

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة محمد البشير الإبراهيمي-برج بوعريريج

UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI – BORDJ BOUARRERIDJ
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Matière



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master

Filière : Chimie
Spécialité : Chimie analytique

Intitulé

**Synthèse, évaluation de l'activité antioxydante et
antibactérienne d'un nouveau acide α -aminophosphonique**

Présenté Par :

Madi Djelloul

Abloul Mohamed

Le : 25 / 06 /2023

Jury de soutenance :

Présidente	: TABTI Salima	MCA	Université B.B.A
Encadreur	: MEHRI Mouna	MCB	Université B.B.A
Co- Encadreur	: MOUMENI Ouahiba	MCB	Université Sétif-1
Examineur	: KHALADI M. Ridha	Pr	Université B.B.A

REMERCIEMENTS

Avant tout je remercie, Allah Tout Puissant, de nous avoir donné la force, le courage et la volonté pour la réalisation de ce modeste travail.

Ce travail a été réalisé au sein de deux laboratoires : laboratoire d'Electrochimie des Matériaux Moléculaires et Complexes (LEMMC) de l'université Ferhat ABBAS Sétif-1 et laboratoire du Centre Algérien de Contrôle de la Qualité et de l'Emballage CACQE de Bejaia.

Nous tenons tout d'abord à exprimer nos remerciements les plus sincères à Dr. MEHRI Mouna notre promotrice et sa collaboratrice Dr. MOUMENI Ouahiba de nous avoir accueilli dans leur laboratoire et d'avoir proposé ce sujet de mémoire.

Nos sincères remerciements aux membres du jury Pr. KHELLADI Mohamed Ridha et TABTI Salima, enseignants à l'université de Bordj Bou-Arredj, qui ont accepté de juger ce modeste travail.

Nous adressons nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à :

Dr. KERKOUR Rachida enseignante à l'université de Sétif 1

Mme M. TAZAROUTE inspectrice divisionnaire et Directrice de laboratoire CACQE de Bejaia.

Melle MAOUCHE Nouria inspectrice principale en chef et chef du département de microbiologie au laboratoire CACQE de Bejaia et son équipe (Katia, Souhila et Chafia).

Pour leur soutien et leurs encouragements.

Nous tenons à remercier Monsieur Messis Alaziz, Younes arroul, Iyad Belouahri, et

Melle Amira Bourouba et Tinhinane Louaileche pour leurs conseils.

Enfin, nous tenons à remercier, tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail

A la mémoire de ma mère.

A mon père.

A ma femme pour son soutien et encouragement.

A mes enfants Mohamed Amin, Amel et Sarah.

A mes frères et sœurs.

A mes amis Ibrahim. H, Mustafa B, Noureddine,

Nabil et Bachir

A toute la promo de Master « chimie analytique 2023 »

Djelloul Madi

DEDICACE

Aux très

*Qui me sont les plus chers au monde, aux quels je ne pourrai jamais
exprimer ma gratitude et ma reconnaissance en quelques lignes, je
dédie humblement ce mémoire ...*

*A toi, très cher père Bouzid, qui m'a encouragé tout au long de ma
vie.*

*A toi, très chère mère Toufika Source de tendresse je te dédie ce
travail avec ma profonde admiration.*

A mes très chères sœurs : Ahleme et Aya

A mos très cher frère : Siefdine

Merci pour ton soutien indéfectible durant toutes ces années.

A toutes mes amis.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à ce travail.

ABLOUL Mohamed

SOMMAIRE

Liste des abréviations	i
Liste des figures.....	ii
Tableaux.....	iv
Sommaire.....	v
Introduction	01

Chapitre I : Généralité sur les organophosphorés, les antibiotiques et les antioxydants

I.1. Composés organophosphorés	4
I.1.1. Phosphonates	5
I.1.2. Propriétés des phosphonates	6
I.1.3. Classification des phosphonates.....	6
I.1.3.1. Biphosphonates	6
I.1.3.2. Nucléosides phosphonates	7
I.1.3.3. α -hydroxyphosphonates	7
I.1.3.4. Alkyles (ou aryles) -phosphonates	8
I.1.3.5. Polyphosphonates	8
I.1.3.6. Acides α -aminophosphoniques et leurs esters α -aminophosphonates	8
I.1.4. Méthodes de synthèse des composés phosphonates.....	9
I.1.4.1. Réaction de Michaelis-Arbuzov	9
I.1.4.2. Réaction de Michaelis-Becker	9
I.1.4.3. Réaction d'Abramov et Pudovik	10
I.1.4.4. Réaction de Kabachnik-Fields	10
I.1.4.5. Réaction de Moedritzer et Irani	11
I.1.5 Domaines d'application des phosphonates	11
I.1.5.1. Pharmacologie	11
I.1.5.2. Agriculture	12
I.1.5.3. Corrosion	12
I.1.5.4. Industrie	12
I.4.6. Toxicologie	12

I.2. Activité anti bactérienne.....	13
I.2.1. Antibiotiques.....	13
I.2.2. Classification des antibiotiques	13
I.2.2.1. Origine	13
I.2.2.2. Spectre d'activité	13
I.2.2.3. Nature chimique	14
I.2.2.4. Modalités d'action	14
I.2.2.5. Mode d'action	15
I.4.3. Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	16
I.3. Activité antioxydante	16
I.6.1. Radicaux libres.....	16
I.6.2. Antioxydants.....	17
I.3.2.1. Types d'antioxydants	17
I.3.2.2. Mécanismes d'antioxydation	18
Références du chapitre I	19

Chapitre II : Méthodes expérimentales

II.1. Méthodes de caractérisations physicochimiques	23
II.1.1. Température de fusion.....	23
II.1.2. Chromatographie sur couche mince.....	23
II.1.3. Méthodes spectroscopique	24
II.1.3.1. Spectrophotométrie UV-Visible	24
II.1.3.2. Spectroscopie infrarouge	25
II.2. Méthodes d'activités biologiques.....	28
II.2.1. Réactifs.....	28
II.2.2. Matériels biologiques utilisés.....	28
II.2.3. Détermination de l'activité antibactérienne.....	30
II.2.3.1. Espèces bactériennes testés	30
II.2.3.2. Méthode de détermination de l'activité antimicrobienne	32
II.2.4. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante	35
Références du chapitre II.....	37

Chapitre III : Synthèse et activités biologiques

III.1. Synthèse	38
III.1.1. Réactifs et solvants utilisés.....	38
III.1.2. Mode opératoire.....	39
III.1.3. Caractérisation d'acide synthétisé.....	39
III.1.3.1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	39
III.1.3.2. Teste de solubilité.....	40
III.1.3.3. Température de fusion.....	41
III.1.3.4. Caractérisations spectrales	41
III.1.4. Mécanisme réactionnel.....	45
III. 2. Evaluation de l'activité biologique de l'acide α aminophosphonique.....	46
III.2.1. Activité antibactérienne.....	46
III.2.2. Activité antioxydante de l'acide α -aminophosphonique par la méthode DPPH..	50
<i>Références bibliographique</i>	53
Conclusion	54

Liste des abréviations

RMCs : Chimie des réactions multi composantes (RMCs).	BPs : biphosphonates
CCM : Chromatographie sur couche minces.	DO : Densité Optique.
One pot : Réaction à trois composants.	R% : Rendement.
NCCLS : Comité national des normes pour laboratoires cliniques.	UV : Ultraviolet.
NCCLS : Comité national des normes pour laboratoires cliniques.	nm : Nanomètre.
UICPA . L'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée.	A : Absorbance.
I₀ : Intensité de la lumière incidente.	T : Transmittance.
I : Intensité de la lumière transmise.	mg : Milligramme.
ε : Coefficient d'extinction molaire.	ml : Millilitres.
c : Concentration de la solution en mol/l.	°C : Degrés Celsius.
OMS : organisation mondial de la santé	H : Heure.
DZI : Diamètre de la zone d'inhibition.	% : Pourcentage.
DPPH : 2,2 diphényl-1-picryl hydrazyl.	
BHT : Butylhydroxytoluène	
% RSA_{DPPH} : Pourcentage d'inhibition	
λ_{max} : Longueurs d'onde.	
l : Epaisseur de la cuve.	
v : Fréquence de vibration (cm ⁻¹).	
MH : Muller-Hinton.	
E. coli : Escherichia coli.	
P. aeruginosa : Pseudomonas aeruginosa.	
B. subtilis : Bacillus subtilis.	
S. aureus : Staphylococcus aureus.	
OP : Organophosphorés.	
CMI : Concentration minimale inhibitrice en mg/ml.	
UFC : unité formant colonie.	
KBr : bromure de potassium.	
NaCl : chlorure de sodium.	
DMSO : Diméthylsulfoxyde.	

Liste des figures

Figure I. 1 : Structure chimique des (a) phosphates et (b) phosphonates	5
Figure I. 2 : Structure chimique des (a) acides bisphosphoniques, (b) sphosphonate.....	7
Figure I. 3 : Structure chimique des nucléosides : (a) phosphonates, (b) nucléosides.....	7
Figure I. 4 : Structure chimique des (a) α -hydroxyphosphonates, (b) acides α -hyphosphoniques	7
Figure I. 5 : Structure chimique des (a) alkyles-phosphonates, (b) acide phosphonique.....	8
Figure I. 6 : Structure chimique des polyphosphonates.....	8
Figure I. 7 : Structures des : (a) α -aminophosphonates, (b) acide α -aminophosphoniques (c) des acides aminés.....	9
Figure I. 8 : Réaction de Michaelis–Arbuzov.....	9
Figure I. 9 : Réaction de Michaelis-Becker.....	10
Figure I. 10 : Réaction d’Abramov et Pudovik.....	10
Figure I. 11 : Réaction de Kabachnik-Fields.....	11
Figure I. 12 : Réaction de préparation des acides α -aminométhylphosphoniques d’après Moedritzer-Irani.....	11
Figure I. 13 : structures chimiques de quelque antibiotiques	15
Figure I. 14 : Mode d’action des antibiotiques.....	
Figure II. 1 : BÜCHI Melting point B-540.....	23
Figure II. 2 : Cuve chromatographique.....	24
Figure II. 3 : Spectrophotomètre à double faisceau.....	25
Figure II. 4 : Spectromètres à transformée de Fourier (FT-IR)	28
Figure II. 5 : Instruments utilisés pour les essais biologiques.....	29
Figure II. 6 : Images microscopiques des bactéries à Gram positif testés.....	31
Figure II. 7 : Images microscopiques des bactéries à Gram négative testés.....	32
Figure II. 8 : Préparation de l’inoculum.....	33
Figure II. 9 : Filtration stérilisante.....	33
Figure II. 10 : Ensemencement.....	34
Figure II. 11 : Réduction du radical DPPH.....	35
Figure III. 1 : Synthèse de l’acide Synthèse de l’acide ([2-(pyridine-4-carbonyl) hydrazine- 1,1-diyl]bis(méthylène)) bisphosphonique.....	39

Figure III. 2 : Spectres UV-Vis enregistrés en milieux méthanolique (a) Pyridine-4-carbohydrazide 4 et (b) l'acide α -aminophosphoniqu.....	41
Figure III. 3: Spectres UV-Vis caractéristiques de l'amine et l'acide enregistré en milieu méthanolique $C=10^{-5}$ mol/l.....	42
Figure III. 4: Spectre IR de pyridine-4-carbohydrazide.....	43
Figure III. 5: Spectre IR l'acide α -aminophosphonique.....	43
Figure III. 6: Mécanisme proposé pour la formation de l'acide.....	45
Figure III. 7 : Boites de Pétrés de l'essai anti bactériennes de l'acide $C= 15$ mg/ml.....	47
Figure III. 8 : Boites de Pétrés de l'essai anti bactériennes de l'acide $C= 25$ mg/ml.....	47
Figure III. 9 : Activité antibactérienne de l'acide α -aminophosphonique.....	49
Figure III. 10: % d'inhibition en fonction de la concentration de l'acide α -aminophosphonique et BHT.....	50
Figure III. 11 : Droite linéaire de % d'inhibition de l'acide et de BHT.....	51

Liste des tableaux

Tableau I. 1 : Principales familles des composés organophosphorés.....	4
Tableau I. 2 : Différents types des espèces réactives.....	17
Tableau II. 1 : Réactifs et milieux de cultures.....	28
Tableau III. 1 : Caractères physicochimiques principaux des réactifs utilisés.....	38
Tableau III. 2: Caractères physicochimiques des solvants utilisés.....	38
Tableau III. 3: Test de solubilité du produit synthétisé et l'amine dans différents solvants.....	40
Tableau III. 4: Paramètres spectrales caractéristiques d'acide synthétisé et l'amine enregistrée en méthanol.....	43
Tableau III. 5: Principaux pics caractéristiques des vibrationsIR du produit synthétisé et les produits de départ	45
Tableau III. 6 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne au tour des puits en présence d'acide α -aminophosphonique synthétisé.....	49
Tableau III. 7: Evolution de l'absorption mesurée à $\lambda=517$ nm pour le standard BHT et l'acide α -aminophosphonique.....	51

Introduction

Aujourd'hui, la synthèse organique occupe une place importante en chimie, et avec ses exigences croissantes de coût, d'environnement, de mise en œuvre, de complexité et de diversité structurale, ces synthèses sont en fait des outils de choix pour la chimie combinatoire. Après une évolution inégale depuis leur découverte il y a plus d'un siècle, elles connaissent aujourd'hui un développement robuste [1].

Dans ce contexte, pour répondre aux exigences de la synthèse organique, l'industrie pharmaceutique a développé la chimie combinatoire, cette synthèse rapide et efficace de bibliothèques moléculaires à un impact majeur sur la découverte, également connue sous le nom : réactions multi composantes (RMCs) [2].

Depuis plusieurs années, divers rapports de recherche ont attiré l'attention sur ces réactions de synthèse catalysées par différents acides de Lewis. La synthèse de ces mêmes composés peut également être réalisée par une réaction de Kabachnik-Fields "one-pot" [3] impliquant une condensation constituée de trois composants: amine, composé carbonyle et di ou trialkylphosphite [4].

Les phosphonates sont généralement des analogues des phosphates naturels avec des propriétés chimiques et biologiques distinctes qui leur confèrent des applications biologiques et médicales [5, 6]. Dans ces composés, la liaison P-O est remplacée par une liaison P-C, ce qui donne accès à des composés résistants à l'hydrolyse enzymatique [7].

En raison de leurs applications biologiques particulières, les α -aminophosphonates et leurs acide α -aminophosphoniques sont particulièrement considérés comme une classe importante de dérivés de phosphonate. Ils ont une structure similaire aux acides aminés [8], c'est pourquoi ils entrent en compétition avec leurs analogues d'acides aminés pour l'accès au centre actif des enzymes ou d'autres cibles cellulaires. Ceci, combiné à leur faible toxicité, fait des α -aminophosphonates une source potentielle de composés pharmaceutiques [9]. Les aminophosphonates sont aussi, des agents antitumoraux [10] et peuvent même être des imitateurs de peptides [11].

En ajoutant, les α -aminophosphonates et leurs acide α -aminophosphoniques, révèlent des propriétés biologiques et biochimiques variées et intéressantes, Ils trouvent de nombreuses applications en tant qu'agents antibiotiques, herbicides, pesticides, bactéricides, antifongiques, antioxydants, inhibiteurs de diverses enzymes, y compris la protéase du VIH [12].

Notre contribution à travers ce projet de mémoire consiste à synthétiser une molécule d'acide α -aminophosphonique, notre choix s'est focalisé sur le modèle de "One pot three compounds" de la réaction d'Irani-Moedritzer, cette dernière a été caractérisée par différentes méthodes physico-chimiques et biologiques.

Les résultats obtenus sont répartis par trois chapitres.

□ **Le premier chapitre** fait l'objet d'une synthèse bibliographique sur les organophosphorées d'une façon générale et sur les α -aminophosphonates en particulier, tous en balayant sur les méthodes de synthèse et leurs applications dans différents domaines. On a présenté ainsi une étude bibliographique concernant les agents antibactériens et les antioxydants

□ **Le deuxième chapitre** est consacré aux différentes méthodes de caractérisation physico-chimique telle que spectroscopiques (UV et IR), CCM, point de fusion solubilité et biologique tel que l'activité antibactérienne et antioxydants.

□ **Dans le troisième chapitre**, nous avons présenté la méthode de synthèse et résultats et discussion.

Le manuscrit de ce mémoire est clôturé par une conclusion générale.

Références bibliographies

- [1] O. Moumeni, Synthèse d'une série d'inhibiteurs dérivés de diéthyle phénylamino) méthyle) phosphonates : étude expérimentale et théorique de l'efficacité inhibitrice de corrosion en milieu acide, thèse de doctorat, université Ferhat-Abbas – Sétif-1, 2020.
- [2] B. V. Subba Reddy, A. Siva Krishna, A. V. Ganesh, G. G. K. S. Narayana Kumar, Nano Fe₃O₄ as magnetically recyclable catalyst for the synthesis of α -aminophosphonates in solvent-free conditions, *Tetrahedron Letters*, 52 (2011) 1359-1362.
- [3] E. Bálint , Á. Tajti , A. Tripolszky, G. Keglevich, Synthesis of platinum, palladium and rhodium complexes of α -aminophosphine ligands, 47 (2018) 4755-4778.
- [4] R. Henyecz, A. Kiss, V. Mórocz, N. Zsuzsa Kiss, G. Keglevich, Synthesis of phosphonates from phenylphosphonic acid and its monoesters, *Synthetic communications*, 49 (2019) 2642-2650.
- [5] M. Attolini, G. Iacazo, G. Peiffer, Y. Charmasson, M. Maffei, Enzymatic resolution of diethyl 3-hydroxycycloalkenyl phosphonates, *Tetrahedron: Asymmetry*, 15 (2004) 827.
- [6] G. M. Blackburn, D. A. England, F. Kolkman, Monofluoro and difluoromethylene bisphosphonic acids: isopolar analogues of pyrophosphoric acid, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 134 (1981) 930-932.
- [7] E. Breuer, *The chemistry of organophosphorus compounds*, John Wiley and Sons, New York, New Y., USA, 1996.
- [8] R.A. Cherkasov, V.I. Galkin, The Kabachnik–Fields reaction: synthetic potential and the problem of the mechanism, *Russian Chemical Reviews*, 67 (1998) 857–882.
- [9] P. Kafarski, B. Lejczak, Aminophosphonic acids of potential medical importance, *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents*, 1 (2001) 301-312.
- [10] G. Lavielle, P. Hauteffaye, C. Schaeffer, J.A. Boutin, C.A. Cudenneq, A. Pierré, New α -amino phosphonic acid derivatives of vinblastine: chemistry and antitumor activity, *Journal of Medicinal Chemistry*, 34 (1991) 1998-2003.
- [11] P. Kafarski, B. Lejczak, Biological activity of aminophosphonic acids, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 63 (1991) 1932-15.
- [12] N. Onița, I. Șișu, M. Penescu, V. L. Purcarea , L. Kurunczi, Synthesis, characterization and biological activity of some α -aminophosphonates, *FARMACIA*. 58 (2010) 531-545.

Chapitre I

Généralité sur

*Les organophosphorés,
les antibiotiques et les antioxydants*

I.1. Composés organophosphorés

Un composé organophosphoré est un type de composé organique comportant au moins un atome de phosphore lié directement à un atome de carbone [1].

Ces composés se répartissent en différentes classes selon le degré d'oxydation du phosphore et la nature des substituants, notamment la présence d'un atome d'oxygène ou d'un autre chalcogène (**Tableau I. 1**) [2].

Tableau I. 1 : Principales familles des composés organophosphorés.

Composé organophosphorée	Acides correspondants
Phosphines PR_3	Acides Phosphine H_3P
Phosphinite $\text{P}(\text{R})_2(\text{OR})$	Acides phosphineux $\text{PH}_2(\text{OH})$
Phosphonite $\text{RP}(\text{OR})_2$	Acides phosphonous $\text{PH}(\text{OH})_2$
Phosphite $\text{P}(\text{OR})_3$	Acides phosphoreux $\text{P}(\text{OH})_3$
Phosphoranes PR_5	H_5P
Oxydes de phosphines $\text{P}(\text{O})\text{R}_3$	H_3PO
Phosphinate $\text{R}_2\text{P}(\text{O})(\text{OR})$	Acides phosphinique $\text{H}_2(\text{OH})\text{P}(\text{O})$
Phosphonate $\text{RP}(\text{O})(\text{OR})_2$	Acides phosphonique $\text{H}(\text{OH})_2\text{P}(\text{O})$
Phosphate $\text{P}(\text{O})(\text{OR})_3$	Acides phosphorique $(\text{OH})_3\text{P}(\text{O})$

La nomenclature des composés organophosphorés est basée sur l'état d'oxydation du centre de phosphore.

- **Les phosphines** : principalement utilisées en tant qu'agents de fumigation pour le traitement des denrées alimentaires stockées et pour le traitement biocide de matériaux divers (cuir, fibres naturelle sou transformées, bois et produits dérivés, matériaux d'emballages...). Pour ces opérations de fumigation, le produit est généré au moment du traitement par hydrolyse d'un phosphure métallique (phosphure d'aluminium ou de magnésium) avec l'eau de l'atmosphère ou du matériau à traiter [3].
- **Les phosphinites** : c'est une classe de composés organiques du phosphore dont la formule générale est $\text{P}(\text{OR})\text{R}_2$. Ces molécules sont caractérisées par deux liaisons phosphore-carbone (C-P-C), tandis que la troisième liaison avec le phosphore est via l'atome d'oxygène. Les phosphinites sont utilisés pour les réactions de stimulus homogènes et dans la chimie des complexes [4].

- **Les phosphonites** : c'est un type de composés organophosphorés avec la formule générale $P(OR)_2R$. Les phosphonites entrent dans la formation de certains pesticides, et jouent également un rôle dans les herbicides artificiels organiques [5].
- **Les phosphoranes** : c'est un groupe fonctionnel de la chimie des composés organophosphorés dans lequel l'atome de phosphore est pentavalent, dérivant structurellement du phosphorane PH_5 par substitutions avec des groupes carbonés [6].
- **Les oxydes de phosphine** : sont des composés phosphorés de formule OPX_3 . Lorsque X est un alkyle ou un aryle, on parle alors d'oxydes d'organophosphoré, avec l'oxyde de triphénylphosphine comme exemple ; Les oxydes de phosphine sont des composés thermostables, ne se décomposant qu'au-dessus de $450\text{ }^\circ\text{C}$ [7].
- **Les phosphinates** : ou les hypophosphites, est une classe de composés du phosphore dérivés de l'acide hypophosphoreux. L'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (UICPA) préfère le terme phosphinate dans tous les cas, mais dans la pratique, l'hypophosphite est habituellement utilisé pour décrire les espèces inorganiques, tandis que le phosphinate désigne habituellement les espèces organophosphorées [8].

I.1.1. Phosphonates

Phosphonates ou acides phosphoniques sont des composés organophosphorés contenant un ou plusieurs groupements $C-PO(OR)_2$ ou $C-PO(OH)_2$ avec (R =alkyl, aryle) (**Figure I. 1**). Les phosphonates sont des analogues des phosphates naturels (phosphates glycosidiques, nucléotidiques, phospholipides, phosphates produits par la glycolyse), ils ont des propriétés chimiques et biologiques différentes [9]. Dans ces composés la liaison $P-O$ est remplacée par une liaison $P-C$ plus stable, ce qui empêche leur hydrolyse par les phosphatases.

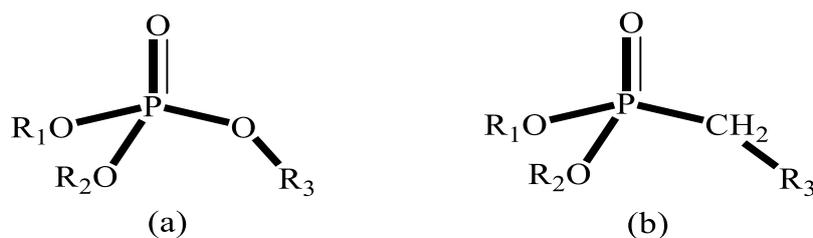


Figure I.1 : Structure chimique des (a) phosphates et (b) phosphonates (avec R =alkyl, aryle).

Les phosphonates ont été décrits pour la première fois en 1865 à Marbourg quand Nicolai Menchutkin synthétisée des biphosphonates par une réaction entre l'acide phosphoreux et les chloracetyles [9].

I.1.2. Propriétés des phosphonates

L'importance marquante des phosphonates dans tous les domaines scientifiques résulte de leurs propriétés physico-chimiques intéressantes, telles qu'ils :

- ◆ Sont des produits très stables dans les conditions chimiques rigoureuses et ne sont pas volatils.
- ◆ Sont des agents de chélation efficaces qui sont liés étroitement aux ions métalliques di et trivalents, de plus ils empêchent la formation des précipités insolubles [10].
- ◆ Sont des intermédiaires dans la synthèse des grandes classes de composés phosphoramides, phosphate(s)...etc. à cause de leur capacité de créer des liaisons carbone-carbone de manière efficace.
- ◆ Sont biodégradables dans le sol, libération des phosphates [11].
- ◆ Sont moins toxiques pour l'environnement [12].
- ◆ Les acides phosphoniques, généralement traités comme des sels, sont généralement des solides non volatils qui sont peu solubles dans les solvants organiques, mais solubles dans l'eau et les alcools courants [13].
- ◆ Sont des produits biologiquement très actifs [14].

I.1.3. Classification des phosphonates

Les principales catégories des phosphonates sont :

I.1.3.1. Biphosphonates

Les biphosphonates (BPs) et les acides biphosphoniques sont des composés organiques synthétiques, caractérisés par une structure contenant le groupement P-C-P, et ils ont la propriété de se lier avec des ions métalliques par coordination d'un atome d'oxygène de chaque groupe phosphonate avec le cation. Ce n'est que durant ces quarante dernières années que les BPs ont été utilisés comme médicaments et en particulier dans le traitement de pathologies associées au métabolisme osseux [15].

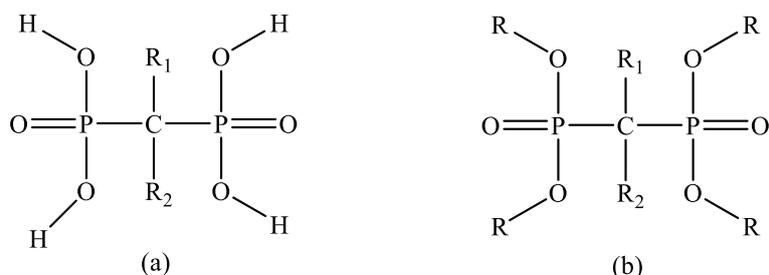


Figure I. 2 : Structure chimique des (a) acides bisphosphoniques, (b) bisphosphonate.

I.1.3.2. Nucléosides phosphonates

Les nucléosides phosphonates sont des analogues structuraux des nucléosides naturels et des acides nucléiques, où le groupement (O-PO(OR)₂) est remplacé par le groupement phosphonate (CH₂-PO(OR)₂) (**Figure I.3**). Ceux-ci peuvent agir comme des inhibiteurs compétitifs d'ADN ou d'ARN polymérases virales et cellulaires ou, en variante, peuvent être incorporés dans des ADN croissants ou des brins d'ARN, provoquant une terminaison de chaîne [16, 17].

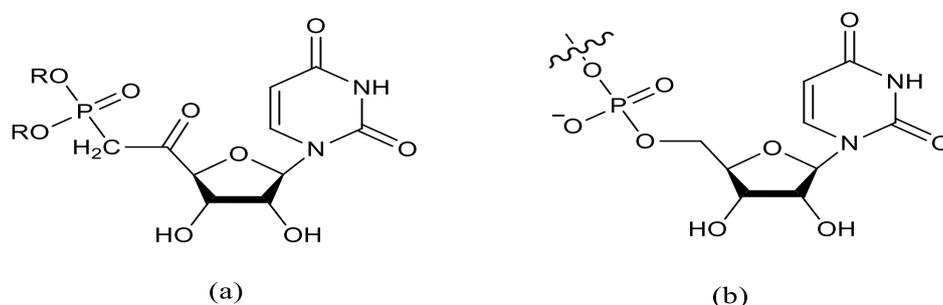


Figure I.3 : Structure chimique des nucléosides : (a) phosphonates, (b) nucléosides.

I.1.3.3. α -hydroxyphosphonates

Les α -hydroxyphosphonates sont des phosphonates où l'atome α -carbone lié au phosphore est substitué par le groupement hydroxyle. Ils ont attiré l'attention d'un grand nombre de scientifique en raison de leurs activités biologiques [18].

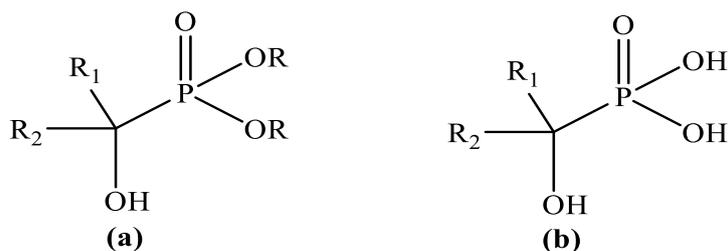


Figure I. 4 : Structure chimique des (a) α -hydroxyphosphonates, (b) acides α -hydroxyphosphoniques.

I.1.3.4. Alkyles (ou aryles) -phosphonates

Sont des composés organophosphorés dont le groupement phosphonates est lié à un radicaux alkyle ou aryle.

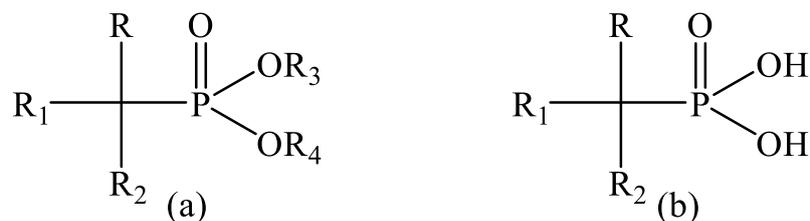


Figure I. 5 : Structure chimique des (a) alkyles-phosphonates, (b) acide phosphonique.

I.1.3.5. Polyphosphonates

Les polyphosphonates sont des macromolécules organophosphorées dont on note une répétition d'un ou plusieurs types de motifs monomères qui portent un ou plusieurs groupements phosphoniques (**Figure I. 6**). Ils présentent un large domaine d'application, notamment des applications pharmaceutiques et biomédicales [19, 20].

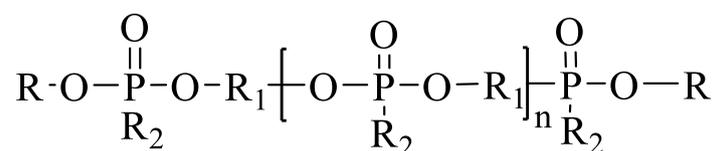


Figure I. 6 : Structure chimique des polyphosphonates (R1 : Alkylène, arylène ; R, R2 : H, Alkyle, Aryle).

I.1.3.6. Acides α -aminophosphoniques et leurs esters α -aminophosphonates

Le rôle vital des acides aminés dans la chimie de la vie et comme unités structurales de base des peptides et des protéines a conduit vers d'intenses recherches de leurs analogues. Une classe intéressante de ces analogues est formée par les acides α -aminophosphoniques et leurs esters aminophosphonates. Ces derniers sont des analogues des aminocarboxylates dans lesquels un ou plusieurs groupe(s) carboxylique(s) sont remplacés par des fonctions phosphoniques [21.23]. Ce sont des composés organiques contenant une liaison -N-C-P dans lesquels le phosphore est pentavalent (Figure I. 7).

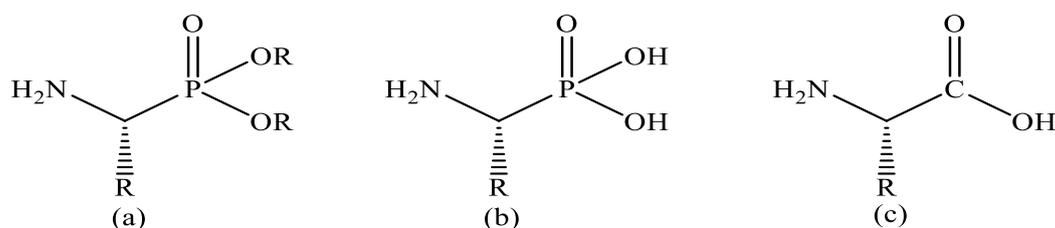


Figure I. 7 : Structures des : (a) α -aminophosphonates, (b) acides α -aminophosphoniques et (c) des acides aminés.

Les α -aminophosphonates agissant comme acides aminés, ils inhibent les enzymes impliquées dans le métabolisme des acides aminés et affectent ainsi l'activité physiologique de la cellule. Ces effets peuvent être exercés comme antibactériens, régulateurs de la croissance des plante sou neuro modulateurs [22].

I.1.4. Méthodes de synthèse des composés phosphonates

Il existe de nombreuses méthodes pour accéder aux composés phosphonates, nous citerons les méthodes les plus utilisées.

I.1.4.1. Réaction de Michaelis-Arbuzov

Cette méthodes est habituellement la plus utilisée, elle découverte par Michaelis Arbuzov et al [24, 25] en 1898, c'est une méthode simple qui parmi d'accéder aux phosphonates en faisant réagir à chaud un trialkylphosphite sur un halogénure d'alkyle en absence du solvant (Figure I.8).

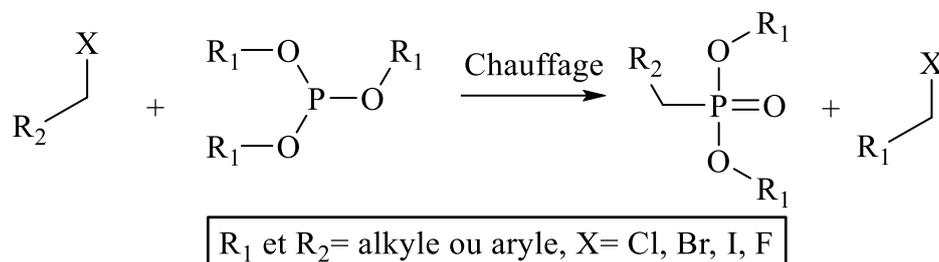
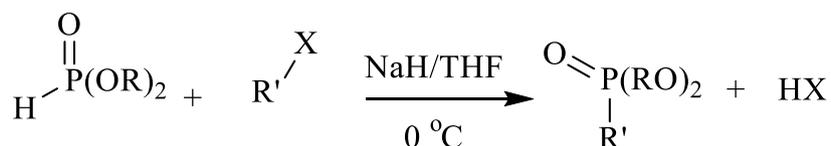


Figure I.8 : Réaction de Michaelis–Arbuzov.

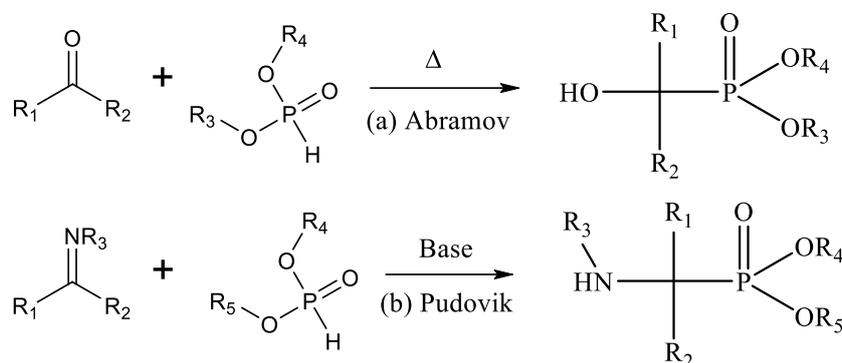
I.1.4.2. Réaction de Michaelis-Becker

Les phosphonates peuvent également être synthétisés par la réaction de Michaelis–Becker, décrite pour la première fois en 1897 [26]. Il est nécessaire de faire réagir un dialkylphosphite avec un dérivé halogéné, l'hydrure de sodium est ainsi utilisé à basse température (**Figure I. 9**).


Figure I. 9 : Réaction de Michaelis-Becker.

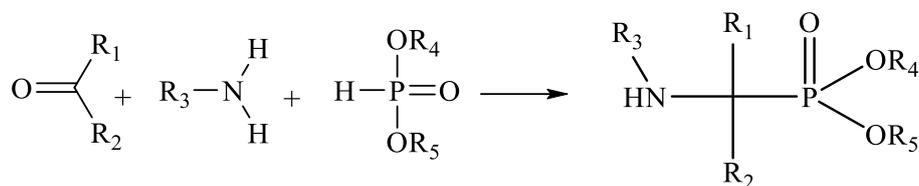
I.1.4.3. Réaction d'Abramov et Pudovik

Les réactions de Pudovik et Abramov représentent les plus importants modes de phosphorylation des composés organiques par la création d'un dérivé tétra-coordonné avec une liaison P-C [27]. La réaction d'Abramov consiste en l'addition d'un di ou trialkylphosphite sur le groupement carbonyle pour l'obtention des α -hydroxyphosphonates [28] (**Figure I. 10, a**). Dans la réaction de Pudovik les α -aminophosphonates sont obtenues par l'addition d'un di ou trialkylphosphite à la liaison C=N- d'imines (**Figure I. 10, b**) [28].


Figure I. 10 : Réaction d'Abramov et Pudovik.

I.1.4.4. Réaction de Kabachnik-Fields

La réaction de Kabachnik-Fields, découverte en 1952, est l'une des méthodes classiques les plus intéressantes pour la synthèse des phosphonates, notamment les α -aminophosphonates. Elle consiste à réagir en une seule fois une amine, un dérivé carbonyle et un dialkylphosphite, cela été fait par l'utilisation des acides de Lewis comme catalyseur dans la plupart des cas [29] (**Figure I.11**). Parmi les inconvénients de cette méthode est l'apparition des sous-produits [30].


Figure I. 11 : Réaction de Kabachnik-Fields.

I.1.4.5. Réaction de Moedritzer et Irani

Dans cette réaction on obtient directe des acides α -aminophosphoniques par une réaction du type Mannich. On utilise comme substrat une amine primaire ou secondaire, formaldéhyde et l'acide phosphorous (**Figure I.12**). La réaction nécessite un milieu fortement acide et un chauffage à reflux [31].



Figure I. 12 : Réaction de préparation des acides α -aminométhylphosphoniques d'après Moedritzer-Irani.

I.1.5. Domaines d'application des phosphonates

Les phosphonates et en particulier les α -aminophosphonates sont largement utilisés dans les différents domaines de la vie. Nous présentons dans la suite quelques domaines d'application.

I.1.5.1. Pharmacologie

La relation structure-activité peut orienter le choix des entités qui peuvent améliorer l'index thérapeutique. Le motif phosphonate, joue un rôle important au niveau des interférences biologiques, ceci est dû principalement à la différence de stabilité relative des groupements phosphate et phosphonate. Les phosphates ont tendance à s'hydrolyser notamment au contact des phosphatases digestives, et par conséquent cela en fait de mauvais candidats en tant que médicaments. La substitution d'un atome d'oxygène par un atome de carbone permet généralement d'accéder à des composés aussi actifs, mais plus stables et plus lipophiles, ce qui empêche leur hydrolyse par les phosphatases, ceci est associé à leur faible toxicité pour les mammifères, qui fait que les phosphonates sont une source potentielle de composés médicinaux [14].

Ils agissent comme des inhibiteurs d'enzymes spécifiques comme la protéase du VIH, la thrombine et la collagénase humaine. Ils se sont également avérés exercer des effets cytostatiques directs sur diverses cellules tumorales humaines et ont des applications cliniques dans le traitement des troubles osseux et du cancer.

De plus, ils sont utilisés comme radiopharmaceutiques ostéotropes et constituent un outil général précieux pour l'étude par RMN ^{31}P des modifications de pH au cours des processus biologiques chez les organismes vivants [32,33].

I.1.5.2. Agriculture

Pendant des années, de nombreux composés organophosphorés ont été fabriqués et utilisés en très grandes quantités dans l'agriculture, non seulement comme les insecticides mais aussi comme des herbicides, pesticides et des régulateurs de la croissance des plantes. Ils sont relativement faciles à faire, facilement biodégradable par hydrolyse [34].

I.1.5.3. Corrosion

Plusieurs études montrent que les phosphonates sont des bons inhibiteurs de corrosion. Ils sont de bons agents complexant, ils forment facilement des complexes avec différents ions métalliques, ces complexes ont souvent la propriété d'avoir une faible constante de solubilité et leur formation à l'interface peut inhiber la dissolution métallique. Les phosphonates utilisés comme additifs anticorrosion dans les peintures [14].

I.1.5.4. Industrie

Les phosphonates sont utilisés aujourd'hui dans de nombreuses applications techniques et industrielles comme agents chélatants, inhibiteurs de tartre, dans la fabrication des pâtes, des papiers et dans l'industrie textile. Ils servent de stabilisateurs de blanchiment au peroxyde, par chélation des métaux qui pourraient inactiver le peroxyde [35].

Les phosphonates sont fréquemment utilisés dans les détergents en raison de leurs multiples propriétés : adoucissantes, dispersives à l'égard des salissures, empêchent la précipitation des sels de calcium et stabilisation d'agent blanchissant (perborate).

Les phosphonates sont utilisés dans le traitement des eaux comme inhibiteur d'entartrage pour empêcher la précipitation du carbonate de calcium et également utiliser comme inhibiteur de corrosion pour des circuits de refroidissement ouverts [36].

I.4.6. Toxicologie

Des tests montrent que la toxicité des phosphonates est faible, ils peuvent même être utilisés dans la composition des médicaments. Pour les organismes aquatiques, on obtient des CE₅₀ (concentration efficace) entre 11000 mg/l et 0.42 mg/l alors que la concentration moyenne en phosphonate dans les eaux de surface en Europe est de 250 mg/l de plus la bioconcentration dans les poissons est très bas.

Les phosphonates sont peu absorbés dans le tractus gastro intestinal et la dose absorbée est majoritairement excrétée par les reins [37].

I.2. Activité anti bactérienne

L'organisme humain exposé à une multitude de micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons) possède un système de défense complexe qui lui permet de rencontrer ou d'héberger ces micro-organismes sans leur permettre d'envahir ces tissus. Cependant, dans certaines conditions, l'infection peut entraîner une maladie infectieuse grave. Par conséquent, l'homme doit lutter contre l'invasion de micro-organismes pour préserver sa santé et sa sécurité.

Les moyens de luttés sont nombreux, les agents physiques (température, rayonnements, etc.), les agents chimiques (métaux lourds, chlore et ses dérivés, alcools, etc.) sont très actifs mais nocifs, aussi bien pour les bactéries que pour les cellules humaines ou animales. Mais il existe d'autres agents à « toxicité sélective » : ils s'opposent à la multiplication bactérienne sans nuire aux cellules hôte et sont donc utilisés en thérapeutique, ce sont les « **antibiotiques** ».

I.2.1. Antibiotiques

Le mot antibiotique signifie au sens étymologique : contre (anti) les organismes vivants (biotiques), le mot biotique signifie ici plus précisément contre les bactéries.

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est-à-dire produite par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres micro-organismes [38].

I.2.2. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

I.2.2.1. Origine

Elaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi-synthétique). A l'heure actuelle, il s'agira souvent de molécules, le plus souvent obtenues par héli synthèse.

I.2.2.2. Spectre d'activité

Le spectre d'activité d'un antibiotique est la liste des espèces bactériennes sur lesquelles un antibiotique agit. Le spectre est propre à chaque antibiotique, et peut varier dans le temps suite à l'apparition de résistance bactérienne.

I.2.2.3. Nature chimique

Les nombreux antibiotiques peuvent être groupés en familles. Une famille d'antibiotique comprend des composés ayant des analogies de structure, des mécanismes d'action comparable. Par exemple :

- Les β -lactamines (Pénicillines, Céphalosporines, Pénèmes.....).
- Les quinolones (L'acide nalidixique, L'acide norfloxacin, L'acide pipémidique).
- Les polypeptides (Colistine, Colistiméthate).

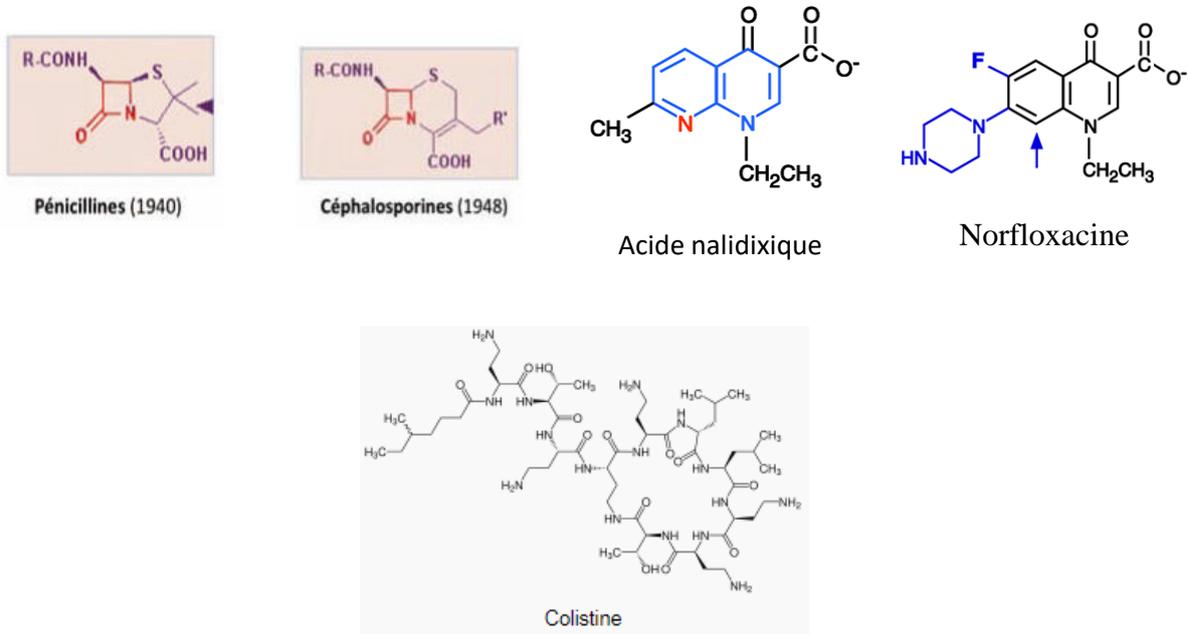


Figure I. 13 : Structures chimiques de quelque antibiotique.

I.2.2.4. Modalités d'action

L'étude des interactions dans le temps entre différentes concentrations d'un antibiotique et d'une bactérie permet de classer les antibiotiques en :

- **Bactériostatique** : Le nombre de bactéries viables après un temps d'incubation et de contact avec un antibiotique est inférieur à celui observé, en l'absence d'antibiotiques, pour une culture incubée dans les mêmes conditions. Donc ralentissement ou arrêt de la croissance quantifiable en CMI (Concentration Minimale Inhibitrice en mg/ml), qui est la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de croissance visible de la souche bactérienne étudiée.
- **Bactéricide** : Le nombre des bactéries tuées après un temps d'incubation et de contact donné avec un antibiotique est inférieur à celui déterminé au temps 0. Donc arrêt de la croissance et mortalité quantifiable en CMB, (Concentration Minimale Bactéricide) plus

faible concentration d'antibiotique pour laquelle l'effet bactéricide souhaité est de 99,99% [39].

I.2.2.5. Mode d'action

Les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne, cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés [40].

▪ **Action sur la paroi bactérienne :** La paroi est l'enveloppe externe de la cellule bactérienne. Elle joue un rôle essentiel dans la protection des bactéries contre les agents extérieurs et le maintien d'une pression osmotique intracellulaire élevée, ceci grâce à la présence d'une substance complexe appelée « peptidoglycane ». Suivant l'organisation du peptidoglycane dans la paroi, on distingue deux groupes principaux correspondant aux bactéries à gram-positif et à gram-négatif [7]. La paroi des bactéries à Gram-positif est composée d'épaisses couches de peptidoglycane, alors que les bactéries à Gram-négatif possèdent une couche plus fine de peptidoglycane.

Certaines molécules altèrent la structure des bactéries en inhibant la formation de leur paroi : cas des β -lactames et des glycopeptides, qui bloquent différentes étapes de la voie de synthèse du peptidoglycane.

▪ **Destruction de la membrane cellulaire :** D'autres altèrent la membrane cytoplasmique, provoquant des troubles létaux de perméabilité, exemple : la polymyxine [41].

▪ **Antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique :** Ce groupe d'antibiotiques inhibe de façon sélective la synthèse des protéines bactériennes ont pour cible le ribosome bactérien, l'organite cellulaire qui est responsable de la synthèse des protéines [42].

▪ **Action sur la synthèse de l'ADN :** La synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) peut aussi être perturbée par les antibiotiques : cas des sulfamides, du triméthoprime, des quinolones, des rifamycines et des nitroimidazoles [41].

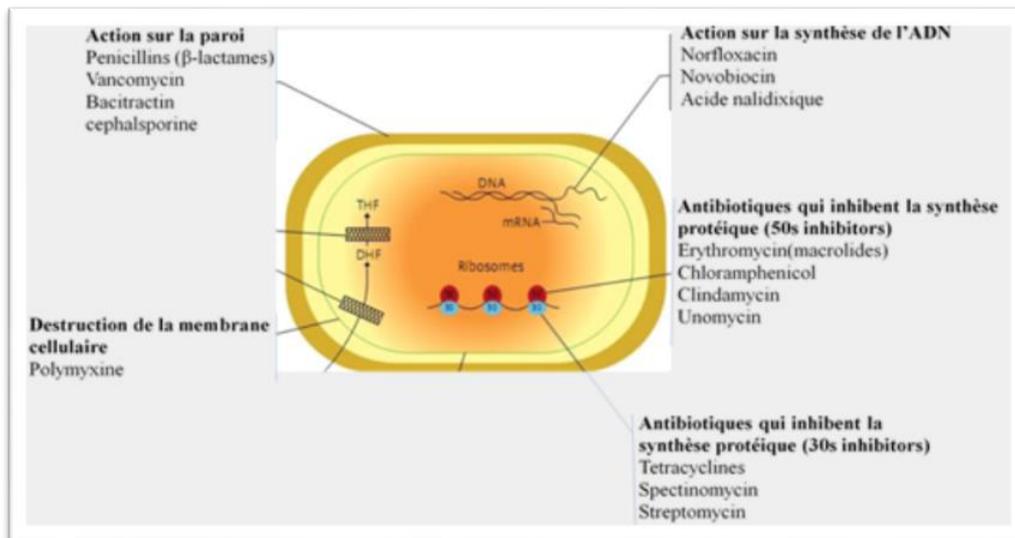


Figure I. 14 : Mode d'action des antibiotiques.

I.2.3. Résistance bactérienne aux antibiotiques

L'utilisation massive d'antibiotiques depuis plus de 60 ans et comme facteurs de croissance dans l'alimentation animale [43] est la principale cause de l'apparition de souches bactériennes résistantes [44], c'est-à-dire des souches bactériennes capables de se multiplier en présence de concentration plus élevées d'antibiotiques que celle qui inhibe normalement les souches de cette même espèce. Ensuite, chaque fois qu'un nouvel antibiotique est mis au point, les bactéries s'y adaptent plus ou moins [45].

I.3. Activité antioxydante

Les radicaux libres peuvent être introduits dans le corps à partir de sources exogènes ou peuvent être générés naturellement dans le corps au cours du métabolisme cellulaire par diverses voies enzymatiques et non enzymatiques. Alors qu'une production contrôlée de molécules réactives est essentielle pour des fonctions physiologiques et cellulaires normales, leur production incontrôlée ou excessive peut provoquer un « **stress oxydatif** ».

Le stress oxydatif joue un rôle majeur dans la pathogenèse de nombreuses maladies telles que la polyarthrite rhumatoïde, le diabète sucré, l'athérosclérose, le cancer et l'hypertension artérielle [46].

Les cellules possèdent des mécanismes de défense endogènes enzymatiques et non-enzymatiques qui, de manière générale, suffisent à renverser le stress oxydatif et que l'on appelle « **antioxydants** ».

I.3.1. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques très instables, leur structure comprend un électron célibataire sur sa couche électronique externe qu'ils cherchent à appairer en attaquant et en endommageant les molécules voisines. L'ensemble des radicaux libres est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO). L'appellation ERO n'est pas restrictive, elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxydinitrite ($ONOO^\cdot$) (**Tableau I.2**) [47].

Tableau I.2 : Différents types des espèces réactives.

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical hydroxyle	$^\cdot OH$	Peroxyde organique	$ROOR$
Radical peroxyde	ROO^\cdot	Acide hypochlorique	$HOCl$
Radical alkoxyde	RO^\cdot	Oxygène singulet	1O_2
Monoxyde d'azote	$^\cdot NO$	Peroxydinitrite	$ONOO^\cdot$

I.3.2. Antioxydants

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive [48].

Plusieurs études démontrent que la défense antioxydante peut être soit diminuée ou compromise dans certaines conditions pathophysiologiques. Par conséquent, le concept d'une thérapie à l'aide d'antioxydants, dans le but de renforcer les défenses antioxydantes endogènes pour une protection plus efficace contre le stress oxydatif, représente un but thérapeutique important et est d'intérêt scientifique et public. A l'heure actuelle, les antioxydants sont largement utilisés dans les industries alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

I.3.2.1. Types d'antioxydants

✚ **Les antioxydants dans le corps humain** : Il existe deux types d'antioxydants dans le corps humain: les antioxydants enzymatiques (la superoxydedismutase (SOD), la

catalase, la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion réductase) et non-enzymatiques (glutathion (GSH) ainsi que des vitamines et minéraux comme la vitamine C, la vitamine E, le sélénium, le zinc, la taurine, l'hypotaurine, la β -carotène et le carotène).

✚ **Les antioxydants dans l'alimentation** : Les petits fruits et certains légumes comme l'oignon, la tomate et les crucifères sont des sources particulièrement riches d'antioxydants qui peuvent contribuer aux systèmes de défenses de l'organisme contre l'oxydation.

✚ **Antioxydants industriels** : Parmi les antioxydants de synthèse on trouve :

- BHT (3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène).
- BHA (3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole).
- TBHQ (tertiobutyl-hydroxyquinone).
- PG (gallate propylène).
- Les chélateurs de métaux (les polyphosphates et les dérivés d'acide citrique) [48]

I.3.2.2. Mécanismes d'antioxydation

Les antioxydants peuvent être répartis en deux types :

✚ **Les antioxydants secondaires ou préventifs** : Des antioxydants empêchant la formation de radicaux libres, comme les carotènes, les chélatants des métaux promoteurs d'oxydation type fer et cuivre, ou enfin de séquestrants d'oxygène comme l'acide ascorbique.

✚ **Les antioxydants primaires ou vrais** : Ces antioxydants agir en réduisant ou en dismutant les radicaux libres, en les piégeant pour former un composé stable, ils peuvent agir selon deux mécanismes :

- **Les donneurs d'hydrogène** : comme les composés phénoliques mono- ou polyhydroxylés (tocophérols, tocotriénols, BHT, BHA, flavonoïdes...etc.).

- **Les antioxydants « sacrifiés »** : sont des composés radicalaires, qui réagissent avec les radicaux peroxydes ou alcoxydes pour donner des produits non radicalaires [48].

Références bibliographique

- [1] J. Patrick Murphy, Organophosphorus reagents: a practical approach in chemistry (Practical Approach in Chemistr), Oxford Univ, 2004.
- [2] J. J. DeFrank, T. C. Cheng, Purification and properties of an organophosphorus acid anhydrase from a halophilic bacterial isolate, *Journal of bacteriology*, 173 (1991) 1938-1943.
- [3] N. Bonnard, M.-T. Brondeau, M. Falcly, D. Jargot, O. Schneider, Base de données Fiches Toxicologiques, 2008.
- [4] T.V. Rajanbabu, Phosphinite and phosphonite ligands. Phosphorus (III) Ligands in Homogeneous Catalysis: Design and Synthesis, (2012) 159-232.
- [5] D. E. C. Corbridge, Phosphorus: An Outline of its Chemistry, Biochemistry, and Technology, 5^{ème} édition Elsevier: Amsterdam, 1995.
- [6] G. L. Miessler, D. A. Tarr, Inorganic Chemistry, 3^{ème} édition, Pearson/Prentice Hall éditeur, 2004.
- [7] A. Bouchama, Etude théorique par la méthode DFT des composés α -aminophosphonates synthétisés à partir de para phénylenediamine, mémoire de master, université Ferhat Abbas – Setif-1, 2020.
- [8] J. Svara, N. Weferling, T. Hofmann, Phosphorus Compounds, Organic « in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry » 2005.
- [9] A. N. Pudovik, I. V. Konovalova, Addition reactions of esters of phosphorus (III) acids with unsaturated systems, *Synthesis*, 2 (1979) 81-96.
- [10] A. Clearfield, Metal phosphonate chemistry, *Progress in Inorganic Chemistry*, 47 (1998) 371-510.
- [11] K.D. Troev, Chemistry and Application of H-Phosphonates, Elsevier Science, 19 juillet 2006.
- [12] F.H. Browning, H.S. Fogler, Effect of synthesis parameters on the properties of calcium Phosphonate precipitates, *Langmuir*, 11 (1995) 4143 - 4152.
- [13] S.J. Friedfeld, S. He, M.B. Tomson, The Temperature and Ionic Strength Dependence of the Solubility Product Constant of Ferrous Phosphonate, *Langmuir*, 14 (1998) 3698–3703.
- [14] M. Mehri, Synthèse, évaluation électrochimique et classique de l'activité biologique et de l'efficacité inhibitrice de corrosion d'une série d'acides α -aminophosphoniques: Investigation expérimentale et théorique, thèse doctorat, Université Ferhat Abbas-1, 2019.

- [15] R. Davy, E. Mondjo, Phosphonylation des composés à liaison C=X : accès aux biphosphonates et études de leurs fonctionnalisations, mémoire de master, Université de Tlemcen, 2012.
- [16] F. Pertusati, M. Serpi, C. M. Guigan, Medicinal chemistry of nucleoside phosphonate prodrugs for antiviral therapy, *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 22 (2012) 181-203.
- [17] E. De Clercq, Clinical potential of the acyclic nucleoside phosphonates cidofovir, adefovir, and tenofovir in treatment of DNA virus and retrovirus infections, *Clinical Microbiology Reviews*, 16 (2003) 569-596.
- [18] R. U. Pokalwar, R. V. Hangarge, M. S. Shingare, Synthesis and antibacterial activities of α -hydroxyphosphonates and α -acetyloxyphosphonates derived from 2-chloroquinoline-3-carbaldehyde, *Arkivok*, 11 (2006) 196-204.
- [19] L. Fontaine, D. Derouet, S. Chairatanathavorn, J.C. Brosse, Fixation of chelating molecules on polyphosphonates through chemical modification Part I. Synthesis and characterization, *Reactive Polymers*, 19 (1993) 47-54.
- [20] J.C. Brosse, L. Fontaine, D. Derouet, S. Chairatanathavorn, Fixation d'amines pharmacologiquement actives sur les polyphosphonates, 1. Etude sur molécule modèle, *Makromolekular Chemistry*, 190 (1989) 2329-2338.
- [21] P. Merino, E. Marqués-López, R. P. Herrera, Catalytic enantioselective hydrophosphonylation of aldehydes and imines. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 350 (2008) 1195-1208.
- [22] Tušek-Božić, Aminophosphonate metal complexes of biomedical potential, *Current Medicinal Chemistry*, 20 (2013) 2096-2117.
- [23] A. Hellal, Synthèse d'une nouvelle génération de phosphonates à base des dérivés aminophénols. Applications : Etudes des propriétés biologiques des composés obtenus et de leurs complexes, thèse de doctorat université Farhat Abbas Sétif-1, 2020.
- [24] A. Michaelis, R. Kaehne, On the behavior of iodoalkyls against the so-called phosphoric acid esters or O-phosphines, *Berichte*, 31 (1898) 1048-1055.
- [25] A.E. Arbuzov, Reactions of alkyl halides with phosphites, *Russian Journal of Physical Chemistry*, 38 (1906) 687.
- [26] A. Michaelis, T. Becker, Über die Constitution der phosphorigen Säure, *Chemische Berichte*, 30 (1897) 1003-1009.
- [27] A.N. Pudovik, I.V. Konovalova, Addition reactions of esters of phosphorus (III) acids with unsaturated systems, *Synthesis*, 79 (1979) 81-96.

- [28] V.S. Abramov, Reaction of dialkyl phosphites with aldehydes and ketones, a new method of preparation of esters of hydroxyalkanephosphonic acids, *Zh Obshch Khim*, 22 (1952) 647-652.
- [29] N.S. Zefirov, E.D. Matveeva, Catalytic Kabachnik-Fields reaction: new horizons for old reaction, *Special, ARKIVOC*, (2008) 1-17.
- [30] R. Varga, György Keglevich, Synthesis of α -aminophosphonates and related derivatives; The last decade of the Kabachnik–Fields reaction, *Molecules*, 26 (2021) 1-46.
- [31] J.R. Green, Anti-tumor potential of bisphosphonates, *Med Klin (Munich)*, 95 (2000) 23-28.
- [32] K. Venkata Ramanaa, S. Rasheeda, K. Chandra Sekhara, S. Adamb, C. Naga Rajua, One-pot and catalyst-free synthesis of novel α -aminophosphonates under microwave irradiation and their biological activity, *Der Pharmacia Lettre*, 4 (2012) 456-463.
- [33] Kh. Khezala, Synthèse de composés phosphorylés sous irradiations micro-ondes et étude théorique par la méthode DFT, mémoire de master, université Ferhat Abbas Sétif-1, 2020.
- [34] Hera, Human and environmental risk assessment on gradients of european household cleaning products, *Phosphonates*, 2004.
- [35] AK. Bhattacharya, KC. Rana. Amberlite-IR 120 catalyzed three-component synthesis of α -amino phosphonates in one-pot. *Tetrahedron Letters*, 49 (2008) 2598-601.
- [36] R. Yekhlif, Synthèse de nouveaux composés de l'acide phosphonique et mise en évidence de leur acidité, affinité de chélation et de leurs propriétés inhibitrices de corrosion, mémoire de magister, université Ferhat Abbas-Sétif, 2012.
- [37] http://mas.stephanie.free.fr/microbiologie_bio2/atb.pdf 15/04/2023
- [38] D. Yala, A. S. Merad, D. Mohamedi, M.N. Ouar–Korichi, Classification et mode d'action des antibiotiques, *Médecine du Maghreb*, 91 (2001) 5-12.
- [39] D.J. Mevius, J.M. Rutter, C.A. Hart, H. Imberechts, G. Kempf, J.P. Lafont, J. Luthman, M.A. Moreno, A. Pantosti, P. Pohl, C.M. Willadsen, Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines. Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products, 1999.
- [40] J. F. Garcia-Bustos, B.T. Chait, A. Tomasz, Structure of the peptide network of pneumococcal peptidoglycan, *Journal of Biological Chemistry*, 262 (1987) 15400-15405.
- [41] H. Leclerc, J-L. Gaillard, M. Simonet, *Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien*, Doin Editeurs, Paris. 1995.

- [42] Y. Qin, N. Polacek, O. Vesper, E. Staub, E. Einfeldt, D.N. Wilson, K.H. Nierhaus, The highly conserved LepA is a ribosomal elongation factor that back-translocates the ribosome, *Cell*. 127 (2006) 721-733.
- [43] M. Lipsitch, R.S. Singer, B.R. Levin, Antibiotics in agriculture: When is it time to close the barn door?, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99 (2002) 5752-5754.
- [44] E.F. Gale, E. Cundliffe, P.E. Reynolds, M.H. Richmond, M.J. Waring, *The molecular basis of antibiotic action*, 2^e^{me} edition, 1981.
- [45] S.B. Levy, *Nontransferable resistance in the antibiotic paradox*. New-York. 1992.
- [46] S. De Flora, R. Balansky, S. LA Maestra, Antioxidants and COVID-19, *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 62 (2021) E34-E45.
- [47] A. Manallah, *Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive Olea europaea L*, mémoire de magister, Université Ferhat Abass-Sétif 2012.
- [48] F. Zerargui, *Activité antioxydante des extraits de racines Tamus communis L. et caractérisation des substances bioactives*, thèse de doctorat en sciences, université Ferhat Abbas Sétif-1, 2015.

Chapitre II
Méthodes
Expérimentales

Dans ce chapitre, nous décrivons les méthodes utilisées pour caractériser les produits de synthèse, ainsi que les matériaux et les techniques utilisées dans l'étude biologique.

II.1. Méthode de caractérisation physicochimique

II.1.1. Température de fusion

Le point de fusion est la température exacte nécessaire de changement d'état d'un matériau quand celui-ci passe d'un état solide à un état liquide, et sa détermination est très importante puisqu'elle est hautement dépendante de la pureté du produit testé. Cette technique est utilisée pour définir la qualité d'une substance [1].

Il existe une grande variété d'appareils pour mesurer la température de fusion d'un solide, dans notre cas nous avons utilisé un Fusiomètre BÜCHI Melting point B-540 (**Figure II.1**).



Figure II. 1 : BÜCHI Melting point B-540.

II.1.2. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est une méthode physique de séparation basée sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve chromatographique (**Figure II.2**), l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. Chaque composant de l'échantillon se déplace par sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la phase stationnaire et d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Généralement en chromatographie sur

couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires [1,2].



Figure II. 2 : Cuve chromatographique.

II.1.3. Méthodes spectroscopiques

Lorsqu'une molécule est soumise à une radiation électromagnétique elle absorbe une certaine quantité d'énergie, ce qui entraîne des modifications atomiques ou moléculaires. On obtient plusieurs types d'excitation suivant le rayonnement de la radiation.

II.1.3.1. Spectrophotométrie UV-Visible

L'absorption des radiations lumineuses par la matière dans la plage spectrale s'étendant du proche ultraviolet au très proche infrarouge, soit entre 180 et 1100 nm, a été abondamment étudiée d'un point de vue fondamental. Cette partie du spectre est désignée par l'«UV/Visible», parce qu'elle englobe les radiations perceptibles par l'œil humain.

D'une manière générale elle apporte peu d'informations structurales, mais elle a, en revanche, beaucoup d'applications en analyse quantitative par l'application de la loi de Beer Lambert ; Cette loi permet de mesurer l'absorbance A , ou la transmission $T\%$ selon le besoin selon les relations suivantes :

$$T = I/I_0 (\%) \dots\dots\dots (II.1)$$

$$A = \epsilon lc = \lg I_0/I \dots\dots\dots (II.2)$$

T : Pourcentage de transmission ; **A** : Absorbance ; **I** : Intensité de la lumière transmise ; **I₀** : Intensité de la lumière incidente ; **ϵ** : Coefficient molaire d'absorption ; **C** : Concentration de la solution en mol/l ; **l** : Epaisseur de la cuve.

Les mesures ont été réalisées sur un spectrophotomètre de la marque de JASCO V-650, en utilisant des cellules en quartz de 1 cm de largeur. Le spectrophotomètre UV-Vis comporte :

- ✚ Une source de rayonnement,
- ✚ un dispositif monochromatique
- ✚ un récepteur associé à un système de lecture de la mesure (microordinateur).

Le compartiment réservé aux échantillons est habituellement placé entre le monochromateur et le récepteur. Les cuves contenant l'échantillon en solution et le solvant pur utilisé comme référence sont donc éclairées en lumière monochromatique [3,4].

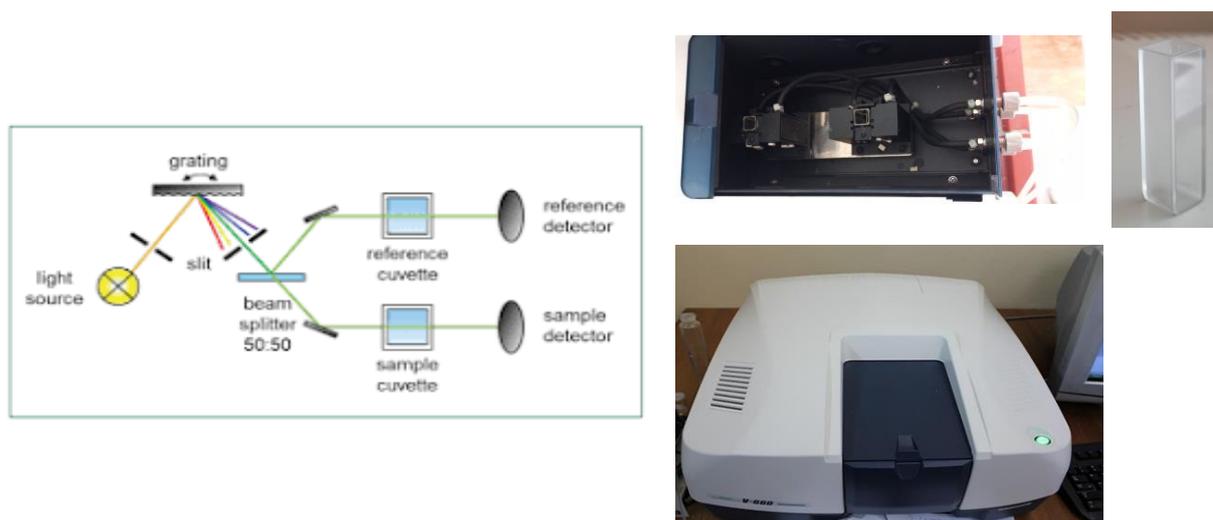


Figure II. 3 : Spectrophotomètre à double faisceau.

Les composés de la chimie organique forment l'essentiel des études faites en UV /visible. Les transitions observées ont pour origine les électrons des liaisons σ ou π et les doublets non-liants n des atomes. Chaque fois qu'il en est possible, on indique pour toute bande d'absorption sa nature en relation avec les orbitales moléculaires (OM) concernées et le coefficient d'absorption molaire ϵ ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) calculé au maximum de la bande d'absorption. La longueur d'onde d'absorption dépend de la nature des orbitales mises en jeu. Les diverses transitions possibles sont :

❖ **Transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$:** Cette transition demande beaucoup d'énergie, elle est située dans le lointain UV. C'est pourquoi les hydrocarbures saturés, qui ne présentent que des liaisons de ce type, sont transparents dans la région de l'UV proche.

❖ **Transition $n \rightarrow \sigma^*$** : Elle se produit habituellement à des longueurs d'onde voisines de 200 nm et sont observables dans de nombreux composés présentant des hétéroatomes simplement liés, comme O-H, N-H, P-O, ...etc.

❖ **Transition $n \rightarrow \pi^*$** : Ce type de transition se rencontre dans le cas des molécules comportant un hétéroatome appartenant à un système insaturé. La plus connue est celle qui correspond à la bande carbonyle.

❖ **Transition $\pi \rightarrow \pi^*$** : les composés qui possèdent une double liaison éthylénique isolée, conduisent à une forte bande d'absorption vers 170 nm dont la position dépend de la présence des substituants. [5].

Le spectre : Les spectromètres UV/Vis peuvent obtenir le spectre du composé examiné sous la forme d'un tracé de la transmittance ou de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde. Les spectres sont toujours tracés dans des solutions diluées et la nature de solvant employé doit être précisée car elle influe sur les valeurs de λ_{\max} de ϵ_{\max} .

II.1.3.2. Spectroscopie infrarouge

La région des longueurs d'onde de l'infrarouge (IR) est comprise entre 14000 et 10 cm^{-1} est divisé en trois zones : L'IR proche 14000 à 4000 cm^{-1} ; L'IR moyen 4000 à 400 cm^{-1} ; L'IR lointain 400 à 10 cm^{-1} .

La spectroscopie infrarouge se base sur le changement d'énergie de vibration et de rotations dans les molécules, puisqu'elle porte une énergie correspondant à 4000-670 cm^{-1} c'est le domaine le plus utilisé en analyse IR.

Il existe deux sortes de spectromètre IR : le spectromètre à balayage et les spectromètres à transformée de Fourier.

- Un spectromètre IR à balayage s'agit du modèle le plus classique, semblable aux spectrophotomètres utilisés en spectroscopie UV-visible.
- Un spectromètre IR à transformée de Fourier (IRTF) est identique à un spectromètre à balayage le système dispersif est remplacé par un interféromètre (de Michelson) dont la position est ajustée par laser.

Un composé peut être examiné en spectromètre Infrarouge, quel que soit son état physique :

- ✓ Les solides peuvent être examinés en suspension dans une paraffine liquide ou dans des hydrocarbures totalement halogénés. La suspension est déposée sur une fenêtre de

cellule démontable à l'aide d'une petite spatule, de préférence en matière plastique. Les pastilles sont généralement faites dans du KBr qui est transparent aux rayonnements IR, on pulvérise finement, par broyage dans un mortier, un mélange de 3 à 10 mg de substance solide avec 100 mg de KBr anhydre. Le mélange est pressé à environ 10 Tonnes dans un moule spécial.

- ✓ Les liquides peuvent être examinés purs. Il suffit de déposer une goutte sur l'une des deux fenêtres en NaCl d'une cellule démontable. Si le liquide est volatil ou peu visqueux il est introduit dans une cuve fermée d'épaisseur déterminée.
- ✓ Cas des gaz : Les gaz sont introduits dans une cuve de plus grand volume que celle utilisée pour les liquides.

En raison de la facilité de sa mise en application, de la richesse des informations qu'elle fournit et du faible coût de l'appareillage qu'elle nécessite, la spectroscopie dans l'infrarouge est la méthode la plus couramment applicable. Elle peut avoir pour but :

- ✓ De suivre un processus réactionnel par l'observation de la disparition ou de l'apparition de bandes caractéristiques d'un groupement fonctionnel.
- ✓ De vérifier la pureté d'un produit connu par l'absence de bandes signalant la présence d'un composé étranger.
- ✓ D'identifier les fonctions d'un produit inconnu.

Deux techniques peuvent être appliquées à l'interprétation des spectres :

- ✓ La comparaison et l'identification à un spectre de référence.
- ✓ Le repérage et l'identification des bandes, grâce à des tables de valeurs que l'on trouve dans les ouvrages spécialisés.

On distingue habituellement trois régions :

La région 4000 – 1500 cm^{-1} : Contient les bandes d'allongement correspondant aux principaux groupements.

La région 1500 – 1000 cm^{-1} : Complexe, appelée parfois « l'empreinte digitale », dans laquelle se situent de nombreuses vibrations de déformation.

La région 1000 – 400 cm^{-1} : Cette partie correspond aux transitions vibrationnelles de déformation hors du plan [6.7].

Les spectres IR trouvés dans cette mémoire ont été enregistrés sur un spectromètre IR JASCO-4200 avec l'attachement de réflectance diffuse (ATR) à une résolution de 4 cm^{-1} .

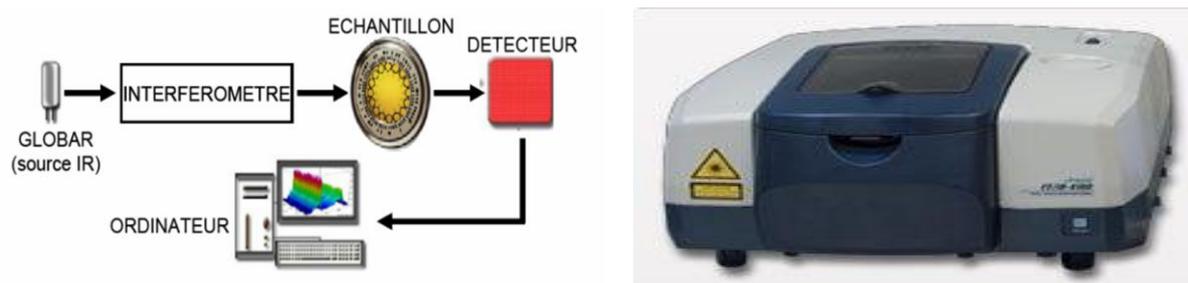


Figure II. 4 : Spectromètres à transformée de Fourier (FT-IR) (non dispersifs).

II.2. Méthode d'évaluation de l'activité biologique

II.2.1. Réactifs

Pour l'évaluation de l'activité biologique, nous avons utilisé les réactifs et les solvants, regroupés dans le **tableau II. 1** et le **tableau II. 2**.

Tableau II.1. Réactifs et milieux de cultures.

Réactifs	Milieux de cultures
* Chlorure de sodium (NaCl)	* Extrait de viande
* Ethanol (EtOH)	* Muller Hilton
* Méthanol(MeOH)	* Gélose nutritifs
* Eau distillée	* Extrait de levure
* DMSO	* Bouillant nutritif
* Antibiotique (spiramycine-iso)	
* DPPH : 2 ,2 diphényl-1-pyrcil hydrasyl	
* BHT : Buthylhydroxytoluène	

II.2.2. Matériels biologiques utilisés

Les moyens utilisés pour les essais biologiques sont présents sur la **figure II.11**.



Balance analytique



Autoclave



Four Pasteur



Dispositif de filtration stérilisante



Hotte



UV-Visible



Agitateur vortex



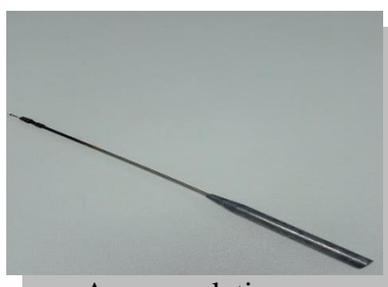
Micropipette



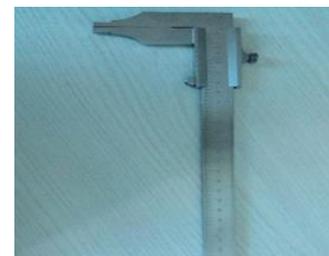
Bec benzène



Boîtes de pétré



Anse en platine



Pied à coulisse

Figure II.5 : Instruments utilisés pour les essais biologiques.

II.2.3. Détermination de l'activité antibactérienne

II.2.3.1. Espèces bactériennes testés

Les bactériennes utilisées dans cette recherche sont des souches référencées, obtenues à partir de laboratoire 3BS de recherche de l'université de Bejaia. Ils sont conservés à l'intérieur du réfrigérateur dans des tubes à visser contenant du glycérol jusqu'à l'utilisation.

➤ Bactéries Gram positif

Staphylococcus aureus clinique (Clinical simple) : également nommée *staphylocoque doré* se présente comme une coque à Gram positif de la famille des *Micrococcaceae*. L'espèce *S. aureus* est le plus dangereux de tous les nombreux staphylocoques fréquemment rencontrés. La plupart des maladies staphylococciques impliquent une invasion directe des tissus et causent des infections de la peau, des infections sur cathéter IV et des tissus mous, des pneumonies, des endocardites, ou des ostéomyélites.

Staphylococcus aureus alimentaire (ATCC6538) : c'est une bactérie pathogène majeure pour l'homme et les animaux à sang chaud, tristement célèbre pour son exceptionnelle résistance aux traitements antibiotiques et son implication dans les infections nosocomiales.

Staphylocoque dométicilline résistant (ATCC 43300) : *Staphylococcus aureus* méticilline résistant (MRSA) est un staphylocoque doré sur lequel certains antibiotiques ont perdu leur efficacité. Le MRSA est en particulier résistant aux antibiotiques du type bêtalactamines. Certaines souches de MRSA sont devenues résistantes à pratiquement tous les antibiotiques.

Bacillus subtilis (ATCC6633) : C'est une bactérie à gram positif de la famille des *Bacillaceae*. Largement présente dans la nature, elle fait également partie de la flore intestinale microbienne. Malgré le fait qu'il s'agisse d'une bactérie à faible potentiel pathogène, elle peut donner lieu à de redoutables infections dans certains cas ou encore être à l'origine d'une intoxication alimentaire.

Enterococcus faecalis (ATCC29212) : C'est une bactérie à Gram-positif de la famille des *Streptococcaceae*, sous forme de cellule ovoïde. Les *Enterococcus faecalis* sont retrouvés partout dans l'environnement et provoque toute une gamme d'infections, dont des endocardites, des infections urinaires, des prostatites, des infections intra-abdominales, une cellulite et des infections de plaies, ainsi que des bactériémies concomitantes.

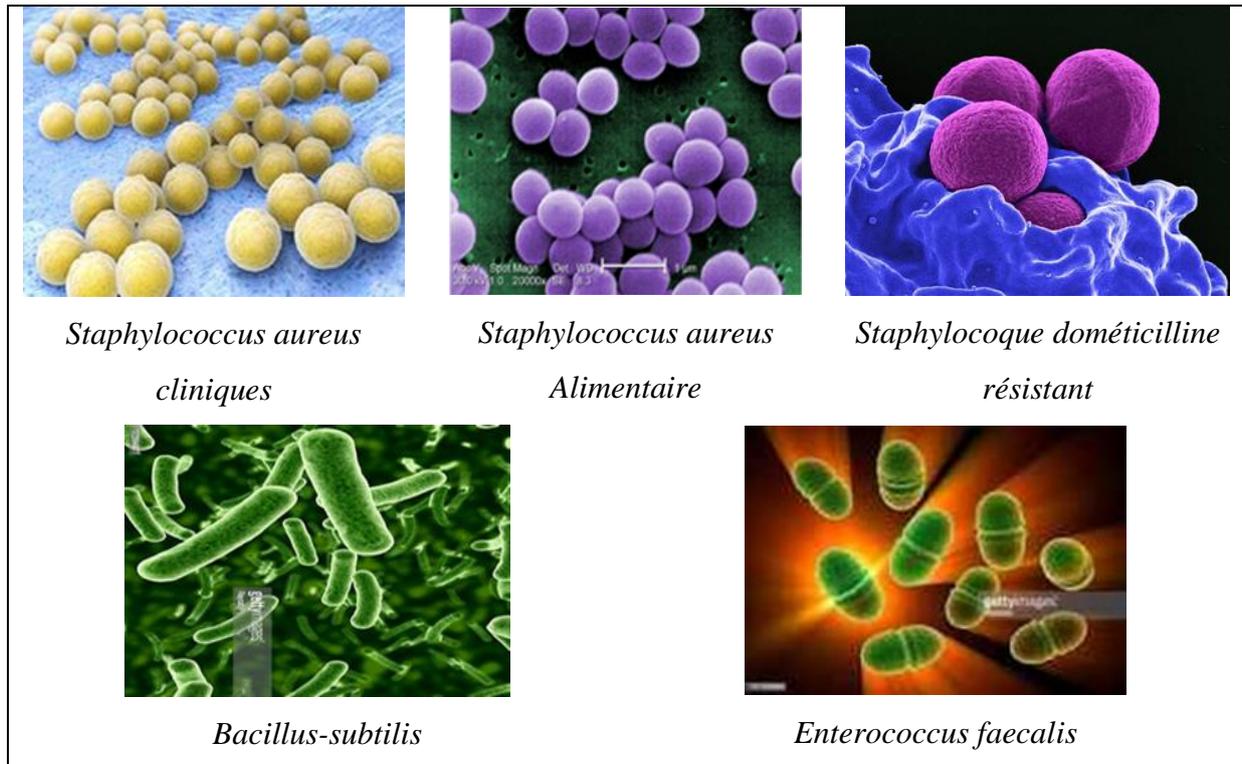


Figure II.6 : Images microscopiques des bactéries à Gram positif testés.

➤ **Bactéries Gram négatif**

Escherichia coli (E- coli) : C'est un germe de la famille des *Enterobacteriaceae* de Gram-négatif. C'une bactérie caractérisée par une sporulation non facultative anaérobklowie, elle est pathogène pour l'homme car responsables d'affections variées allant d'une simple diarrhée à des infections systémiques parfois mortelles.

Salmonella (Laboratoire de recherche de Bejaïa) : C'est un genre de bacilles à gram négatif appartenant à la famille des entérobactéries. Certains sérovars de certaines sous-espèces de *Salmonella enterica* sont responsables d'infections bactériémiques graves, les fièvres typhoïde et paratyphoïdes, qui sévissent surtout dans les pays en développement.

D'autres sérovars sont impliqués dans des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires (TIAC) plus bénignes.

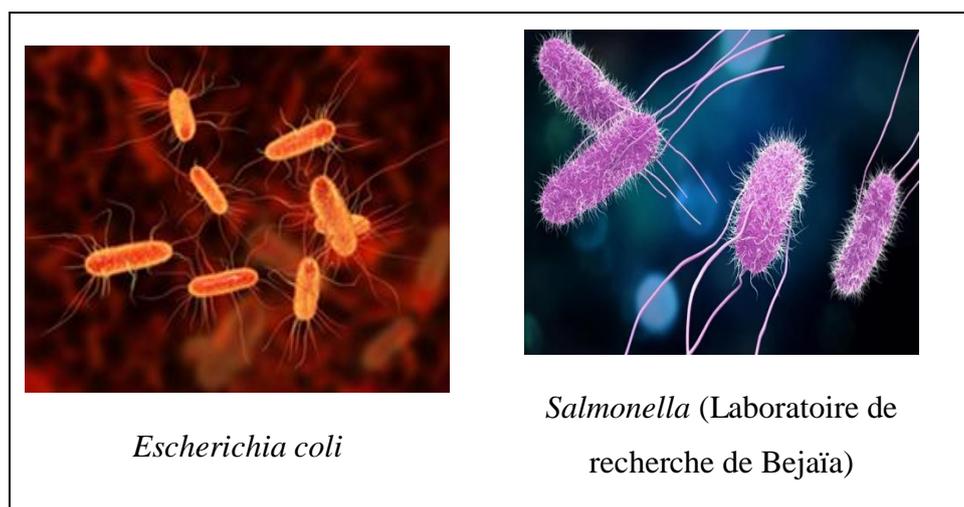


Figure II.7 : Images microscopiques des bactéries à Gram négative testés

II.2.3.2. Méthode de détermination de l'activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne du produit est testée *in vitro* par la méthode de diffusion sur gélose. Cette méthode a le même principe de celui de la réalisation d'antibiogrammes.

La méthode de diffusion est l'une des plus anciennes approches de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle permet une variété dans le choix des antimicrobiens et ne requiert aucun matériel particulier [8].

Des disques imprégnés de principes actifs ou des puits remplis par le produit à tester sont déposés sur des milieux de culturesensemencés avec les microorganismes étudiés. Après l'incubation, l'activité inhibitrice du produit se manifeste par la formation d'une auréole d'inhibition autour du puits ou du disque [9].

➤ Préparation de l'inoculum

Chaque souche bactérienne est mise en culture séparément à 37°C/24 h sur un bouillon nutritif puisensemencé par écouvillonnage sur une boîte de pétri contenant la gélose nutritive à 37°C pendant 24 h d'incubation, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

L'étape suivante vise à préparer l'inoculum en prélevant à l'aide d'une pipette pasteur une à deux colonies bien isolées et parfaitement identiques, et les suspendre dans 9 ml d'eau physiologique stérile (9 g NaCl/l). La suspension bactérienne est bien homogénéisée et laissée sur la paillasse pendant 30 minutes (OMS, 2005).

Standardisation : À l'aide d'un spectrophotomètre on mesure la densité optique de l'inoculum elle est comprise entre 0,08 à 0,14 à une longueur d'onde de 625 nm correspondant au standard 0,5-McFarland équivalant à 106UFC/ml. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture si la DO est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile si elle est trop forte [10].

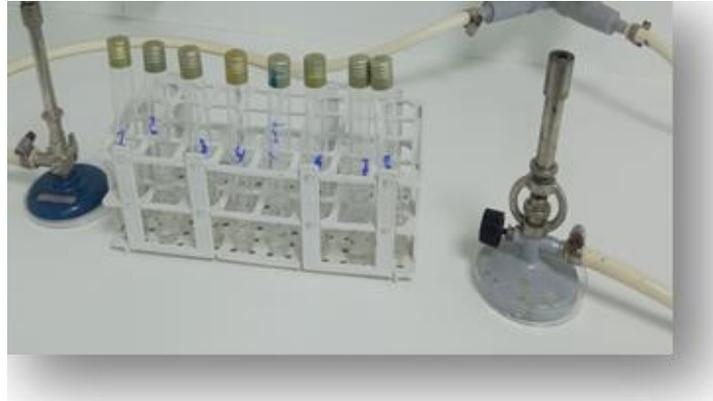


Figure II.8. Préparation de l'inoculum.

➤ Préparation de l'acide α -aminophosphonique

Nous avons préparé deux concentrations (25mg/ml et 15mg/ml) de l'acide α -aminophosphonique dans le DMSO puis on a procédé à une stérilisation de notre produit à l'aide d'une filtration stérilisante.



Figure II.9 : Filtration stérilisante.

➤ Préparation des boîtes à Pétri

Le milieu de culture utilisé pour l'étude de l'activité bactérienne de notre produit est la gélose de Mueller-Hinton c'est le seul milieu de culture solide pour l'étude de sensibilité qui ait été validé par le NCCLS (Comité national des normes pour laboratoires cliniques). Étant

donné que la manière dont la gélose Mueller-Hinton est préparée peut affecter les résultats de la procédure de diffusion par disque.

Après stérilisation de la gélose Muller –Hinton dans l'autoclave. Elle a été coulée en boîte de Pétri sur une épaisseur de 4mm ensuite séchée avant l'emploi. On a créé des puits dans la gélose à l'aide d'une pipette pasteur,

➤ **Ensemencement**

L'ensemencement se fait par la méthode de Kirby-Baur par écouvillonnage [11].

- Plonger un écouvillon stérile dans une suspension bactérienne et laisser s'imbiber.
- Le sortir du tube en l'essorant doucement sur la paroi, afin de décharger le surplus.
- Ensemencer sur le milieu Muller-Hinton en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 3 fois 60° afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- A la fin de l'ensemencement nous passons l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 mn.

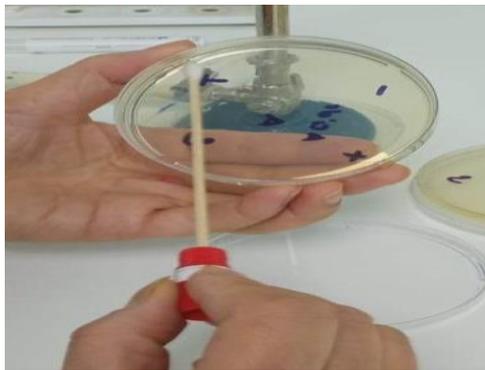


Figure II.10 : Ensemencement.

➤ **Application de produits et incubation**

Dans chacun puis on a déposé des concentrations différent de produits à tester à l'aide d'une micropipette on 'a versé 0.5 ml, Un témoin négatif qui est DMSO et témoin positif qui est un anti biotique sont utilisés [10]. On mit les boîtes de pétries au réfrigérateur pour permettre au produit de se diffuse. Après deux à trois heures, les boîtes sont incubé dans une étuve dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

➤ Lecture

Pour chaque souche on a mesure avec précision, en millimètres, le diamètre de la zone d'inhibition. Les résultats de l'antibiogramme indiquent alors si la bactérie est sensible ou résistante au composé étudié

II.2.4. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante

Il y a plusieurs méthodes utilisées pour estimer l'activité antioxydante d'un composé ou d'un extrait de plante. Le test DPPH est l'une de ces méthodes les plus courantes et relativement rapides.

Le DPPH[•] est un radical libre stable de couleur violette, et a une absorption maximale à $\lambda_{\text{max}} = 517 \text{ nm}$. Lors de la réaction avec une substance antioxydante, le DPPH[•] est converti en une forme stable non radicalaire en acceptant un hydrogène, ce qui entraîne une diminution de l'absorbance et un changement de couleur du violet au jaune pâle [12].

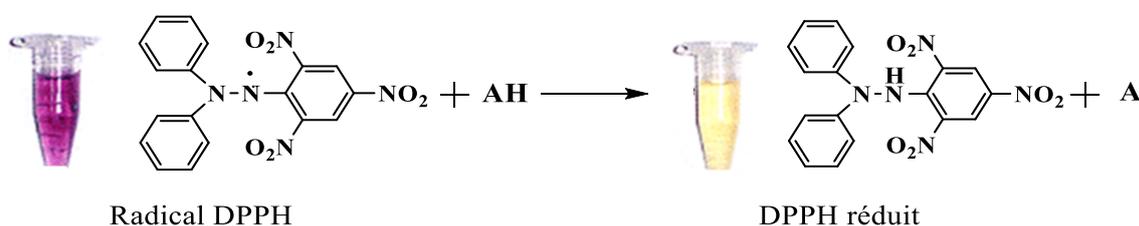


Figure II. 11 : Réduction du radical DPPH[•] par A-H, où (AH) est un composé capable de céder un H au radical DPPH.

La réaction de transfert d'hydrogène de l'antioxydant vers le DPPH[•] est suivie par la spectrophotométrie visible en enregistrant la décroissance de la bande d'absorption du DPPH[•] à $\lambda = 517 \text{ nm}$ (diminution de la coloration violette) [13].

On prépare une solution méthanolique de DPPH de concentration de 0.04 mg/ml. La solution de DPPH doit être fraîche, elle est préparée au même jour d'analyse et conservée à l'obscurité parce que ce radical se dégrade à la lumière. Une solution mère de 1mg/ml est préparée par dissolution de l'Acide α -aminophosphonique dans le méthanol. Par des dilutions en cascade, on obtient une gamme de concentrations allant de 1 mg/ml à 0.03123 mg/ml. On verse 1.5ml de chaque solution testée dans un tube à essai, puis on ajoute 0.5ml de DPPH, on agite vigoureusement. Après 30 min d'incubation dans l'obscurité, les mesures de l'absorbance à $\lambda = 517 \text{ nm}$ sont effectuées par un spectrophotomètre.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant synthétique butylhydroxytoluène ; dans les mêmes conditions.

Les expériences sont réalisées à température ambiante et pour chaque concentration le test est répété trois fois.

L'activité de piégeage des radicaux DPPH (% RSA_{DPPH}) du produit testé a été calculée à l'aide de la formule (II. 3) [14].

$$\% RSA_{DPPH} = \frac{A_{DPPH} - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blanc}})}{A_{DPPH}} \times 100 \dots\dots\dots (II.3)$$

où : A_{DPPH} est l'absorbance de contrôle (0.5 ml de la solution méthanoïque de DPPH plus 1.5 ml de méthanol).

$A_{\text{échantillon}}$ est l'absorbance de l'échantillon (1.5 solution méthanoïque de produit testé à différent concentration + 0.5 ml de la solution méthanoïque de DPPH).

A_{blanc} est l'absorbance de (1.5 solution méthanoïque de produit testé à différent concentration + 0.5 ml de méthanol).

Références bibliographies

- [1] Matthieu Emond, Technique expérimentales en chimie, DUNOD paris 2012.
- [2] R. Kerkour, Synthèse et caractérisation d'une série d'inhibiteurs Hydroxy et α -aminophosphonates : Etude expérimentale et théorique des propriétés inhibitrices de corrosion en milieu acide, thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas – Sétif-1, 2021.
- [3] G. Burgot, J-L. Burgot, Méthodes instrumentales d'analyses chimiques et applications, 2002.
- [4] F. Rouessac, A. Rouessac, D. Cruché, A. Martel, Analyse chimique 9^e édition Méthodes et techniques instrumentales modernes, DUNOD 2019.
- [5] R.M. Silverstein, G.C. Basler, T.C. Morill, Identification spectrométrique de composés organique, Paris Bruxelles, 6^e édition paris Dunod, Paris, 2004
- [6] B. Schrader, Infrared and rarnan spectroscopy methods and applications, Edited by VCH Verlagsgesellschaft mbH. D-69451 Weinheim Federal Republic of Gernnany 1995.
- [7] P. Galez, F. Tamet, G. Poulet, A. Brondex, Techniques Spectroscopiques d'analyse.
- [8] M. Mesbah, Synthèse, caractérisation et application biologique de nouveaux ligands bases de Schiff et leurs complexes métalliques, thèse de doctorat, université Ferhat Abbas–Sétif-1, 2018.
- [9] T. M. Chaouche, F. Haddouchi , K. Zerhouni, A Sidi-Yekhelef, Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *Rupestre*. Afrique Science (2016) 144 - 150.
- [10] H. Tlidjane, Synthèse, propriétés spectroscopiques et étude théorique d'une série de nouvelles molécules organophosphorées à effet pharmaceutique, thèse doctorat université Ferhat Abbas – Sétif-1, 2022.
- [11] A. Ayad, Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux de l'Ouest algérien, thèse de doctorat, université de Tlemcen 2017.
- [12] S.D.Sanja, N.R.Sheth, Characterization and evaluation of antioxidant activity of portulaca oleracea, Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 1 (2009) 74-84.

Chapitre III
Synthèse et activités
biologiques

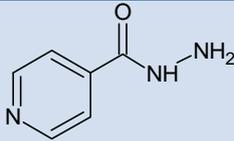
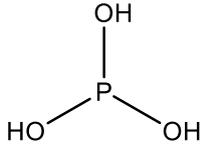
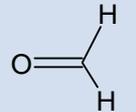
Dans ce chapitre, nous décrivons la synthèse de l'acide ([2-(pyridine-4-carbonyl) hydrazine-1,1- diyl] bis (méthylene)) bisphosphonique, en utilisant la méthode de Moedritzer - Irani [1] et sa caractérisation physicochimique et structurale par les techniques spectroscopiques (UV-Vis et FTIR). De plus, les résultats de l'évaluation in vitro des activités biologiques de l'acide synthétisé « antibactérienne et antioxydante » sont également présentés.

III.1. Synthèse

III.1.1. Réactifs et solvants utilisés

Les marques des produits chimiques employés dans ce mémoire sont : Sigma -Aldrich, et Fluka et les solvants sont utilisés sans traitement préalable.

Tableau III. 1: Caractères physicochimiques principaux des réactifs utilisés.

Réactifs	Pureté	Formule brute	M (g/mol)	Point de fusion	Structure chimique
Pyridine-4-carbohydrazide	99 %	C ₇ H ₇ N ₃ O	137.139	170 °C	
Acide phosphoreux	50%	H ₃ PO ₃	81.99	200 °C	
Formaldéhyde	37 %	CH ₂ O	30,031	-15°C	

Le **tableau III. 2** résume les différentes caractéristiques physicochimiques des solvants utilisés dans ce mémoire.

Tableau III. 2: Caractères physicochimiques des solvants utilisés.

Solvants	Formule brute	M (g/mol)	Pureté%	T d'ébullition
Eau	H ₂ O	18	98	100°C
Méthanol	CH ₃ OH	32,04	99.8	65°C
Acétate d'éthyle	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	99.4	77°C
n-hexane	C ₆ H ₁₄	86.18	95	69°C

L'analyse de chromatogramme montre que le produit obtenu présente une seule tache différente de produit de départ, ce qui indique l'obtention de nouveau produit pur. On observe aussi sa faible migration ce qui explique grande polarité.

III.1.3.2. Teste de solubilité

On a effectuait des tests qualitatifs pour avoir une idée sur la solubilité de produit synthétisé dans les solvants habituels. Pour cela, on a préparé une série de tubes à essai, dont chaque tube une petite masse de produit testé et un solvant. Les résultats obtenus sont regroupés dans le **tableau III. 3**.

Tableau III. 3 : Test de solubilité du produit synthétisé et l'amine dans différents solvants.

Solvant	Amine	Acide α -aminophosphonique
Eaux	Soluble	Soluble
Méthanol	Soluble	Soluble
Ethanol	Soluble	Insoluble
Acétate d'éthyle	Insoluble	Insoluble
Dichlorométhane	Insoluble	Insoluble
Toluène	Insoluble	Insoluble
Hexane	Insoluble	Insoluble
DMSO	Soluble	Soluble
THF	Insoluble	Insoluble
Acétone	Insoluble	Soluble
Chloroforme	Insoluble	Insoluble
DMF	Soluble	Peu soluble

On remarque qu'il y a une différence entre la solubilité du produit synthétisé et l'amine de départ, cette différence est liée aux différences structurales entre la molécule synthétisée et les molécules de départ.

III.1.3.3. Température de fusion

La mesure de point de fusion de l'acide α -aminophosphonique synthétisé est égale à **260°C**, cette valeur supérieure au point de fusion de produit de départ (Pyridine-4-carbohydrazide) **170 °C**. Cela nous donne indice que nous avons un nouveau produit avec une masse moléculaire plus élevée que l'amine.

III.1.3.4. Caractérisations spectrales

La structure de produit synthétisé a été déterminée par les données spectroscopiques UV-Vis et infrarouge.

a. Caractérisation par spectrophotométrie UV-Visible

La **figure III. 2** illustre les spectres UV-vis des produits : (a) l'amine et (b) l'acide synthétisé réalisé dans le méthanol à température ambiante dans le domaine allant de 200 nm à 900 nm.

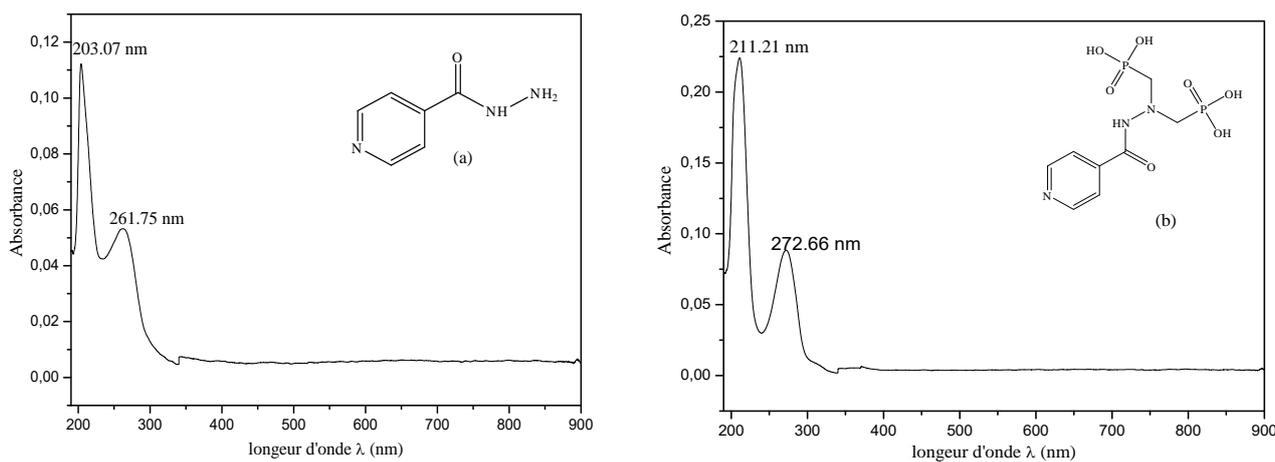


Figure III. 2 : Spectres UV-vis enregistrés en milieu méthanolique (a) Pyridine-4-carbohydrazide et (b) l'acide α -aminophosphonique.

L'analyse des spectres UV-vis montre que :

- ✚ Ces composés sont transparents et ne présentent aucune bande d'absorption dans la région du visible.
- ✚ La présence d'une bande située à 203.07 nm qui caractérise le pyridine-4-carbohydrazide. Alors que pour l'acide synthétisé, la bande est située à 211.21 nm, l'apparition de cette bande est due aux transitions électroniques $\pi \rightarrow \pi^*$ du noyau aromatique.
- ✚ La présence d'une bande située à 261.75 nm dans le spectre de l'amine (**figure III. 2. a**) et située à 272.66 nm pour l'acide synthétisé (**figure III. 3. b**), cette bande est due aux transitions $n \rightarrow \sigma^*$ et $n \rightarrow \pi^*$ des liaisons O-H, N-H, P-O et C=O [2].

Pour une étude comparative nous avons tracé les spectres UV-vis d'une solution de l'amine et du produit synthétisé à une concentration $C=10^{-5}$ mol/l (**figure III. 3**).

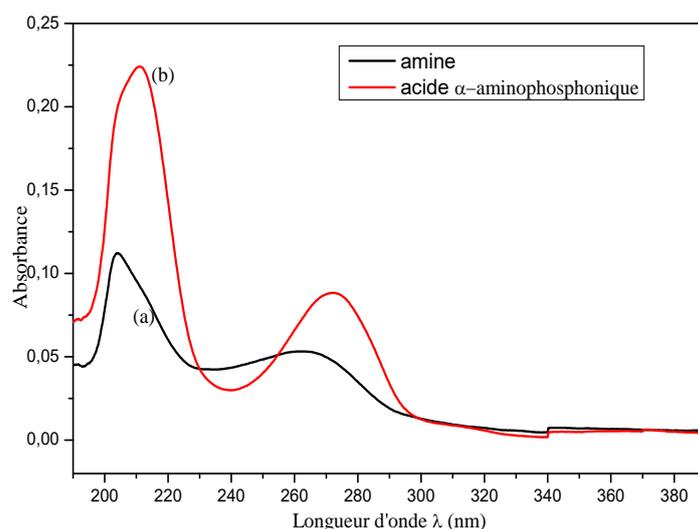


Figure III.3 : Spectres UV-vis caractéristique de l'amine et l'acide enregistré en milieu méthanoïque $C=10^{-5}$ mol/l.

Selon la **figure III.3**, on remarque une différence entre les λ_{\max} des bandes d'absorption de l'acide α -aminophosphonique et de l'amine. On remarque aussi un effet hyperchrome clair (augmentation de l'intensité d'absorption) dans des bandes caractéristiques de l'acide synthétisé par rapport de d'amine, ce qui confirme l'obtention d'un nouveau produit.

Le **tableau III.4** regroupe les valeurs des longueurs d'onde et les coefficients d'absorption molaire de l'amine et l'acide synthétisé.

Tableau III. 4 : Paramètres spectrales caractéristiques d'acide synthétisé et l'amine enregistrée en méthanol.

Produits	Concentration	$\lambda_{\max}(\text{nm})$	absorbance	$\epsilon(\text{l.cm}^{-1}.\text{mol}^{-1})$
Acide α -aminophosphonique	$C = 10^{-5}$ M	203.07	0.118	11800
		261.75	0.025	2500
Amine	$C = 10^{-5}$ M	211.21	0.224	22400
		272.66	0.088	8800

b- Caractérisation par spectroscopie infrarouge (FT-IR)

Les **figures (III. 4)** et **(III. 5)** présentent les spectres IR de l'amine et de la molécule synthétisée enregistrée dans le domaine de $4000\text{-}500 \text{ cm}^{-1}$.

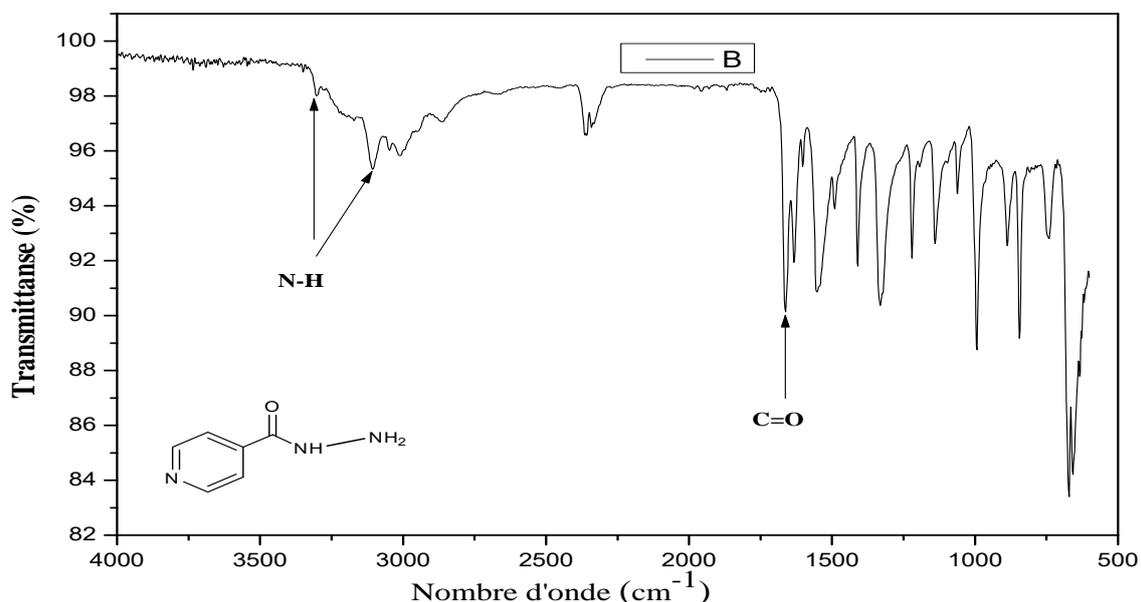


Figure III. 4 : Spectre IR de pyridine-4-carbohydrazide.

Le spectre IR de l'amine montre la présence de différentes bandes caractéristiques :

Les bandes à 3312 et 3108 cm^{-1} due à vibration d'élongation de la liaison N-H de groupement NH et NH_2 . La bande caractéristique de liaison C=N est observée à 1553 cm^{-1} . Les pics caractéristique de la liaison C-H aromatique est observés à $3049, 3007\text{ cm}^{-1}$. Le pic illustré à 1418 cm^{-1} est assigné à la liaison C=C aromatique. La bande de forte intensité observée vers 1673 cm^{-1} est attribué à la vibration d'élongation de liaison C=O.

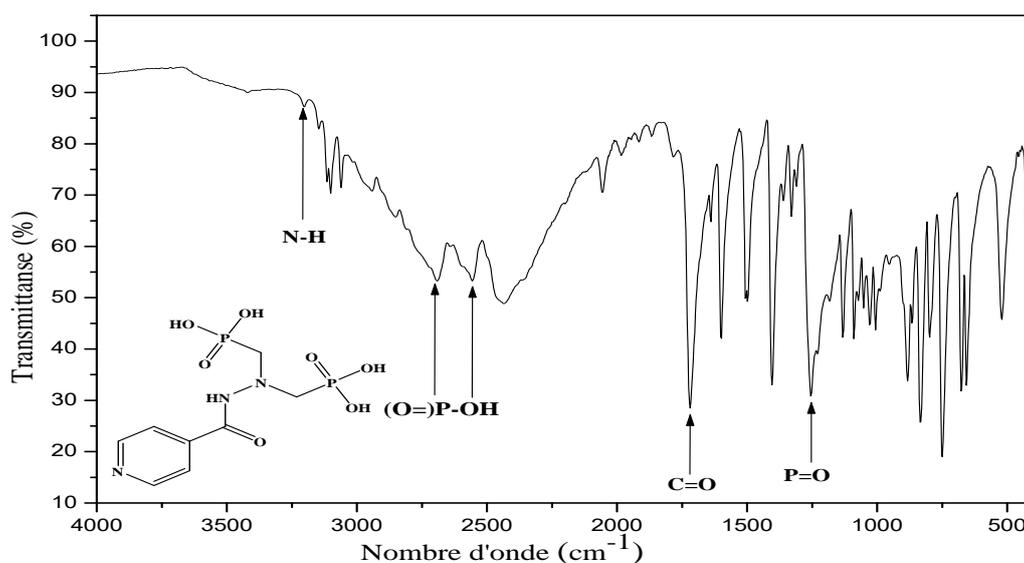


Figure III.5 : Spectre IR l'acide α -aminophosphonique

On compare le spectre IR de l'acide synthésise (figure III. 5) avec le spectre de l'amine (figure III. 4) on remarque l'absence des deux bandes attribuées à la liaison N-H de

l'amine primaire, ce qui confirme la formation de deux liaisons différentes de H avec l'azote. On observe aussi des nouvelles bandes situées à 2692 et 2562 cm^{-1} due aux vibrations d'élongation des liaisons OH des groupements acide phosphonique, les pics à 1249 cm^{-1} et à 1027 cm^{-1} attribuée au groupement P=O et P-O respectivement dans le spectre du produit synthétisé [3].

Le **tableau III. 5** présente les principaux pics d'absorption du composé synthétisé comparé avec celles du produit de départ.

Tableau III. 5 : Principaux pics caractéristiques des vibrations IR du produit synthétisé et l'amine pyridine-4-carbohydrazide

Liaison	Acide α -aminophosphonique	Amine pyridine-4-carbohydrazide
$\nu(\text{N-H})$	3202	3312 et 3108
$\nu(\text{C-H})$ arom	3061	3049, 3007
$\nu(\text{C-H})$ alpha	2946, 2857	/
$\nu(\text{P-OH})$	2695, 2559	/
$\nu(\text{C=O})$	1713	1673
$\delta(\text{O-H})$	1642	/
$\nu(\text{C=N})$	1592	1553
$\nu(\text{C=C})$ arom	1495, 1395	1418
$\delta(\text{C-H})$	1328	
$\nu(\text{P=O})$	1249	/
$\delta(\text{P-O})$	1027	/
$\nu(\text{P-C})$	998	/

Sachant que :

ν : fréquence de vibration élongation.

δ : fréquence de vibration déformation.

III.1.4. Mécanisme réactionnel

La synthèse de l'acide α -aminophosphonique se fait selon la réaction de Moedritzer-Irani, qui est analogue à la réaction de Mannich. La **figure III. 6** montre un mécanisme proposé pour illustrer les étapes de synthèse.

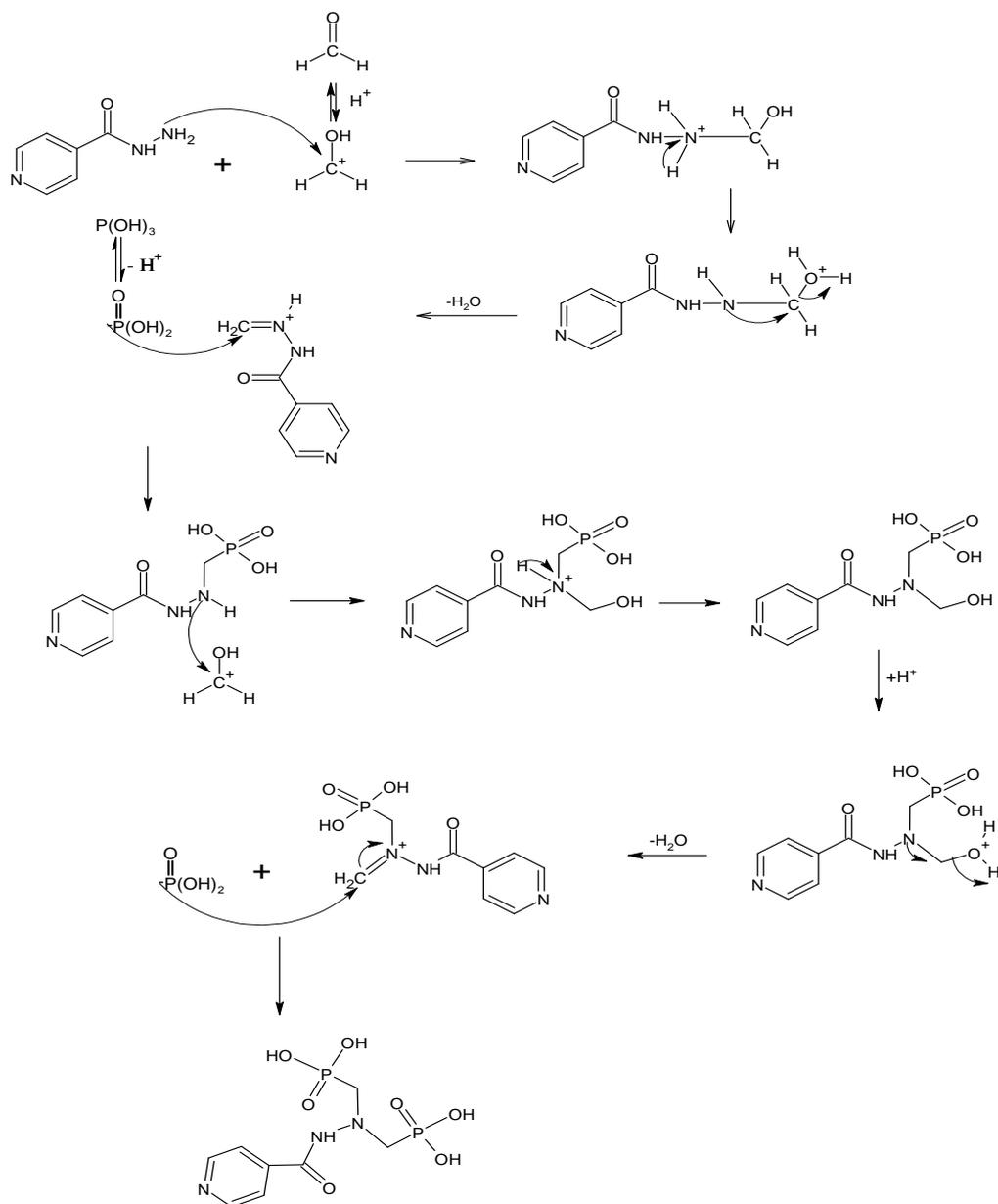


Figure III. 6 : Mécanisme proposé pour la formation de l'acide.

Les étapes de la réaction peuvent être résumées comme suit :

1. Protonation du formaldéhyde en milieu acide.
2. Attaque nucléophile par les doublets libres de la fonction amine sur le carbocation.
3. Attaque nucléophile de l'acide phosphoreux [3].

III. 2. Evaluation de l'activité biologique de l'acide α -aminophosphonique

III.2.1. Activité antibactérienne

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien du produit synthétisé par la méthode de diffusion sur un milieu gélosé solide, Mueller- Hinton.

L'activité de l'acide α -aminophosphonique a été étudiée contre sept germes pathogènes qui sont : *Bacillus subtilis*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Methicillin résistant staphylococcus (MRSA)*, *Staphylococcus aureus Alimentaire*, *Staphylococcus aureus cliniques* et *Entérocoques fécalis*. Le choix de ces souches bactériennes était basé sur le caractère de multi résistant envers les antibiotiques classiques et l'agent pathogène le plus fréquemment impliqué dans les infections humaines, d'origines bactériennes [4].

Les figures III.7 et III.8 présentent les boîtes Pétri après une incubation de 24 h.

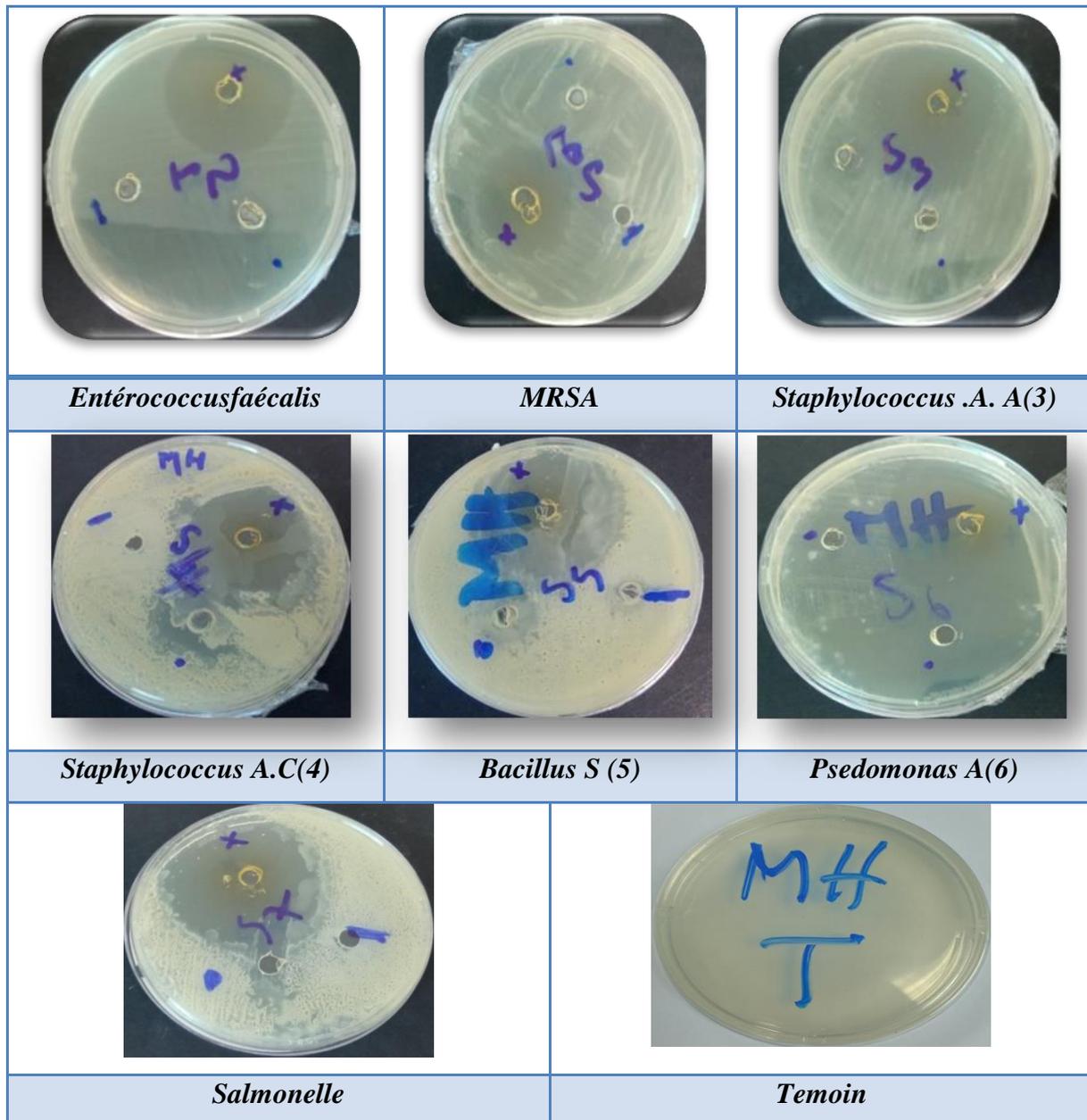


Figure III.7 : Boîtes de Pétri de l'essai antibactériennes de l'acide C= 15 mg/ml.

(Le plus c'est le contrôle positif, le moins c'est le contrôle négatif, le point c'est le produit testé et le T c'est le témoin sans souche bactérienne)

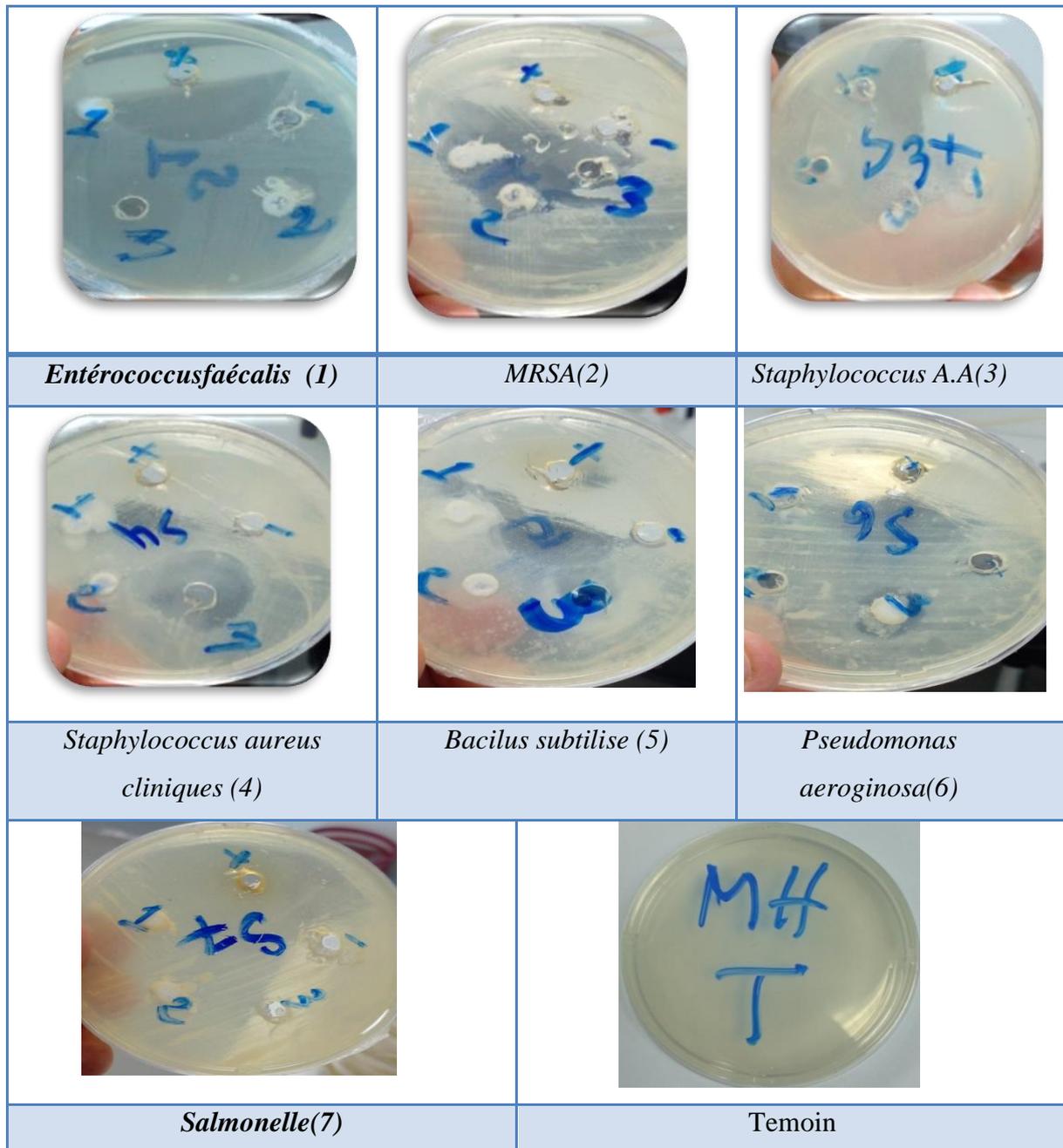


Figure III. 8 : Boites de Pétri de l'essai antibactériennes de l'acide C= 25 mg/ml (**Le plus** c'est le contrôle positif, **le moins** c'est le contrôle négatif, **le trois** c'est le produit tester et le T c'est le témoin sans souche bactérienne).

D'après les résultats obtenus on constate que :

- Le solvant DMSO (testé comme contrôle négative) ne présente aucun effet sur la croissance normale de toutes les souches bactériennes.

- Les souches testées montrent une sensibilité différente à l'antibiotique spiramycinz-iso 0.375 MUI/5ml (testé comme contrôle positif).

- Pour l'acide α -aminophosphonique on constate que les zones d'inhibition sont hautement significatives.

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Mutai et al. ; ils ont classé les zones d'inhibition de la croissance autour des puits contenant le produit en quatre classes [5].

- Résistante : $D < 8\text{mm}$.
- Sensible : $9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$.
- Assez sensible : $15\text{mm} \leq D \leq 19\text{mm}$.
- Très sensible : $D \geq 20\text{mm}$.

Le diamètre des zones d'inhibitions obtenues à partir des différentes souches testées est mesuré avec un pied à coulisse, les valeurs en mm sont représentées dans **tableau III. 6**.

Tableau III. 6 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne au tour des puits en présence d'acide α -aminophosphonique synthétisé.

N°	Souches	C=15 mg/ml	C= 25 mg /ml	Antibiotique (spiramycinz-iso 0.375 MUI/5ml)
1	<i>Entérocooccus faécalis</i>	10 mm	21 mm	31 mm
2	<i>Methicillin résistant staphylococcus MRSA</i>	15 mm	18 mm	31 mm
3	<i>Staphylococcus aureus Alimentaire</i>	9 mm	11 mm	31 mm
4	<i>Staphylococcus aureus cliniques</i>	21 mm	26.5 mm	33 mm
5	<i>Bacillus subtilise</i>	15 mm	24 mm	33 mm
6	<i>Pseudomonas aeroginosa</i>	20 mm	29 mm	38 mm
7	<i>Salmonelle</i>	12 mm	29 mm	37 mm

L'effet antibactérien de l'acide synthétisé et l'antibiotique sur les souches testés, sont représentées par l'histogramme (**figure III. 9**).

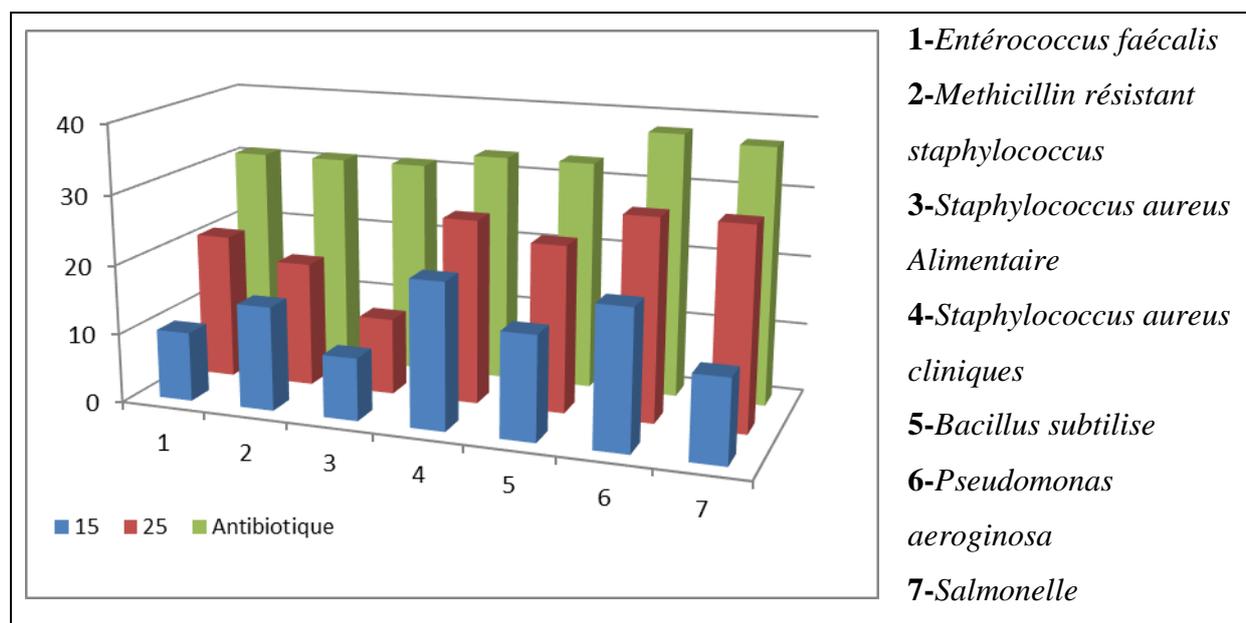


Figure III. 9 : Activité antibactérienne de l'acide α -aminophosphonique.

Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne indiquaient une inhibition contre toutes les souches testées ; Les zones d'inhibition diffèrent d'une souche à une autre, pour la concentration de 15 mg/ml d'acide α -aminophosphonate, la zone d'inhibition variait de 9 mm à 21mm, pour une concentration de 25mg/ml, la zone d'inhibition variait de 11 mm avec *Staphylococcus aureus Alimentaire* jusqu' à 29 mm de diamètre avec *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonelle*. Pour le contrôle positif, la zone varie de 31 mm à 38 mm et pour le contrôle négatif aucun effet n'a été mis en évidence.

III.2.2. Activité antioxydante de l'acide α -aminophosphonique par la méthode DPPH

L'activité antioxydante du produit synthétisé vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie, pour cela nous avons utilisé un spectrophotomètre UV-vis pour mesurer les absorbances des échantillons à $\lambda = 517$ nm. Le **tableau III.7** représente la variation de l'absorbance du radicale DPPH en fonction des concentrations de la l'acide α -aminophosphonique et le standard BHT.

Tableau III. 7 : Evolution de l'absorption mesurée à $\lambda=517$ nm pour le standard BHT et l'acide α -aminophosphonique.

Acide α -aminophosphonique			BHT		
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance moyenne	Blanc	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance moyenne	Blanc
23.4	0.3570	0.0882	0.183	0.365	0.0955
46.875	0.3365	0.09880	0.366	0.34575	0.0963
93.75	0.2825	0.1037	0.733	0.32115	0.0965
187.5	0.2554	0.1047	1.465	0.29155	0.0971
375	0.2176	0.1096	2.929	0.24465	0.098
750	0.1915	0.12	5.85	0.20805	0.0981
			11.7	0.14225	0.0983
			23.4	0.13595	0.0987
			46.875	0.11945	0.0987
			93.75	0.1206	0.1009

On observe qu'avec l'augmentation de la concentration des molécules, l'absorption diminue, cette diminution est due à la diminution de la concentration de DPPH qui se réduit à une forme non radicalaire DPPH-H.

Le pourcentage d'inhibition pour chaque concentration est calculé selon la relation II.3, les résultats obtenus sont utilisés pour tracer les courbes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration $I\% = f(C)$ (figures III. 10).

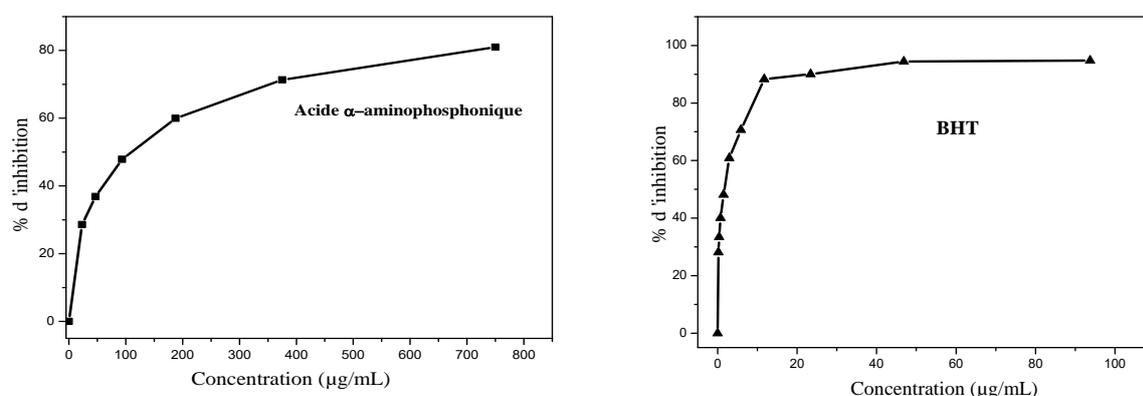


Figure III. 10 : % Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'acide α -aminophosphonique et BHT.

On remarque que les pourcentages d'inhibitions augmentent avec l'augmentation de la concentration et cela prouve que les molécules testées présentent une activité anti-radicalaire significative.

III.2.2.1. Détermination d'IC₅₀

La valeur de l'IC₅₀ représente la concentration de l'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % du radical libre DPPH, qui a été déterminée graphiquement en utilisant la régression linéaire du graphe du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration (**figure III.11**). Plus la valeur d'IC₅₀ est faible plus l'activité est importante [6]. La valeur d'IC₅₀ d'un produit quelconque est généralement comparée à celle des antioxydants standards, composés dont les études *in vitro* et *in vivo* ont montré que ce sont d'excellents antioxydants.

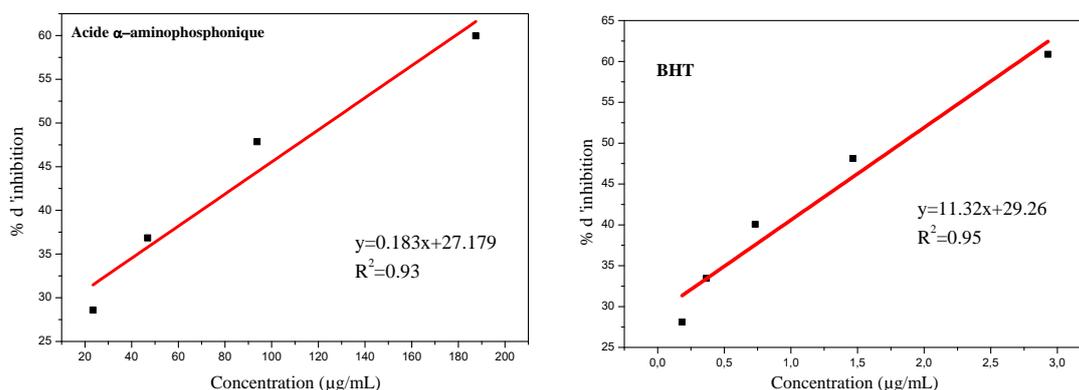


Figure III. 11 : Droite linéaire de pourcentage d'inhibition de l'acide et de BHT.

L'antioxydant -standard (BHT) a une activité anti-radicalaire très puissante avec IC₅₀ égale à 1.83 µg/ml.

L'acide représente un IC₅₀ égale à 124 µg/ml ce qui traduit un pouvoir anti radicalaire faible.

Références bibliographiques

- [1] K. Moedritzer, R.R. Irani, The direct synthesis of α -aminomethylphosphonic acids. Mannich-type reactions with orthophosphorous acid, *Journal of Organic Chemistry*, 31 (1966) 1603-1607.
- [2] A. Boukhari, spectroscopie: Rappels de cours, exercices et problèmes corrigés, université Annaba.
- [3] M. Mehri, Synthèse, évaluation électrochimique et classique de l'activité biologique et de l'efficacité inhibitrice de corrosion d'une série d'acides α -aminophosphoniques : Investigation expérimentale et théorique, thèse doctorat, Université Ferhat Abbas-1, 2019.
- [4] A. Kayser, J. Weber, V. Hecht, U. Rinas, Metabolic flux analysis of *Escherichia coli* in glucose-limited continuous culture. I. Growth-rate-dependent metabolic efficiency at steady state, *Microbiologie*, 151(2005) 693-706.
- [5] V.A. Berghe, A.J. Vlietinck, Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *methods for biochemistry*, 6 (1991) 47-68.
- [6] S. Boumerfeg, Antioxidative properties of *Tamus communis* L., *Carthamus caeruleus* L. AND *Ajuga iva* L. extracts, thèse de doctorat, université Ferhat Abbas Setif-1, 2010.

Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons synthétisé l'acide α -aminophosphonique par la réaction de Moedritzer-Irani dans un milieu aqueux à partir de pyridine-4-carbohydrazide, le produit a été obtenu avec un rendement de 59%.

La pureté de cet acide a été vérifiée par la CCM. L'acide α -aminophosphonique synthétisé a été caractérisé par la détermination de quelques propriétés physiques telles que le point de fusion, on a aussi essayé de voir la solubilité de produit obtenu dans des solvants couramment utilisés.

La spectrophotométrie infra rouge a été utilisée pour voir s'il y a la disparition des bandes caractérisant l'imine et l'apparition de nouvelles fonctions dans la molécule synthétisée (P-C, P=O, O-H)

L'UV-visible a été exploité dans l'analyse qualitative, par comparaison de spectre du produit synthétisé avec spectre d'amine et dans l'analyse quantitative par l'exploitation de la loi de Beer-Lambert. Les résultats trouvés indiquent l'obtention d'un spectre différent de celui du produit de départ.

Les tests biologiques effectués sur la molécule synthétisée, en appliquant la technique de la diffusion en milieu solide sur Muller Hilton pour évaluer leur activité antibactérienne, montrent que l'acide α -aminophosphonique préparé a une bonne activité antibactérienne contre les sept souches testées.

L'étude de l'activité antioxydante a montré que notre produit a un pouvoir antioxydant remarquable.

Résumé

La première étape de ce travail vise la synthèse d'un acide α -aminophosphonique, par la méthode de Moedritzer-Irani. Le produit obtenu a été caractérisé par les méthodes chromatographiques, spectroscopiques (UV. Vis et IR) et point de fusion. La deuxième étape consiste à mener une étude biologique sur le composé synthétisé à savoir son activité antibactérienne et anti oxydante (DPPH). Les résultats ont montré que le composé étudié avait une bonne activité bactérienne contre les sept souches testées, et une activité antioxydante remarquable, dont l'efficacité augmentait avec l'augmentation de la concentration.

Mots clés : Antibactérien, Antioxydante, α -aminophosphonate, Caractérisation, Synthèse.

ملخص

تهدف المرحلة الأولى من هذا العمل إلى تصنيع حمض ألفا أمينو وسفونيك بطريقة مودريتزر-إيراني. تم توصيف المنتج المحضر باستخدام الأساليب الكروماتوغرافية والطيفية (الأشعة فوق البنفسجية والمرئية والأشعة تحت الحمراء) ونقطة الانصهار. تتمثل الخطوة الثانية في إجراء دراسة تطبيقية بيولوجية على المركب، أي نشاطه المضاد للبكتيريا والمضاد للأكسدة (DPPH). أظهرت النتائج أن المركب المدروس لديه نشاط بكتيري جيد ضد السلالات السبع المختبرة، ونشاط مضاد للأكسدة ملحوظ، زادت فعاليته مع زيادة التركيز.

الكلمات المفتاحية: مضاد للجراثيم، مضاد للأكسدة، ألفا أمينو فوسفونات، توصيف، تخليق

Abstract

The initial step of this work to synthesis an α -aminophosphonic acid, using Moedritzer-Irani method. The obtained product was identified by the chromatographic (CCM), spectroscopic (UV.Vis and IR) and melting point methods. The second step consists in carrying out, the synthesized compound to biological study to determine its antibacterial and antioxidant (DPPH) activity. The finding showed that the investigated compound had good investigated activity against the seven teste organisms and remarkable antioxidant activity, the effectiveness of which increased with concentration.

Keywords : Antibacterial, Antioxidant, α -aminophosphonic, Characterization, Synthesis.