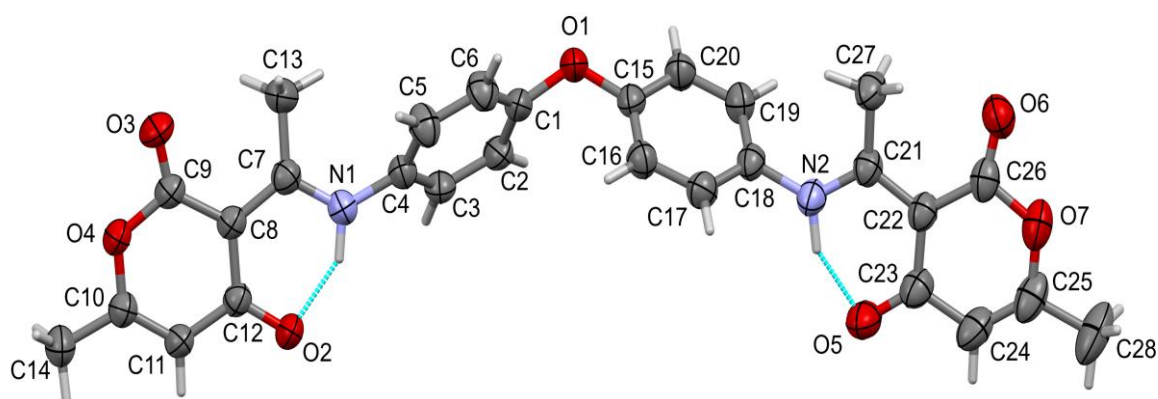
**Tableau II- 3:** Détails de l'affinement de la structure cristalline de ligand L2 résolue.

Formule empirique	$\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{O}_7\text{N}_2$
Masse moléculaire, g/mol	500.49
Description du cristal	Bloc-Incolore
Groupe spatial	P-1
Système cristallin	Triclinique
F(000)	524
a/Å	9.1447(4)
b/Å	11.9066(5)
c/Å	12.2734(6)
$\alpha/^\circ$	103.379(4)
$\beta/^\circ$	103.320(4)
$\delta/^\circ$	103.776(4)

$V/\text{\AA}^3$	1203.67(10)
Z	2
Température /K	250
$\theta$ gamme pour la collecte de données ( $^\circ$ )	1.789-27.30
Radiation	Mo K $\alpha$ ( $\lambda = 0.71073$ )
$D_{\text{calcd}}$ ( $\text{g}/\text{cm}^{-3}$ )	1.381
$\mu$ ( $\text{mm}^{-1}$ )	0.100
Taille du cristal (mm)	$0.38 \times 0.29 \times 0.14$
Diffractomètre	STOE IPDS II
Correction d'absorption	Multi-scan (MULABS ; Spek, 2020)
$T_{\text{min}}, T_{\text{max}}$	0.933, 1.000
Nombre de réflexions mesurées	18438
Nombre de réflexions indépendantes	5119
réflexions avec $I > 2\sigma(I)$	4009
Nombre de paramètres	346
Méthode d'affinement	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Goodness-of-fit (GOF)	1.023
$(\sin\theta/\lambda)_{\text{max}}$ ( $\text{\AA}^{-1}$ )	0.634
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$ , wR(F <sup>2</sup> ), S	0.037, 0.102, 1.02
$R_{\text{int}}$	0.020
$\Delta\rho_{\text{max}}, \Delta\rho_{\text{min}}$ ( $e/\text{\AA}^3$ )	0.18, -0.14

### II.7.1 Description de la structure :

La structure moléculaire du ligand L2 est illustrée dans la **figure II-29**, les longueurs et les angles de liaison rassemblés dans le **tableau II-4**. Les liaisons hydrogène sont indiquées dans le **tableau II-5**.



**Figure II- 29:** Vue de la structure moléculaire avec numérotation des atomes et les liaisons hydrogène intramoléculaire.

**Tableau II- 4:** Angles (°) et distances de liaison (Å) pour le ligand L2.

No.	Liaison	Å	No.	Angle	(°)
1	O1—C1	1.3935 (18)	1	C1—O1—C15	118.34 (10)
2	O1—C15	1.3765 (18)	2	C9—O4—C10	122.11 (11)
3	O2—C12	1.2542 (17)	3	C25—O7—C26	122.17 (13)
4	O3—C9	1.2098 (17)	4	C4—N1—C7	127.27 (12)
5	O4—C9	1.3974 (16)	5	C18—N2—C21	127.63 (12)
6	O4—C10	1.3599 (16)	6	O1—C1—C2	119.68 (13)
7	O5—C23	1.262 (2)	7	O1—C1—C6	118.75 (13)
8	O6—C26	1.2098 (19)	8	N1—C4—C3	118.33 (12)
9	O7—C25	1.365 (2)	9	N1—C4—C5	121.72 (13)
10	O7—C26	1.391 (2)	10	N1—C7—C13	119.21 (13)
11	N1—C4	1.4273 (18)	11	N1—C7—C8	118.17 (12)
12	N1—C7	1.3227 (19)	12	O3—C9—O4	113.60 (13)
13	N2—C18	1.429 (2)	13	O4—C9—C8	117.39 (11)
14	N2—C21	1.3230 (19)	14	O3—C9—C8	129.00 (13)
15	C1—C2	1.376 (2)	15	O4—C10—C11	122.17 (13)
16	C1—C6	1.372 (2)	16	O4—C10—C14	111.64 (12)
17	N1—H1N	0.939 (17)	17	O2—C12—C11	119.54 (11)
18	C2—C3	1.379 (2)	18	O2—C12—C8	123.44 (12)
19	N2—H2N	0.97 (2)	19	O1—C15—C20	116.08 (12)
20	C8—C9	1.443 (2)	20	O1—C15—C16	123.31 (13)
21	C8—C12	1.4434 (17)	21	N2—C18—C17	119.23 (12)
22	C10—C11	1.331 (2)	22	N2—C18—C19	120.93 (13)
23	C7—C13	1.497 (2)	23	N2—C21—C22	117.66 (13)
24	C7—C8	1.4221 (18)	24	N2—C21—C27	118.68 (13)
25	C10—C14	1.481 (2)	25	O5—C23—C24	119.82 (14)
26	C11—C12	1.4361 (19)	26	O5—C23—C22	123.11 (15)
27	C15—C20	1.380 (2)	27	O7—C25—C24	121.93 (16)
28	C21—C27	1.490 (2)	28	O7—C25—C28	111.19 (15)
29	C21—C22	1.423 (2)	29	O6—C26—C22	128.34 (15)
30	C22—C26	1.440 (2)	30	O7—C26—C22	117.74 (13)
31	C22—C23	1.441 (2)	31	O6—C26—O7	113.92 (14)
32	C23—C24	1.439 (2)	32		
33	C24—C25	1.321 (2)	33		
34	C25—C28	1.489 (3)	34		

**Tableau II- 5:** Paramètres des liaisons hydrogènes dans du ligand L2

D—H...A	d(D—H)	d(H...A)	d(D—A)	D—H—A
N1-H1N...O2	0.94(2)	1.707(17)	2.5408 (14)	146(2)
N2-H2N...O5	0.97(2)	1.656(19)	2.5385 (15)	150(2)
C2-H2...O3 <sup>i</sup>	0.94	2.58	3.2565 (17)	129
C19-H19...O6 <sup>ii</sup>	0.94	2.53	3.4647 (17)	172

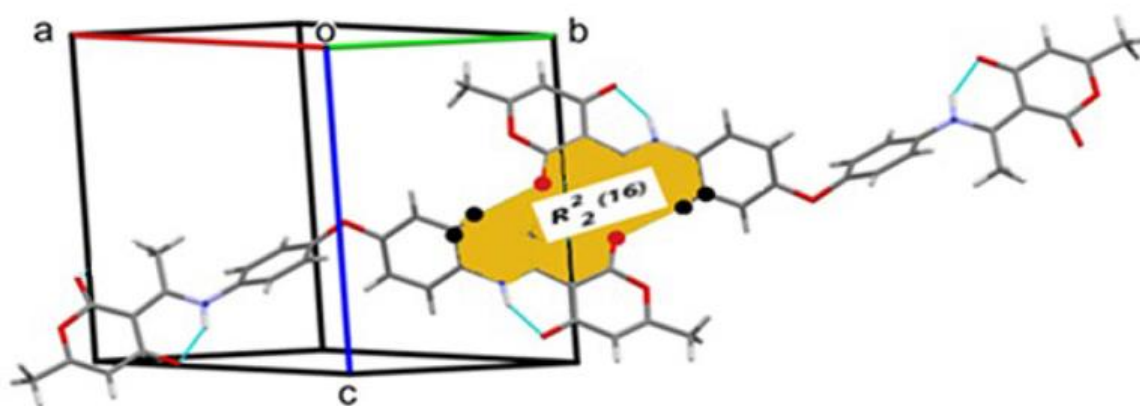
Codes de symétrie : (i) x +1, y, z ; (ii) x +3, y +1, z +1.

L'analyse structurale par diffraction des rayons X révèle que la molécule L2 se présente sous forme zwitterionique, le proton de chaque groupe énol ayant migré vers le groupe fonctionnel imine. Les longueurs des liaisons N1-H1N de 0,94(2) Å et H1N...O2 =1,707(17)

Å, et N2-H2N de 0.97(2) Å et H2N...O5 = 1.656(19) Å, indiquant la formation de [N<sup>+</sup>—H...<sup>-</sup>O], similaires aux structures de zwitterions récemment publiées [4,5].

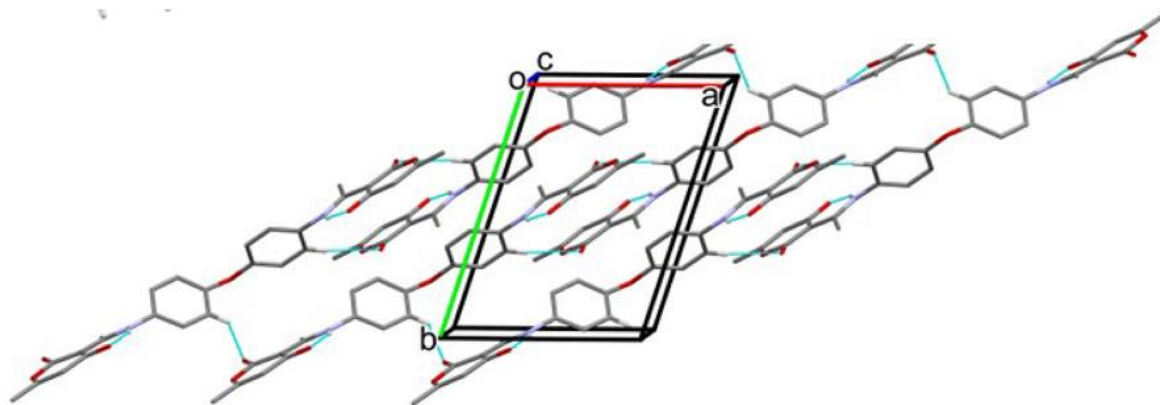
Les longueurs des liaisons, N1-C7 = 1,323(2) Å et N2-C21 = 1,323(2) Å, indiquent que les liaisons C-N<sub>iminium</sub> sont proches de celles rapportées pour des composés similaires [6,7]. Les longueurs des liaisons C-O<sup>-</sup>, (C12-O2 = 1.254(2) Å et C23-O5 = 1.262(2) Å) sont intermédiaires entre une liaison simple et une liaison double de 1,222 et 1,362 Å, respectivement [8]. Les cycles aromatiques et le cycle de l'acide déhydroacétique ont des configurations trans (configuration *E*) par rapport aux liaisons C=N. Les deux liaisons hydrogène intramoléculaires N<sup>+</sup>-H...O<sup>-</sup> renferment des motifs cycliques S(6). Les cycles aromatiques de l'unité centrale oxybis (4,1-phénylène), (A = C1-C6 et B = C15-C20) sont normaux l'un à l'autre avec un angle dièdre de 89,99(7) °. Les anneaux pyran-2-one (C = O4, C8-C12 and D = O7, C22-C26), sont presque coplanaires avec un angle dièdre de 3,99(7) °.

Les cycles A et C sont inclinés, tandis que les anneaux B et D sont inclinés l'un par rapport à l'autre de 52,16(7) °. Dans le cristal, les molécules liées à l'inversion sont reliées par une paire de liaisons hydrogène C19-H19...O6<sup>ii</sup> formant des dimères qui entourent un motif cyclique R<sub>2</sub><sup>2</sup>(16) (Figure II-30).



**Figure II- 30:** Vue partielle de la structure cristalline de L2, montrant la formation du motif de l'anneau R<sub>2</sub><sup>2</sup>(16).

Les molécules sont également liées par des liaisons hydrogènes C2—H2...O3<sup>i</sup> pour former des chaînes se propageant le long de l'axe a. La combinaison de ces interactions de liaisons H conduit à la formation de couches parallèles au plan (0 1 1) (Figure II-31).



**Figure II- 31:** Vue partielle de la structure cristalline de L2, montrant la formation du motif de l'anneau  $R_2^2(16)$  lié à l'hydrogène (C-H...O).

### Discussion et Conclusion :

En conclusion, les rendements et la pureté satisfaisants des bases de Schiff synthétisées dérivées de l'acide déhydroacétique (DHA) montre la réussite et l'efficacité de la méthode synthétique employée pour ce genre de composé. La caractérisation par les diverses méthodes spectroscopiques telles que l'UV-Visible, FT-IR, RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  a confirmé la formation des bases de Schiff attendues.

Les résultats de l'analyse spectrale UV-Visible des molécules synthétisés met en évidence des bandes d'absorption caractéristiques des transitions électroniques de type  $\pi \rightarrow \pi^*$  (216-270 nm) et  $n \rightarrow \pi^*$  (308-374 nm) [9]. Ces bandes peuvent être attribuées aux systèmes conjugués (C=C) présentes dans les molécules et aux hétéroatomes (N et O) présents dans les groupements (C=O et C=N).

Un déplacement bathochromique (déplacement des bandes vers les grandes longueurs d'onde) dans le spectre du nouveau produit synthétisé a été observé par rapport à celles des réactifs de départ, Cela peut être attribué à la production du groupe imine conjugué (-C=N-).

Dans l'analyse IR, les spectres des ligands (L1, L2 et L6) montrent l'apparition d'une bande avec une faible intensité 3516- 3182, indique l'existence d'un O-H enolique anormale, Cette bande peut être due à l'existence de liaisons H intramoléculaires dues à l'énol-imine  $[\text{N}^+ \text{---} \text{H} \dots \text{O}^-]$  zwitterionique à l'état solide, ce qui est confirmé par l'analyse structurale DRX de ligand L2.

L'absence de bande caractéristique OH dans le spectre des ligands (L3, L4, L5, et L7) est due probablement au changement de forme énol à la forme cétone.

Les bandes observées entre 1700-1651  $\text{cm}^{-1}$  sont attribués au groupement C=O. La bande caractéristique des bases de Schiff (C=N) est observé dans l'intervalle 1662-1600  $\text{cm}^{-1}$  [10, 11] pour les ligands L2, L6, et L7, et inférieure à 1600  $\text{cm}^{-1}$  [12, 13] pour les ligands L1, L3, L4, et L5.

La bande  $\nu(\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H})$  a été observée dans l'intervalle 3090-3010  $\text{cm}^{-1}$  [14-16].

L'analyse DRX a confirmé la présence d'une forme de sel bi-zwitterionique de ligand L2, caractérisée par des interactions intra-H entre les groupes  $[\text{N}^+\text{---H}\dots\text{O}]$ .

**Références bibliographiques :**

- [1] B. Naureen, A. G. Miana, K. Shahid, M. Asghar, S. Tanveer, A. Sarwar, Iron (III) and zinc (II) monodentate Schiff base metal complexes: Synthesis, characterization and biological activities. *J. Mol. Struct.* 1231 (2021) 129946.
- [2] G.M. Sheldrick, A short history of SHELX, *Acta Cryst A*64 (2008) 112.
- [3] G.M. Sheldrick, Crystal structure refinement with SHELXL, *Acta Cryst.* C71 3 (2015).
- [4] A. Djedouani, S. Boufas, M. Allain, G. Bouet, M. Khan, Zwitterionic 6-methyl-2-oxo- 3-[1-(ureidoiminio)ethyl]-2H-pyran-4-olatemonohydrate, *Acta Cryst.* E71 (2008) 1785.
- [5] G. Wojciechowski, M. Ratajczak-Sitarz, A. Katrusiak, W. Schilf, P. Przybylski, B. Brzezinski, Crystal structure of Schiff base derivative of 2,2'-dihydroxybiphenyl- 3-carbaldehyde with n-butylamine, *J. Mol. Struct.* 650 (2003) 191.
- [6] C.R. Giriya, N.S. Begum, 1-Dimethylamino-3-dimethyliminio-2-(p-methoxyphenyl) prop-1-ene perchlorate, *Acta Cryst.* E60 (2004) o535-o536.
- [7] C.R. Giriya, N.S. Begum, M.A. Sridhar, N.K. Lokanath, J.S. Prasad, 1- Dimethylamino-3-dimethylimino-1-phenylprop-1-ene perchlorate, *Acta Cryst.* E60 (2004) o586.
- [8] F.H. Allen, O. Kennard, D.G. Watson, L. Brammer, A.G. Orpen, R. Taylor, Tables of bond lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* (1987) S1-S19.
- [9] D. Vashisht, S. Sharma, R. Kumar, V. Saini, V. Saini, A. Ibhaddon, S. C. Sahoo, S. Sharma, S. K. Mehta, R. Kataria, Dehydroacetic acid Derived Schiff base as Selective and Sensitive Colorimetric Chemosensor for the Detection of Cu(II) ions in Aqueous Medium, *Microchem. J.*155 (2020) 104705.
- [10] H. Ullah, F. H. Wattoo, M. H. S. Wattoo, M. Gulfraz, S. A. Tirmizi, S. Ata, A. Wadood, Synthesis, spectroscopic characterization and antibacterial activities of three Schiff bases derived from dehydroacetic acid with various substituted anilines, *Turk. J. Biochem.* 37(4) (2012) 386–391.
- [11] V. G. Mane, V. N. Patange, B. R. Arbad, Synthesis, structural and thermal characterization and antifungal study of manganese(II), iron(III), cobalt(II) and copper(II) complexes of N,O donor ligands, *J. Indian Chem. Soc.* 84 (2007) 1086-1091.
- [12] A. Goel, R. Malhotra, Efficient detection of Picric acid by pyranone based Schiff base as a chemosensor, *J. Mol. Struct.* 1249 (2022) 131619.
- [13] R. Nechak, S. A. Bouzroua, Y. Benmalek, L. Salhi, S. P. Martini, V. Morizur, E. Dunach, and B. N. Kolli, Synthesis and Antimicrobial Activity Evaluation of Novel 4-Thiazolidinones Containing a Pyrone Moiety, *Synthetic Communications.* 45(2) (2015) 262–272.
- [14] M. Yıldız, Z. Kılıç, T. Hökelek, Intramolecular hydrogen bonding and tautomerism in Schiff bases. Part I. Structure of 1, 8-di[N-2-oxophenyl-salicylidene]-3,6-dioxaoctane, *J. Mol. Struct.*441 (1998) 1-10.

**[15]** H. Nazır, M. Yıldız, H. Yılmaz, M.N. Tahir, D. Ülkü, Intramolecular hydrogen bonding and tautomerism in Schiff bases. Structure of N-(2-pyridil)-2-oxo-1 naphthylidenemethylamine, J. Mol. Struct. 524 (2000) 241-250.

**[16]** A. A. Ismail, F. R. van de Voort, J. Sedman, Chapter 4 Fourier transform infrared spectroscopy: Principles and applications, Editor(s): J.R.J. Paré, J.M.R. Bélanger, Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, Elsevier. 18 (1997) 93-139.

# **Chapitre III : Etude catalytique des ligands synthétisés**

### III.1 Introduction :

La catalyse est un domaine crucial de la chimie, jouant un rôle vital dans les sciences biologiques, chimiques et physiques [1]. Le terme « catalyse » a été inventé en 1835 par le chimiste suédois Berzelius, mais une définition appropriée n'a été introduite que bien des années plus tard par Ostwald qui a écrit en 1894 : « La catalyse est l'accélération d'un processus chimique lent par la présence d'un matériau étranger » [2].

Les enzymes sont des catalyseurs naturels qui catalysent la synthèse de nombreuses structures biomoléculaires, et sont des exemples bien établis d'agents chimiques respectueux de l'environnement et économes en énergie [3]. Un certain nombre d'enzymes présentes dans la nature sont capables de catalyser l'activation du dioxygène de l'atmosphère et de l'utiliser pour réaliser une grande variété de réactions remarquables [4].

La catalyse très efficace des enzymes naturelles a incité les chercheurs à les imiter [5-8], cette branche de chimie appartient à la chimie organique appelé "la chimie biomimétique" c'est la chimie qui s'inspire des processus biologiques, vise à améliorer le pouvoir de la chimie organique, a un but de comprendre les enzymes et d'étudier les différents facteurs qui affectent les processus catalysés par les enzymes.

Notre objectif dans cette étude était d'imiter un processus biologique qui est l'activité de la catéchol oxydase, et qui agit comme un catalyseur dans la réaction l'oxydation du catéchol en *o*-quinone, on utilisant des complexes formé *in situ* par des ligands bases de Schiff dérivés de l'acide déhydroacétique et les différents sels métalliques, on basant sur la vitesse d'oxydation et les différentes facteurs influencent cette activité .

### III.2 Définitions et concepts liés à l'activité catécholase :

#### III.2.1 Metalloenzyme :

Les enzymes sont généralement des biopolymères formés par la polymérisation d'acides aminés. Elles agissent comme des catalyseurs pour les réactions qui se produisent dans les milieux biologiques. Les enzymes affectées par les ions métalliques ont été définies de manière opérationnelle comme étant soit des metalloenzymes ou complexes métal-enzymes [9]. Des recherches nutritionnelles ont permis de reconnaître depuis longtemps que certains métaux ont d'importantes fonctions biologiques [10-12]. L'absence d'un métal spécifique et essentiel dans l'alimentation d'un organisme se traduit toujours par un état de carence marqué par des anomalies métaboliques et des troubles de la croissance [13].

Comme ces métaux se trouvent généralement en petites quantités dans les tissus, il était logique de supposer qu'ils pourraient jouer un rôle catalytique en participant à des réactions enzymatiques. Néanmoins, la découverte concrète des métalloenzymes a nécessité l'utilisation d'une méthodologie analytique précise et sensible. Le rôle des métaux dans l'action enzymatique n'a été définitivement établi que récemment, grâce aux progrès réalisés dans les méthodologies analytiques [13].

### III.2.2 Cuivre enzyme :

Le cuivre est un oligo-élément essentiel pour diverses fonctions biologiques et physiologiques ainsi que pour l'intégrité structurelle de divers tissus chez les animaux et les humains [14], il est présent dans un grand nombre d'enzymes qui catalysent des réactions d'oxydoréduction telles que la tyrosinase, la lysyl oxydase et la cytochrome oxydase [14]. Dans la majorité des cas, l'ion métallique participe directement au processus de transfert d'électrons et subit un changement cyclique de son statut d'oxydation. [13]. Ces dernières décennies, une grande importance a été accordée à la recherche et au développement de catalyseurs d'oxydation biomimétiques basés sur le Cu (II) en tant que centre actif [15-16].

Diverses stratégies ont été explorées pour synthétiser des complexes de Cu (II) avec différents ligands, dans le but de reproduire l'activité catalytique observée dans les systèmes biologiques. [17-20].

Depuis 1964, des catalyseurs synthétiques contenant du cuivre pour le catéchol oxydase (CO) ont été découverts, et Grinstead [21] a signalé la conversion du 3,5-di-tertbutylcatéchol (3,5-DTBC) en 3,5-di-tertbutylquinone (3,5-DTBQ) par chlorure de cuivre dans la réaction d'oxydation de catechol en *o*-quinone (activité catécholase).

### III.2.3 Catechol :

Les catéchols sont des dérivés de benzène qui contiennent deux groupes ortho-hydroxyle et se trouvent partout dans la nature [22], plus précisément, les neurotransmetteurs catécholamines comme dopamine, l'adrénaline et la noradrénaline, jouent des fonctions biochimiques vitales bien définies. La présence de deux groupes hydroxyles en positions vicinales le rendent idéal pour la coordination bidentate et la liaison d'hydrogène [23].

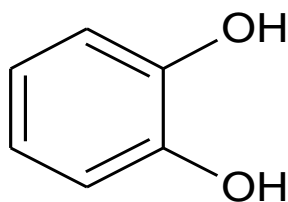


Figure III- 1: structure de catéchol

### III.2.4 Quinone :

Les quinones jouent un rôle crucial dans le métabolisme des organismes vivants et ils sont omniprésents dans la nature [24]. Ils jouent un rôle crucial dans la chaîne respiratoire cellulaire pour le transport des électrons [25]. Dans l'industrie, les quinones sont des intermédiaires pour la synthèse de médicaments, adhésifs, produits chimiques fins, cosmétiques, parfums, etc. [26-27].

L'*o*-quinone est un composant crucial dans la production naturelle de mélanine subissant une auto-polymérisation.

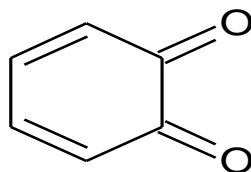


Figure III- 2: structure de l'*o*-quinone

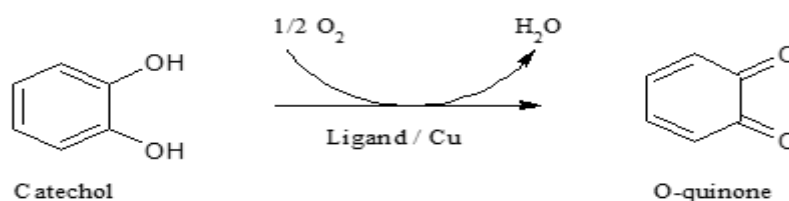
### III.2.5 Catéchol oxydase :

Également connue sous le nom d'*o*-diphénol oxydase ou de polyphénol oxydase, c'est un enzyme de cuivre présente chez les plantes, bactéries et les champignons [28]. C'est un metalloenzyme qui contient un site actif binucléaire de Cu(II) [29], catalyse une réaction de transfert de deux électrons lors de l'oxydation d'une large gamme d'*o*-diphénols en *o*-quinones correspondantes en présence d'oxygène dans un processus connu sous le nom d'activité catécholase [30]. Les quinones hautement réactives qui en résultent se polymérisent automatiquement pour produire des polyphénol-catéchol mélanines brunes. Ce mécanisme est censé protéger la plante endommagée contre les infections ou les insectes [31].

### III.3 Partie expérimental :

#### III.3.1 Etude cinétiques de l'oxydation du catéchol en présence des complexes, formés *in situ* :

Cette étude vise à évaluer l'efficacité des complexes de cuivre préparé *in situ* utilisant des bases de Schiff dérivés de DHA, à catalyser la réaction d'oxydation du catéchol en *o*-quinone à condition ambiante.



**Figure III- 3:** réaction d'oxydation de catéchol en *o*-quinone

#### III.3.2 Méthodes et Équipements Utilisés :

Les analyses catalytiques ont été réalisées à 25°C sur un spectromètre UV-visible UV-1900 I PC Shimadzu. Les différents composés utilisés sont : les sels métalliques de cuivre tels que :  $Cu(CH_3COO)_2$ ,  $CuSO_4$ ,  $Cu(NO_3)_2$ ,  $CuCl_2$ ,  $CuBr_2$ . Les solvants utilisés : méthanol, Acétonitrile et diméthylformamide et le Catéchol.

Les complexes ont été préparés *in situ* en mélangeant 0,15 ou 0,30 mL d'une solution ( $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L) de  $CuX_2$ ,  $nH_2O$  ( $X = CH_3COO^-$ ,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $Br^-$ ), avec 0,15 ou 0,30 mL d'une solution de ligand ( $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L), puis en ajoutant 2 mL d'une solution de catéchol de concentration ( $10^{-1}$  mol/L). Ensuite, à 390 nm, l'absorbance de l'*o*-quinone a été mesurée tout au long du temps (de 0 à 60 minutes).

#### III.3.3 Vitesse d'oxydation du catéchol en *o*-quinone :

La variation de la concentration en fonction du temps correspond à la vitesse d'une réaction chimique, qu'elle soit catalysée ou non.

$$V = \frac{dc}{dt}$$

L'absorbance, qui est proportionnelle à la concentration du produit formé dans le milieu réactionnel, obéit à la loi de Beer-Lambert :

$$A = \epsilon \cdot L \cdot C$$

Où :

- A : est l'absorbance.
- $\varepsilon$  : est le coefficient d'extinction molaire  $\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$
- L : correspond à la longueur du trajet optique de la cuve (souvent 1 cm).
- C : désigne la concentration en produit formé (*o*-quinone).

En combinant ces éléments, la vitesse exprimé en ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) de la réaction peut être donnée par :

$$V = \frac{\Delta A}{\Delta t} \frac{1}{\varepsilon L} \times 10^6$$

$\varepsilon = 1600 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$  dans le méthanol, éthanol et ACN

$1900 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$  dans DMF et THF

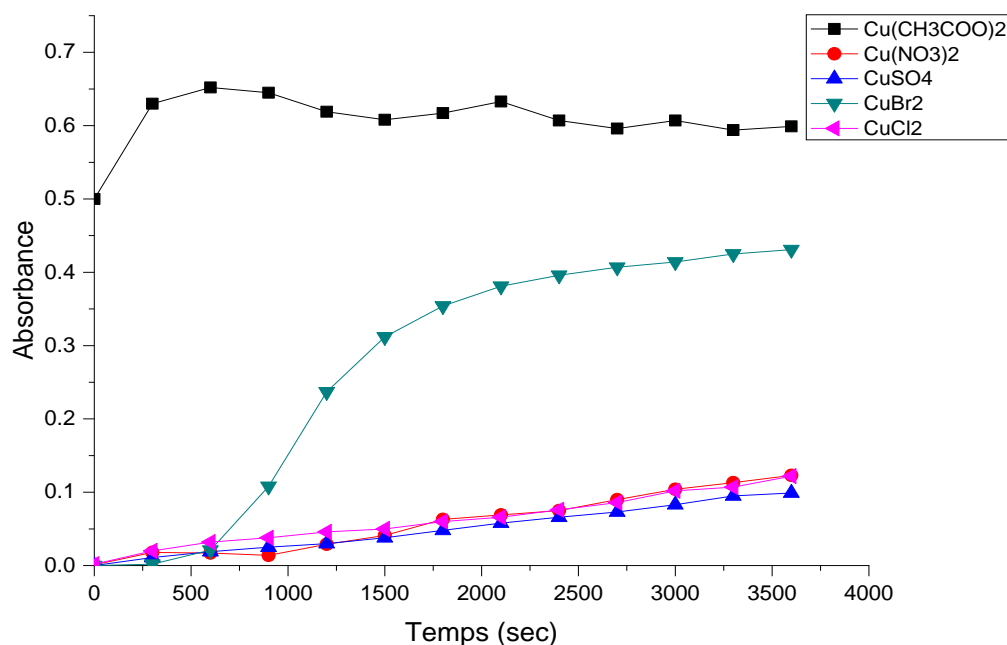
### III.4 Résultats et discussion :

#### III.4.1 Etude de l'effet de la nature de contre anion sur la réaction d'oxydation de catechol en *o*-quinone :

##### III.4.1.1 Oxydation du catéchol en présence des complexes in situ formés avec L1 :

La **figure III-4** illustre la variation de l'absorbance en fonction de temps pour les complexes préparés *in situ* avec différents sels de cuivres dont les anions :  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ . L'objectif de cette étude est d'examiner l'impact de chaque anion sur la vitesse d'oxydation de catechol.

Les résultats représentés dans la **figure III-4** montrent que tous les complexes in situ formés avec les différents sels métalliques peuvent catalyser la réaction d'oxydation. Le **tableau III-1** rassemble les vitesses ( $v_{\text{max}}$ ) de l'oxydation du catéchol qui ont été calculées, là où la pente du graphique d'absorbance est maximale : les vitesses varient de  $0,6 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$  pour le complexe résultant de 1 équiv. de ligand et de 1 équivalent de sel métallique  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  à  $4,49 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$  pour le complexe résultant de 1 équivalent de ligand et de 1 équivalent de sel métallique  $\text{CuBr}_2$  (meilleure catalyse). Il est observé que les résultats optimaux ont été enregistrés avec l'ion  $\text{Br}^-$  ; cela nous conduit à envisager que la nature du contre-ion joue un rôle important dans l'environnement de coordination et exerce une influence sur l'activité catalytique.



**Figure III- 4:** Oxydation du catéchol en présence de différents sels métalliques et du ligand L1 dans le méthanol.

**Tableau III- 1:** Vitesse d'oxydation du catéchol de [L1/Cu] ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) dans MeOH

M	Cu(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CuSO <sub>4</sub>	CuBr <sub>2</sub>	CuCl <sub>2</sub>
v ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )	0.60	1.27	1.03	4.49	1.25

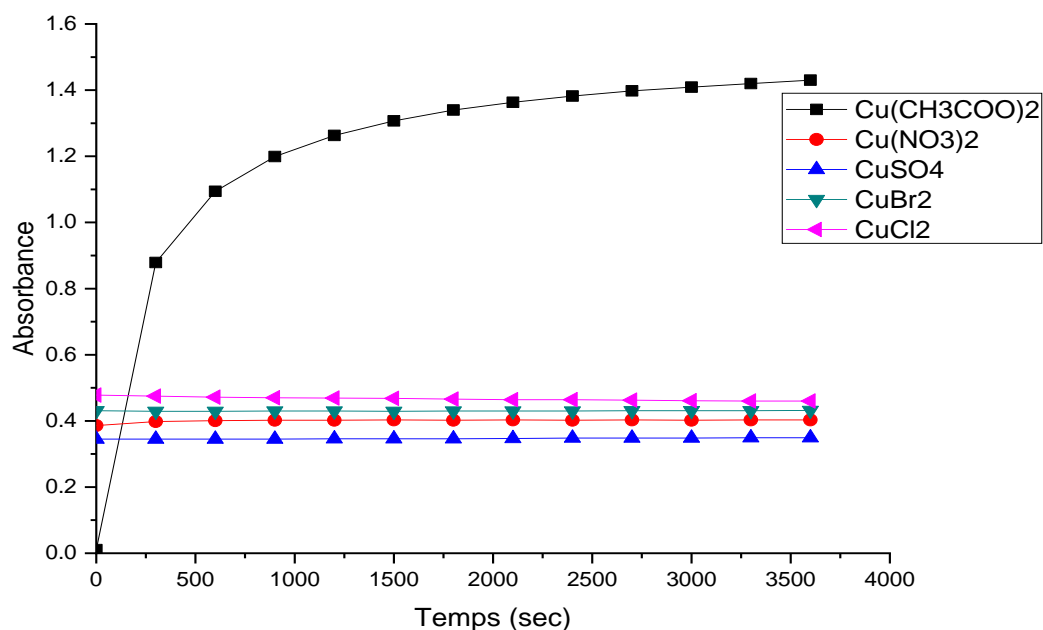
#### III.4.1.2 Oxydation du catéchol en présence des complexes formés *in situ* avec L2 :

Les résultats obtenus dans le méthanol se sont révélés négatifs, ce qui a conduit à l'utilisation de l'acétonitrile comme solvant pour ce ligand

Comme le montrent les résultats rassemblés dans la **figure III-5** et le **tableau III-2**, le complexe formé *in situ* entre le sel métallique Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> et le ligand L2 donne une valeur de vitesse d'oxydation élevée égale à 14,781  $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ , mais un taux d'oxydation faible avec les complexes formés en présence de : Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CuSO<sub>4</sub> et CuBr<sub>2</sub> dont les valeurs sont trouvées comme suit : 0,177, 0,041 et 0,010  $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$  respectivement.

Cette étude montre clairement que le contre-anion affecte la réaction d'oxydation du catéchol en *o*-quinone, alors que le complexe formé entre le ligand et Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> a une activité catalytique significativement plus élevée que les complexes formés avec d'autres sels. Cette

activité accrue résulte de la faible interaction entre les anions  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  et les cations  $\text{Cu}^{2+}$ , qui permet une coordination efficace des ligands et du cuivre, contrairement au complexe formé par le sel métallique  $\text{CuCl}_2$ , qui ne donne aucune activité en raison de la forte liaison des anions  $\text{Cl}^-$  au cuivre, ce qui rend la coordination entre le métal et les ligands difficile [32].



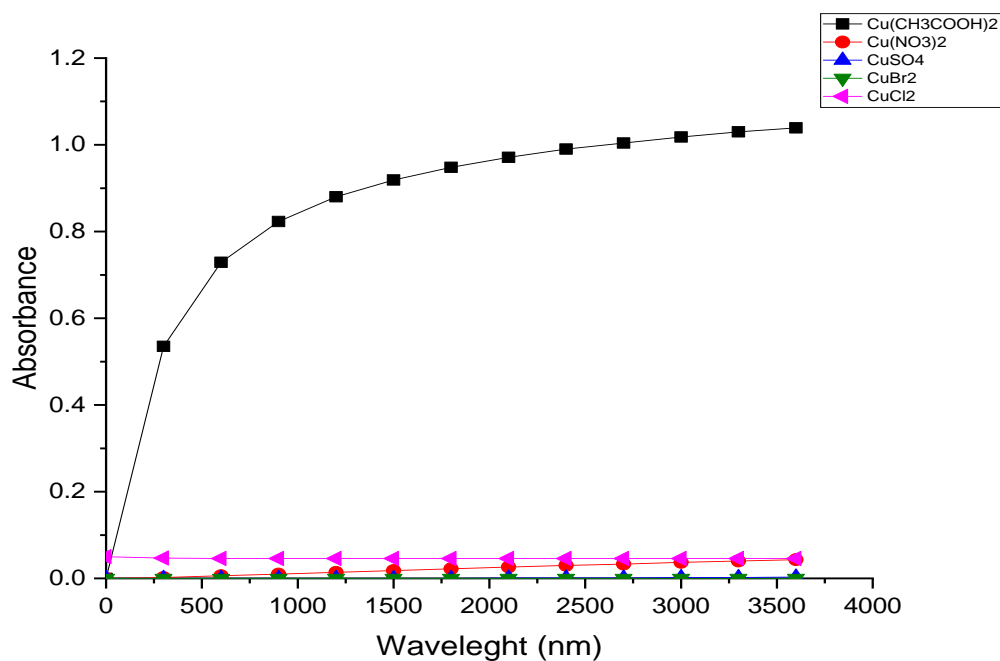
**Figure III- 5:** Oxydation du catéchol en présence de différents sels métalliques et du ligand L2 dans le l'ACN.

**Tableau III- 2:** Vitesse d'oxydation du catéchol de  $[\text{L2}/\text{Cu}]$  ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) dans ACN.

M	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$	$\text{CuSO}_4$	$\text{CuBr}_2$	$\text{CuCl}_2$
V ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )	14,781	0,177	0,041	0,010	-

#### III.4.1.3 Oxydation du catéchol en présence des complexes formés *in situ* avec L3 :

Le ligand L3 montre une absorbance très remarquable pour le complexe formé *in situ* avec l'anion  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ , par contre les valeurs de l'absorbance pour les anions  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$  et  $\text{SO}_4^{2-}$  et  $\text{Br}^-$  sont très faibles. Les vitesses d'oxydation pour chaque sel sont représentées dans le **tableau III-3**.



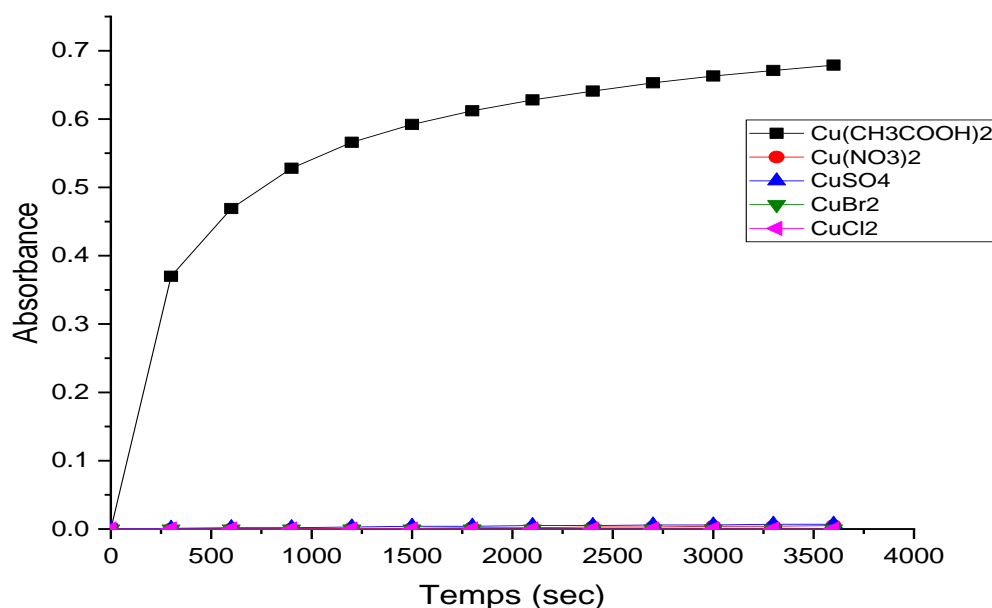
**Figure III- 6:** Oxydation du catéchol en présence de différents sels métalliques et du ligand L3 dans l’acétonitrile.

**Tableau III- 3:** Vitesse d’oxydation du catéchol de [L3/Cu] ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) dans ACN.

M	Cu(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CuSO <sub>4</sub>	CuBr <sub>2</sub>	CuCl <sub>2</sub>
V ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )	10,82	0,45	0,031	-	0,43

**III.4.1.4 Oxydation du catéchol en présence des complexes formés *in situ* avec L4 :**

Les mesures de l’évolution de l’absorbance en fonction du temps des anions : CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> et SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, sont données dans la **Figure III-7**.



**Figure III- 7:** Oxydation du catéchol en présence de différents sels métalliques et du ligand L4 dans l'acétonitrile.

Les données illustrées dans la **figure III-7** révèlent que le complexe formé *in situ* avec L4 et le sel métallique Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> présente une évolution d'absorbance important en comparaison avec les autres sels métalliques avec une évolution nul pour CuSO<sub>4</sub> et CuBr<sub>2</sub> et une très faible évolution pour Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> et CuCl<sub>2</sub>.

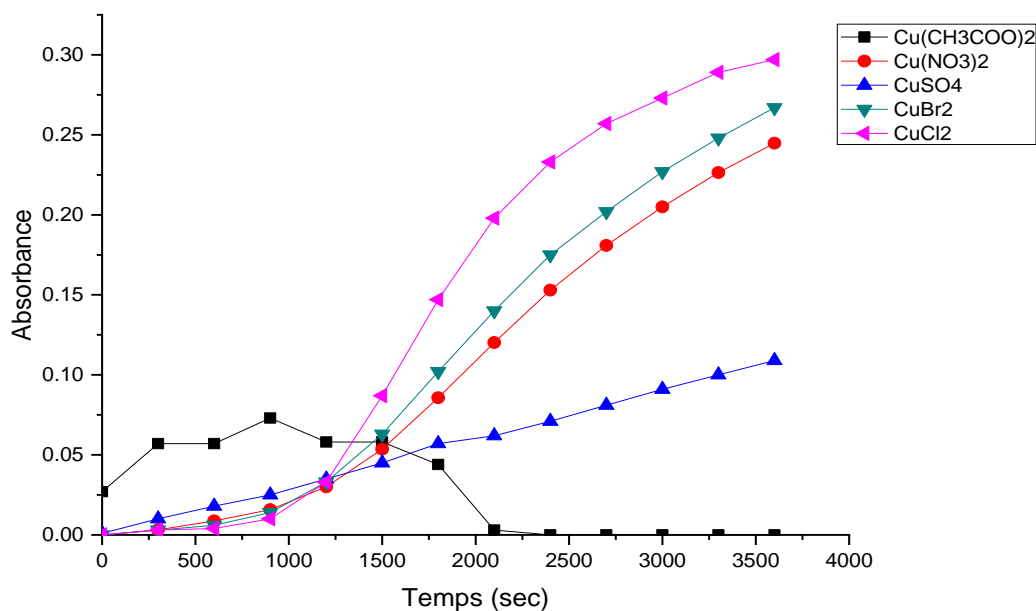
La vitesse d'oxydation pour chaque sel est rapportée dans le tableau....

**Tableau III- 4:** Vitesse d'oxydation du catéchol de [L4/Cu] (μmol.L<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) dans ACN.

M	Cu(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CuSO <sub>4</sub>	CuBr <sub>2</sub>	CuCl <sub>2</sub>
V ( μmol.L <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	7,07	0,05	-	-	-

#### III.4.1.5 Oxydation du catéchol en présence des complexes *in situ* formés avec L5 :

Les résultats obtenus mettent en évidence que chacun des complexes de cuivre formés avec le ligand L5 exhibe des propriétés catalytiques dans le processus d'oxydation du catéchol en *o*-quinone. Il est observé que la variation de l'absorbance est statistiquement significative pour le complexe formé par le ligand L5 et le sel métallique CuCl<sub>2</sub>, mais reste assez faible pour les autres sels métalliques. D'après les vitesses d'oxydation calculé dans le **tableau III-5**, le sel métallique Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> présente une vitesse maximal de 0,76 μmol.L<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup> à 15 min avant de diminuer , probablement en raison du processus de précipitation de complexe.



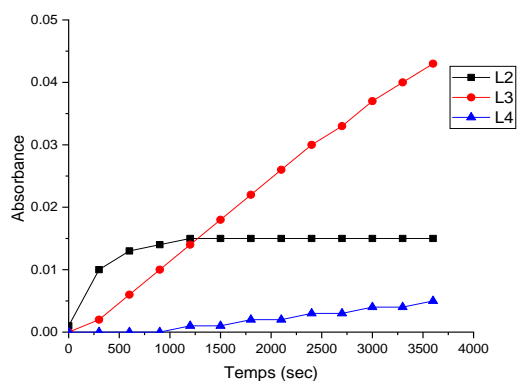
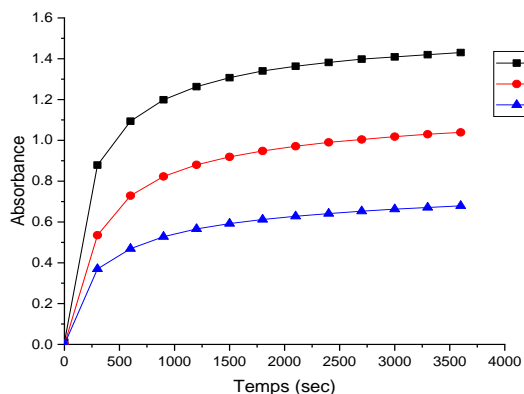
**Figure III- 8:** Oxydation du catéchol en présence de différents sels métalliques et du ligand L5 dans le méthanol.

**Tableau III- 5:** Vitesse d'oxydation du catéchol de [L5/Cu] ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) dans MeOH.

M	Cu(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CuSO <sub>4</sub>	CuBr <sub>2</sub>	CuCl <sub>2</sub>
V ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )	0,76	2,55	1,125	2,78	3,09

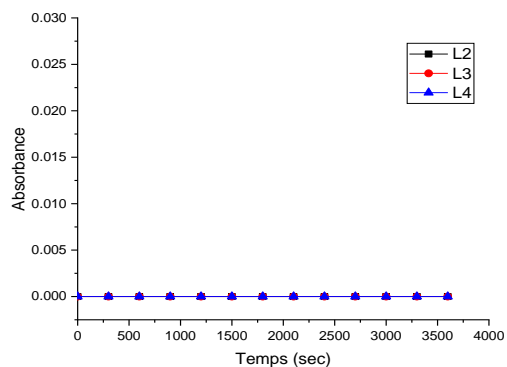
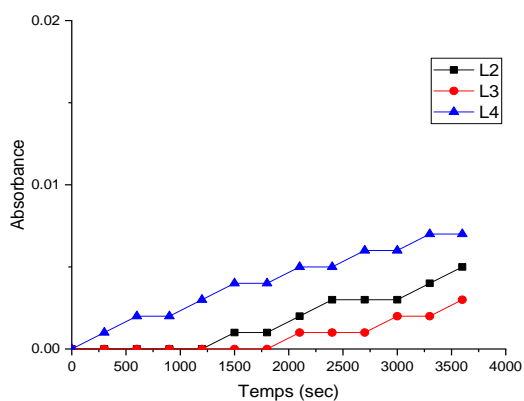
### III.4.2 Effet de la nature du ligand sur l'oxydation de catéchol :

Cette étude vise à comparer l'activité catalytique des complexes de cuivre (II) générés par différents ligands pour le même anion. La comparaison est faite pour les ligands L2, L3 et L4 qui sont soluble dans l'ACN avec une combinaison L/M [1 :1], et les deux ligands L1 et L5 dans le méthanol L/M [1 :1]. Les résultats d'absorbance pour chaque ligand sont représentés dans la **figure III-9** et **III-10**.



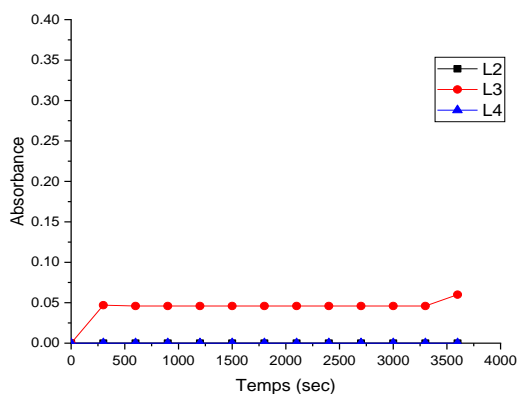
Oxydation de catéchol en présence de  $\text{CH}_3\text{COO}^-$

Oxydation de catéchol en présence de  $\text{NO}_3^-$



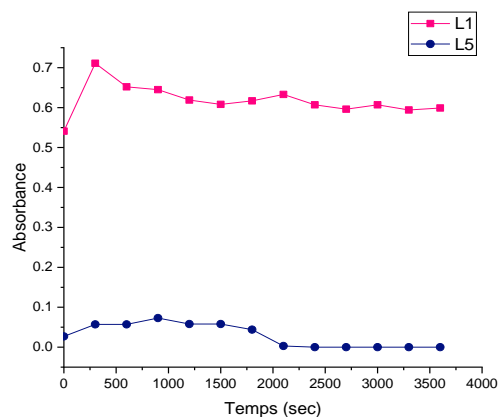
Oxydation de catéchol en présence de  $\text{SO}_4^{2-}$

Oxydation de catéchol en présence de  $\text{Br}^-$

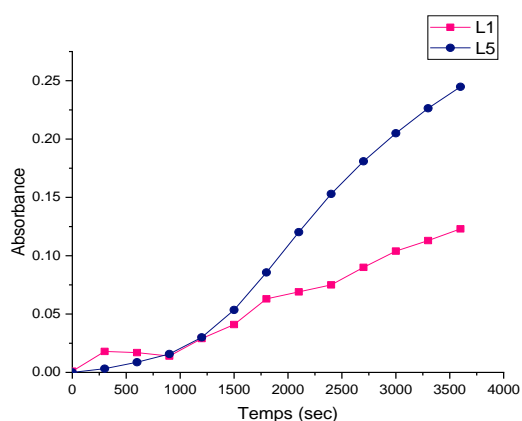


Oxydation de catéchol en présence de  $\text{Cl}^-$

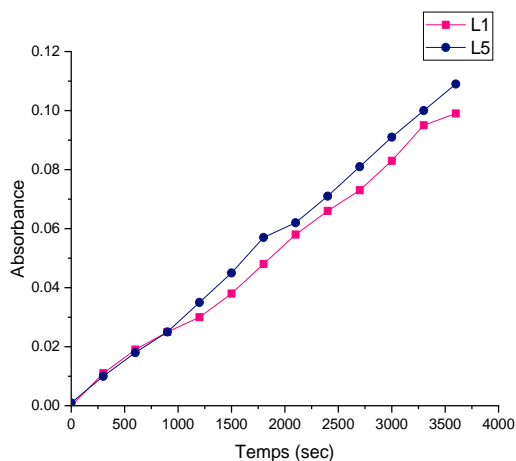
Figure III- 9: oxydation de catéchol en *o*-quinone en présence des ligands (L2, L3 et L4) pour chaque anion dans l'ACN.



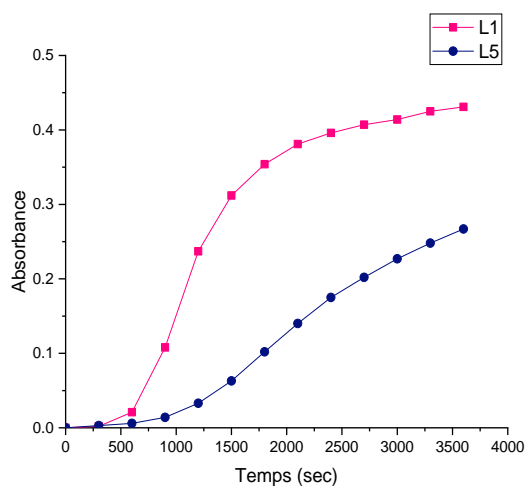
Oxydation de catéchol en présence de  $\text{CH}_3\text{COO}^-$



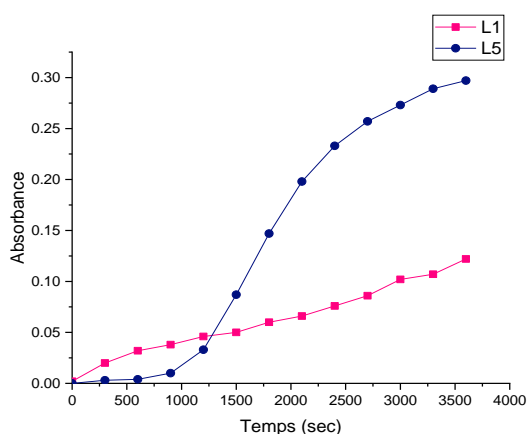
Oxydation de catéchol en présence de  $\text{NO}_3^-$



Oxydation de catéchol en présence de  $\text{SO}_4^{2-}$



Oxydation de catéchol en présence de  $\text{Br}^-$



Oxydation de catéchol en présence de  $\text{Cl}^-$

**Figure III- 10:** oxydation de catéchol en o-quinone en présence des ligands (L1 et L5) pour chaque anion dans MeOH.

**Tableau III- 6:** vitesse d'oxydation de catéchol en présence des complexes résultants de différents ligands.

		ACN			MeOH	
V ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )	Anion	L2	L3	L4	L1	L5
	$\text{CH}_3\text{COO}^-$	14,781	10,82	7,07	0,60	0,76
	$\text{NO}_3^-$	0,177	0,45	0,05	1,27	2,55
	$\text{SO}_4^{2-}$	0,041	0,031	-	1,03	1,125
	$\text{Br}^-$	0,010	-	-	4,49	2,78
	$\text{Cl}^-$	-	0,43	-	1,25	3,09

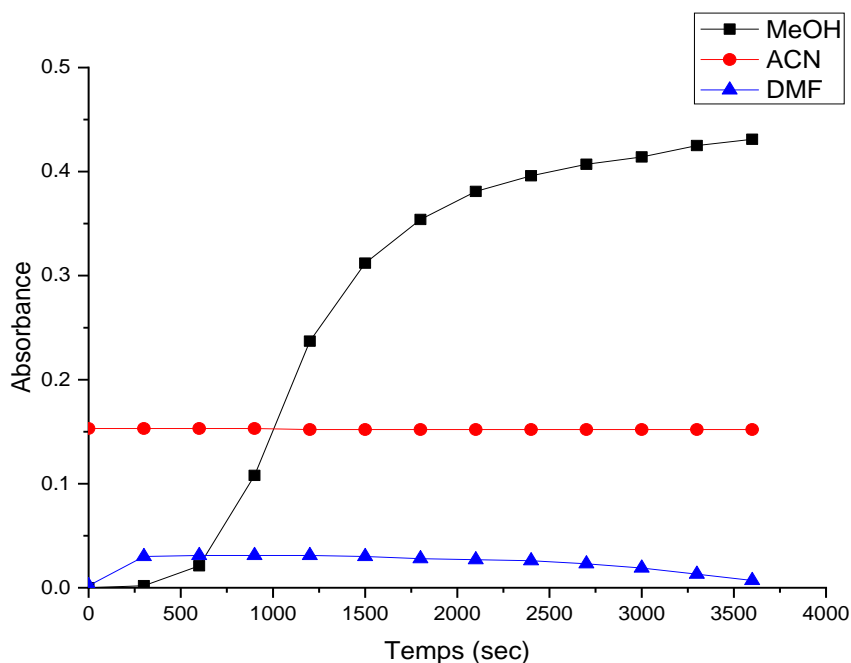
Selon les données exposées dans la **figure III-9** et **III-10**, les complexes formés avec l'ion acétate sont les meilleurs catalyseurs. Le ligand L2 présente la vitesse d'oxydation la plus élevée à  $14,781 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$  suivie par le ligand L3 et L4 avec une vitesse de  $10,82$  et  $7,07 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$  respectivement. Les autres ions  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Br}^-$  et  $\text{Cl}^-$  présente une activité négligeable. Dans l'ACN, le complexe formé *in situ* avec le ligand L1 et l'ion bromure est le meilleur catalyseur, par contre le ligand L5 présente une meilleure activité avec l'ion chlorure. Si on compare les deux ligands pour le reste des anions  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ , et  $\text{SO}_4^{2-}$ , il apparaît que le ligand L5 présente les vitesses d'oxydation les plus élevées par rapport L1.

#### III.4.3 Etude de l'effet de la nature du solvant sur la réaction d'oxydation du catéchol en *o*-quinone :

Afin d'analyser l'influence du solvant sur la réaction d'oxydation du catéchol en *o*-quinone, nous avons utilisé la combinaison (L1/  $\text{CuBr}_2$ ), nous avons donc réalisé quelques expériences dans les mêmes conditions expérimentales mais avec différents solvants : méthanol (MeOH), diméthylformamide (DMF) et acétonitrile (ACN).

D'après les taux d'oxydation calculés dans le **tableau III-7** et les données obtenues suite à la variation de l'absorbance de l'*o*-quinone (**Figure III-11**), il est clair que l'absorbance dans le méthanol est plus élevée que les deux autres solvants aprotiques polaires, c'est-à-dire l'acétonitrile (ACN) et le diméthylformamide (DMF) avec un taux maximal de  $4,49 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ . Les résultats indiquent que le solvant influence de manière significative sur l'activité catalytique. Cette différence peut être expliquée par le fait de la polarité des solvants utilisés. Notre résultat est cohérent avec les résultats précédemment rapportés dans la littérature qui ont confirmé que les solvants protiques polaires solvatent faiblement le cation de cuivre facilitant ainsi la formation du complexe et augmentant la vitesse d'oxydation du catéchol en *o*-quinone, d'autre part, les solvants aprotiques polaires solvatent fortement le cation

métallique et réduisent l'activité catalytique du cation métallique lors de la réaction d'oxydation [33 –35].



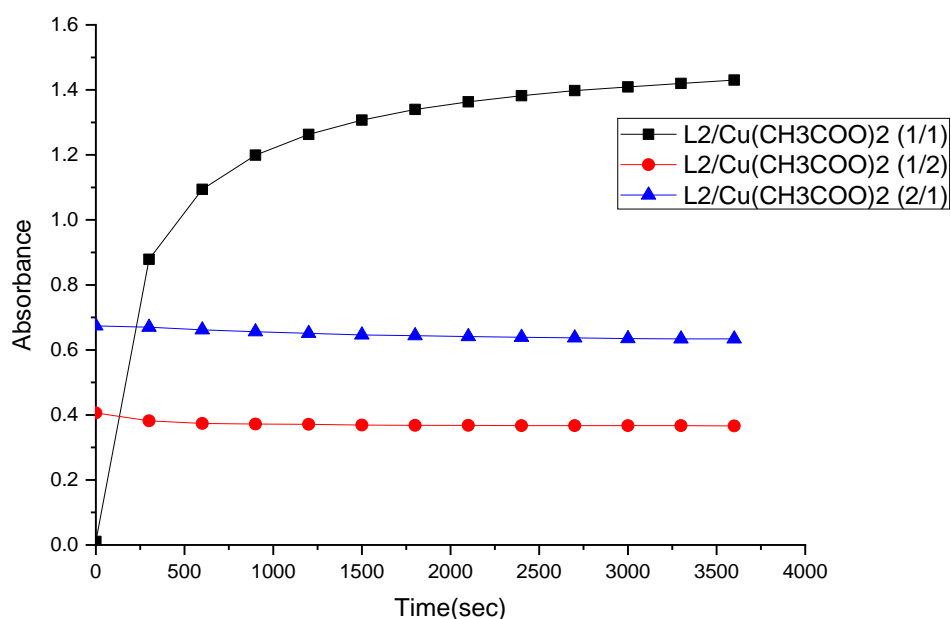
**Figure III- 11:** Oxydation du catéchol en présence de L1 / CuBr2 dans différents solvants.

**Tableau III- 7:** Vitesse d'oxydation du catéchol dans différents solvants.

<i>Solvant</i>	<i>MeOH</i>	<i>ACN</i>	<i>DMF</i>
<i>V (μmol.L<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>)</i>	4,49	-	0,052

#### III.4.4 Etude de l'effet de concentration sur la réaction d'oxydation du catechol en *o*-quinone :

Pour évaluer l'effet de la concentration du ligand sur l'activité catécholase, le rapport L2/ Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> a été varié. Sur cela, les rapports de 1/1, 1/2 et 2/1 ont été utilisés. Le résultat indique que la vitesse d'oxydation la plus élevée est donnée pour le rapport 1/1 d'un équivalent du ligand et un équivalent de Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> avec une valeur de 14,781 μmol.min<sup>-1</sup>.L<sup>-1</sup> cependant, les autres rapports 1/2 et 2/1 n'ont aucune activité. Sur la base de ces observations, nous pouvons déduire que l'activité de la catécholase se produit avec un équivalent de métal et un équivalent de ce type de ligand.



**Figure III- 12:** Oxydation du catéchol en présence de différentes propositions de  $L2/Cu(CH_3COO)_2$  dans l'acétonitrile.

**Tableau III- 8:** Vitesse d'oxydation du catéchol avec différentes propositions de  $L2/Cu(CH_3COO)_2$  dans l'acétonitrile ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ).

L/M	$L2/Cu(CH_3COO)_2$ (1/1)	$L2/Cu(CH_3COO)_2$ (1/2)	$L2/Cu(CH_3COO)_2$ (2/1)
V ( $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )	14,781	-	-

### III.4.5 Etude cinétique par l'équation de Michaelis-Menten :

L'équation de Michaelis-Menten postule que la vitesse d'une réaction catalysée par une enzyme est directement proportionnelle à la concentration du substrat [36]. La présente étude vise à identifier les paramètres cinétiques ; les procédés étaient les mêmes que ceux décrits dans la section (III.3.2) avec variation de la concentration du substrat catéchol de  $10^{-2}$  à  $10^{-1}$  mol.  $L^{-1}$ . À titre d'exemple, l'étude cinétique de la réaction de catécholase a été effectuée par rapport optimal [1:1]  $L2/Cu(CH_3COO)_2$  dans l'acétonitrile. L'évolution de l'absorbance *o*-quinone dans la gamme 300-400 nm pour les 5 premières minutes de réaction, puis les résultats ont été présentés graphiquement, en représentant  $V_i$  en fonction de la concentration du substrat. Les valeurs de  $V_{\text{max}}$  (vitesse maximale),  $K_m$  (constante de Michaelis-Menten) et  $K_{\text{cat}}$  (constante catalytique) sont calculées dans le tableau, la  $V_{\text{max}}=17,75 \mu\text{mol. L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ , et la valeur inférieure de  $K_m$ , qui est égale à  $0,021 \text{ mol.L}^{-1}$  montre que le meilleur complexe formé *in situ* avec  $L2$  et  $Cu(CH_3COO)_2$  peut être considéré comme un bon catalyseur dans la réaction

d'oxydation du catéchol en raison de sa bonne affinité avec le substrat.  $K_{cat} = 0,53 \text{ h}^{-1}$ , ce qui signifie que le substrat a été catalysé à un taux rapide par le complexe.

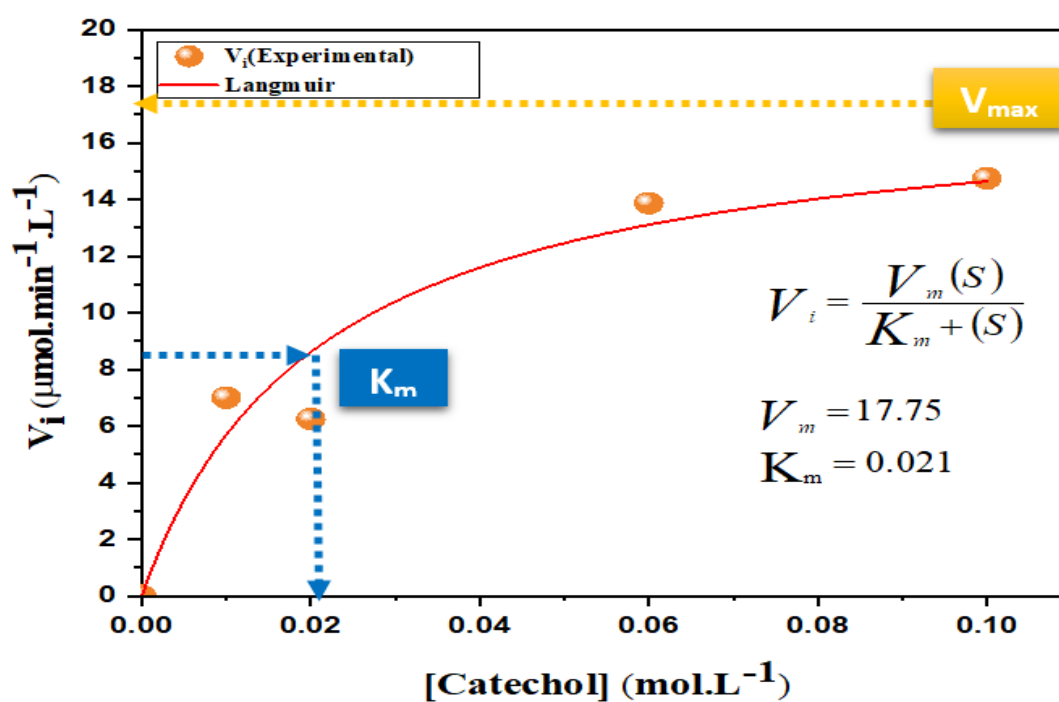


Figure III- 13: représentation graphique par l'équation de Michaelis-Menten de complexe formé *in situ* [L2-Cu].

Tableau III- 9: les paramètres  $V_{max}$ ,  $K_m$  et  $K_{cat}$  de ligand L2.

<i>In situ</i> Complex	$V_{max} (\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$	$K_m (\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	$K_{cat} (\text{h}^{-1})$
$L2[Cu(CH_3COO)_2]$	17,75	0,021	0,53

**Conclusion :**

Notre objectif dans ce chapitre est d'imiter la fonction de site actif de l'enzyme catéchol oxydase dans la réaction d'oxydation de catéchol en *o*-quinone, utilisant des complexes formés *in situ* à base des ligands synthétisés dérivée de l'acide dehydroacétique (**L1-L5**) et différents sels métalliques ( $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{CuBr}_2$ ,  $\text{CuCl}_2$ ).

Les résultats indiquent une variation de vitesse d'oxydation entre les complexes, et pour déterminer les facteurs influençant cette variation, l'effet de concentration, l'effet de nature de solvant et de ligand, et le type de l'anion ont été examinés. Nos résultats montrent que notre stratégie fonctionne et confirment que le cuivre a un avenir brillant dans la catalyse biomimétique.

Le modèle de Michaelis-Menten a finalement été utilisé pour déterminer les paramètres cinétiques du catalyseur optimal.

**Références bibliographiques :**

- [1] S. Kumar, G. Kumar, B. Saroha, K. Gulati, 12 - Metal oxide heterostructures as catalysts in organic reactions, *Metal Oxides: Metal Oxide-Based Heterostructures*, edited by Naveen Kumar, Bernabé Marí Soucase, and Ghenadii Korotcenkov, Elsevier, 2023, 417–451.
- [2] G. Ertl, W. Ostwald: Founder of Physical Chemistry and Nobel Laureate 1909, *Angew. Chem. Int. Ed.* 48 (2009) 6600 – 6606.
- [3] A. Dev, A. K. Srivastava, S. Karmakar, Chapter 12 - New Generation Hybrid Nanobiocatalysts: The Catalysis Redefined, *Micro and Nano Technologies: Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications*, edited by Chaudhery Mustansar Hussain, Elsevier, 2018, 217-231.
- [4] T. D. H. Bugg, Dioxygenase enzymes: catalytic mechanisms and chemical models, *Tetrahedron*, 59(2003) 7075-7101.
- [5] R. Breslow, Centenary Lecture. Biomimetic chemistry, *Chem. Soc. Rev.* 1(1972) 553-580.
- [6] R. Breslow, *Biomimetic Chemistry and Artificial Enzymes: Catalysis by Design*, *Acc. Chem. Res.* 28 (1995) 146–153.
- [7] Y. Murakami, J-ichi. Kikuchi, Y. Hisaeda, O. Hayashida, *Artificial Enzymes*, *Chem. Rev.* 96 (1996) 721–758.
- [8] R. Zhang, X. Yan, K. Fan, *Nanozymes Inspired by Natural Enzymes*, *Acc. Mater. Res.* 2, (2021) 534–547.
- [9] B. L. Vallee. Zinc and metalloenzymes, *Adv. Protein/ Chem.* 10 (1955) 317-384.
- [10] I. Banga, S. Ochoa, R. A. Peters, Pyruvate oxidation in brain: Some dialysable components of the pyruvate oxidation system1, *Biochem. J.* 33 (1939) 1980–1996.
- [11] E. S. G. Barron, R.H. DeMeio, F. Klemperer, Studies on biological oxidations: V. copper and hemochromogens as catalysts for the oxidation of ascorbic acid. The mechanism of the oxidation, *J. Biol. Chem.* 112 (1936) 625-640.
- [12] F. Binkley, K. Nakamura, Metabolism of glutathione: i. Hydrolysis by tissues of the rat, *J. Biol. Chem.* 173 (1948) 411-421.
- [13] J. F. Riordan, the Role of Metals in Enzyme Activity, *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 7 (1977) 119-129.
- [14] B. L. O'Dell, Biochemistry and physiology of copper in vertebrates. Trace Elements in Human Health and Disease, Zinc and Copper, (A. S. Prasad, ed.), Academic Press, New York, NY USA, 1 (1976) 391-413,
- [15] P. Gamez, P.G. Aubel, W.L. Driessen, J. Reedijk, Homogeneous bio-inspired copper catalyzed oxidation reactions, *Chemical Society Reviews*, 30 (2001) 376-385.
- [16] T. Punniyamurthy, L. Rout, Recent advances in copper-catalyzed oxidation of organic compounds, *Coord. Chem. Rev.* 252 (2008) 134-154.

- [17] S. Thabti, A. Djedouani, S. Rahmouni, R. Touzani, A. Bendaas, H. Mousser, A. Mousser Synthesis, X-ray crystal structures and catecholase activity investigation of new chalcone ligands, *J. Mol. Struct.* 1102 (2015) 295-301.
- [18] A. Zerrouki, R. Touzani, S. El Kadiri, Synthesis of new derivatized pyrazole based ligands and their catecholase activity studies, *Arabian journal of chemistry* 4: 459-464 (2011).
- [19] A. Mouadili, A. Attayibat, S. El Kadiri, S. Radi, R. Touzani, Catecholase activity investigations using in situ copper complexes with pyrazole and pyridine based ligands, *Appl. Catal. A: Gen.* 454 (2013) 93-99.
- [20] I. Bouabdallah, R. Touzani, I. Zidane, A. Ramdani, Synthesis of new tripodal ligand: N, N-bis [(1, 5-dimethylpyrazol-3-yl) methyl] benzylamine.: Catecholase activity of two series of tripodal ligands with some copper (II) salts, *Catalysis Communications* 8: 707-712 (2007).
- [21] R. R Grinstead, metal-catalyzed oxidation of 3,5-di-t-butyl pyrocatechol, and its significance in the mechanism of pyrocatechase action. *biochemistry.* 3 (1964) 1308–1314.
- [22] J. Sedó, J. Saiz-Poseu, F. Busqué, D. Ruiz-Molina, Catechol-based biomimetic functional materials. *Adv. Mater.* 25 (2013) 653-701.
- [23] W. Caminati, S. Di Bernardo, L. Schäfer, S. Q. Kulp-Newton, K. Siam, Investigation of the molecular structure of catechol by combined microwave spectroscopy and AB initio calculations *J. Mol. Struct.* 240 (1990)263-274.
- [24] M. E. Boutaybi, N. Bouroumane, M. Azzouzi, M. Aaddouz, S. Bacroume, M. El Miz, R. Touzani, Z. Bahari, A. Zarrouk, A. El-Marghany, C. Jama, A. Abu-Rayyan, & I. Warad., Synthesis, Characterization, DFT, and Thermogravimetric Analysis of Neutral Co(II)/Pyrazole Complex, Catalytic Activity toward Catecholase and Phenoxazinone Oxidation, *Crystal.* 13 (2023) 155.
- [25] M .I. Ayad, Synthesis, Characterization and Catechol Oxidase Biomimetic Catalytic Activity of Cobalt(II) and Copper(II) Complexes Containing N2O2 Donor Sets of Imine Ligands, *Arab. J. Chem.* 9 (2016) S1297–S1306.
- [26] J.L. Bolton, T. Dunlap, Formation and biological targets of quinones: Cytotoxic versus cytoprotective effects, *Chem. Res. Toxicol.* 30 (2017) 13–37.
- [27] B.J. Kim, D.X. Oh, S. Kim, J.H. Seo, D.S. Hwang, A. Masic, D.K. Han, H.J. Cha, Mussel-mimetic protein-based adhesive hydrogel, *Biomacromolecules.*15 (2014) 1579–1585.
- [28] A.L. Hughes, Evolution of the arthropod prophenoloxidase/hexamerin protein family, *Immunogenetics.* 49 (1999) 106-14.
- [29] I. Belfilali, T. Roisnel, Catecholase activity assessment of In-Situ copper complexes derived from a novel Schiff base ligand, *Inorg. Chem. Commun.*, 164 (2024) 112429.
- [30] J. W. Cary, A. R. Lax, & W. H. Flurkey, Cloning and characterization of cDNAs coding for *Vicia faba* polyphenol oxidase. *Plant Mol. Biol.* 20 (1992) 245–253.

- [31] B. J. Dervall, Phenolase and pectic enzyme activity in the chocolate spot disease of beans. *Nature* 189 (1961).311.
- [32] M. Moutaouakil, S. Tighadouini, Z. M. Almarhoon , M.I. Al-Zaben , A. B. Bacha , V.H. Masand, J. Jamaledine, R. Saddik, Quinoline Derivatives with Different Functional Groups: Evaluation of Their Catecholase Activity, *Catalysts*. 12 (2022) 1468.
- [33] A. Djedouani<sup>1</sup>, F. Abridach, M. Khoutoul, A. Mohamadou, A. Bendaas, A. Oussaid and R.Touzani, Catecholase activity investigations using in situ copper complexes continuing Schiff base derivatives with a theoretical calculation, *Orient. J. Chem.* 31 (2015) 97-105.
- [34] R. El Ati, H. Bouammali, M. El Kodadi, E. B. Yousfi, R. Touzani, B. Hammouti, Study of the catecholase activity of new catalysts based on copper (ii) and heterocyclic ligands, *Indones. j. sci. technol.* 7 (2022) 1-18.
- [35] K, Karrouchi, E.B. Yousfi, N.K. Sebbar, Y. Ramli, J. Taoufik, Y. Ouzidan, M. Ansar, Y.N. Mabkhot, H.A. Ghabbour, S. Radi, New pyrazole-hydrazone derivatives: x-ray analysis, molecular structure investigation via density functional theory (dft) and their high in-situ catecholase activity, *Int. J. Mol. Sci.*18 (2017) 2215.
- [36] K. A. Johnson, R. S. Goody, The original michaelis constant: translation of the 1913 Michaelis–Menten Paper, *Biochemistry*. 50 (2011) 8264–8269.

**Chapitre IV : Etude  
Biologique des molécules  
synthétisées**

## IV.1 Introduction :

La chimie organique est essentielle au développement des médicaments, car elle fournit les processus et les procédures de synthèse nécessaires au développement de nouveaux composés [1]. L'histoire de la chimie de synthèse fournit un cadre potentiel pour l'avancement et l'influence de la biologie de synthèse, une discipline émergente visant à construire des systèmes biologiques innovants [2]. La biologie chimique s'est développée à partir de la chimie bioorganique et de la biochimie, offrant des méthodologies robustes pour examiner les questions biologiques à l'échelle moléculaire. La chimie organique de synthèse et la chimie médicinale sont absolument fondamentales pour la découverte de médicaments et les sciences pharmaceutiques [3].

L'objectif principal de ce chapitre est de tester les ligands synthétisés pour trois activités biologiques :

- L'activité antioxydante utilisant la méthode de 96 puits, trois différents protocoles ont été réalisés :
  - Activité de la DPPH
  - Activité de piégeage ABTS
  - L'activité de phénanthroline
- L'activité antibactérienne pour une souche à Gram positif *Enterococcus faecalis* (ATTC 49532) et à Gram négatif *Escherichia coli* (ATTC 25922).
- L'activité anti-cancéreuse (cancer gastrique) utilisant la lignée cellulaire AGS.

## Partie I : Mode opératoire

### IV.2 L'activité antioxydants :

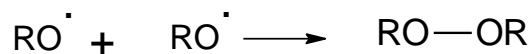
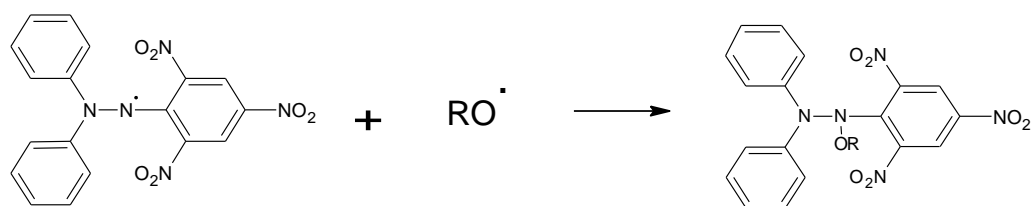
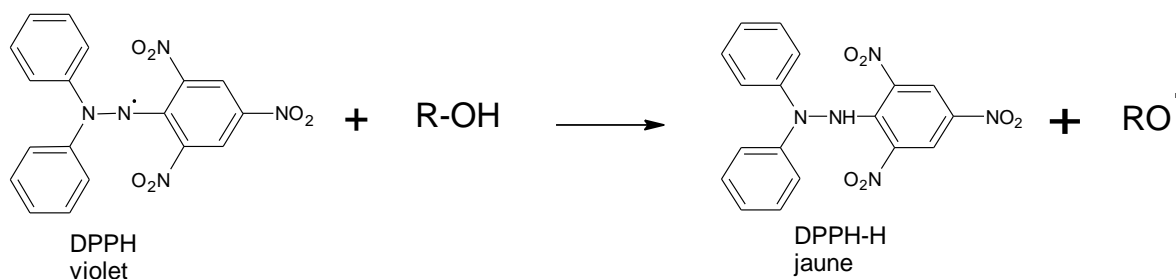
Les antioxydants sont des composés qui, à des concentrations très faibles dans les aliments ou l'organisme, retardent, contrôlent ou préviennent les processus d'oxydation conduisant à la détérioration de la qualité des aliments ou à l'apparition et à la propagation de vieillissement et différentes maladies dans l'organisme [4, 5]. L'oxydation est un processus chimique dans lequel les électrons ou l'hydrogène transfère à un agent oxydant, produisant des radicaux libres qui peuvent causer des dommages cellulaires ou la mort. Les antioxydants s'opposent à ces réactions en éliminant les intermédiaires. L'activité antioxydante d'une molécule synthétique peut être évaluée par sa capacité à piéger les radicaux libres. Les antioxydants peuvent se

trouver naturellement dans les plantes, les animaux et les microbes, ou être produits par synthèse chimique.

Dans ce chapitre, l'activité antioxydante est évaluée par le biais de trois méthodes : DPPH, ABTS et phénanthroline.

#### IV.2.1 Test du DPPH :

Le radical libre DPPH (2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle) est couramment employé comme une méthode pour évaluer l'activité antioxydante en raison de sa stabilité. Le test DPPH est une technique simple qui ne nécessite aucune préparation particulière des échantillons [5]. La réaction est rapide et facile et ne nécessite pas d'équipement ou de mise en place spéciale. Le DPPH est un radical stable qui ne se dégrade pas dans l'eau, le méthanol ou l'éthanol [6]. Le radical DPPH deviendra à sa forme réduite lorsqu'il interagira avec des substances capables de donner un atome d'hydrogène [7]. En présence de molécules antioxydantes, le DPPH de couleur violette se transforme en sa forme réduite (2, 2-diphényl-2-picrylhydrazine) de couleur jaune [8], le mécanisme de déprotonation des antioxydants est montré ci-dessous :



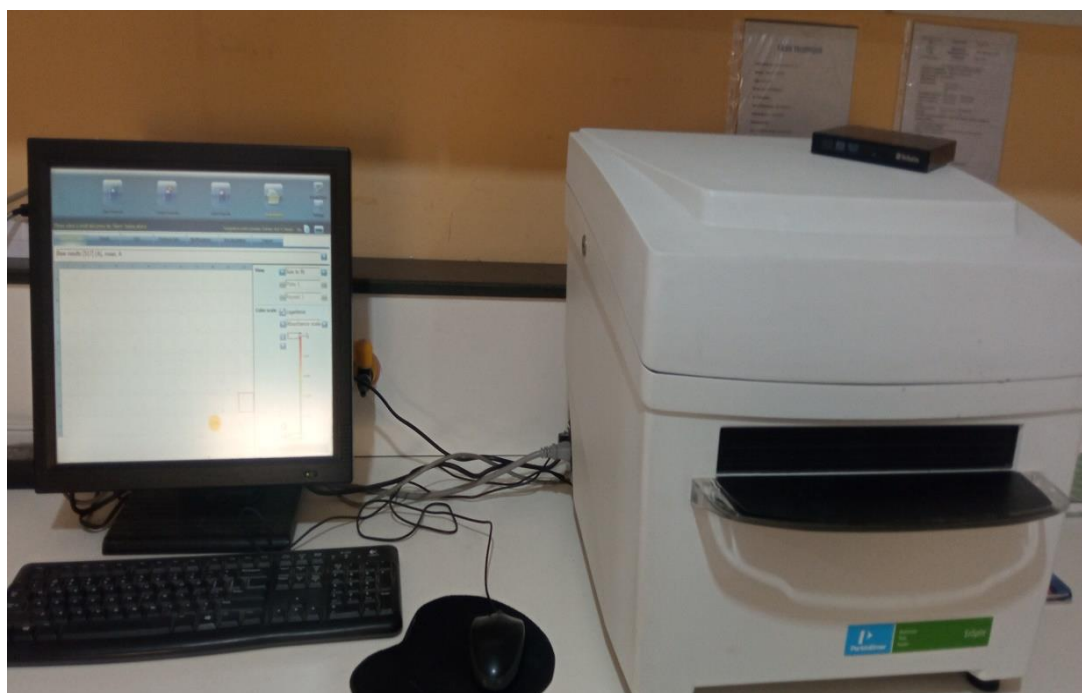
R-OH: antioxydant

RO<sup>•</sup>: radical

**Schéma IV- 1:** mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant.

L'activité de piégeage des radicaux libres est quantifiée par spectrophotométrie en utilisant le DPPH comme indicateur [9], tandis que le BHT et le BHA servent de références pour les antioxydants.

Ensuite, dans des microplaques à 96 puits de volume 200  $\mu\text{l}$  pour chaque puits, 160  $\mu\text{l}$  de solution méthanolique de DPPH (0,4 %) ont été ajoutés à 40  $\mu\text{l}$  de différentes solutions (L1-L5) diluées à partir des solutions mères à diverses concentrations (4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 et 0.0625 mM). Le mélange a été laissé à l'abri de la lumière pendant 30 minutes à température ambiante ; le test a été réalisé en triplicat pour chaque concentration de produit testée. L'absorbance a été enregistrée à 517nm à l'aide d'un lecteur de microplaque à 96 puits (EnSpire de PerkinElmer). De plus, le : 3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène (BHT) et le : 3-tertobutyl-4-hydroxyanisole (BHA) ont été préparés et utilisés comme étalon de référence.



**Figure IV- 1:** lecteur de microplaque EnSpire de PerkinElmer

Les résultats de l'inhibition des radicaux libres sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I %) estimé selon l'équation suivante :

$$I\% = \frac{(\text{Absorbance de contrôle} - \text{Absorbance échantillon})}{\text{Absorbance de contrôle}} \times 100$$

Où Absorbance contrôle = Absorbance de la solution DPPH.

L'efficacité antioxydante de la méthode de piégeage DPPH est généralement représentée par la valeur IC50 [10], qui représente la quantité de réactif nécessaire pour inhiber 50 % de la

quantité initiale de radicaux présents ; les valeurs ont été déterminées graphiquement par régression linéaire [11].

#### IV.2.2 Test du l'ABTS :

Le test ABTS, une méthode basée sur le transfert d'électrons, est l'un des tests les plus couramment utilisés pour évaluer l'activité antioxydante. Le radical bleu/vert 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS<sup>•+</sup>) est produit par l'oxydation de l'ABTS à l'aide de persulfate de potassium, et ensuite réduit par des antioxydants donateurs d'hydrogène, ce qui entraîne la décoloration de la solution, qui peut être quantifiée par spectrophotométrie [12]. Outre la recherche de produits chimiques purs et d'extraits alimentaires, cette approche peut également être utilisée pour l'étude des antioxydants solubles dans l'eau et dans les lipides. [13].

L'activité ABTS est évaluée selon la méthode établie par Re et al. (1999) [13], On a commencé par la préparation de cation radicalaire (ABTS<sup>•+</sup>), la procédure est donné comme suit : on fait mélanger 5 ml d'une solution aqueuse d'ABTS 19,2 mg (7 mM) avec 5 ml d'une solution aqueuse de persulfate de potassium K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 3,3 mg (2.45 mM), ensuite le mélange est mis à l'abri de la lumière pendant 6-12 h à température ambiante. Avant l'usage, il nécessaire de dilué la solution obtenue à une absorbance de 0.700 à 734 nm.

L'activité scavenger du radical ABTS pour les ligands L1, L2, L3, L4 et L5 est réalisé dans des microplaques à 96 puits, dans chaque puits 160 µl de solution ABTS<sup>•+</sup> est ajouté à 40 µl de chaque composé et les standards (BHT et BHA) avec différentes concentrations (4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 et 0.0625 mM). L'absorbance a été enregistrée à 734 nm.

Les résultats de l'inhibition des radicaux libres sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I %) estimé selon l'équation suivante :

$$I\% = \frac{(\text{Absorbance de contrôle} - \text{Absorbance échantillon})}{\text{Absorbance de contrôle}} \times 100$$

Où Absorbance contrôle = Absorbance de la solution de radical ABTS.

#### IV.2.3 Test de phénanthroline :

Le complexe rouge Fe(II)-phénanthroline (Phen) est largement utilisé dans la méthode spectrophotométrique classique pour la détermination du fer [14]. Sur la base de cette étude, la phénanthroline est devenue parmi les méthodes de détermination des antioxydants basées sur la réduction du fer, cette méthode est basée sur la réduction de l'ion Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup> par un antioxydant, l'ion Fe<sup>2+</sup> formé a ensuite réagi avec 1,10-Phenanthroline pour produire un complexe rouge-orange.

L'activité de phénanthroline pour les ligands synthétisés L1, L2, L3, L4 et L5 est évaluée selon la méthode décrite par Szydłowska-Czerniaka et al [15]. À une solution de 50 µl de FeCl<sub>3</sub> (0.2%) (0.02g dans 10ml de H<sub>2</sub>O) on a ajouté 30 µl d'une solution de Phénanthroline (0,5 %) (0.05g de 1,10-Phenanthroline dans 10ml de MeOH), ensuite on a ajouté à ce mélange 110 µl de méthanol et 10 µl de chaque composé à différentes concentrations (4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 et 0.0625 mM). Les plaques sont ensuite incubées dans l'obscurité pendant 20 minutes à une température de 30°C, et l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 510 nm. Le BHA et le BHT sont couramment utilisés comme références.

### IV.3 L'activité antibactérienne :

Les bactéries, en tant qu'agents pathogènes microbiens constituent un problème de santé publique à l'échelle mondiale, entraînant des coûts médicaux élevés et ayant un impact sur la santé humaine et l'économie [16]. Les bactéries de la flore corporelle normale ou de l'environnement peuvent provoquer des maladies lorsque le système immunitaire de l'hôte est affaibli ou lorsque les bactéries sont déplacées vers des zones inhabituelles du corps [17] ce qui entraîne des maladies graves et mortelles. Les antibiotiques sont largement employés à l'échelle mondiale en tant qu'agents thérapeutiques essentiels pour combattre les infections d'origine bactérienne. Les antibiotiques sont des substances thérapeutiques qui pénètrent dans les organismes. Plusieurs méthodes sont actuellement disponibles pour détecter leur activité antimicrobienne et comme elles ne sont pas toutes basées sur les mêmes principes, les résultats obtenus sont influencés non seulement par la méthode choisie, mais aussi par les micro-organismes utilisés et par le degré de solubilité de chaque composé testé [18].

L'objectif de notre étude consiste à évaluer l'activité des bases de schiff synthétisées en tant qu'agent antibactérien utilisant la méthode de diffusion sur disque en milieu de Mueller-Hinton vis-à-vis des bactéries à Gram positif *Enterococcus faecalis* (ATTC 49532) et Gram négatif *Escherichia coli* (ATTC 25922).

#### IV.3.1 Méthode de diffusion sur disque en milieu de Mueller-Hinton :

##### a. Préparation de bouilliant nutritif :

Dans un erlenmeyer, on fait dissoudre 8 g de bouilliant nutritif dans un litre d'eau distillé, puis on mélangeant à chaud jusqu'à dissolution complète. Ensuite on fait bouillir pendant une ou deux minutes. Le mélange est réparti sur des tubes à essai (5 ml dans chaque tube) et stériliser en autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

**b. Préparation de gélose Mueller-Hinton :**

Dans un erlenmeyer, on fait dissoudre 38 g de la gélose Mueller-Hinton dans un litre d'eau distillé, mélanger avec chauffage (95-100 °C) jusqu'à dissolution complète. Ensuite on fait bouillir pendant une ou deux minutes. Répartir le mélange des flacons en verre et stériliser en autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

**c. Préparation des disques :**

Des disques d'un diamètre de 6 mm sont utilisés, ils sont préparés utilisant une perforeuse et papier Wattman N° 3, ils sont ensuite mis dans des petites flacons en verre et stérilisés dans l'autoclave à 121°C.

**d. Préparation d'eau physiologique NaCl 0,9 %:**

On fait dissoudre 9 g de NaCl dans 1 litre d'eau distillé, on mélange jusqu'à dissolution complète ensuite on répartit la solution dans des tubes à essai (9 ml) dans chaque tube et stérilisés dans l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

**e. Préparation de l'inoculum :**

Utiliser une anse de platine préalablement flambée pour sélectionner quelques colonies similaires et bien isolées dans un milieu de GN (gélose nutritif), et les introduire dans un tube contenant de bouillant nutritif, incubé 18-24 h à une température de 37°C. La bonne croissance de l'inoculum indiqué par la turbidité de mélange (la solution doit être trouble).

**IV.3.2 Mode opératoire :**

On fait diluer l'inoculum préparé précédemment par l'eau physiologique stérile jusqu'à l'obtention d'une suspension bactérienne d'une opacité de 0.5 MF qui est l'équivalent de la densité optique (DO) 0,08-0,1 mesuré à 625 nm. On trempe un écouvillon stérile dans le tube contenant la suspension bactérienne bien homogénéisée à l'aide d'un vortex et ensemencer les boîtes pétries collées avec la gélose Mueller-Hinton, l'ensemencement est répété trois fois à chaque fois on fait tourner la boîte pétri d'un angle de 60° pour assurer la répartition de l'inoculum sur toute la surface de gélose et à la fin on fait passer l'écouvillon autour des extrémités de gélose. Placer les disques sur la surface de gélose ensemençé, dont l'un est imprégné de 20 µl d'une solution de base de schiff préparé dans le DMSO (25mg/ml), l'autre est imprégné de 20 µl de DMSO utilisé comme contrôle négatif, le troisième disque est le contrôle positif gentamicine qui est un antibiotique avec une charge de 10 µg.

Les boîtes sont fermées avec du parafilm et incubées dans l'étuve pendant 24 h à une température de 37°C. L'activité antibactérienne est exprimé en fonction des diamètres des zones d'inhibitions (mm) et comparer avec celle de l'antibiotique standard (gentamicine dans notre étude).

#### IV.4 L'activité anticancéreuse :

Selon les statistiques générées par le Centre international de recherche sur le cancer (GLOBOCAN 2022), le cancer gastrique (CG) est le cinquième cancer le plus répandu dans le monde après le cancer du poumon, du sein, du côlon et de la prostate avec une incidence de 968 784 nouveaux cas dans le monde, et la cinquième cause de décès par cancer avec 660 175 décès, soit 6, 8% du total mondial. Ces dernières années, le cancer gastrique a suscité un vif intérêt de la part des chercheurs en épidémiologie. Perte d'appétit, fatigue et insomnie est parmi les symptômes de cancer gastrique, les principaux symptômes spécifiques au diagnostic signalés par tous les participants étaient l'anxiété, les restrictions alimentaires et l'odynophagie [19]. Le stade préliminaire de la maladie est généralement asymptomatique, ce qui fait que le diagnostic est généralement posé à un stade ultérieur, marqué par un pronostic sombre et un taux de survie à 5 ans inférieur à 30 % dans la majorité des études [20].

La chimiothérapie reste une modalité de traitement largement utilisée pour différents types de cancer à différents stades. Bien que la chimiothérapie soit efficace, elle provoque des effets secondaires qui peuvent entraîner des complications supplémentaires pour la santé pour les patients [21]. Les effets indésirables peuvent différer d'un individu à un autre, provoquent la nausée, la faiblesse, vomissements, peau sèche, perte de cheveux, perte de poids due à une perte d'appétit, fièvre, troubles de mémoire....etc[22].

La chimiothérapie peut avoir un impact direct sur les cellules immunitaires, entraînant des effets cytotoxiques, des anomalies dans la différenciation et la fonction des cellules, et des perturbations dans la communication cellulaire et les voies de signalisation, cette suppression immunitaire peut diminuer la réponse immunitaire anti-tumorale et augmenter le risque de toxicités liées à l'immunologie [23]. Les scientifiques et les chercheurs sont donc de plus en plus inquiets et cherchent à créer de nouveaux composés anticancéreux qui ciblent uniquement les cellules cancéreuses, en épargnant les autres cellules du corps, améliorant ainsi la qualité de vie des patients. Notre but dans ce chapitre est d'évaluer l'activité anti-cancéreuse contre de deux bases de schiff dérivé de l'acide dehydroacétique, dont on a utilisé la lignée cellulaire AGS de cancer gastrique.

#### IV.4.1 Études antiprolifératives :

##### IV.4.1.1 Lignées cellulaires et culture :

Les cellules AGS et HUVEC ont été cultivées dans un milieu DMEM enrichi de 10 % de FBS, de 4 mM de L-glutamine et d'antibiotiques tels que la pénicilline (100 U/mL) et la streptomycine (100 µg/mL). Toutes les cellules ont été maintenues dans un incubateur humidifié à 37°C avec 5% de dioxyde de carbone.

##### IV.4.1.2 Test de viabilité cellulaire :

Les effets cytotoxiques des bases de Schiffs sur la lignée cellulaire de l'adénocarcinome gastrique (AGS) et sur les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (HUVEC) ont été évalués à l'aide du test WST-1. Les cellules ont étéensemencées à une concentration de  $5 \times 10^3$  cellules par puits dans une microplaque à 96 puits et incubées pendant une nuit avant la réalisation de l'expérience. Après l'incubation, les cellules ont été traitées avec les composés synthétisés (L6 et L7) à des concentrations de 10, 20, 40, 60 et 80 µg/ml pendant 24 heures. Ensuite ajouter 10 µl de réactif WST-1 dans chaque puit et incubé pendant 2h à 37°C. Les cellules traitées avec du DMSO ont été utilisées comme groupe témoin. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 440 nm en utilisant un spectrophotomètre de microplaques (Epoch BioTek, Agilent Technologies, U.S.A). Les valeurs de l'IC<sub>50</sub> ont été déterminées en utilisant le logiciel GraphPad Prism 8.

La viabilité cellulaire a été exprimée en pourcentage par la formule suivante :

$$\text{Viabilité cellulaire} = \frac{\text{Absorbance d'essai}}{\text{Absorbance témoin}} \times 100$$

Ces données ont été utilisées pour le calcul de concentration inhibitrice (IC<sub>50</sub>).

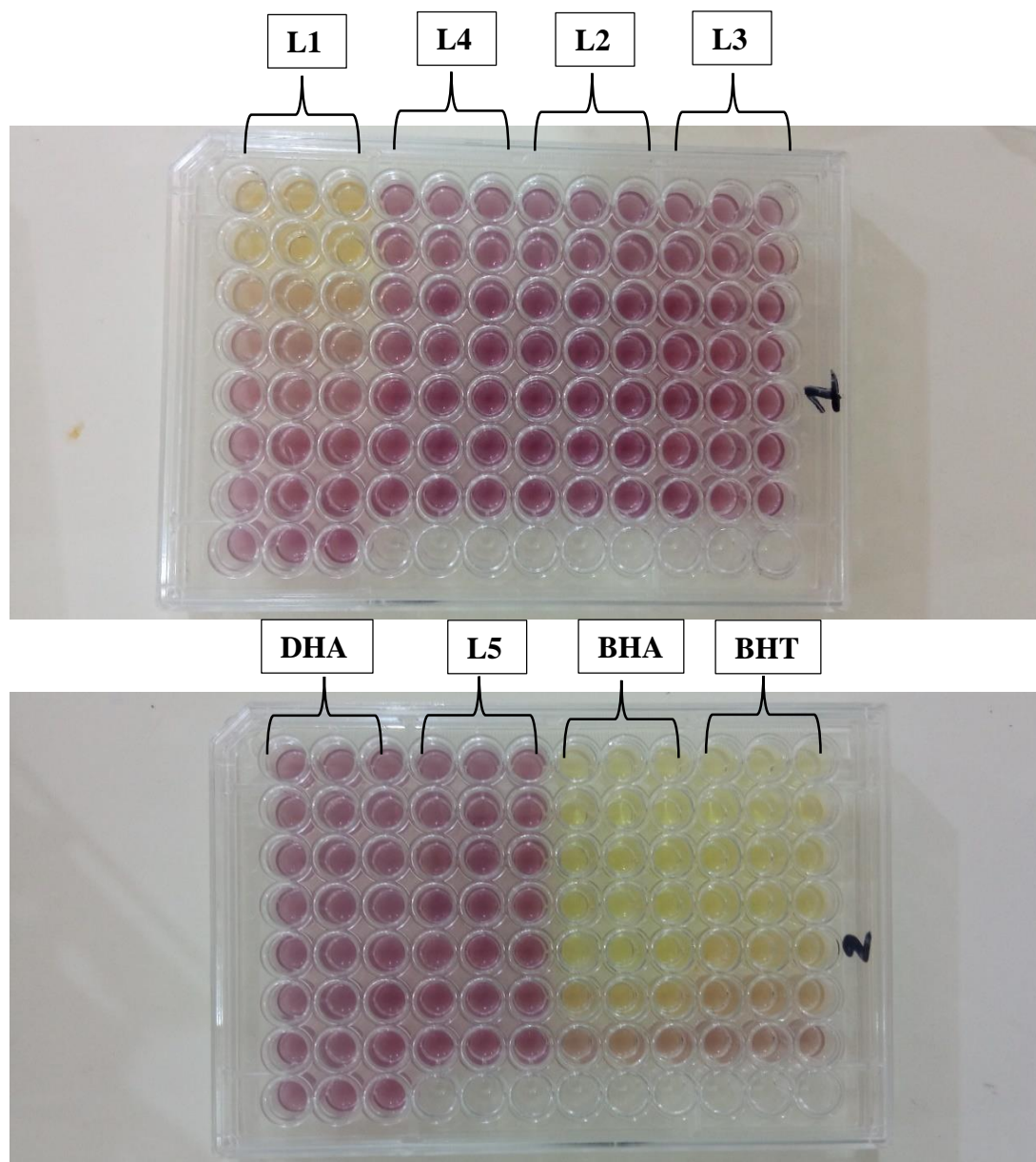
## Partie II : Résultats et discussion

#### IV.5 Evaluation de l'activité antioxydante :

##### IV.5.1 Piégeage du radical DPPH :

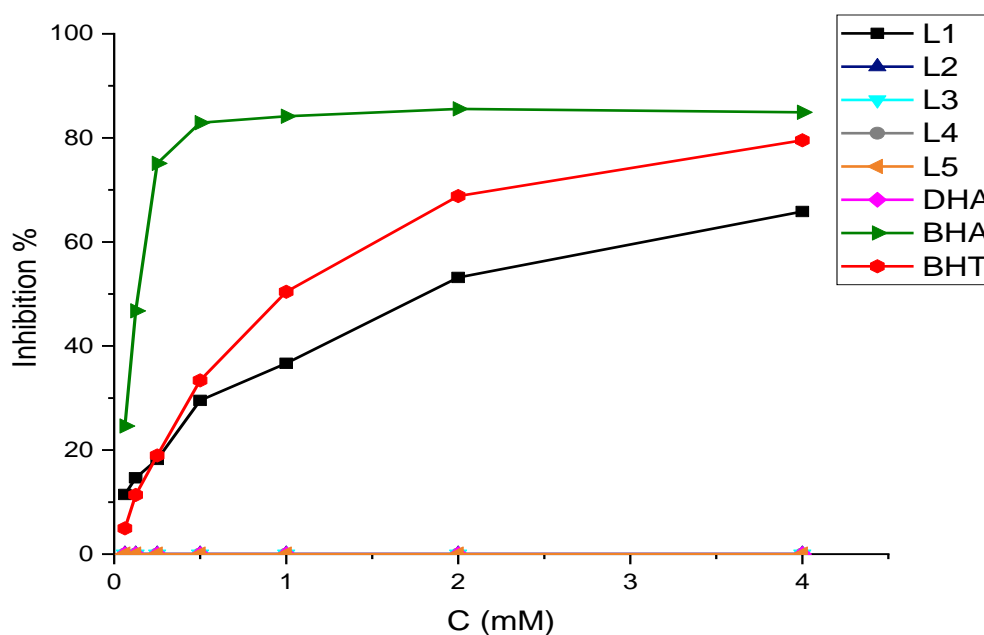
L'activité antioxydante des ligands synthétisés a été évaluée en utilisant le radical libre DPPH à l'origine de couleur violette, se convertit en DPPH-H de couleur jaune, en présence d'un antioxydant par transfert d'hydrogène. Les résultats ont été comparés à ceux de 3,5-

ditertiobutyl-4-hydroxytoluène (BHT) et 3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole (BHA) qui sont utilisés comme référence.



**Figure IV- 2:** les microplaques de l'activité de piégeage de radicaux DPPH après 30 min d'incubation

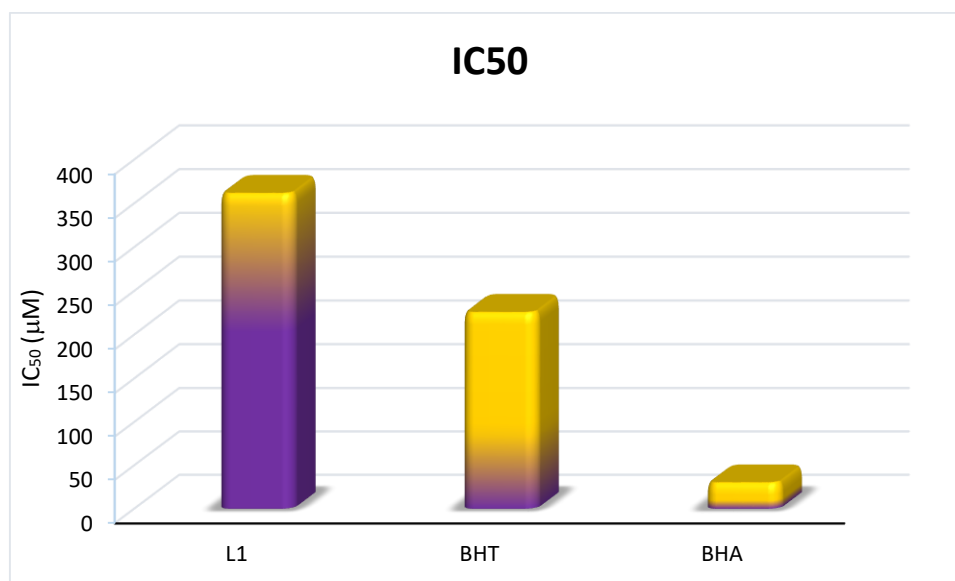
Selon la **figure IV-3** illustrant le pourcentage d'inhibition des bases de Schiff en fonction de concentration, le ligand L1 présente une activité maximale à une concentration de 4  $\mu\text{M}$  avec un pourcentage d'inhibition (I %) de  $65,85 \pm 2,71$ , aucune inhibition de l'activité antioxydante n'a été observée pour les autres ligands. Le BHT et BHA ont inhibé respectivement  $79,53 \pm 0,76$  et  $84,91 \pm 2,47$  à la même concentration que le ligand L1.



**Figure IV- 3:** Pourcentage d'inhibition de DPPH contre les ligands synthétisés, BHA et BHT en fonction des différentes concentrations.

L'IC<sub>50</sub> a été déterminée pour mieux comparer l'activité du ligand L1 et les standards (BHT et BHA), pour obtenir des résultats favorables, les valeurs de l'IC<sub>50</sub> doivent être minimales. Les résultats présentés dans l'histogramme **figure IV-4** de l'activité du ligand L1 montrent une valeur d'IC<sub>50</sub> de 361,55±17,98µM qui est très élevée par rapport à l'activité de référence (BHT et BHA) dont les valeurs sont : 225,59±13,62 µM et 30,06±1,21 µM respectivement.

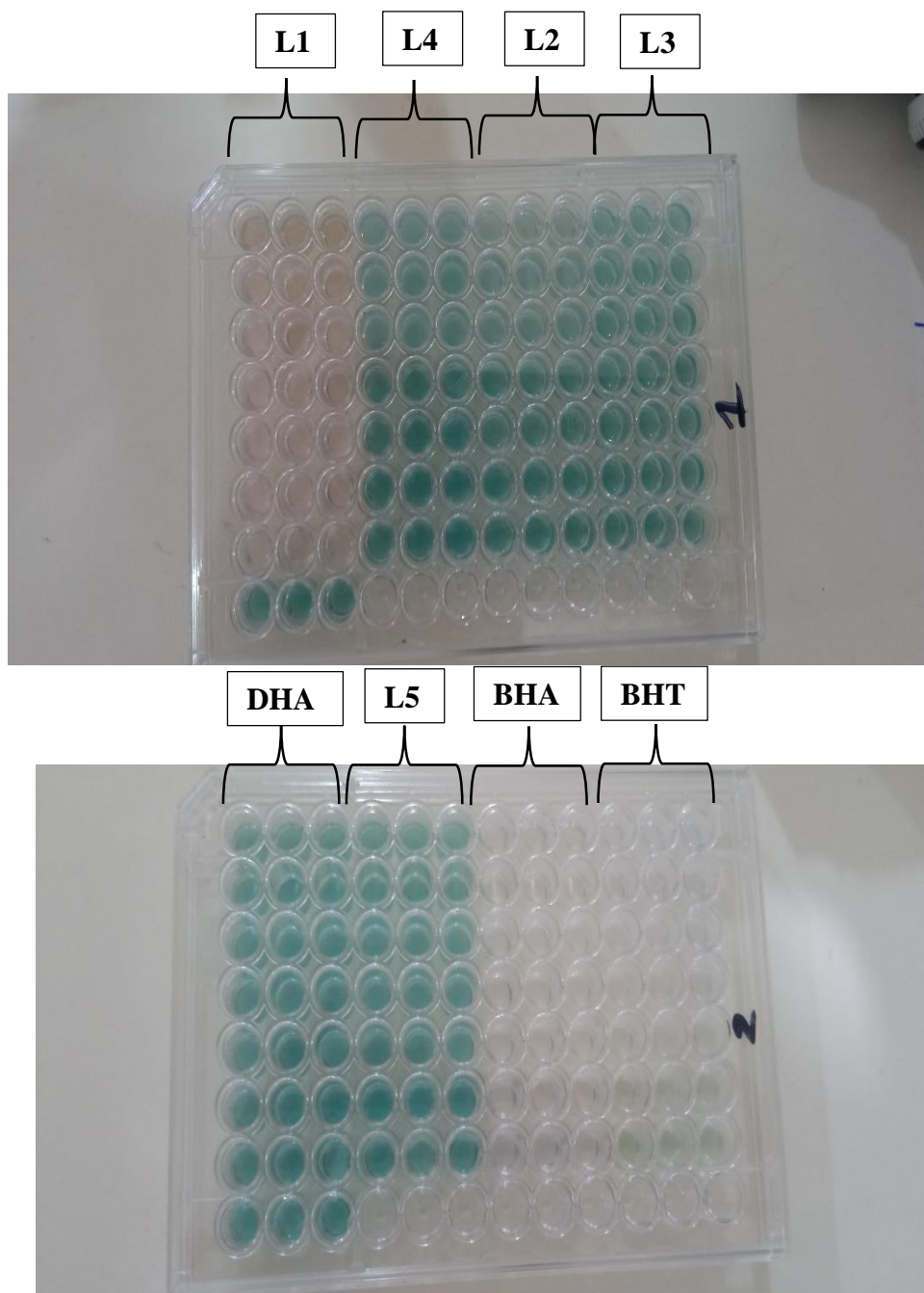
Une interprétation simple de la relation structure-activité a été rapportée pour mieux comprendre la variation de l'IC<sub>50</sub> de notre ligand, cette variation peut être attribuée à la présence du groupe méthoxy (groupe donneur par effet mésomère) en position ortho par rapport au groupe hydroxy, ce qui augmente la densité électronique de l'oxygène et rend la liaison O-H plus riche en électrons et donc très difficile à rompre et à donner l'H•.



**Figure IV- 4:** histogramme des valeurs IC<sub>50</sub> du ligand L1 et des références (BHA et BHT).

#### IV.5.2 Piégeage du radical ABTS :

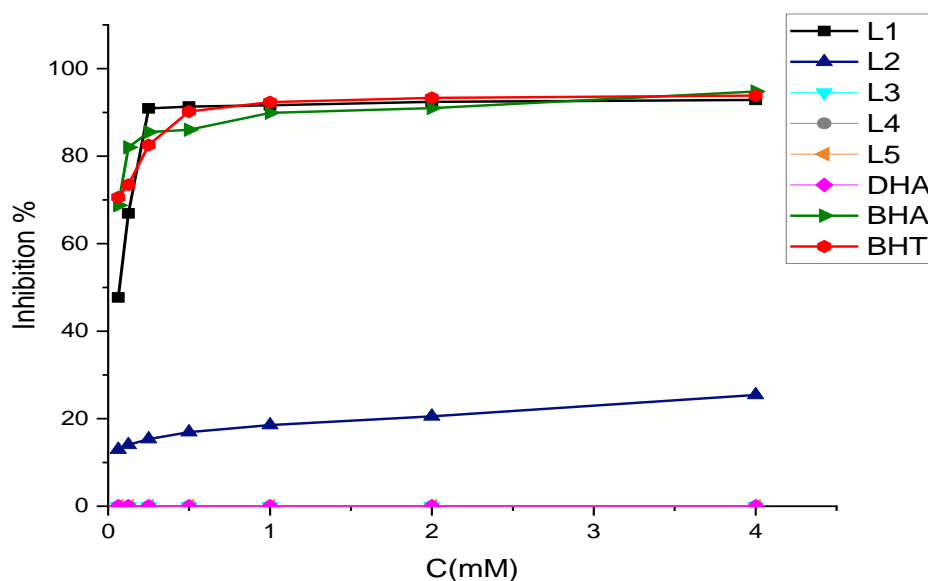
Le test ABTS (2,2'-Azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-acide sulfonique) est l'un des méthodes utilisé pour évaluer l'activité antioxydante, c'est une méthode colorimétrique mesurée spectrophotométriquement à 734 nm, la présence d'un antioxydant dans l'échantillon a fait passer la couleur bleu-vert du cation radical ABTS<sup>•+</sup> à l'incolore (**Figure IV-5**) ce qui explique la diminution de l'absorbance lorsque la concentration des composés testés augmente, car l'antioxydant a réduit le cation radical en ABTS. La décoloration de l'échantillon a présenté une relation linéaire avec l'augmentation de la capacité antioxydante de l'échantillon étudié [12].



**Figure IV- 5:** les microplaques de l'activité de piégeage de radicaux ABTS<sup>•+</sup> après 10 min d'incubation

Les résultats obtenus nous ont permis de représenter graphiquement le % d'inhibition en fonction de la concentration **Figure IV-6**, sauf le ligand L1 qui représente une valeur d'inhibition remarquable qui atteint  $92,85 \pm 0,39$  % à une concentration de 4mM, le ligand L2 aussi présente une inhibition mais très faible par rapport aux ligand L1 et aux standard (BHA et BHT), la valeur d'inhibition de ce ligand ne dépasse pas  $25,43 \pm 2,28$  % qui correspond à la concentration maximale. A une faible concentration  $C = 0,125$  mM, les standards BHA et BHT montrent des pourcentages d'inhibition importants de  $82,03 \pm 1,34$  et  $73,46 \pm 3,89$  %

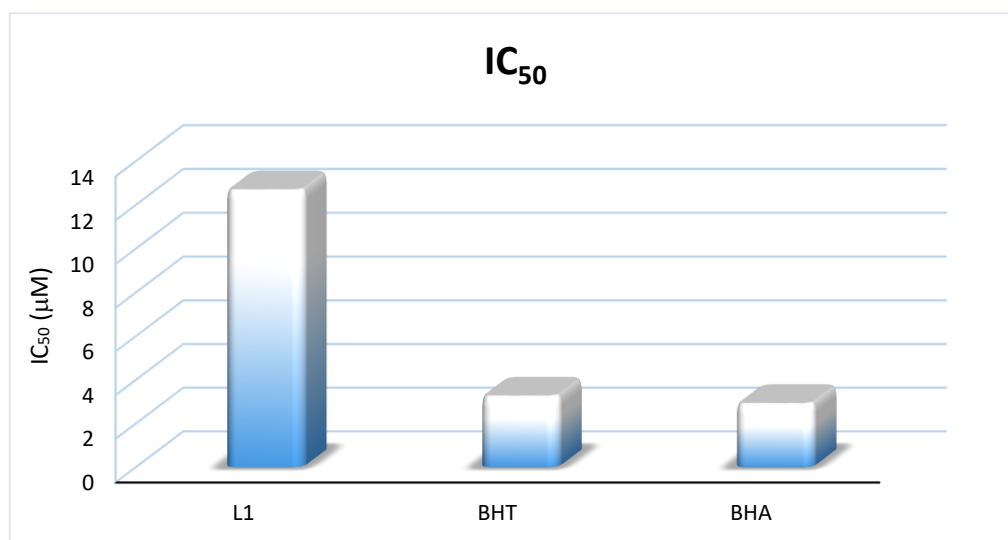
respectivement.



**Figure IV- 6:** Pourcentage d'inhibition l'ABTS contre les ligands synthétisés, BHA et BHT en fonction des différentes concentrations.

La différence de l'IC<sub>50</sub> entre le ligand L1 et les standards sont représentées dans l'histogramme (**Figure IV-7**), selon l'histogramme on observe que le ligand L1 possède une activité anti radicalaire importante avec une valeur d'IC<sub>50</sub> égal à 12,68±0,91 μM, c'est une valeur comparable avec les valeurs obtenus par les standards BHA et BHT. Selon ces résultats, on peut classer les molécules selon leur capacité inhibitrice dans l'ordre suivant :

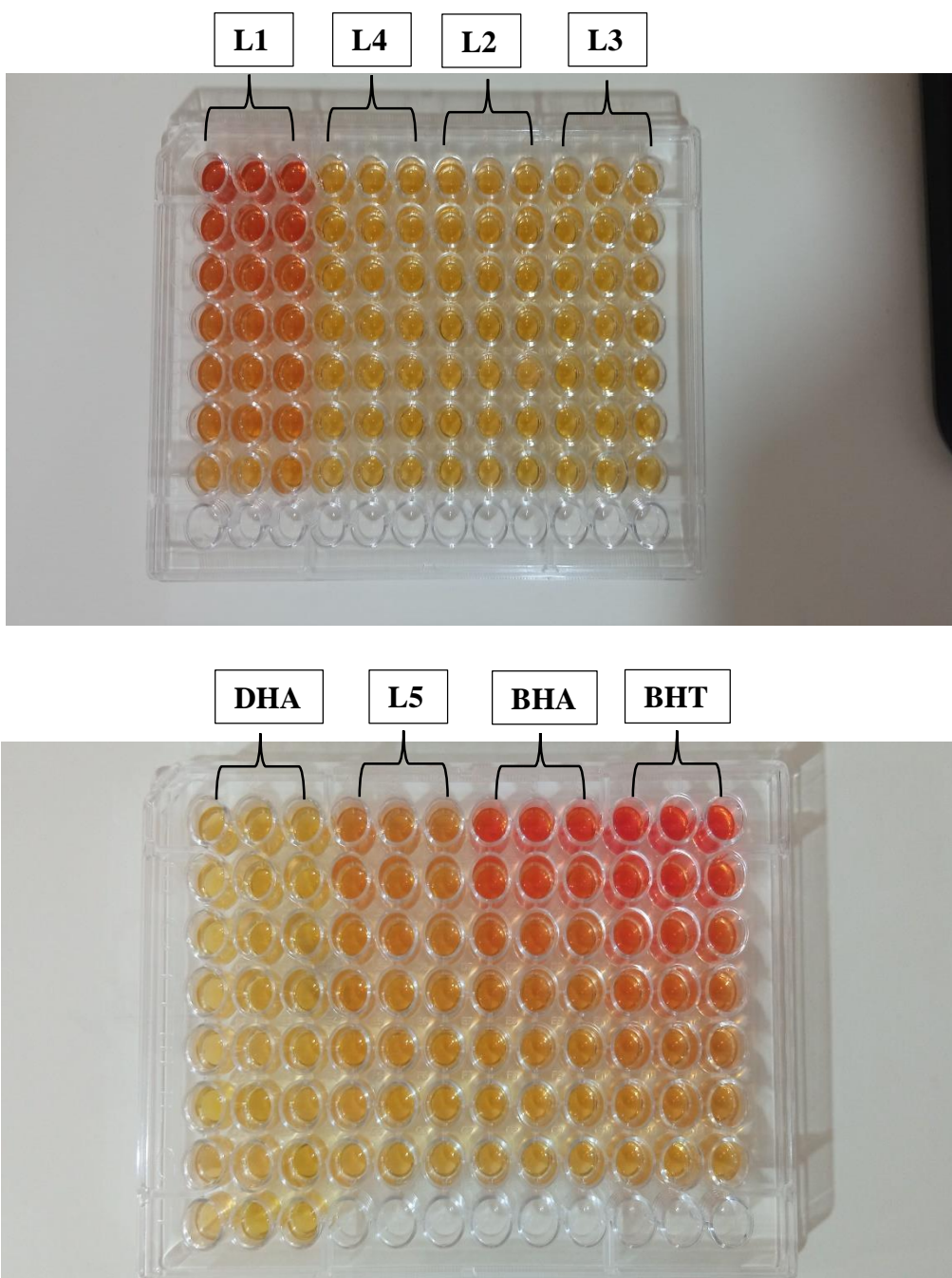
BHA>BHT>L1



**Figure IV- 7:** Histogramme des valeurs IC<sub>50</sub> de ligand L1 et des références (BHA et BHT).

### IV.5.3 Teste de phénanthroline :

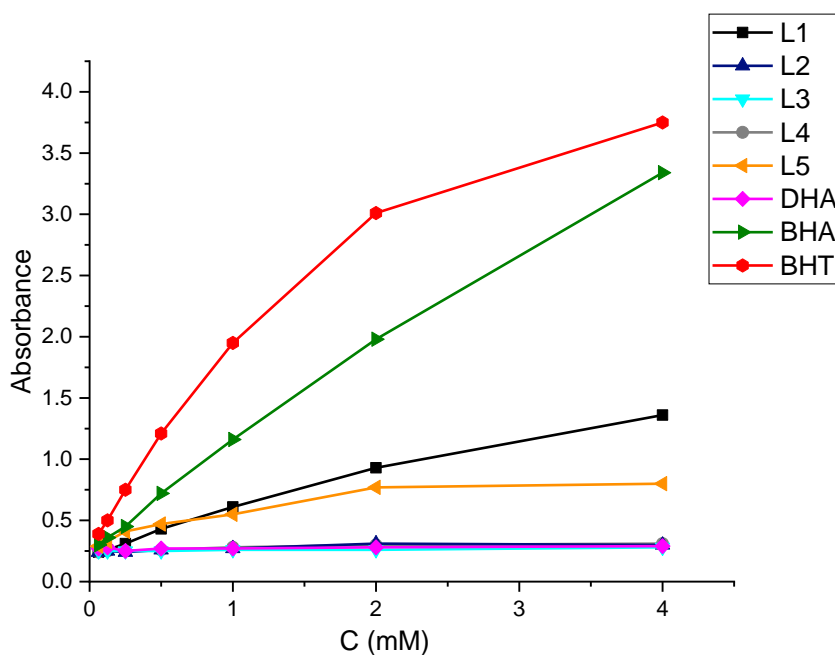
Ce test repose sur la réaction entre le 1,10-phénanthroline et l'ion ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) résultant de la réduction de l'ion  $\text{Fe}^{3+}$  par un agent antioxydant. L'ion ferreux forme un complexe spécifique avec la phénanthroline (Fe(II)-phénanthroline) de couleur rouge-orange comme montre la **Figure IV-8** qui présente une absorption maximale à 508-510 nm [24].



**Figure IV- 8:** les microplaques de l'activité de phénanthroline après 20 min d'incubation à 30 °C.

Les résultats de l'absorbance en fonction de la concentration pour les différents échantillons (**Figure IV-9**) démontrent une corrélation claire entre la concentration et l'absorbance. Plus la concentration est élevée, plus l'absorbance est élevée, principalement en raison de la capacité des molécules à réduire les ions  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$ . Cette réduction conduit à la formation du complexe Fe(II)-phénanthroline dont la concentration augmente significativement dans le milieu. Cette augmentation est un indicateur clair de l'efficacité de ces derniers en tant que des composés antioxydants.

A une concentration de 4 mM, le ligand L1 présente l'absorbance la plus élevée ( $1,36 \pm 0,19$ ) par rapport aux autres ligands, on remarque aussi que le ligand L5 a une absorbance faible de ( $0,80 \pm 0,06$ ) par rapport aux absorbances des standards (BHA et BHT), aucune variation d'absorbance n'a été détectée pour les autres ligands.



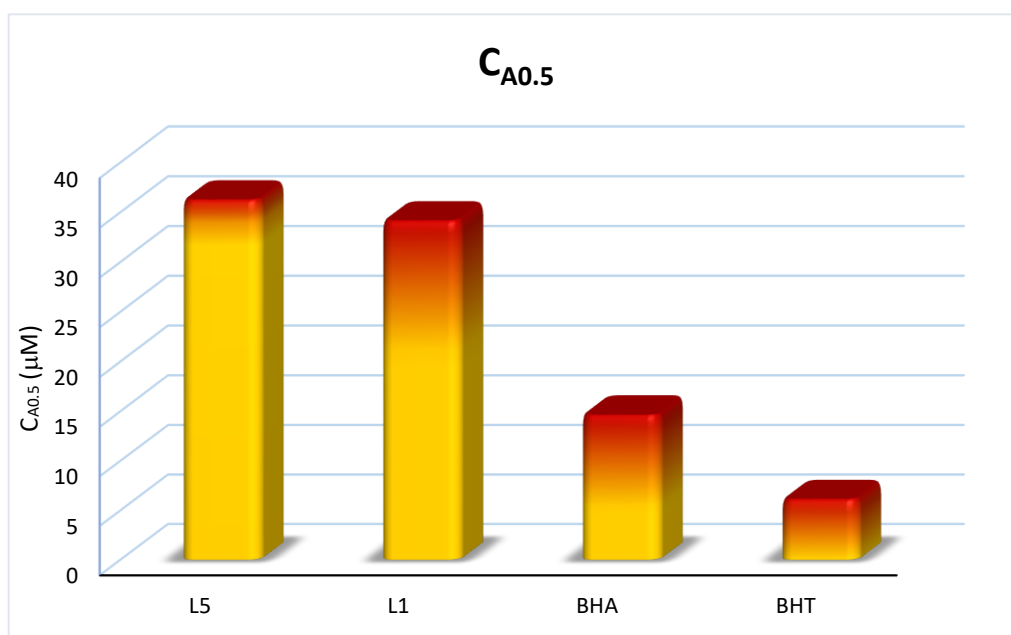
**Figure IV- 9:** Absorbance des composés testés et des standards (BHA et BHT) en fonction de la concentration

Les valeurs d' $C_{A0.5}$  ont été calculées à partir des mesures en trois exemplaires des échantillons, en utilisant un graphique de l'absorbance en fonction de la concentration des composés examinés par le biais d'une analyse de régression linéaire. Cette valeur correspond à la concentration indiquant une intensité d'absorbance de 0,50.

D'après l'histogramme représentant les valeurs d' $C_{A0.5}$  (**Figure IV-10**) on remarque que le ligand L1 à la valeur la plus faible par rapport aux autres ligands avec une valeur égal à

34,17±1,69  $\mu\text{M}$  suivie de ligand L5 qui présente une valeur de 36,27±3,15  $\mu\text{M}$ , ces deux ligands ont une activité modéré par rapport aux références BHA et BHT. Selon les résultats de cette étude, le pouvoir réducteur des antioxydants standard et du ligand a diminué dans l'ordre suivant :

BHT>BHA>L1>L5



**Figure IV- 10:** Histogramme des valeurs  $C_{A0.5}$  des ligands L1, L5 et des références (BHA et BHT).

Dans cette étude, trois méthodes d'évaluation d'activité antioxydante sont utilisées : DDPH, ABTS et phénanthroline. Les résultats obtenus sont représenté sous forme des valeurs  $IC_{50}$  et  $C_{A0.5}$  ( $\mu\text{M}$ ) qui sont listés dans le **Tableau IV-1**, Selon les résultats obtenus, le ligand L1 reste le seul composé qui a montré une activité remarquable en comparaison avec les standards BHA et BHT, les valeurs d' $IC_{50}$  et  $C_{A0.5}$  varient selon la méthode utilisée.

Ces résultats peuvent être liés à la structure moléculaire des différents composés synthétisés : Le ligand L1 contient un groupe hydroxyle (OH) supplémentaire dans sa structure, ce qui renforce sa capacité à donner de l'hydrogène. En revanche, les autres ligands ne comportent que le groupe OH de l'anneau pyranique du DHA, de sorte qu'il semble que ce groupe OH n'intervienne pas dans la réaction d'oxydation. Cette conclusion est étayée par les résultats obtenus avec la DHA lors de l'utilisation des trois méthodes différentes, qui n'ont toutes montré aucune activité. Donc, il est recommandé de modifier la structure moléculaire en ajoutant davantage de groupes hydroxyles pour améliorer l'efficacité des bases de Schiff dérivées de l'acide déhydroacétique.

**Tableau IV- 1:** Valeurs d'IC<sub>50</sub> et C<sub>A0.5</sub> (μM) des méthodes utilisées (DPPH, ABTS et phénantroline)

composé	DPPH	ABTS	Phénantroline
	IC <sub>50</sub> ± SD	IC <sub>50</sub> ± SD	C <sub>A0.5</sub> ± SD
<b>L1</b>	361,55±17,98	12,68±0,91	34,17±1,69
<b>L5</b>	-	-	36,27±3,15
<b>BHA</b>	30,06±1,21	2,91±0,5	14,64±2,17
<b>BHT</b>	225,59±13,62	3,25±0,72	6,14±0,11

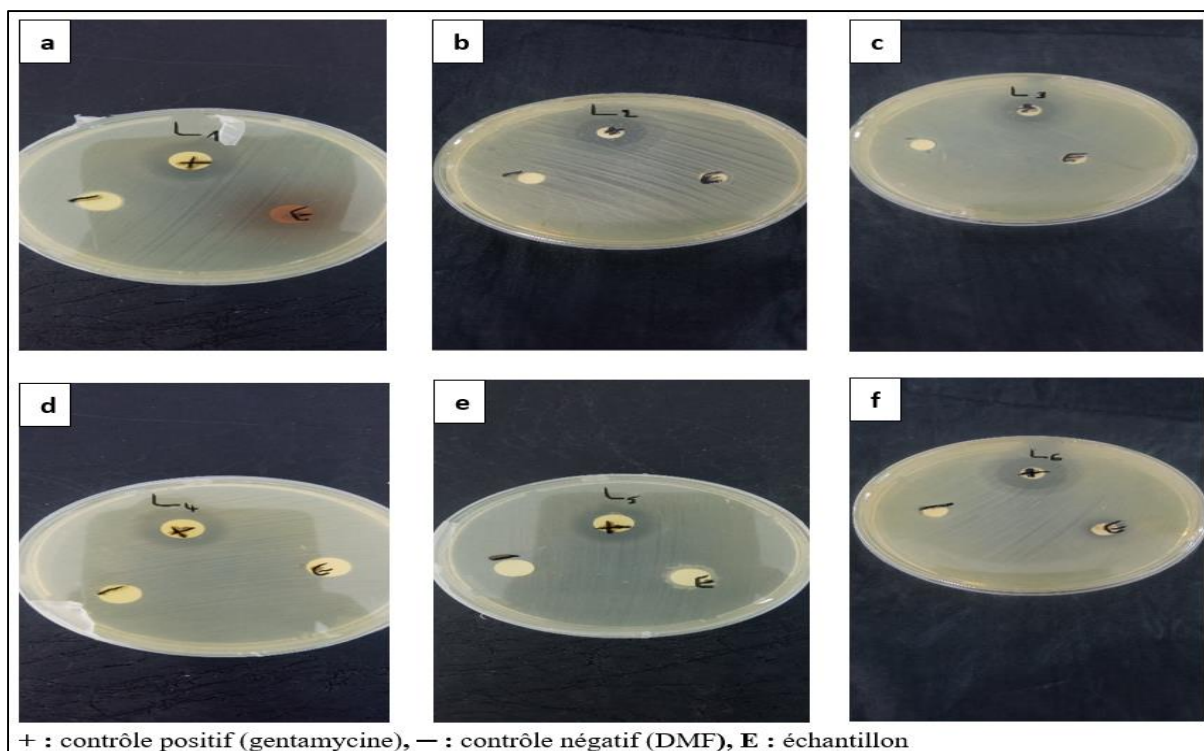
#### IV.6 Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'efficacité antibactérienne des produits synthétisés (**L1-L6**) a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque de Mueller-Hinton., tous les composés ont été évalués contre deux souches bactériennes, une bactérie à gram-négatives : *Escherichia coli* (ATTC 25922), et l'autre à gram-positives : *Enterococcus faecalis* (ATTC 49532), l'antibiotique gentamycine (10 μg) est utilisé comme contrôle positif. L'évaluation des résultats de cette méthode dépendent de l'apparition ou non d'une zone d'inhibition (en mm) autour du disque portant le composé testé en comparaison avec la zone d'inhibition de standard. Les résultats sont présentés dans le **Tableau IV-2** :

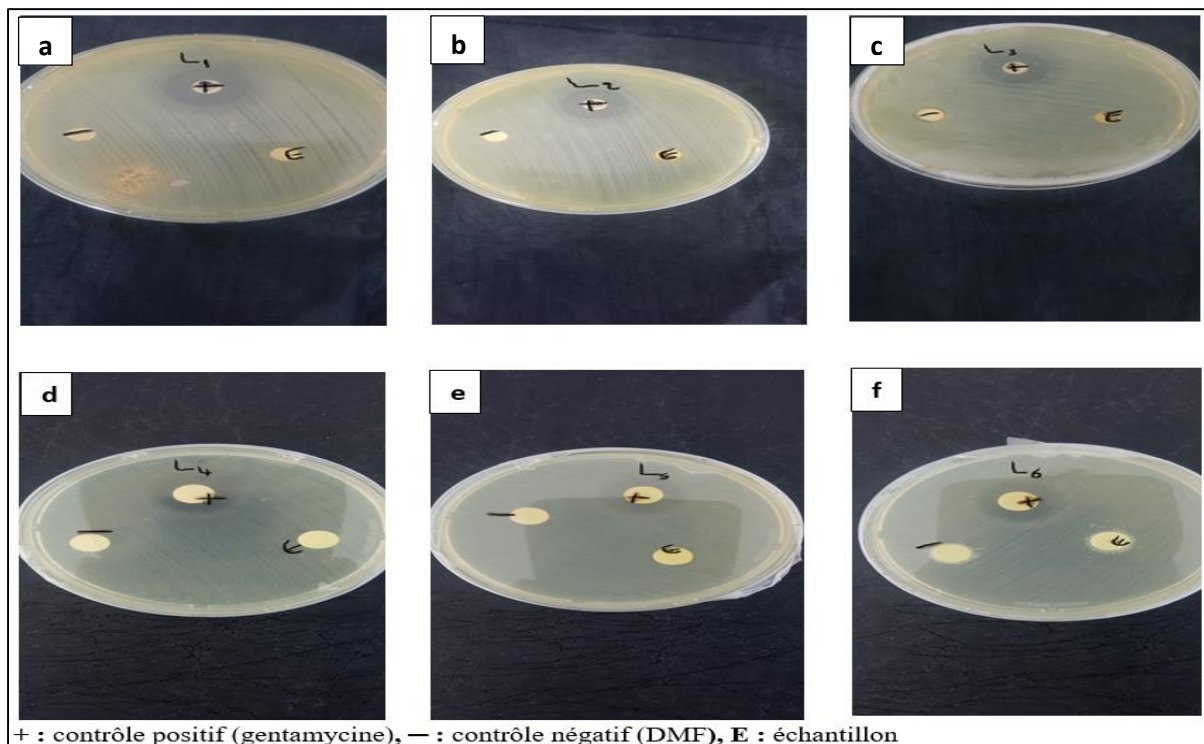
**Tableau IV- 2:** zone d'inhibition (mm) de molécules testées.

Zone d'inhibition (mm)							
Bactéries	L1	L2	L3	L4	L5	L6	Gentamycine (10 μg)
<b>E. Coli</b>	-	-	-	-	-	-	22
<b>E. faecalis</b>	-	-	-	-	-	11	18

Sur la base des résultats du tableau précédent et les photos présentées dans les **Figures IV-11 et IV-12**, toutes les bactéries utilisés montrent une résistance très élevé avec tous les ligands même après augmentation de concentration qui a atteint 25 mg/ml qui considéré comme une concentration très élevés par rapport aux concentrations utilisé dans la littérature. Seul le ligand L6 qui montre une activité inhibitrice envers la souche bactérienne *Enterococcus faecalis* (ATTC 49532) avec un diamètre d'inhibition de 11 mm, mais cette valeur reste faible par rapport au diamètre de gentamycine qui égal à 18 mm.



**Figure IV- 11:** Résultats de l'activité antibactérienne des molécules synthétisées (a-f) → (L1-L6) contre *Enterococcus faecalis* (ATTC 49532).



**Figure IV- 12:** Résultats de l'activité antibactérienne des molécules synthétisées (a-f)→ (L1-L6) contre *Escherichia coli* (ATTC 25922).

**NB** Bien que certains ligands aient montré une activité antibactérienne, d'autres tests n'ont pas révélé d'inhibition significative, notamment contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) et

un champignon (*Candida albicans*). Bien que ces résultats négatifs ne soient pas détaillés ici, il est important de les mentionner car ils contribuent à une évaluation globale de l'efficacité des composés examinés.

#### **Activité antifongique (observation complémentaire) :**

Des essais préliminaires ont été menés afin d'évaluer l'activité antifongique des cinq ligands synthétisés (L1-L5) à une concentration de 5 mg/ml contre le champignon *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* (Fol). Aucun des composés testés n'a présenté une inhibition significative de la croissance de la souche fongique dans les conditions expérimentales utilisées (voir annexe III).

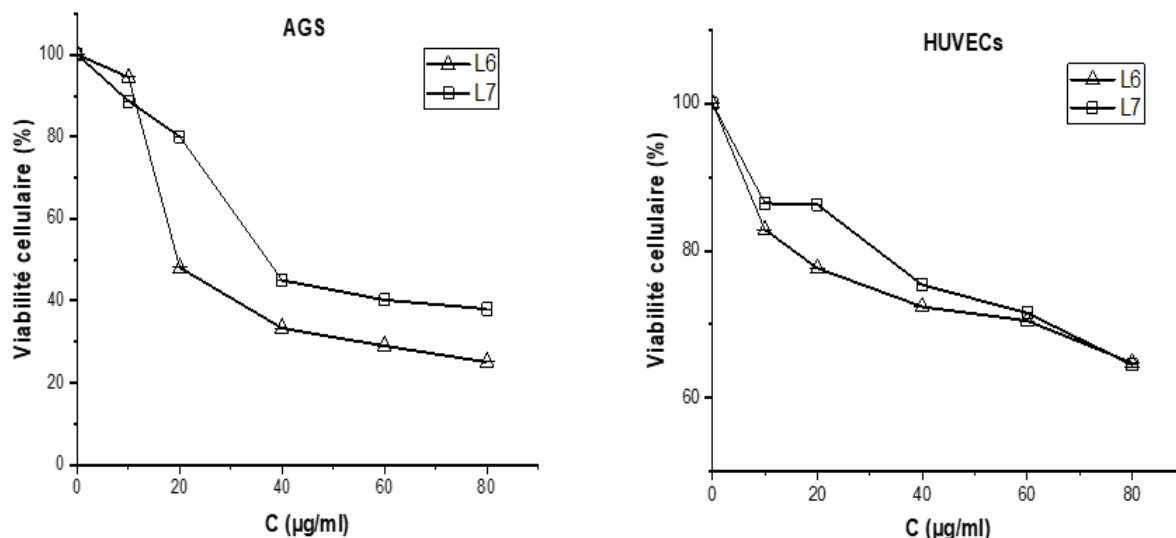
Bien que ces résultats soient négatifs, ils restent pertinents à mentionner, car ils peuvent orienter des modifications futures dans la structure des molécules ou dans les conditions de test.

#### **IV.7 Evaluation de l'activité anti-cancéreuse de cancer gastrique :**

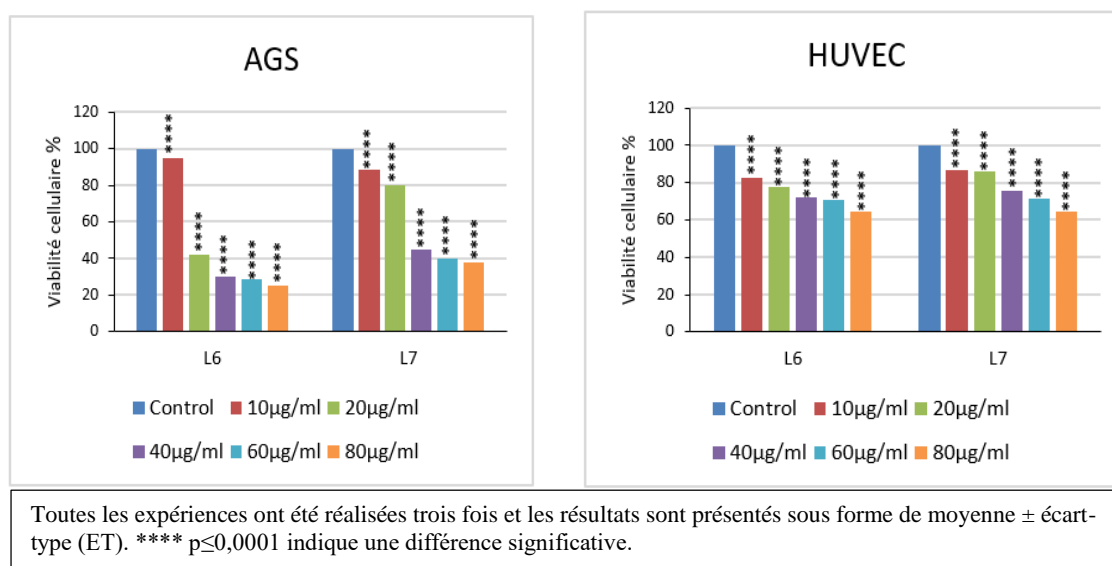
Le test WST-1 est un test colorimétrique utilisé pour évaluer la viabilité cellulaire en mesurant l'activité métabolique des cellules. Il repose sur la réduction du sel de tétrazolium (WST) en un produit coloré (formazan soluble) par les enzymes mitochondriales des cellules vivantes. L'intensité de la coloration est en corrélation avec la quantité de cellules métaboliquement actives, ce qui permet d'estimer la cytotoxicité des composés testés.

Les résultats montrent que les deux bases de Schiff réduisent significativement la viabilité cellulaire de manière dose-dépendante dans les cellules AGS (cancéreuses), plus la concentration de la base de Schiff augmente, plus la viabilité diminue, indiquant un effet antiprolifératif progressif. A la concentration la plus faible 10 µg/ml la viabilité des cellules AGS reste élevée avec un pourcentage de 94,5 % et 88,7 % pour L6 et L7. L'utilisation du composé L6 à une concentration de 20 µg/ml montre une diminution de la viabilité cellulaire des cellules cancéreuses à 48,1%, tandis que le composé L7 a produit une réduction significative à une concentration plus élevée de 40 µg/ml. D'autre part, des cellules HUVEC normales ont été utilisées pour la comparaison, car l'efficacité de ces composés ne peut être déterminée que si leur activité cytotoxique est efficace pour les cellules cancéreuses et faible pour les cellules normales. Les deux composés ont montré peu d'effet sur les cellules HUVEC normales et à des concentrations élevées par rapport aux cellules tumorales, de sorte que le taux de survie des

cellules normales n'a pas chuté de 64 % à la concentration la plus élevée de 80 µg/ml.



**Figure IV- 13:** Viabilité cellulaire en fonction de concentration des cellules cancéreuses AGS et cellules normal HUVEC.



**Figure IV- 14:** Histogramme représente la viabilité cellulaire des cellules AGS et HUVEC.

#### IV.7.1 Analyse des valeurs d'IC<sub>50</sub> :

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> de composé L6 et L7 sont présentés dans le **Tableau IV-3** Le ligand L6 plus cytotoxique envers les cellules cancéreuses avec une valeur de 18,23µg/ml et présente la faible cytotoxicité contre les cellules normales HUVEC à une valeur 245,6µg/ml. Les valeurs IC<sub>50</sub> de de ligand L7 contre les cellules AGS et HUVEC étaient 27,33µg/ml et 192,9µg/ml respectivement. Ces résultats démontrent que le ligand L6 a un impact cytotoxique puissant et inhibe la prolifération de la lignée cellulaire de l'adénocarcinome (AGS) mieux que le ligand

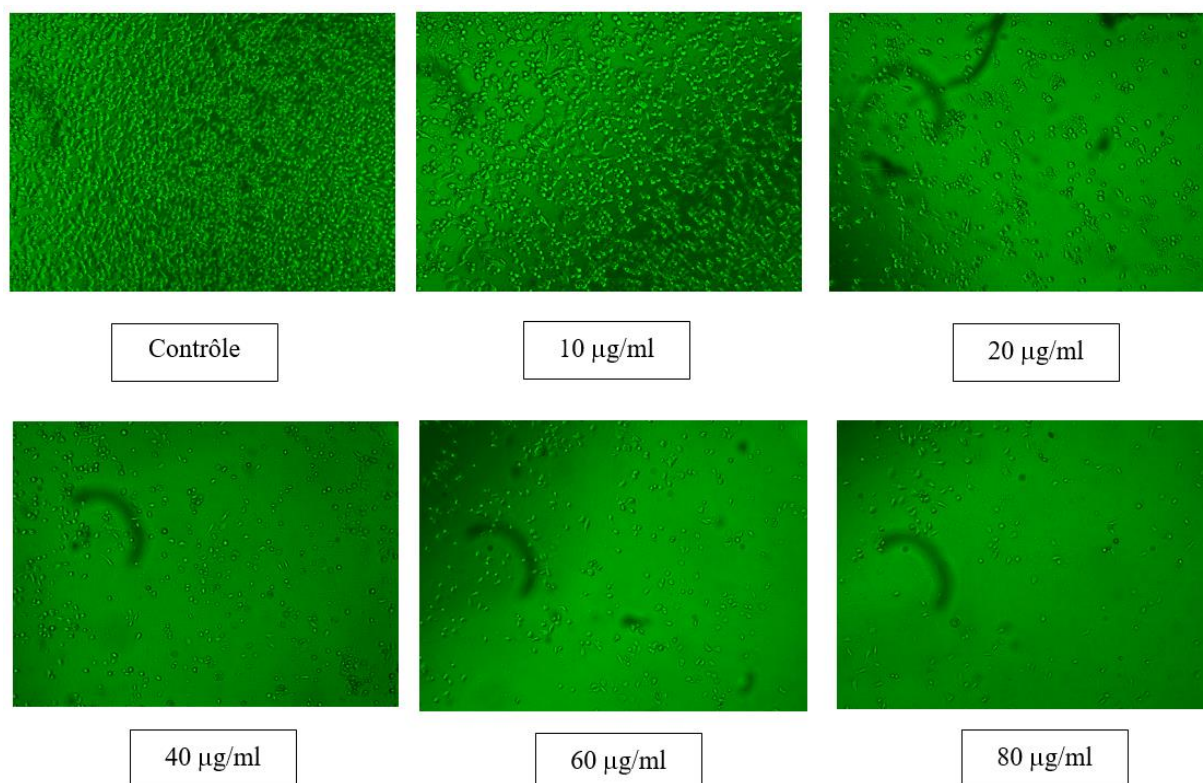
L7 en plus de sa faible efficacité contre les cellules normales, ce qui est l'objectif principale de cette étude pour minimiser les effets secondaires de la chimiothérapie ciblant les cellules normales.

**Tableau IV- 3:** valeur d'IC<sub>50</sub> des molécules testés pour les cellules AGS et HUVEC

composé	IC <sub>50</sub> (µg/ml) après 24 h	
	AGS	HUVEC
L6	18,23	245,6
L7	27,33	192,9

#### IV.7.2 Analyse des images microscopiques :

L'impact du ligand L6 sur l'altération morphologique des cellules AGS a été étudié à l'aide d'un microscope optique (x200) à différentes doses de ligand. Les images montrent une diminution progressive du nombre de cellules en fonction de l'augmentation de la concentration du composé. Cela valide les résultats du test WST-1, indiquant une diminution de la viabilité cellulaire dose-dépendante.



**Figure IV- 15:** vue microscopique des cellules AGS sous l'effet des ligands L6 à différentes concentrations après 24 h

## Conclusion :

Dans ce chapitre, trois études biologiques ont été examinées pour évaluer in vitro la capacité des bases de Schiff dérivées de l'acide déhydroacétique à interagir en tant qu'agents antioxydants, antibactériens et anticancéreux.

L'activité antioxydante a été évaluée à l'aide de trois méthodes distinctes : DPPH, ABTS et phénanthroline, un seul ligand montre une inhibition variable d'une méthode à une autre, leur activité est modérée à faible en comparaison avec l'activité des standards (BHA) et (BHT), cette différence peut être expliquée par la relation structure-activité, ce ligand est le seul qui contient un groupement hydroxyle supplémentaire dans sa structure, et en considérant les résultats de la DHA et des bases de Schiff obtenus en parallèle, il semble que le groupe hydroxyle de ce dernier ne soit pas impliqué dans la réduction des radicaux libres. La faible activité de ligand L1 peut être expliquée par la présence de groupement méthoxy en position ortho qui empêche la libération de proton par son effet mésomère donneur (+M), aussi la solubilité peut être parmi les raisons de ces résultats obtenus, car les molécules testées ne sont pas totalement solubles dans le MeOH.

Les souches bactériennes *E. Coli* (G-) et *E. faecalis* (G+) qui sont utilisées dans l'évaluation de l'activité antibactérienne montrent une grande résistance contre les molécules testées sauf un seul ligand qui montre une activité faible avec *E. faecalis*.

Et enfin les bases de Schiff présentent une activité antiproliférative marquée, avec une toxicité plus importante sur les cellules AGS par rapport aux HUVEC. La différence d'IC<sub>50</sub> indique un degré de sélectivité pour les cellules cancéreuses, ce qui est un facteur prometteur pour une éventuelle application thérapeutique.

**Références bibliographiques:**

- [1] A. Cook, Medicinal and organic chemistry and the goals of medicinal chemistry, *J. Med. Org. Chem.* 6 (2023) 34–36.
- [2] B. J. Yeh, W. A. Lim, Synthetic biology: lessons from the history of synthetic organic chemistry, *Nat Chem Biol.* 3 (2007) 521-525.
- [3] I. Ojima, Great Challenges in Organic Chemistry. *Front. Chem.* 5 (2017) 52.
- [4] A. Choudhary, R. Sharma, M. Nagar & M. Mohsin, Transition metal complexes with N, S donor ligands as synthetic antioxidants: Synthesis, characterization and antioxidant activity, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 26 (2011) 394-403.
- [5] F. Shahidi, Y. Zhong, Measurement of antioxidant activity, *J. Funct. Foods.* 18 (2015) 757-781.
- [6] L. Aksoy, E. Kolay, Y. Ağılönü, Z. Aslan, M. Kargioğlu, Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic *Thermopsis turcica*, *Saudi J. Biol. Sci.* 20 (2013) 235-239.
- [7] A. Corona-Bustamante, J. M. Viveros-Paredes , A. Flores-Parra , A. Lilia Peraza-Campos 1, F. J. Martínez-Martínez, M. T. Sumaya-Martínez, Á. Ramos-Organillo, Antioxidant activity of butyl- and phenylstannoxanes derived from 2-, 3- and 4-pyridinecarboxylic acids. *Molecules.* 15 (2010) 5445-5459.
- [8] R. G. Singh, P. S. Negi, & C. Radha, Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of free and bound phenolic extracts of *Moringa oleifera seed flour*, *J. Funct. Foods.* 5 (2013) 1883-1891.
- [9] M.S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature.* 181 (1958) 1199-1200.
- [10] F. Shahidi, Y. Zhong, Measurement of antioxidant activity, *J. Funct. Foods,* 18 (2015) 757-781.
- [11] H. Talbi, A. Boumaza, K. El-mostafa, J. Talbi, A. Hilali, Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa L.*, *Mater. Environ. Sci.* 6 (2015) 1111-1117.
- [12] A. Dasgupta, K. Klein, Chapter 2 - methods for measuring oxidative stress in the laboratory, editor(s): amitava dasgupta, kimberly klein, antioxidants in food, vitamins and supplements, Elsevier (2014) 19-40.
- [13] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26 (1999) 1231–1237.
- [14] J.O. Hibbits, W.F. Davis, M.R. Menke, The determination of iron with 1,10-phenanthroline. *Talanta* 8 (1961) 163-164.
- [15] A. Szydłowska-Czerniak, C. Dianoczki, K. Recseg, G. Karlovits, E. Szlyk, Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods, *Talanta.* 76 (2008) 899-905.

- [16] L. E. Shi, Z. H. Li, W. Zheng, Y. F. Zhao, Y. F. Jin, & Z. X. Tang, Synthesis, antibacterial activity, antibacterial mechanism and food applications of ZnO nanoparticles: a review, *Food Additives & Contaminants: Part A*. 31 (2014) 173–186.
- [17] W. Ziebuhr, K. Ohlsen, H. Karch, T. Korhonen, J. Hacker, Evolution of bacterial pathogenesis. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* 56 (1999) 719–728
- [18] A. Klančnik, S. Piskernik, B. Jeršek, S. S. Možina, Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts, *J. Microbiol. Methods*. 81 (2010) 121-126.
- [19] K. Dalhammar, J. Kristensson, D. Falkenback, B. H. Rasmussen & M. Malmström, Symptoms, problems and quality of life in patients newly diagnosed with oesophageal and gastric cancer – a comparative study of treatment strategy, *BMC Cancer*. 22 (2022) 434.
- [20] G. Maconi, G. Manes, G. B. Porro, Role of symptoms in diagnosis and outcome of gastric cancer, *World. J. Gastroenterol.* 14 (2008) 1149-1155.
- [21] F. Kroschinsky, F. Stölzel, S.V. Bonin, G. Beutel, M. Kochanek, M. Kiehl & P. Schellongowski, New drugs, new toxicities: severe side effects of modern targeted and immunotherapy of cancer and their management, *Crit Care*. 21 (2017) 89.
- [22] Ī. Altun, A. Sonkaya, the Most Common Side Effects Experienced by Patients Were Receiving First Cycle of Chemotherapy, *Iran. J. Public. Health*. 47 (2018) 1218-1219.
- [23] A. Sharma, S. Jasrotia, A. Kumar, Effects of Chemotherapy on the Immune System: Implications for Cancer Treatment and Patient Outcomes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 397 (2024) 2551–2566.
- [24] D. Mukhopadhyay, P. Dasgupta, D. Sinha Roy, S. Palchoudhuri, I. Chatterjee, S. Ali, S. Ghosh Dastidar, A sensitive in vitro spectrophotometric hydrogen peroxide scavenging assay using 1,10-phenanthroline, free radicals and antioxidants. 6 (2015) 124–132.

# **Chapitre V : Etude théorique**

## V.1 Introduction :

Un sous-domaine de la chimie connu sous le nom de chimie computationnelle utilise la modélisation informatique pour aider à résoudre des problèmes chimiques difficiles. Elle utilise des techniques de chimie théorique intégrées dans des programmes informatiques efficaces pour déterminer les propriétés, les interactions et les structures des molécules [1].

L'activité liée à la structure d'un composé est un aspect important de la conception de médicaments qui implique l'utilisation de méthodes informatiques telles que les études DFT et Docking moléculaire pour donner un aperçu d'un certain nombre de propriétés moléculaires telles que les interactions électroniques, géométriques et médicamenteuses avec plusieurs protéines biologiques, acides nucléiques et enzymes [2].

Dans ce chapitre deux parties essentielles sont abordées, la première sur la théorie de la fonctionnelle de densité (DFT) et surface Hirshfeld, et la deuxième sur le docking moléculaire, pour prédire l'interaction entre les base de Schiff synthétisé avec protéines NADPH oxydase.

### **Partie I : théorie de la fonctionnelle de densité (DFT) et analyse de surface Hirshfeld**

## V.2 Principes de la théorie de la fonctionnelle de densité (DFT) :

La théorie de la fonctionnelle de densité (DFT) est un cadre théorique de la mécanique quantique utilisé pour étudier les propriétés électroniques des systèmes à plusieurs corps, notamment les atomes, molécules, surfaces et solides. Son principal avantage réside dans son bon compromis entre précision et coût de calcul, ce qui en fait l'outil de choix dans la chimie computationnelle, la science des matériaux et la physique de l'état solide.

### V.2.1 Fondements Théoriques

#### a) Le postulat fondamental

Contrairement aux méthodes ab initio classiques (comme Hartree-Fock), la DFT repose sur l'idée que la densité électronique  $\rho(r)$  contient toute l'information sur l'état fondamental d'un système à N électrons.

#### b) Théorèmes de Hohenberg-Kohn (1964) [3]

\*. **Premier théorème** : La densité électronique  $\rho(r)$  détermine de façon unique le potentiel externe  $V_{\text{ext}}(r)$ , à une constante additive près.

\*. **Deuxième théorème** : Il existe une fonctionnelle universelle de l'énergie  $E[\rho]$ , telle que l'énergie totale de l'état fondamental est minimisée pour la densité réelle de l'état fondamental.

### V.2.2 Méthode de Kohn-Sham (1965)

#### a) Réduction du problème à un système fictif non-interactif

Kohn et Sham proposent de modéliser un système réel d'électrons interagissants par un système fictif d'électrons non-interagissants, évoluant dans un potentiel effectif  $V_{\text{eff}}(\mathbf{r})$ , qui inclut les effets de l'interaction électronique de manière implicite [4].

#### b) Équations de Kohn-Sham

$$\left[ -\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + V_{\text{eff}}(\vec{r}) \right] \psi_i(\vec{r}) = \varepsilon_i \psi_i(\vec{r})$$

Où

$$\rho(\vec{r}) = \sum_i |\psi_i(\vec{r})|^2$$

Le potentiel effectif comprend : le potentiel externe, le potentiel de Hartree, et le potentiel d'échange-corrélation  $V_{\text{xc}}$ .

### V.2.3 Fonctionnelle d'Échange-Corrélation $E_{\text{xc}}[\rho]$

- LDA (Local Density Approximation) : fonctionnelle dépendant uniquement de la densité locale.
- GGA (Generalized Gradient Approximation) : inclut aussi le gradient de la densité.
- Meta-GGA : utilise la densité, son gradient et la densité cinétique.
- Hybrides (ex. B3LYP, PBE0) : combinent la DFT avec une fraction de l'échange exact de Hartree-Fock.
- Méta-hybrides : ajoutent des dépendances supplémentaires comme la densité cinétique dans les fonctionnels hybrides pour plus de précision (ex. M06-2X).

L'objectif final consiste à construire une représentation mathématique de la distribution des électrons dans les molécules, ce qui permet aux chimistes d'acquérir une compréhension approfondie des phénomènes de liaison et de réactivité chimiques. De plus, cette approche leur permet de calculer les propriétés physico-chimiques des molécules et d'émettre des prédictions fondées sur ces calculs. De nombreuses études expérimentales en chimie organique et

inorganique utilisent systématiquement des calculs similaires, à l'aide d'un code largement utilisé, d'une base conventionnelle et d'une approximation fonctionnelle typique [5].

Les études computationnelle du ligand L2 ont été réalisées en utilisant le logiciel Gaussien 09 et Gauss View 5.0.8 [6] pour les visualisations, en employant l'approche DFT au niveau de base B3LYP/6-31G (d, p). L'orbitale moléculaire HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) et l'orbitale moléculaire LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) ont toutes deux été atteintes. Les descripteurs de réactivité, y compris l'écart énergétique ( $E_{gap}$ ), la dureté ( $\eta$ ), la mollesse ( $S$ ), l'électronégativité globale ( $\chi$ ), l'indice de l'électrophylisité ( $\omega$ ), le potentiel électrostatique moléculaire (MEP) et la charge atomique de Mulliken, ont également été calculés.

#### V.2.4 Analyse des Orbitales moléculaires HOMO-LUMO :

Les orbitales HOMO (orbitales moléculaires occupées de plus haute énergie) et LUMO (orbitales moléculaires vacantes de plus basse énergie) sont appelées orbitales frontières, car elles définissent les niveaux d'énergie extrêmes entre lesquels les électrons peuvent évoluer dans une molécule. Elles jouent un rôle essentiel dans les réactions chimiques, notamment dans les transferts d'électrons.

L'orbitale HOMO, joue un rôle essentiel en tant que donneur d'électrons des réactions chimiques. Tandis que, l'orbitale LUMO, agit principalement en tant qu'accepteur d'électrons, lors des interactions moléculaires. La différence entre l'orbitale moléculaire la plus occupée (HOMO) et l'orbitale moléculaire la moins occupée (LUMO), appelée le gap HOMO-LUMO, définit la stabilité chimique de la molécule. Cet écart énergétique facilite l'évaluation de la réactivité chimique et de la stabilité cinétique de la molécule [7]. La **Figure V-1** présente les orbitales moléculaires frontières HOMO et LUMO calculées pour le ligand L2, la couleur vert et rouge représente la distribution des charges négatives et positives respectivement dans les différents sites de la molécule. L'écart d'énergie HOMO-LUMO important ( $\Delta E = 3,949$  eV) indique la grande stabilité du composé, alors, la diminution de la valeur de  $\Delta E_{gap}$  augmente la réactivité de la molécule [8, 9].

HOMO est localisé sur le cycle pyranique de DHA sur les doubles liaisons le cycle benzénique, le groupement C=N, l'oxygène de groupement C=O, l'oxygène de groupement OH et l'oxygène de groupement éther, LUMO est localisé sur les sites électrophiles de DHA et localisé sur l'atome de carbone (centre électrophile) et l'azote du groupement C=N.

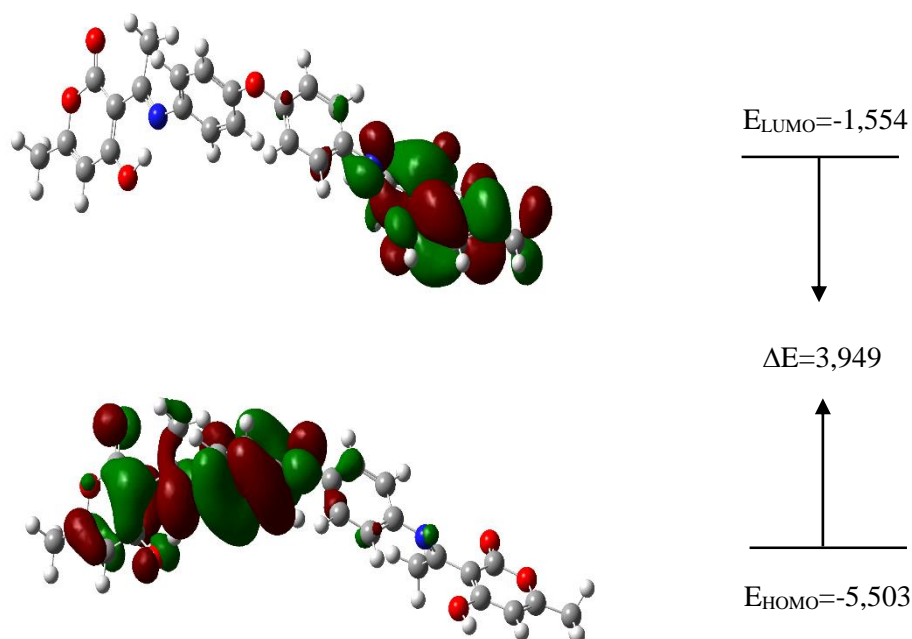


Figure V- 1: Les diagrammes HOMO et LUMO du ligand L2.

### V.2.5 Indices de réactivité chimique dans la théorie de la densité fonctionnelle :

Les descripteurs de réactivité, y compris le potentiel d'ionisation ( $I$ ), la dureté ( $\eta$ ), la mollesse ( $S$ ), l'électronégativité globale ( $\chi$ ), l'indice d'électrophilicité ( $\omega$ ) et d'autres sont des indices important donnent des renseignements sur la stabilité et la réactivité des composés.

#### A. Potentiel d'ionisation ( $I$ ) :

C'est l'énergie nécessaire pour retirer un électron d'un système. L'énergie d'ionisation d'un électron est approximativement égale à l'opposé de l'énergie d'orbitales moléculaires occupées de plus haute énergie (HOMO) [10].

$$I = -E_{HOMO}$$

#### B. Affinité électronique ( $A$ ) :

L'affinité électronique ( $A$ ) d'une molécule ou d'un radical est définie comme le gain d'énergie lorsqu'un électron est attaché au système [11]. Dans la théorie de base des orbitales moléculaires, l'énergie de l'orbitale moléculaire (LUMO) a été utilisée pour estimer l'affinité électronique ( $A$ ) [12].

$$A = -E_{LUMO}$$

**C. Electronégativité absolue ( $\chi$ ) :**

Les valeurs de l'électronégativité ( $\chi$ ) et de la dureté globale ( $\eta$ ) sont calculées, selon Pearson [13].

$$\chi = \frac{(I+A)}{2} \text{ ou bien } \chi = \frac{-(E_{HOMO}+E_{LUMO})}{2}$$

**D. Dureté globale ( $\eta$ ) :**

Dans le contexte de la chimie, la dureté quantifie essentiellement la résistance à la déformation des atomes, des ions ou des molécules, ainsi que le degré de polarisation du nuage d'électrons sous l'effet de perturbations mineures survenant au cours des réactions chimiques [14,15].

$$\eta = \frac{(I-A)}{2} \text{ ou bien } \eta = \frac{(E_{LUMO}-E_{HOMO})}{2}$$

**E. Mollesse ( $\sigma$ ) :**

La mollesse ( $\sigma$ ), qui caractérise la capacité d'un atome ou d'un ensemble d'atomes à accepter des électrons, elle peut être définie comme l'inverse de la dureté.

$$\sigma = \frac{1}{\eta}$$

**F. Électrophilie (électrophilicité) ( $\omega$ ) :**

L'indice d'électrophilicité ( $\omega$ ) a été obtenu en utilisant l'équation suivante :

$$\omega = \frac{\chi^2}{2\eta}$$

**G. Potentiel chimique ( $\mu$ ) :**

Le potentiel chimique  $\mu$  est défini comme l'opposé de l'électronégativité.

$$\mu = \frac{(E_{LUMO}+E_{HOMO})}{2}$$

**Tableau V- 1:** Descripteurs de réactivité (en eV) et différents paramètres du ligand L2, calculés au niveau théorique B3LYP/6-31G (d, p).

PARAMETRES	VALEUR (ev)
$E_{HOMO}$	-5,503
$E_{LUMO}$	-1,554
$\Delta E_{GAP}$	3,949

Potentiel d'ionisation	5,503
Affinité électronique	1,554
Electronégativité absolue	3,528
Durté globale	1,974
Mollesse	0,506
Electrophilicité	3,153
Potentiel chimique	-3,528

Les descripteurs moléculaires issus de la théorie de la fonctionnelle de densité (DFT), tels que la dureté globale  $\eta$ , la mollesse (S), le potentiel chimique  $\mu$  et l'électrophilicité  $\omega$ , permettent de caractériser la stabilité et la réactivité d'un composé chimique à l'état fondamental.

Dans notre étude, la molécule considérée présente une dureté globale de  $\eta=1,974$  eV, ce qui traduit une résistance modérée à la variation de densité électronique sous l'effet d'une perturbation extérieure. Cette valeur suggère une certaine stabilité chimique sans pour autant conférer une inertie électronique totale.

La mollesse moléculaire, inverse de la dureté, est estimée à  $0,506$  eV<sup>-1</sup>. Cette valeur relativement élevée indique une bonne capacité à se polariser, ce qui rend la molécule potentiellement réactive vis-à-vis des espèces électrophiles ou nucléophiles.

Par ailleurs, le potentiel chimique obtenu est de  $\mu=-3,528$  eV, ce qui reflète une forte tendance à céder des électrons. Cette valeur négative, située entre les niveaux HOMO et LUMO, confirme la stabilité électronique de la molécule à l'équilibre.

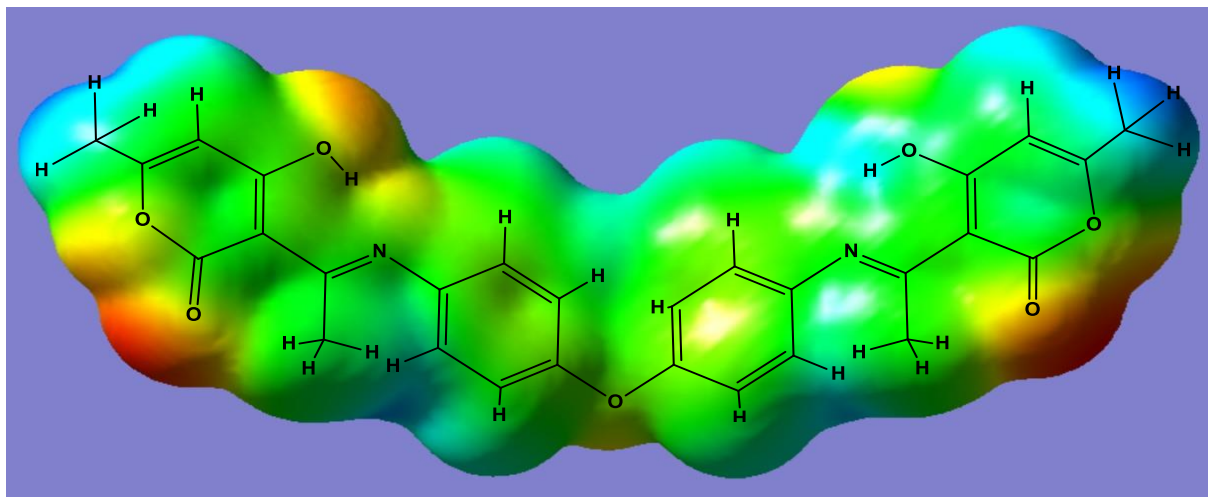
Enfin, la fonction d'électrophilicité globale, évaluée à  $\omega=3,153$  eV, révèle une capacité marquée à accepter des électrons, caractéristique des composés électrophiles. Une telle valeur suggère que la molécule peut interagir favorablement avec des donneurs d'électrons, ce qui est pertinent dans les mécanismes réactionnels impliquant des espèces nucléophiles.

En résumé, ces résultats indiquent que la molécule étudiée présente un bon compromis entre stabilité électronique et réactivité chimique, avec une propension particulière à se comporter comme un centre électrophile dans les processus de transfert électronique.

### V.2.6 Potentiel électrostatique moléculaire (MEP) :

L'analyse du potentiel électrostatique moléculaire (MEP) s'avère être un outil précieux dans l'identification des sites actifs impliqués dans les réactions électrophiles et nucléophiles, étant généralement corrélée à la densité électronique. Afin d'identifier les sites réactifs soumis à des attaques électrophiles et nucléophiles, les régions du potentiel électrostatique moléculaire (MEP) de l'inhibiteur examiné ont été évaluées à l'aide des géométries optimisées.

Le MEP peut identifier avec précision diverses formes d'interactions moléculaires, notamment la liaison hydrogène, les interactions enzyme-substrat et les interactions médicament-récepteur [16]. Le diagramme MEP dans la **Figure V-2** indique les sites actifs électrophiles et les sites actifs nucléophiles de ligand L2, on peut distinguer entre eux d'après les couleurs de chaque site ; les zones négatives associées à la réactivité électrophile représenté par la couleur rouge et jaune, tandis que les couleurs bleue et vert représentent les zones positives liées à la réactivité nucléophile. D'après la cartographie MEP on remarque que la région négatif (rouge- jaune) est localisé sur le groupement ester de lactone surtout l'oxygène de carbonyle (rouge) qui est la partie la plus réactif, ainsi la fonction OH (orange). Pour les sites de réactivité nucléophile (bleu) sont indiqués par l'hydrogène liés ou groupement méthyle attaché au cycle laconique, le reste de la molécule (vert) à une réactivité nul [16].

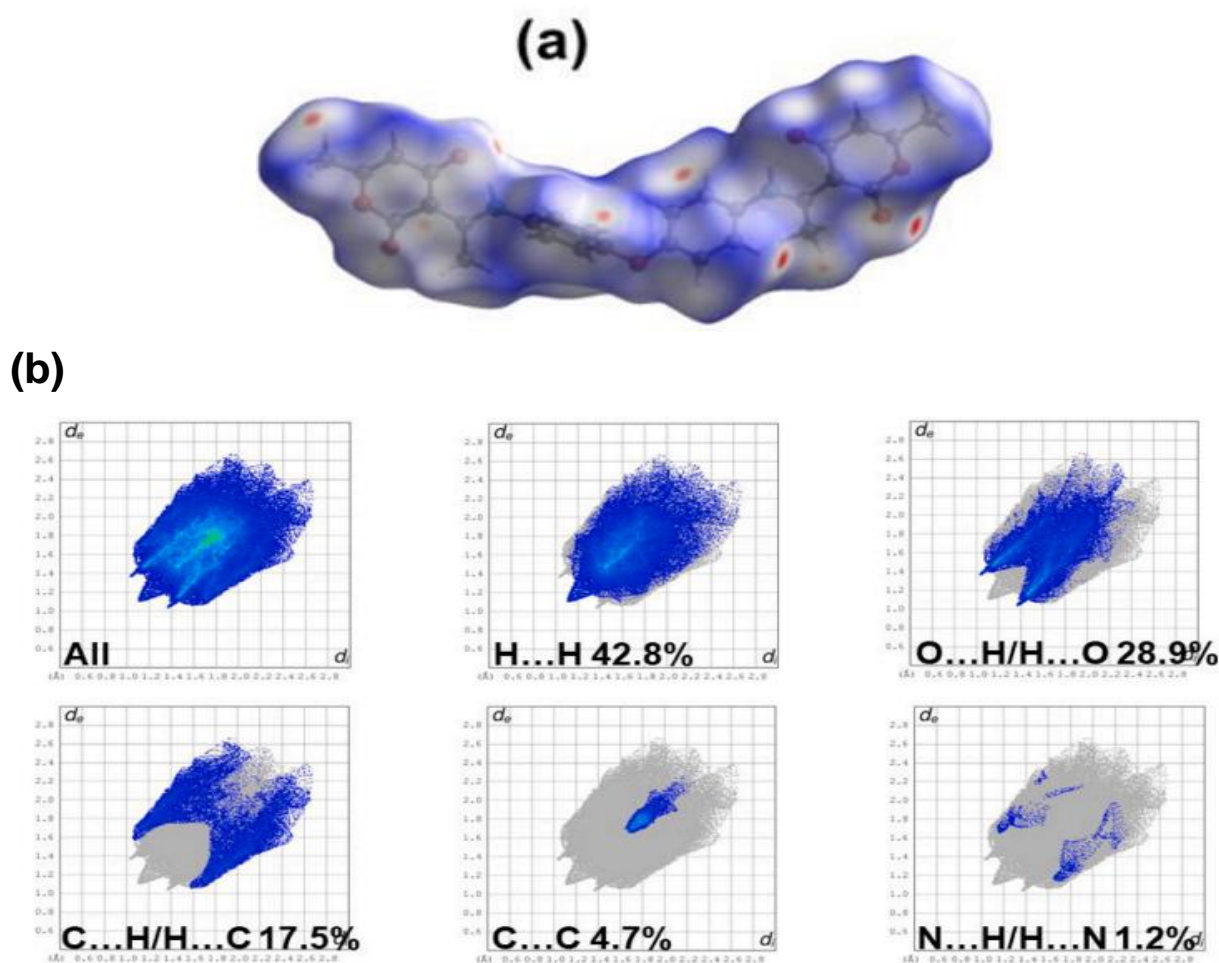


**Figure V- 2:** Potentiel électrostatique moléculaire.

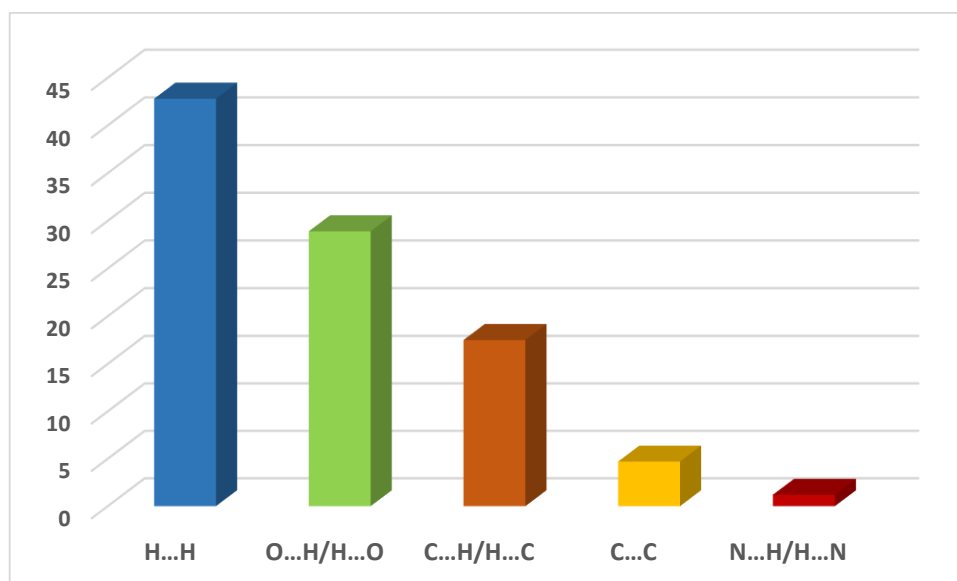
### V.3 Analyse de surface Hirshfeld :

L'analyse de la surface de Hirshfeld est de plus en plus reconnue comme une méthode efficace pour élucider les interactions intermoléculaires à l'intérieur d'une structure cristalline qui contribue à la stabilisation de forme cristallin grâce à l'utilisation d'un tracé d'empreinte [17]. L'analyse de la surface de Hirshfeld a été réalisée avec le logiciel CrystalExplorer [18].

L'analyse de la surface de Hirshfeld et les tracés d'empreintes digitales en 2D réalisés à l'aide du fichier CIF du cristal original. Les interactions telles que les liaisons hydrogène ont été indiquées par des taches rouges, grandes ou petites, en fonction de leur force **Figure V-3a** [19]. Il est intéressant de noter que l'O de la partie cétone/énol a été indiqué par la plus grande tache autour de C=N et H...O, ce qui confirme la formation de liaisons H intramoléculaires [N+-H...-O]. En outre, d'autres grandes taches rouges ont été signalées autour de l'atome de l'oxygène de l'ester, le groupe C=O de la cétone et l'atome d'oxygène de l'éther indiquent la présence d'interactions de liaisons hydrogène intermoléculaires non classiques de type C-H...O (**Figure V-3b**). Les stimulations 2D-FP ont confirmé l'existence d'interactions intermoléculaires dans l'ordre suivant : H...H(42,8)>O...H(28,9)>C...H(17,5)>N...H(1,2). Les nitrogènes de l'imine étant déjà protonés en raison de la structure bi-zwitterionique, ils ne contribuent pas à l'interaction, tandis que les anions oxygénés des phénols contribuent de manière significative à la formation de liaisons hydrogène, ce qui est conforme aux résultats de DRX.



**Figure V- 3:** (a) tracés d'empreintes digitales de la surface de Hirshfeld, et (b) et la surface  $d_{\text{norm}}$  de ligand L2.



**Figure V- 4:** Distribution des interactions intermoléculaires du ligand L2 par type d'interaction.

## Partie II : Docking Moléculaire

### V.4 Docking moléculaire d'inhibition de NADPH oxydase :

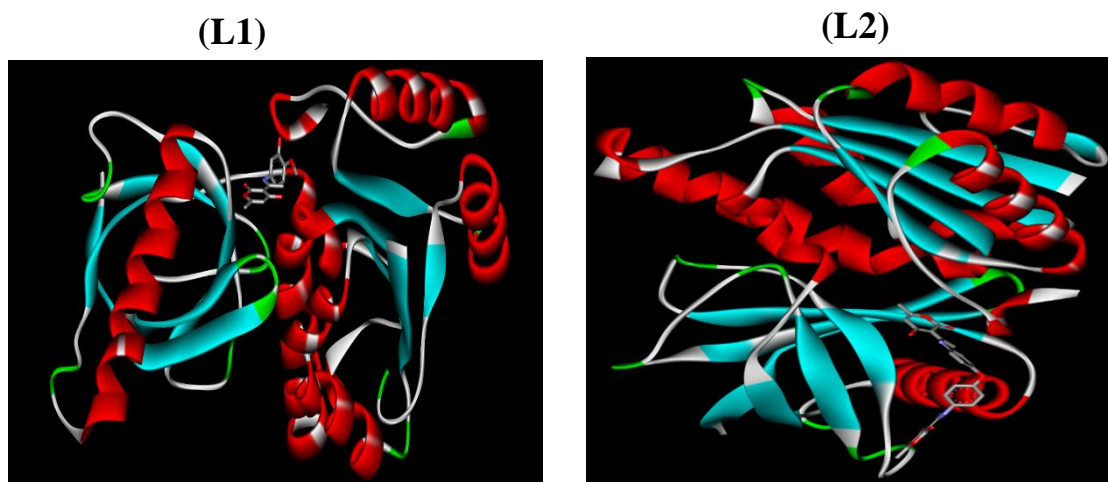
Le docking moléculaire est une méthode *in silico* utilisée pour prédire l'interaction protéine-ligand et consiste à trouver la conformation de site la plus optimale d'un ligand au sein du site de liaison d'un récepteur [20, 21]. Il a été utilisé pour déterminer les poses optimales et les énergies de liaison des ligands aux sites de liaison identifiés [22], et comment les molécules interagissent entre elles lorsqu'elles sont placées dans un environnement contraint avec un champ de force clair [23]. Actuellement, le docking moléculaire est utilisé pour réduire les essais expérimentaux et examiner les cibles moléculaires des médicaments. En utilisant le docking moléculaire, les bases de Schiff sont largement étudiées contre diverses maladies, y compris le cancer [24, 25], le diabète [26], les infections microbiennes [27] et les troubles neurologiques comme Alzheimer [28] et d'autres types de maladies, car cette approche est applicable à un large éventail de maladies et dans le domaine thérapeutique.

La NADPH est un enzyme qui catalyse la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Dans cette étude, nous avons utilisé des simulations de docking moléculaire pour étudier la capacité inhibitrice des ligands synthétisés pour la NADPH oxydase. Dans ce contexte, le programme utilisé pour le docking est iGEMDOCKv2.1 et la structure 3D du ligand étudié a été obtenue et géométriquement optimisée en utilisant le programme Gaussian 09W [29, 30]. De plus, la structure de l'enzyme NADPH oxydase a été obtenue à partir de la banque de données des protéines (PDB) avec les identifiants PDB : 5O0X. Les meilleures positions

d'interaction avec le site actif de l'enzyme ciblées ont été évaluées. Ainsi que les nombreux types de liaisons produites, l'énergie d'interaction et les acides aminés impliqués dans la création de ces liaisons ont été rapportés. Afin d'identifier de nouveaux inhibiteurs de l'enzyme impliquée dans la génération d'espèces réactives de l'oxygène, nous avons docké les ligands L1 et L2 avec les la protéine NADPH oxydase. Dans ce contexte, les structures cristallines 3D de cette protéine et les poses de liaison optimales obtenues pour les ligands étudiés à l'intérieur des sites de liaison sont montrées respectivement dans la **Figure V-5** et la **Figure V-6**.

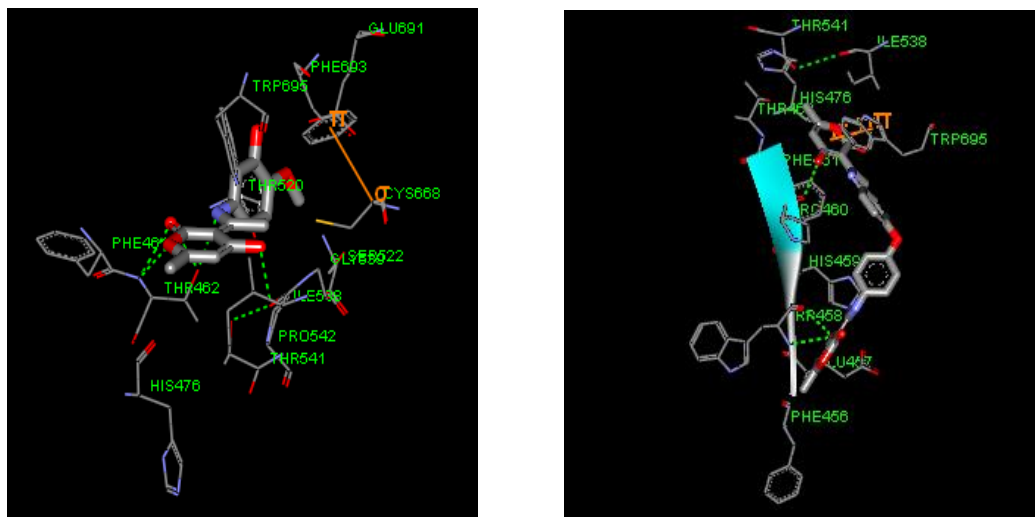


**Figure V- 5:** Structures cristalline de NADPH oxydase

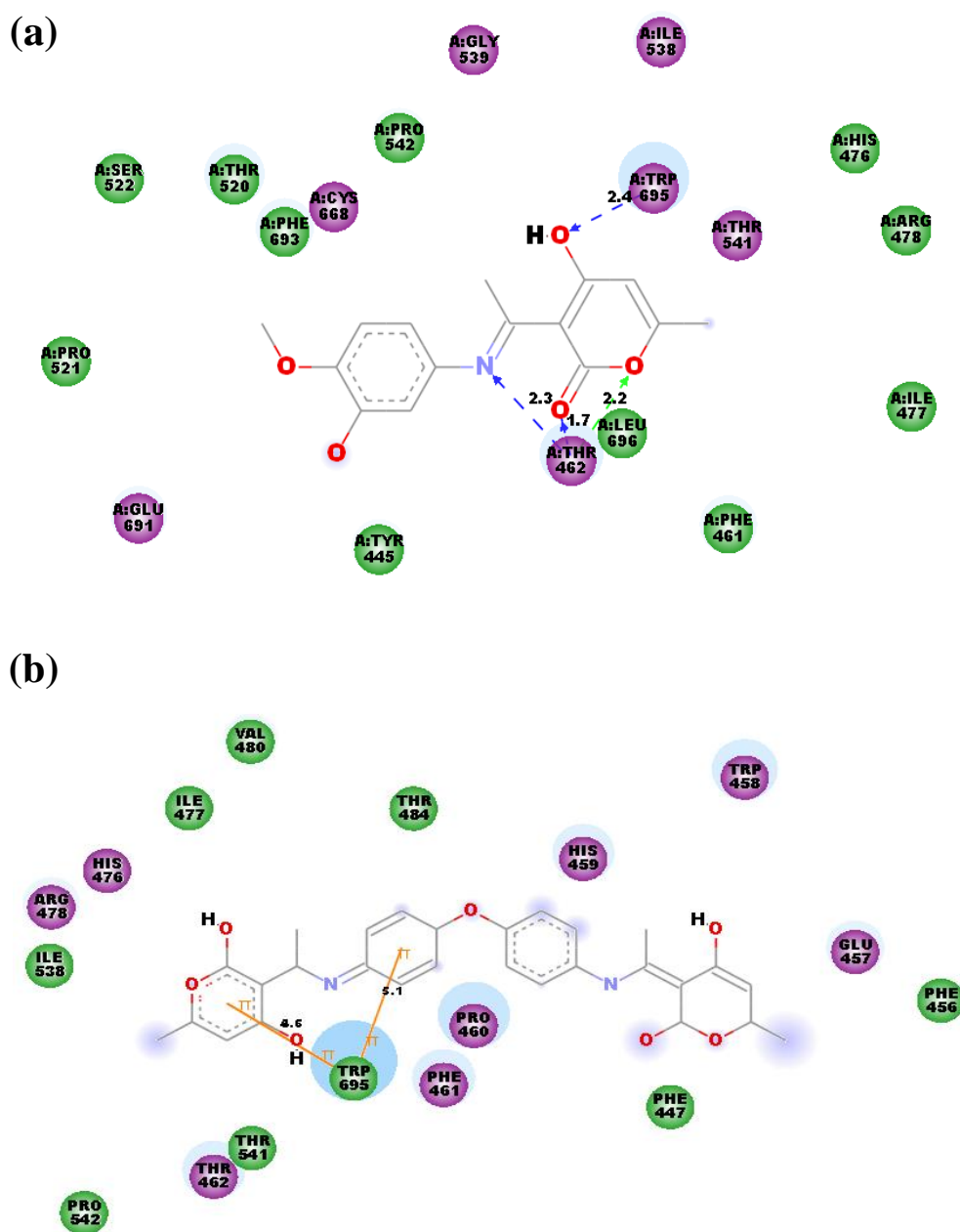


**Figure V- 6:** Meilleure visualisation de la pose d'interaction des ligands étudiés avec le site actif de NADPH oxydase.

Les diagrammes d'interaction 3D et 2D représentés dans les Figures V-2 et V-3 montrent un bon positionnement du ligand sur les sites actifs de la NADPH oxydase. L'analyse visuelle du complexe (NADPH oxydase–L1) montre que le ligand 1 se caractérise par une énergie égale à -89,15 Kcal/mol en formant quatre liaisons type H-accepteur. Une liaison entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu TRP695 avec une distance 2.4 Å, et trois liaisons entre l'oxygène et l'azote du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu THR462 du site actif de NADPH oxydase respectivement avec les distances 2.2 Å, 1.7 Å et 2.3 Å. Le ligand 2 se caractérise par une énergie d'interaction -108,56 kcal/mol. L'analyse visuelle montre la présence de deux interactions hydrophobiques (Van Der Waals) entre l'anneau benzénique et l'anneau pyrone du ligand et la fonction phényle du résidu TRP695 respectivement avec les distances 4.6 Å et 5.1 Å.



**Figure V- 7:** Diagrammes 3D de liaison-interaction des ligands L1 et L2 avec la NADPH oxydase.



**Figure V- 8:** Diagrammes 2D de liaison-interaction des ligands avec la NADPH oxydase (a) L1, (b) L2

Le tableau V-2 résume les énergies des différentes interactions formées entre les ligands étudiés et la protéine ciblée. Sur la base des estimations énergétiques présentées dans le tableau V-2, nous observons que le complexe L2/ NADPH oxydase a l'énergie la plus négative que le complexe L1/NADPH oxydase, ce qui indique que le ligand L2 a une plus grande affinité pour interagir avec NADPH oxydase par rapport au ligand L1.

**Tableau V- 2** : Répartition de l'énergie des ligands étudiés entre les forces de van der Waals, la liaison hydrogène et les interactions électrostatiques.

Ligand	Énergie d'interaction kcal/mol	forces de van der Waals	liaison d'hydrogène	interactions électrostatiques
<b>L1</b>	- 89.15	- 77.15	- 11.66	- 0.00
<b>L2</b>	- 108.56	- 98.97	- 09.60	- 0.00

**Conclusion :**

Dans ce travail on a réalisé une étude computationnelle de la structure optimisé de ligand L2 utilisant la théorie de la fonctionnelle de densité (DFT) au niveau de base B3LYP/6-31G (d, p), la présente étude vise à établir plus d'information sur les différents caractéristiques de ce composé à savoir la réactivité, la stabilité, les déférentes sites actifs...etc.

Les valeurs de gap énergétique et les indices de réactivité chimique montre bien la grande stabilité de ce composé. Le MEP a montré que l'oxygène de carbonyle du groupement ester est le plus électronégative donc le plus réactif pour les attaques électrophile.

L'Analyse de surface Hirshfeld montre que l'oxygène de la partie cétone/énol était indiqué par la plus grande tache rouge autour de C=N et H...O, confirmant la formation de liaisons [N<sup>+</sup>-H...<sup>-</sup>O] intramoléculaires. D'autres taches rouges autour de O de l'élément et de C=O de la cétone indiquaient des liaisons hydrogène C-H...O non classiques.

Enfin et d'après les résultats de docking moléculaire, le ligand L2 a l'énergie la plus négative par rapport au ligand L1, cette observation suggère que le ligand L2 a une affinité plus élevée pour interagir avec le site actif de NADPH oxydase que le ligand L1.

**Références bibliographiques:**

- [1] F. Jensen, Introduction to Computational Chemistry, Wiley, Hoboken, NJ, (2007).
- [2] C. Ravikumar, I.H. Joe, V.S. Jayakumar, Charge transfer interactions and nonlinear optical properties of push–pull chromophore benzaldehyde phenylhydrazone: A vibrational approach, Chem. Phys. Lett. 460 (2008) 552–558.
- [3] P. Hohenberg and W. Kohn, Inhomogeneous Electron Gas, Phys. Rev. 136 (1964), B 864.
- [4] W. Kohn, L. J. Sham, Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects, Phys. Rev. 140 (1965) A1133-A1138.
- [5] I. J. Casely, J. W. Ziller, M. Fang, F. Furche, and W. J. Evans, Facile bismuth-oxygen bond cleavage, C-H activation, and formation of a monodentate carbon-bound oxyaryl dianion, (C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>(t)Bu<sub>2</sub>-3,5-O-4)<sup>2-</sup>. Am.Chem. Soc. 133 (2011) 5244.
- [6] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, Gaussian 09W, et al., Gaussian Inc., Wallingford CT, 2009.
- [7] A. Didaoui, K. Amara, M. Zemouli, N. Benhalima, M. Elkeurti, Etude de la structure moléculaire, la polarisabilité, l'hyper-polarisabilité et l'analyse HOMO-LUMO des structures monomères et dimères du N-(3-méthylphényl)-2- nitrobenzènesulfonamide C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S, Can. J. Phys. 97 (2018) 297-307.
- [8] S. Rahmouni, synthèse, caractérisation structurale de complexes et ligands dérivés de DHA : étude électrochimique, théorique et cathecolase activité, Thèse de doctorat, université Ferhat Abbas-Sétif, 2018.
- [9] I. Fleming, Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions, John Wiley & Sons, New York, 1976.
- [10] T. Koopmans, Über die Zuordnung von Wellenfunktionen und Eigenwerten zu den Einzelnen Elektronen Eines Atoms, Physica 1. 1 (1934) 104-113.
- [11] G. L. Gutsev, A. I. Boldyrev, the theoretical investigation of the electron affinity of chemical compounds, Advances in Chemical Physics. LXI, John Wiley & Sons, Inc (2007) 169–217.
- [12] C-G. Zhan, J. A. Nichols, and D. A. Dixon, Ionization potential, electron affinity, electronegativity, hardness, and electron excitation energy: molecular properties from density functional theory orbital energies, J. Phys. Chem. A. 107 (2003) 4184–4195.
- [13] R. G. Parr and R. G. Pearson, Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity, J. Am. Chem. Soc. 105 (1983) 7512-7516.
- [14] S. Kaya, C. Kaya, A new equation for calculation of chemical hardness of groups and molecules, Mol. Phys. 113 (2015) 1311–1319.
- [15] N. Islam, D. C. Ghosh, Spectroscopic evaluation of the global hardness of the atoms, Molecular Physics. 109 (2011) 1533–1544.

- [16] M. Guin, S. Halder, S. Chatterjee, S. Konar, Synthesis, X-ray crystal structure of Cu(II) 1D coordination Polymer: In View of Hirshfeld surface, FMO, Molecular electrostatic potential (MEP) and Natural Bond orbital (NBO) analyse, *J. Mol. Struct.* 1270 (2022) 133949.
- [17] A. D. Martin, K. J. Hartlieb, A. N. Sobolev, C. L. Raston, Hirshfeld Surface Analysis of Substituted Phenols, *Cryst. Growth Des.* 10 (2010) 5302–5306/
- [18] P. R. Spackman, M. J. Turner, J.J. McKinnon, S.K. Wolff, D. J. Grimwood, D. Jayatilaka, M.A. Spackman, CrystalExplorer: a program for Hirshfeld surface analysis, visualization and quantitative analysis of molecular crystals, *J. Appl. Cryst.* 54 (2021) 1006.
- [19] T. Louaileche, S. Tabti, A. Djedouani, K. Shalalin, A. Alobaid, C. Maouche, D. Hannachi, S. Amamra, A. Crochet, H. Stoeckli-Evans, I. Warad, Synthesis of novel bi-Zwitterion Schiff base derivate from 4-hydroxy-2H-pyran-2-one: DFT/HSA-interactions, thermal, physicochemical, TD-DFT and optical activity, *J. Mol. Struct.* 1312 (2024) 138351.
- [20] L.H.S. Santos, R.S. Ferreira, E.R. Caffarena, Integrating Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulations, *Methods. Mol. Biol.* 2053 (2019) 13-34
- [21] J. Fan, A. Fu, L. Zhang, Progress in molecular docking, *Quant. Biol.* 7 (2019) 83–89.
- [22] F. Turkan, A. Cetin, P. Taslimi, H.S. Karaman, İ. Gulçin, Synthesis, characterization, molecular docking and biological activities of novel pyrazoline derivatives, *Arch. Pharm. (Weinheim)*. 352(6) (2019) e1800359.
- [23] W. Derafaa, D. Aggouna, Z. Messasmaa, S. Houchi, S. Bouacida, A. Ourari, An unexpected single crystal structure of nickel(II) complex: Spectral, DFT, NLO, magnetic and molecular docking studies, *J. Mol. Struct.* 1264 (2022) 13319.
- [24] M. M. Abd-Elzaher, A. A. Labib, H. A. Mousa, S. A. Moustafa, M. M. Ali, A. A. El-Rashedy, Synthesis, anticancer activity and molecular docking study of Schiff base complexes containing thiazole moiety, *Beni-Suef univ. j. basic appl. sci.* 5 (2016) 85-96.
- [25] M.H. Abdel-Rhman, M.A. Hussien, H.M. Mahmoud, N.M. Hosny, Synthesis, characterization, molecular docking and cytotoxicity studies on N-benzyl-2-isonicotinoylhydrazine-1-carbothioamide and its metal complexes, *J. Mol. Struct.* 1196 (2019) 417-428.
- [26] H. Azizian, K. Pedrood, A. Moazzam, Y. Valizadeh, K. Khavaninzadeh, A. Zamani, M. Mohammadi-Khanaposhtani, S. Mojtavavi, M.A. Faramarzi, S. Hosseini, Y. Sarrafi, H. Adibi, B. Larijani, H. Rastegar, M. Mahdavi, Docking study, molecular dynamic, synthesis, anti- $\alpha$ -glucosidase assessment, and ADMET prediction of new benzimidazole-Schiff base derivatives. *Sci. Rep.*, 12 (2022) 14870.
- [27] S. Kouser, M. Joythi, A.B. Begum, M. Asha, F.H. Al-Ostoot, D. Lakshmeesha, et al, Molecular docking, synthesis and antimicrobial evaluation of metal complexes with Schiff base. *Results. Chem.* 5 (2023) 100650.

[28] M.Taha, F. Rahim, K. Zaman, E. H. Anouar, N. Uddin, F. Nawaz, M. Sajid, K. M. Khan, A. A. Shah, A. Wadood, A.U. Rehman & A.H. Alhibshi, Synthesis, *in vitro* biological screening and docking study of benzo[*d*]oxazole *bis* Schiff base derivatives as a potent anti-Alzheimer agent, J. Biomol. Struct. Dyn. 41 (2023) 1649-1664

[29] L. Adjissi, N. Chafai, K. Benbouguerra, I. Kirouani, A. Hellal, H. Layaida, M. Elkolli, C. Bensouici, S. Chafaa, Synthesis, characterization, DFT, antioxidant, antibacterial, pharmacokinetics and inhibition of SARS-CoV-2 main protease of some heterocyclic hydrazones, J. Mol. Struct. 1270 (2022) 134005.

[30] L. Adjissi, N. Chafai, K. Benbouguerra, I. Kirouani, A. Hellal, H. Layaida, M. Elkolli, C. Bensouici, S. Chafaa, New aromatic hydrazones: Synthesis, structural analysis, DFT study, biological activity, ADME-T properties and *in silico* evaluation of their inhibition of SAS-CoV-2 main protease, J. Mol. Struct. 1279 (2023) 134997.

# **Conclusion générale**

### **Conclusion générale**

L'objectif de ce travail est de synthétiser de nouvelles molécules hétérocycliques biologiquement actives. Sur cela, nous avons synthétisé et caractérisé une série de molécules bases de Schiff dérivées de l'acide déhydroacétique.

Les derniers ont été synthétisées en utilisant la méthode classique de synthèse à reflux ; tous les composés ont donné de bons rendements (75-99 %), à l'exception du composé L6 ((E)-4-hydroxy-6-méthyl-3-(1-((2-méthylquinolin-4-yl) imino) ethyl)-2H-pyran-2-one)), qui a donné un rendement légèrement moins bon par rapport aux autres composés (47%). Les techniques de caractérisation utilisées, tel que les méthodes spectrales (UV-visible, FT-IR, RMN <sup>1</sup>H et RMN <sup>13</sup>C) et le point de fusion ont confirmé bien les structures des molécules attendues.

L'étude cristallographique par la diffraction des rayons X (DRX) indique que le ligand L2 cristallise dans un système monoclinique, la structure révèle l'existence d'une molécule ionique zwitterionique stable, le proton de chaque groupe enol se déplaçant vers le groupe fonctionnel imine.

Une étude de l'activité de la catécholase a été menée sur les ligands L1-L5, utilisant des complexes formés *in situ* avec les sels métalliques de cuivre Cu (II) à des conditions atmosphériques modérées, Les résultats indiquent que tous les composés catalysent l'oxydation de catechol en *o*-quinone à des vitesses d'oxydations variables. L'étude catalytiques des ligands L1 et L5 est faite dans le méthanol par contre L2, L3, et L4 est fait dans l'acétonitrile car ces derniers sont peut soluble dans le méthanol. La nature du solvant, le type de contre ion, la concentration et la nature de ligand et sont des paramètres qui influencent cette activité.

Évaluation *in vitro* de l'efficacité antioxydante des ligands L1-L5 montre que sauf le ligand L1 qui présente une activité par les trois méthodes utilisées (DPPH, ABTS et phénanthroline) et le ligand L5 par la méthode de phénanthroline, mais leurs capacités comme agent antioxydants restent faible en comparaison avec les valeurs d'IC<sub>50</sub> des standards BHA et BHT.

Dans l'évaluation de l'activité antibactérienne, les bactéries étudiés *Enterococcus faecalis* (G+) et *Escherichia coli* (G-) montre une résistance très élevés aux ligands testés (L1-L5), à l'exception du composé L6, qui a montré une inhibition contre la bactérie *Enterococcus faecalis*, mais son activité est faible par rapport à celle de la gentamycine utilisé comme contrôle positif.

Les résultats de l'activité anticancéreuse réalisée *in vitro* pour les deux ligands L6 et L7 sur un cancer gastrique révèlent que ces deux molécules testés présentent une activité

## Conclusion générale

---

antiproliférative, pour les deux molécules l'IC<sub>50</sub> des cellules AGS est inférieure à celle des cellules HUVEC, ce qui signifie que les bases de Schiff présentent une plus grande cytotoxicité pour les cellules cancéreuses que pour les cellules normales. En comparant l'IC<sub>50</sub> de chaque composé, le composé 6 est plus puissant.

Le calcul des indices de réactivité chimique de ligand L2 tel que le potentiel d'ionisation (I), la dureté ( $\eta$ ), la douceur (S), l'électronégativité globale ( $\chi$ )...etc montre que ce composé est très stable, dure et moins réactif ce qu'est en accord avec les résultats expérimentales de l'activité biologique.

Les résultats de docking moléculaire de ligand L1 et L2 contre le NADPH oxydase (enzyme responsable de la production des radicaux libres) indiquent que le complexe L2/NADPH-oxydase a l'énergie la plus négatif donc il a une capacité inhibitrice supérieure à celle de complexe L1/ NADPH. Les interactions entre les ligands et les acides aminés de sites actifs de l'enzyme NADPH-oxydase font par deux types d'interactions : forces de van der Waals qui est la plus dominante énergétiquement, et la liaison hydrogène.

En guise de perspectives, nous proposons ce qui suit :

- Synthèse des complexes de Cu(II) et faire une étude comparative avec les complexes formés *in situ* dans l'activité catécholase.
- Synthèse des complexes avec les différents métaux de transition pour évaluer leur activité biologique.
- Optimisation de l'activité antioxydante en modifiant la structure des molécules synthétisées.

## **Techniques spectroscopiques**

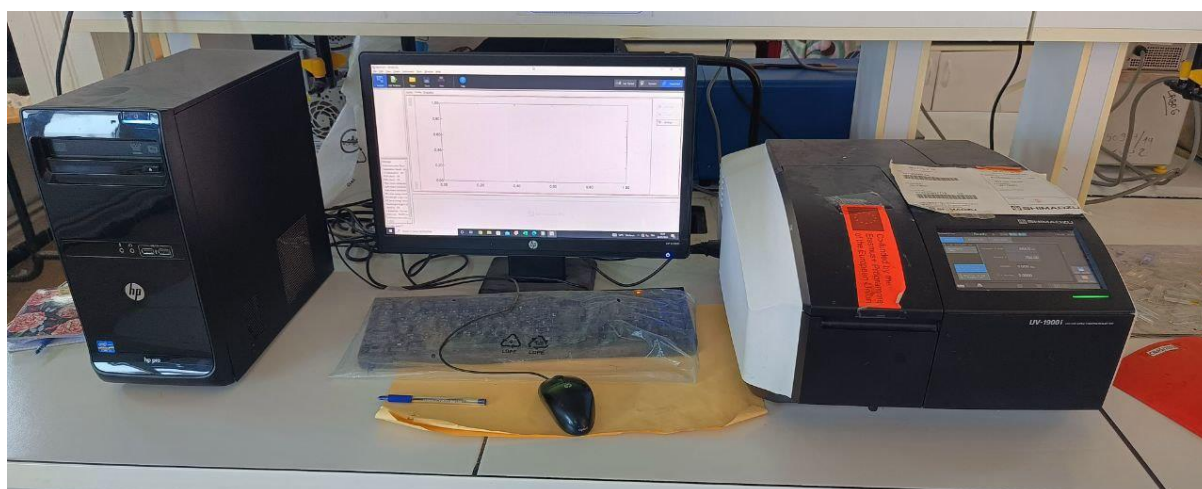
### **Spectroscopie UV-visible :**

La spectroscopie ultraviolet-visible (UV-Vis) est considérée comme la technique spectrophotométrique la plus importante et la plus largement utilisée pour l'analyse d'une variété de composés en phase liquide et à l'état solide (sous forme de poudre). C'est une technique d'analyse qualitative et quantitative, le principe de cette technique repose sur l'absorption de la lumière UV et visible par les molécules, entraînant l'excitation de leurs électrons d'un niveau d'énergie inférieur à un niveau d'énergie supérieur. Le domaine d'absorption de la spectroscopie UV-Visible s'étend généralement de 200 à 800 nm :

200-400 nm : ultraviolet (UV) pour l'analyse des composés incolores.

400-800 nm : visible pour l'analyse des composés colorés.

Dans le cadre de notre étude, l'analyse des spectres UV-visible est réalisée au sein de laboratoire du génie d'environnement Université Mohamed El Bachir El Ibrahim de Bordj Bou Arréridj, utilisant le spectrophotomètre UV-1900 I Shimadzu connecté à un ordinateur, dans le domaine 200-1100 nm.



### **Spectroscopie Infra-rouge :**

La spectroscopie IR peut être définie comme l'étude de l'interaction d'une onde électromagnétique avec la matière. Les pics du spectre IR d'un échantillon représentent l'excitation des modes vibrationnels des molécules de l'échantillon et sont donc associés aux différentes liaisons chimiques et groupes fonctionnels présents dans les molécules. C'est parmi les techniques utilisées par les chimistes pour l'étude de la structure. La spectroscopie infrarouge

(IR) joue un rôle supplémentaire en identifiant les groupes fonctionnels présents dans les molécules. Le domaine infrarouge est classé en trois catégories :

- le proche infrarouge :  $12\ 500\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ .
- l'infrarouge moyen :  $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$  (C'est la région utilisé pour l'identification la caractérisation de la structure des molécules).
- l'infrarouge lointain :  $400\text{--}10\text{ cm}^{-1}$ .

Le spectre IR a été réalisé sur un spectromètre Shimadzu IRSpirit-T à l'état solide dans le domaine  $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ , dans le laboratoire Croissance Et Caractérisation De Nouveaux Semi-conducteurs (LCCNS) Faculté de technologie, Université Ferhat Abbas Sétif 1.



### **Résonance magnétique nucléaire (RMN) :**

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) est une technique puissante pour la caractérisation des structures moléculaires. Le principe de cette technique basé sur l'interaction des moments magnétiques des noyaux de divers atomes (ceux qui ont un nombre impair de protons ou de neutrons possèdent un spin et un moment magnétique non nuls) avec des champs magnétiques.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ , ou  $^{15}\text{N}$ , sont parmi les noyaux peuvent être détectés par spectroscopie RMN.

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  a été réalisée sur un spectromètre Burkert 400 MHz à 400 MHz en utilisant  $\text{CD}_3\text{Cl}$  à  $T=30^\circ\text{C}$ , la référence est le Tétra Méthyl Silane (TMS) ou  $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$  : 12 Protons très Blindés, Grande Sensibilité, Inerte et très Volatil et surtout facilement éliminé.

L'analyse est réalisée au crapc Lagouat et plateau technique d'analyses physico-chimique (USTHB). Les données ont été traitées et visualisées à l'aide de logiciel MestReNova.



## ANNEXE I

Tableau 1 : Solubilité des composés synthétisé dans déférentes solvants.

Solvant	Ligand						
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7
MeOH	++	+	+	+(Δ)	++	++	++
EtOH	-	-	-	-	-	-	+
Eau	-	-	-	-	-	++	++
DMF	++	+(Δ)	+(Δ)	+	+	++	++
DMSO	++	+(Δ)	+(Δ)	+(Δ)	+	+	++
Acétonitrile	++	++	++	++	++	-	++
DCM	++	-	-	++	++	+	++
CH <sub>3</sub> Cl	++	++	++	++	++	+	++
Acétone	++	-	-	++	-	-	++

++ : Soluble, + : Peu soluble, + (Δ) : soluble à chaud, - : insoluble.

## ANNEXE II

Tableau 1. Coordonnées atomiques et facteurs d'agitation thermique isotropes du ligand L2

Atome	x	y	z	U <sub>eq</sub>
O1	0.83721(12)	-0.20626(10)	0.45172(8)	0.0582(3)
O2	0.36494(11)	0.04358(9)	0.00828(8)	0.0520(2)
O3	0.04947(12)	0.10684(10)	0.26047(9)	0.0601(3)
O4	0.03266(10)	0.17708(8)	0.11018(8)	0.0482(2)
O5	1.33206(15)	-0.49295(11)	0.11076(10)	0.0692(3)
O6	1.47066(13)	-0.67727(10)	0.40658(10)	0.0665(3)
O7	1.57165(12)	-0.69207(9)	0.26111(11)	0.0652(3)
N1	0.42452(13)	-0.02068(10)	0.19302(10)	0.0453(2)
H1N	0.4346(19)	-0.0086(15)	0.1218(15)	0.067(5)
N2	1.20382(14)	-0.46810(10)	0.27388(11)	0.0515(3)
H2N	1.232(2)	-0.4601(17)	0.2042(17)	0.084(6)
C1	0.73305(16)	-0.16668(12)	0.37904(11)	0.0463(3)
C2	0.79135(16)	-0.07322(13)	0.33722(12)	0.0500(3)
H2	0.900672	-0.041547	0.350920	0.060
C3	0.68797(16)	-0.02648(12)	0.27505(11)	0.0466(3)
H3	0.726581	0.036615	0.245220	0.056
C4	0.52764(15)	-0.07239(11)	0.25661(11)	0.0435(3)
C5	0.47050(17)	-0.16871(13)	0.29617(13)	0.0555(3)
H5	0.361072	-0.202213	0.280650	0.067
C6	0.57381(17)	-0.21581(13)	0.35845(13)	0.0551(3)
H6	0.535540	-0.280611	0.386328	0.066
C7	0.31709(15)	0.02381(11)	0.22665(11)	0.0440(3)
C8	0.22853(14)	0.07370(11)	0.15037(10)	0.0407(3)
C9	0.10393(15)	0.11645(11)	0.18090(11)	0.0440(3)
C10	0.07043(15)	0.18928(12)	0.01175(11)	0.0455(3)
C11	0.17821(15)	0.14488(12)	-0.02303(11)	0.0463(3)
H11	0.198856	0.153770	-0.092642	0.056
C12	0.26364(14)	0.08366(11)	0.04356(10)	0.0415(3)
C13	0.2981(2)	0.02486(15)	0.34475(12)	0.0605(4)
H13A	0.392927	0.018175	0.394325	0.091
H13B	0.208360	-0.043063	0.335833	0.091
H13C	0.280648	0.100160	0.380641	0.091
C14	-0.02278(19)	0.25555(16)	-0.04835(14)	0.0633(4)
H14C	-0.134287	0.217570	-0.061536	0.095
H14B	-0.003392	0.253287	-0.123153	0.095
H14A	0.008276	0.339199	0.000276	0.095
C15	0.92362(15)	-0.27174(12)	0.40236(11)	0.0448(3)
C16	0.86964(16)	-0.34695(12)	0.28830(12)	0.0502(3)
H16	0.771244	-0.353065	0.238471	0.060
C17	0.96219(17)	-0.41358(12)	0.24783(12)	0.0509(3)
H17	0.925867	-0.465489	0.170224	0.061
C18	1.10686(16)	-0.40435(11)	0.32034(12)	0.0460(3)
C19	1.16046(16)	-0.32775(13)	0.43453(12)	0.0516(3)
H19	1.259852	-0.320153	0.483953	0.062
C20	1.06799(16)	-0.26260(13)	0.47577(12)	0.0510(3)
H20	1.103269	-0.211971	0.553860	0.061

C21	1.27278(15)	-0.54045(11)	0.31800(12)	0.0459(3)
C22	1.38032(16)	-0.58220(11)	0.26454(12)	0.0475(3)
C23	1.40356(18)	-0.55480(13)	0.16024(13)	0.0549(3)
C24	1.51305(19)	-0.60254(14)	0.11161(15)	0.0647(4)
H24	1.530483	-0.586721	0.043327	0.078
C25	1.58963(18)	-0.66806(13)	0.16066(17)	0.0657(4)
C26	1.46975(16)	-0.65094(12)	0.31700(14)	0.0529(3)
C27	1.22828(19)	-0.57863(13)	0.41628(13)	0.0564(3)
H27A	1.136967	-0.554727	0.426802	0.085
H27B	1.315932	-0.539975	0.488002	0.085
H27C	1.202970	-0.666066	0.398024	0.085
C28	1.7033(2)	-0.72424(17)	0.1183(2)	0.0946(7)
H28A	1.718986	-0.701565	0.049868	0.142
H28B	1.661608	-0.811837	0.097486	0.142
H28C	1.803496	-0.695905	0.179991	0.142

Tableau 2. Facteurs d'agitation thermiques anisotropes du ligand L2

ATOME	U11	U22	U33	U23	U13	U12
O1	0.0711(6)	0.0811(7)	0.0476(5)	0.0292(5)	0.0263(5)	0.0510(6)
O2	0.0522(5)	0.0693(6)	0.0510(5)	0.0229(5)	0.0250(4)	0.0349(5)
O3	0.0612(6)	0.0781(7)	0.0588(6)	0.0274(5)	0.0349(5)	0.0305(5)
O4	0.0445(5)	0.0572(5)	0.0530(5)	0.0188(4)	0.0221(4)	0.0249(4)
O5	0.0920(8)	0.0726(7)	0.0729(7)	0.0374(6)	0.0473(6)	0.0425(6)
O6	0.0684(7)	0.0676(7)	0.0748(7)	0.0312(6)	0.0204(6)	0.0330(6)
O7	0.0518(6)	0.0537(6)	0.0972(8)	0.0203(6)	0.0305(6)	0.0239(5)
N1	0.0474(6)	0.0490(6)	0.0453(6)	0.0185(5)	0.0143(5)	0.0207(5)
N2	0.0601(7)	0.0507(6)	0.0617(7)	0.0253(6)	0.0321(6)	0.0283(5)
C1	0.0544(8)	0.0564(7)	0.0414(6)	0.0191(6)	0.0198(6)	0.0315(6)
C2	0.0452(7)	0.0652(8)	0.0514(7)	0.0244(7)	0.0221(6)	0.0241(6)
C3	0.0503(7)	0.0524(7)	0.0471(7)	0.0221(6)	0.0219(6)	0.0204(6)
C4	0.0464(7)	0.0450(7)	0.0422(6)	0.0144(5)	0.0124(5)	0.0193(5)
C5	0.0457(7)	0.0502(7)	0.0716(9)	0.0263(7)	0.0133(6)	0.0134(6)
C6	0.0583(8)	0.0495(8)	0.0669(9)	0.0289(7)	0.0215(7)	0.0200(6)
C7	0.0456(7)	0.0407(6)	0.0454(7)	0.0119(5)	0.0144(5)	0.0133(5)
C8	0.0393(6)	0.0416(6)	0.0419(6)	0.0111(5)	0.0140(5)	0.0136(5)
C9	0.0423(6)	0.0460(7)	0.0454(7)	0.0123(5)	0.0167(5)	0.0146(5)
C10	0.0424(7)	0.0506(7)	0.0471(7)	0.0160(6)	0.0153(5)	0.0177(6)
C11	0.0461(7)	0.0572(8)	0.0434(6)	0.0181(6)	0.0181(5)	0.0227(6)
C12	0.0378(6)	0.0452(6)	0.0424(6)	0.0106(5)	0.0137(5)	0.0154(5)
C13	0.0781(10)	0.0700(9)	0.0506(8)	0.0264(7)	0.0273(7)	0.0384(8)
C1	0.0625(9)	0.0768(10)	0.0698(10)	0.0323(8)	0.0262(8)	0.0403(8)
C15	0.0505(7)	0.0483(7)	0.0484(7)	0.0219(6)	0.0220(6)	0.0241(6)
C16	0.0467(7)	0.0532(7)	0.0522(8)	0.0165(6)	0.0120(6)	0.0202(6)
C17	0.0582(8)	0.0459(7)	0.0493(7)	0.0125(6)	0.0157(6)	0.0197(6)
C18	0.0500(7)	0.0419(6)	0.0571(8)	0.0206(6)	0.0245(6)	0.0204(6)
C19	0.0450(7)	0.0528(7)	0.0583(8)	0.0170(6)	0.0121(6)	0.0206(6)

**Tableau 3.** Distances (Å) inter atomiques du Ligand L2

Liaison (Atome 1— Atome 2)	Distance
O1—C15	1.3765(15)
O1— C1	1.3934(14)
O2 —C12	1.2543(14)
O3 —C9	1.2098(15)
O4—C10	1.3600(15)
O4—C9	1.3973(15)
O5—C23	1.2617(17)
O6—C26	1.2098(17)
O7—C25	1.365(2)
O7—C26	1.3910(17)
N1—C7	1.3227(16)
N1—C4	1.4273(15)
N1—H1N	0.939(17)
N2—C21	1.3230(16)
N2—C18	1.4285(16)
N2—H2N	0.968(19)
C1—C6	1.372(2)
C1—C2	1.3762(19)
C2—C3	1.3785(18)
C2—H2	0.9400
C3—C4	1.3813(18)
C3—H3	0.9400
C4—C5	1.3832(18)
C5—C6	1.3818(19)
C5—H5	0.9400
C6—H6	0.9400
C7—C8	1.4221(17)
C7—C13	1.4967(18)
C8—C9	1.4430(17)
C8—C12	1.4434(16)
C10— C11	1.3306(17)
C10— C14	1.4810(18)
C11— C12	1.4361(17)
C11— H11	0.9400
C13— H13A	0.9700
C13— H13B	0.9700
C13— H13C	0.9700
C14— H14C	0.9700
C14 —H14B	0.9700
C14— H14A	0.9700
C15— C16	1.3771(19)
C15 —C20	1.3801(18)
C16 —C17	1.3868(18)
C16 —H16	0.9400
C17— C18	1.3774(19)
C17— H17	0.9400

C18— C19	1.3840(19)
C19— C20	1.3787(18)
C19— H19	0.9400
C20— H20	0.9400
C21— C22	1.4227(18)
C21— C27	1.4896(18)
C22— C26	1.4399(19)
C22— C23	1.4408(19)
C23 —C24	1.439(2)
C24— C25	1.321(2)
C24 —H24	0.9400
C25— C28	1.489(2)
C27— H27A	0.9700
C27— H27B	0.9700
C27— H27C	0.9700
C28— H28A	0.9700
C28 —H28B	0.9700

Tableau 4. Angles (°) de liaisons du Ligand L2

Liaison (Atome 1—Atome 2—Atome 3)	Angle (°)
C15— O1 —C1	118.34(10)
C10—O4—C9	122.11(9)
C25—O7—C26	122.18(12)
C7—N1—C4	127.27(11)
C7—N1—H1N	112.0(10)
C4—N1—H1N	120.5(10)
C21—N2—C18	127.62(12)
C21—N2—H2N	109.7(11)
C18—N2—H2N	122.7(11)
C6—C1—C2	121.37(12)
C6—C1—O1	118.75(12)
C2—C1—O1	119.68(12)
C1—C2—C3	119.40(12)
C1—C2—H2	120.3
C3—C2—H2	120.3
C2—C3—C4	119.98(12)
C2—C3—H3	120.0
C4—C3—H3	120.0
C3—C4—C5	119.92(12)
C3—C4—N1	118.33(11)
C5—C4—N1	121.72(12)
C6—C5—C4	120.18(13)
C6—C5—H5	119.9
C4—C5—H5	119.9
C1—C6—C5	119.08(13)
C1—C6—H6	120.5
C5—C6—H6	120.5
N1—C7—C8	118.17(11)
N1—C7—C13	119.22(12)

C8—C7—C13	122.56(11)
C7—C8—C9	119.70(11)
C7—C8—C12	120.63(11)
C9—C8—C12	119.67(11)
O3—C9—O4	113.60(11)
O3—C9—C8	129.00(12)
O4—C9—C8	117.40(10)
C11—C10—O4	122.17(11)
C11—C10—C14	126.19(12)
O4—C10—C14	111.64(11)
C10—C11—C12	121.39(12)
C10—C11—H11	119.3
C12—C11—H11	119.3
O2—C12—C11	119.53(11)
O2—C12—C8	123.45(11)
C11—C12—C8	117.01(10)
C7—C13—H13A	109.5
C7—C13—H13B	109.5
H13A—C13—H13B	109.5
C7—C13—H13C	109.5
H13A—C13—H13C	109.5
H13B—C13—H13C	109.5
C10—C14—H14C	109.5
C10—C14—H14B	109.5
H14C—C14—H14B	109.5
C10—C14—H14A	109.5
H14C—C14—H14A	109.5
H14B—C14—H14A	109.5
O1—C15—C16	123.31(12)
O1—C15—C20	116.09(12)
C16—C15—C20	120.55(12)
C15—C16—C17	119.20(12)
C15—C16—H16	120.4
C17—C16—H16	120.4
C18—C17—C16	120.59(13)
C18—C17—H17	119.7
C16—C17—H17	119.7
C17—C18—C19	119.71(12)
C17—C18—N2	119.23(12)
C19—C18—N2	120.93(12)
C20—C19—C18	119.96(12)
C20—C19—H19	120.0
C18—C19—H19	120.0
C19—C20—C15	119.98(13)
C19—C20—H20	120.0
C15—C20—H20	120.0
N2—C21—C22	117.65(12)
N2—C21—C27	118.69(11)
C22—C21—C27	123.59(12)
C21—C22—C26	119.37(12)

*ANNEXES*

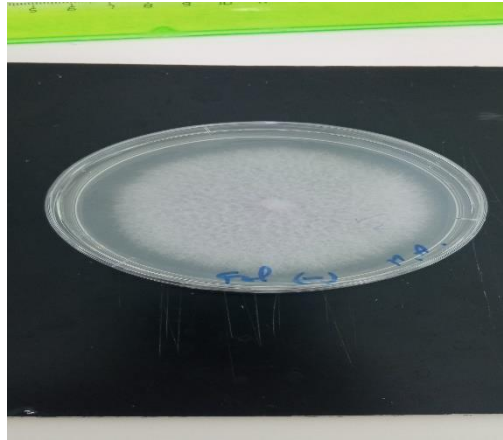
---

C21—C22—C23	121.14(12)
C26—C22—C23	119.48(12)
O5—C23—C24	119.82(14)
O5—C23—C22	123.11(13)
C24—C23—C22	117.07(14)
C25—C24—C23	121.56(15)
C25—C24—H24	119.2
C23—C24—H24	119.2
C24—C25—O7	121.93(13)
C24—C25—C28	126.88(18)
O7—C25—C28	111.19(16)
O6—C26—O7	113.92(13)
O6—C26—C22	128.33(13)
O7—C26—C22	117.74(13)
C21—C27—H27A	109.5
C21—C27—H27B	109.5
H27A—C27—H27B	109.5
C21—C27—H27C	109.5
H27A—C27—H27C	109.5
H27B—C27—H27C	109.5
C25—C28—H28A	109.5
C25—C28—H28B	109.5
H28A—C28—H28B	109.5
C25—C28—H28C	109.5
H28A—C28—H28C	109.5

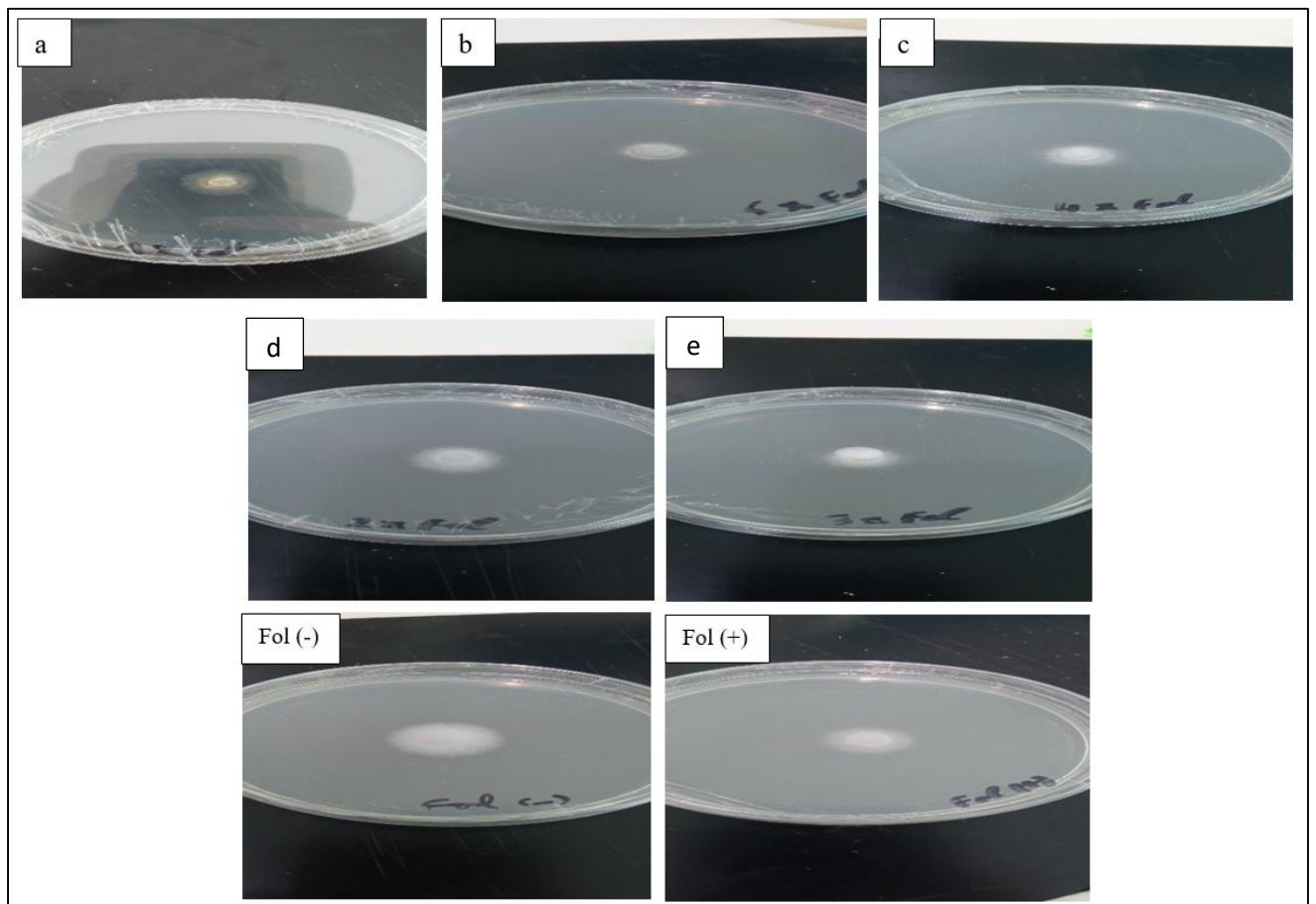
---

### ANNEXE III

#### Activité antifongique



**Figure 1:** Champignon *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici*



Fol (-) : milieu de culture PDA ; Fol (+) : DMSO

**Figure 2 :** Résultats de l'activité antifongique des molécules synthétisées (a-e) →(L1-L5) contre *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici*.

## Résumé :

Une série de composés hétérocycliques dérivés de l'acide déhydroacétique ont été synthétisés, et leurs structures ont été caractérisées par des méthodes spectroscopiques FT-IR, UV-vis,  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  NMR, une analyse structurale a été réalisée en utilisant la diffraction des rayons X (DRX). Les complexes de cuivre Cu (II) formés *in situ* avec les bases de Schiff synthétisées sont utilisés dans la catalyse visant à imiter l'activité de l'enzyme catéchol oxydase, qui catalyse la réaction d'oxydation du catéchol en *o*-quinone. L'examen de l'activité antioxydante réalisé à l'aide de trois méthodes (DPPH, ABTS et phénanthroline) et l'évaluation de l'activité antibactérienne contre deux souches bactériennes (*Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis*) indiquent une faible efficacité des composés examinés. Cependant, les études antiprolifératives sur les cellules cancéreuses gastriques AGS ont donné des résultats satisfaisants. Une analyse théorique utilisant la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) a également été réalisée pour étudier la réactivité et la stabilité de l'une des molécules synthétisées. De plus, deux ligands ont été étudiés par docking moléculaire pour leur potentiel contre une enzyme responsable de la génération de radicaux libres, à savoir la NADPH oxydase.

**Mots clés :** Molécules hétérocycliques, acide déhydroacétique, étude catalytique, étude biologique, DFT, docking moléculaire.

## Abstract

A series of heterocyclic compounds derived from dehydroacetic acid have been synthesized, and their structures were characterized by FT-IR, UV-vis,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopic methods, a structural analysis was performed using X-ray diffraction (XRD). Copper Cu (II) complexes formed *in situ* with the synthesized Schiff bases are used in the catalytic that aimed to mimic the activity of the catechol oxidase enzyme, which catalyzes the oxidation reaction of catechol to *o*-quinone. The examination of antioxidant activity conducted using three methods (DPPH, ABTS, and phenanthroline) and the assessment of antibacterial activity against two bacterial strains (*Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis*) indicate a low efficacy of the examined compounds. However, antiproliferative studies on AGS gastric cancer cells showed satisfactory results. Theoretical analysis using density functional theory (DFT) was also carried out to study the reactivity and stability of one of the molecules synthesized. Furthermore, two ligands were studied by molecular docking for their potential against an enzyme responsible for generating free radicals, specifically NADPH oxidase.

**Key words:** Heterocyclic molecules, dehydroacetic acid, catalytic study, biological study, DFT, molecular docking.

## ملخص

تم تحضير سلسلة من المركبات الحلقية غير المتجانسة المشتقة من حمض ديهيدرو أسيتيك وتم توصيف بنيتها باستخدام طرق التحليل الطيفي FT-IR، UV-vis،  $^1\text{H}$  RMN، و  $^{13}\text{C}$  RMN وتم إجراء تحليل هيكلية باستخدام حيود الأشعة السينية (DRX). تم استخدام معقدات النحاس النحاس (II) التي تشكلت في الموقع مع قواعد شيف المركبة في التحفيز الذي يهدف إلى محاكاة نشاط إنزيم أوكسيداز الكاتيكول، الذي يحفز تفاعل أكسدة الكاتيكول إلى أو-كوينون. يشير فحص النشاط المضاد للأكسدة الذي تم إجراؤه باستخدام ثلاث طرق (DPPH و ABTS و phénanthroline) وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا ضد سلالتين بكتيريتين (الإشريكية القولونية والمكورات المعوية البرازية) إلى فعالية منخفضة للمركبات التي تم فحصها. ومع ذلك، أظهرت الدراسات المضادة للتكاثر على خلايا سرطان المعدة AGS نتائج مرضية. كما تم إجراء تحليل نظري باستخدام نظرية الكثافة الوظيفية (DFT) لدراسة تفاعلية واستقرار أحد الجزيئات التي تم تركيبها. تمت دراسة اثنين من قواعد شيف عن طريق الالتحام الجزيئي لقدرتهما على تثبيط إنزيم مسؤول عن توليد الجذور الحرة (NADPH-oxidase).

**الكلمات المفتاحية:** الجزيئات الغير المتجانسة الحلقية، حمض ديهيدرو أسيتيك، دراسة تحفيزية، دراسة بيولوجية، الالتحام الجزيئي.