

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère d'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouhamed El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Arréridj



Faculté des sciences et des technologies

Domaine des sciences de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Analytique

Mémoire de master

Thème

**Synthèse des molécules à base de phosphonates
et étude de leurs activités antioxydantes**

Présenté par :

**Ammar Boudjelal Soumaya
Khadraoui Ishak**

Encadré par :

Dr. Mehri Mouna

Promotion : juillet 2021

Jury de soutenance :

Président	:	TABTI Salima,	MCA,	Université B.B.A
Encadreur	:	MEHRI Mouna,	MCB,	Université B.B.A
Co-Encadreur:		MOUMENI Ouahiba,	MCB,	Université Sétif-1
Examineur :		KHELLADI Mohamed ridha,	Pr,	Université B.B.A

2020-2021

Dédicaces

Je dédie le fruit de ma formation:

À mon père :

l'homme de ma vie mon exemple éternel, mon soutien et source de joie et de bonheur, celui qui est toujours sacrifié pour me voir réussir que Dieu te garde pour nous.

À ma chère mère :

Qui est toujours prête à ce sacrifié pour mon bonheur, L'être qui m'inspirait, la source de mes efforts et la lumière de mes jours.

À mes chers frères

À ma sœur et mon beau-frère

À tous mes proches

Ammar Boudjelal Soumaya.

Dédicaces

Je dédie le fruit de ma formation:

Je Dédie ce modeste travail

À mes parents.

À mes frères et mes sœurs.

À toute ma famille et à mes amis.

Khadraoui Ishak

Remerciements

Nous remercions avant tout « [ALLAH](#) », tout-puissant, de nous nous avoir donné la force, le courage et la volonté pour poursuivre et dépasser toutes les difficultés.

Ce travail a été réalisé au laboratoire d'Electrochimie des Matériaux Moléculaires et des Complexes LEMMC, Faculté de Technologie de l'Université Farhat Abbas – Sétif, sous la supervision de Dr. MEHRI Mouna, enseignante à l'université de Bordj Bou-Argeridj, à qui nous tenons à exprimer notre remerciement pour son encadrement, sa disponibilité, ses orientations et conseils.

Remerciements particuliers de notre part à la Co-Encadreur Dr. Momani Wahiba, enseignante à l'Université de Sétif-1, pour son aide précieuse. Qu'elle trouve ici toutes nos gratitude.

Nous remercions Dr.HADJI Faouzi pour son intérêt et son aide.

Nous remercions tous les membres de laboratoire LEMMC de L'université Ferhat Abbas-Sétif-1. qui nous a entourés et encouragés au long de période de stage.

Nous tenons à remercier aussi les honorables membres de jury : Pr KHELLADI Mohamed ridha et TABTI Salim, enseignants à l'université de Bordj Bou-Argeridj, pour l'intérêt qui porte pour notre thème en acceptant de m'enrichir et en faire des remarques.

Un grand remerciement aussi à nos enseignants pour leur volonté de nous conduire à la réussite tout au long de notre cursus universitaire.

Enfin nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos collègues et amies qui nous ont toujours encouragés.

Table des matières

TABLE DES MATIERES

Table des matières	i
Listes des figures et tableaux.....	v
Introduction générale	01

Chapitre I : Etude Bibliographique

I.1. Généralités sur les phosphonates	03
I.1.1. Les phosphonates	04
I.1.2. Bref Historique.....	04
I.1.3. Synthèse des phosphonates	06
I.1.4. Classification des phosphonates	06
I.1.4.1. Les bisphosphonates (BPs)	07
I.1.4.2. Les α -aminophosphonates	08
I.1.4.3. Les α -hydroxyphosphonates.....	11
I.1.4.4. Les nucléosides phosphonates	11
I.1.4.5. Les alkyles-phosphonates et les aryles-phosphonates.....	12
I.1.5. Propriétés des phosphonates	12
I.1.6. Domaine d'application du phosphonates	13
I.1.6.1. Dans la biologie et la médecine	13
I.1.6.2. Dans agronomie	14
I.1.6.3. Inhibiteur de corrosion	14
I.1.6.4. Détergent	14
I.1.6.5. Traitement des eaux	14
I.1.7. Toxicologie	14
I.2. Activité antioxydantes	15
I.2.1. Les radicaux libres	15
I.2.1.1. Formes des radicaux libres	15
I.2.1.2. Les sources des radicaux libres	16
I.2.2. Stress oxydatif.....	16
I.2.3. Les antioxydants	16
I.2.3.1. Définition	16
I.2.3.2. Classification des antioxydants.....	16
I.2.3.3. Usage des antioxydants	17

1.2.3.4. Mécanismes d'antioxydation	18
---	----

Chapitre II : Méthodes expérimentales

II.1. Méthode de mesure de la température de fusion	19
II.1.1. Généralité.....	19
II.1.2. Échantillon de mesure	19
II.2. Chromatographie sur couche mince (C.C.M)	19
II.2.1. Généralité	19
II.2.2. Échantillon de mesure	20
II.3. Caractérisation spectroscopique	21
II.3.1. Spectrophotométrie UV-Visible	21
II.3.1.1. Généralité	21
II.2.1.1. Échantillon de mesure	22
II.3.2. Spectroscopie FT-IR	23
II.3.2.1. Généralité	23
II.2.2.2. Échantillon de mesure	23
II.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	24
II.4.1. Méthode de DPPH	24
II.4.1.1. Principe	24
II.4.1.2. Déroulement de l'expérience	25
II.4.2. Procédé au phosphomolybdate d'ammonium	26
II.4.2.1. Principe	26
II.4.2.2. Déroulement de l'expérience.....	26
II.4.3. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂ scavenging activity).	26
II.4.2.1. Principe	26
II.4.2.2. Déroulement de l'expérience.....	27
II.5. Calculs théoriques par la méthode DFT	28
II.5.1 Objectifs de la modélisation moléculaire	28
II.5.1.1 Mécanique quantique	28
II.5.1.2 Mécanique moléculaire.....	29
II.5.1.3 La dynamique Moléculaire	29
II.5.2. La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) :	29
II.5.2.1. Domaine d'application de la DFT :	29
II.5.2.2. Avantages et inconvénients de la DFT	30

Chapitre 3 : Synthèse et caractérisation

III.1. Réactifs et solvants utilisés	32
III.2. Montage utilisé pour la synthèse	33
III.3. Synthèse des esters des α -aminophosphonates	33
III.4. Mécanisme réactionnel.....	35
III.5. Caractérisation des produits synthétisés.....	37
III.5.1. Aspects et couleur des produits	37
III.5.2. Tests de solubilité	37
III.5.3. Chromatographie sur couche mince (CCM)	38
III.5.4. Rendements	39
III.5.5. Température de fusion.....	40
III.5.6. Caractérisation spectroscopique	40
III.5.6.1. Caractérisation des produits synthétisés par la spectrophotométrie UV-Vis	40
III.5.6.2. Caractérisation des produits synthétisés par spectroscopie FT-IR	42
II.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	24
II.4.1. Méthode de DPPH	24
II.4.1.1. Principe	24
II.4.1.2. Déroulement de l'expérience	25
II.4.2. Procédé au phosphomolybdate d'ammonium	26
II.4.2.1. Principe	26
II.4.2.2. Déroulement de l'expérience.....	26
II.4.3. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 scavenging activity).	26
II.4.2.1. Principe	26
II.4.2.2. Déroulement de l'expérience.....	27
II.5. Calculs théoriques par la méthode DFT	28
II.5.1 Objectifs de la modélisation moléculaire	28
II.5.1.1 Mécanique quantique	28
II.5.1.2 Mécanique moléculaire.....	29
II.5.1.3 La dynamique Moléculaire	29
II.5.2. La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) :	29
II.5.2.1. Domaine d'application de la DFT :	29
II.5.2.2. Avantages et inconvénients de la DFT	30

Chapitre 3 : Activité antioxydante et Calculs quantique

IV. 1. Evaluation de l'activité antioxydant des molécules synthétisées.....	47
IV.1.1.Réactifs et solvants utilisés	47
IV.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH	48
IV.1. 2. Activité antioxydante au phosphomolybdate d'ammonium	50
IV.1.4. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂ scavenging activity)	52
IV.2. Calculs théoriques par DFT	54
IV.2.1 Optimisation structurale	55
IV.2.2 Analyse des orbitales moléculaires frontières	55
IV.2.3. Les indices de réactivités	56
IV.2.4. Les charges atomiques	59
IV.2.5. Spectres infrarouges théoriques.....	60
Conclusions	61
<i>Références bibliographiques</i>	62

LISTE DES FIGURES

Chapitre I.

Figure I. 1 : Composés organique contenant le phosphore.....	04
Figure I.02 : L'acide 2-aminoéthylphosphonique.	05
Figure I.03: Réaction de Michaelis-Becker	06
Figure I.04 : Réaction de Michaelis-Arbuzov.....	06
Figure I.05: Mécanisme réactionnel de la réaction de Michaelis–Arbuzo.....	06
Figure I.06: La différence entre les structures des acides biphosphoniques et les pyrophosphates.	07
Figure I.07 : Structure d'Étidronate disodique.....	07
Figure I.08 : Synthèse de BPs à partir d'un acide carboxylique.....	07
Figure I.09: Synthèse de BPs à partir de nitrile.....	08
Figure. I.10 : Structures des (a) α -aminophosphonates, (b) acides α -aminophosphoniques (c) acides aminés... ..	08
Figure I.11: La réaction de Kabachnik – Fields.....	09
Figure I.12: Mécanismes possible pour la réaction de Kabachnik – Fields	09
Figure I.13: La réaction de Pudovik.	10
Figure I.14: La réaction de Moedritzer-Irani	10
Figure I.15: Réaction de Schwarzenbach.....	10
Figure. I.16: Structure générale des α -hydroxyphosphonates.....	11
Figure I.17: Synthèse des α -hydroxyphosphonates	11
Figure I. 18 : La différence entre la structure des nucléosides phosphonates(a) et nucléosides (b).	12
Figure I.19: Structures chimiques des alkyles-phosphonates et des aryles-phosphonates.	12
Figure I. 20 : Structures de certains exemples des médicaments à base des phosphonates	13
Figure I.21 : Structures des composés phosphonates utilisés dans l'agriculture	14
Figure I.22 : L'incidence de la Stress oxydatif dans la cellule... ..	16

Chapitre II.

Figure II. 2 : Un Fusiomètre.19

Figure II. 2 : Réduction du radical DPPH[•]24.

Chapitre III :

Figure III. 1 : Les différentes étapes de synthèse de l'ester34

Figure III.2. Séquence réactionnelle générale de synthèse des ester α -aminophosphonates35

Figure III. 3 : Mécanisme réactionnel proposé pour la formation de l'Ester 1 et Ester 236

Figure III. 4 : Résultats d'analyse par CCM de Ester 1 et Ester 238

Figure III. 5 : Spectres UV-Vis du 2-aminothiophénol, benzaldéhyde et Estre 140

Figure III. 6: Spectres UV-Vis du 2-aminothiophénol, 4-méthoxybenzaldéhyde et Estre241

Figure III. 7 : Spectres IR caractéristiques du composé synthétisé **Ester 1** et ces réactifs43

Figure III. 8 : Spectres IR caractéristiques du composé synthétisé **Ester 2** et ces réactifs44

Chapitre IV :

Figure IV.1 : Représentation photographique de la réaction de ester 1 et 2 avec le radicale DPPH[•]48

Figure IV. 2: Activité de piégeage radicalaire de (a) Ester1, (b) Ester 2 et (c) BHT avec différentes concentrations49

Figure. IV.3: Activité de piégeage de l'ester1 avec différentes concentrations. à 695nm51

Figure. IV.4: Activité de piégeage de l'ester 2 avec différentes concentrations à 695nm51

Figure IV.6 : Représentation photographique de test de phosphomolybdate d'ammonium51

Figure. IV.5: Activité de piégeage de l'acide ascorbique avec différentes concentrations à 695nm52

Figure IV.7: Activité de piégeage de (a) Ester1 et (b) Ester 2 vis-à-vis du H₂O₂53

Figure IV.8: Activité de piégeage de BHT vis-à-vis du H₂O₂54

Figure IV. 9 : Les structures optimisée de (a) ester 1, (b) ester 255

Figure IV. 10: Les orbitales moléculaires (HOMO-LUMO) du Ester 1 et Ester 255

Figure VI.11: Spectre IR Ester 1, (a) expérimental, (b) théorique60

Figure VI.12 : Spectre IR ESTER 2, (a) expérimental, (b) théorique60

LISTE DES TABLEAUX

Chapitre I :

Tableau I. 1 : Principales familles des composés organophosphorés	03
Tableau I. 2 : Nomenclature des composés organophosphorés les plus répandus.....	04
Tableau I.3 : Différents types des espèces réactives.	15

Chapitre II.

Tableau II.1 : Les différentes transitions peuvent être induites dans une molécule organique en fonction du type de radiation absorbée.	21
---	----

Chapitre III :

Tableau III. 1: Caractères physicochimiques principaux des réactifs utilisés.	32
Tableau III. 2 : Caractères physicochimiques des solvants utilisés.	33
Tableau III. 3. Nom et abréviation des α -aminophosphonates synthétisés.	37
Tableau III. 4: Aspects et couleur des produits de départ et le composé synthétisé.	37
Tableau III. 5 : Solubilité des produits synthétisés dans des différents solvants.	38
Tableau III. 6: Rapports frontaux des produits de départ et les composés synthétisés.	39
Tableau III. 7: Rendements des produits synthétisés.	39
Tableau III. 8 : Caractères physicochimiques principaux des produits synthétisés.	40
Tableau III.9: Paramètres spectrales caractéristiques des spectres UV-Vis des esters synthétisés enregistrés en méthanol.	42
Tableau III.10: Attribution des bandes d'absorption du produit synthétisé et les réactifs.	45

Chapitre IV :

Tableau IV.1 : Structures chimiques et propriétés physique des réactifs utilisés.....	47
Tableau IV. 2 : Evolution de l'absorption mesurée à $\lambda=517$ nm pour les molécules Ester 1, Ester 2 et le standard BHT.....	48

Tableau IV.3: IC ₅₀ des molécules l'Ester 1, Ester 2 et BHT, (valeur moyenne ± S.D pour n=3)...	50
Tableau IV.4: Evolution de l'absorption mesurée à λ=695nm pour l'ester1	51
Tableau IV.5: Evolution de l'absorption mesurée à λ=695nm pour l'ester2.....	51
Tableau IV.6: Evolution de l'absorption mesurée à λ=695 nm pour l'acide ascorbique.....	52
Tableau IV.7 : EC ₅₀ des molécules l'Ester 1, Ester 2 et acide ascorbique, (valeur moyenne ± S.D pour n=3).....	52
Tableau IV.8: Evolution de l'absorption mesurée à λ=510 nm pour l'Ester 1, Ester 2 et BHT. ...	53
Tableau IV.9: IC ₅₀ des molécules l'Ester 1, Ester 2 et acide ascorbique (valeur moyenne pour n=3).	54
Tableau IV. 10 : Les indices de réactivités Ester1 et Ester 2.....	57
Tableau IV.11: Charges atomiques des molécules Ester 1 et Ester 2 calculées par B3LYP / 6-31G (d, p).....	59

Introduction Générale

Introduction général

Les radicaux libres sont des composés instables et très réactifs, ils sont produits dans le corps humain au cours des fonctions métaboliques normales [1] ou produits en raison de l'exposition à différents types de radiations : produits chimiques, stress environnemental et soleil [2]. Ces espèces réactives sont capables d'oxyder les biomolécules et de provoquer la mort des cellules et, par conséquent, d'endommager les tissus. Les processus d'oxydation par les radicaux libres jouent également un rôle pathologique important en provoquant des nombreuses maladies humaines telles que le cancer, l'emphysème, la cirrhose, l'athérosclérose et l'arthrite [3].

Le corps humain est protégé des dommages oxydatifs des radicaux libres par des systèmes de défense complexes appelés antioxydants [4]. Le comportement antioxydant d'un composé est le résultat de sa capacité à inhiber l'initiation du radical libre ou la rupture de la chaîne dans le processus de propagation de l'oxydation [5]. Différents antioxydants ont été identifiés dans l'organisme humain tels que des enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase...) et non-enzymatiques (vitamines...) [6].

La nature fournit une diversité d'antioxydants tels que l'acide ascorbique (vitamine C), les tocophérols (vitamine E), la ferritine et l'albumine [7]. Plusieurs travaux menés dans le monde entier ont montré qu'un grand nombre d'extraits de plantes avaient une activité antioxydante très importante [8,9]. La synthèse chimique permet dans certains cas d'améliorer l'activité de ces composés naturels par des modifications structurelles ou d'obtenir des molécules ayant une activité antioxydante similaire à celle des composés naturels. En particulier, il a été montré que certains esters α -aminophosphoniates sont des antioxydants potentiels [10-12].

Les α -aminophosphonates constituent une classe importante de composés organophosphorés en raison de leur activité biologique polyvalente. Ils ont des structures analogues à ceux des acides aminés [13], dans lesquels la fonction acide carboxylique est remplacée par un groupement phosphonate $-PO(OR)_2$. Dans ce domaine, les acides α -aminophosphoniques peuvent être considérés comme: pesticides, fongicides, inhibiteurs de la protéase du VIH, antiviraux et agents antitumoraux [14].

Le manuscrit est subdivisé en quatre chapitres:

- Dans le premier chapitre, nous avons présenté des notions générales sur les phosphonates, leurs dérivées, leurs méthodes de synthèse et une brève synthèse bibliographique sur les antioxydants.

- Le second chapitre décrit les procédés expérimentaux appliqués dans la synthèse et les méthodes physicochimiques d'analyses exploitées pour la caractérisation des molécules synthétisées ainsi que les méthodes utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante de nos produits.

- Le troisième chapitre regroupe les résultats de la synthèse et la caractérisation des ester α -aminophosphonates,

- Dans le quatrième chapitre nous avons exposé les résultats et la discussion de l'étude de l'activité antioxydante et les résultats de calcul de chimie quantique.

Nous terminons notre mémoire par une conclusion générale.

Chapitre I :
Etude Bibliographique

I.1. Généralité sur les phosphonates

Les organophosphorés (OP) sont des composés organiques dans lequel un atome de phosphore est lié à un atome de carbone. Cette classe de composés comprend un large éventail de composés synthétiques utilisés comme des rodenticides, nématocides, herbicides, certains sont des médicaments (échothiophate, métrifonate, cyclophosphamide), d'autres sont de redoutables toxiques de guerre (les agents G: tabun, sarin, soman, cyclohexyl-sarin, et les agents V : VX, VR, VC).

Les OP utilisées également comme insecticides sur les plantes, les animaux et les humains (contre les poux, les mites et la malaria dans les pays de forte endémie).

Les composés OP 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 : Principales familles des composés organophosphorés.

Composé organophosphorée	Acides correspondants
Phosphines PR_3	Acides Phosphine H_3P
Phosphinite $\text{P(R)}_2(\text{OR})$	Acides phosphineux $\text{PH}_2(\text{OH})$
Phosphonite RP (OR)_2	PH(OH)_2
Phosphite P(OR)_3	Acides phosphoreux P(OH)_3
Phosphoranes PR_5	H_5P
Oxydes de phosphines P(O)R_3	H_3PO
Phosphinate $\text{R}_2\text{P(O) (OR)}$	Acides phosphinique $\text{H}_2(\text{OH}) \text{P(O)}$
Phosphonate R P(O) (OR)_2	Acides phosphonique $\text{H(OH)}_2\text{P(O)}$
Phosphate P(O)(OR)_3	Acides phosphorique $(\text{OH})_3\text{P(O)}$

L'American Chemical Society et la Royal Chemical Society de Londres ont publié un système de nomenclature largement adopté, où ils considèrent que les composés organophosphorés comme des dérivés des hydrures, des oxyacides et des oxydes du phosphore. Les composés servant à cette nomenclature sont les acides correspondants (tableau I.2).

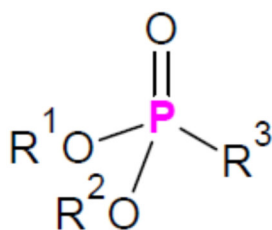
Tableau I. 2 : Nomenclature des composés organophosphorés les plus répandus.

Composés	Formule générale	exemples
Phosphines	PR_3	Tributylphosphine
Phosphites	$P(OR)_3$	Triethylphosphite
Phosphonites	$RP(OR)_2$	diethyl methylphosphonite
Phosphonate	$RP(O)(OR)_2$	diethyl méthylphosphonate

Parmi cette grande famille des organophosphorés, nous nous sommes intéressés à la famille des phosphonates et notamment les acides α -aminophosphoniques et leurs esters.

I.1.1. Les phosphonates

Les phosphonates sont des composés organiques du phosphore V portant des groupements $R_1PO(OR_2)(OR_3)$ et caractérisés par la liaison **C-P**, où R_1, R_2 et R_3 représentent soit un atome d'hydrogène, un groupe alkyle ou un groupe aryle (figure I. 1).

**Figure I. 1** : Structure de base des phosphonates.

I.1.2. Bref Historique

L'histoire des phosphonates commence en 1865 à Marbourg, quand *Nikolai Menchoutkine* décrit la synthèse des bisphosphonates par une réaction entre l'acide phosphoreux et les chloracétyles [15]. Trente deux ans plus tard, *Von Baeyer et Hofmann* continuent sur cette voie et ont synthétisé l'acide acétodiphosphonique (l'acide éthane-1-hydroxy-1,1-diphosphonique (EHDP)) et met au point la synthèse d'une des sels d'EHDP notamment le sel 1-hydroxy-1, 1-éthylidene bisphosphonate de disodium [16].

Par la suite, en 1897, *August Michaelis* et *T. Becker* ont réagi un sel alcalin d'un phosphonate avec un halogénure ou un pseudo halogénure ($X = OSO_2R'$) pour donner un phosphonate [17]. Peu de temps après, environ une année plus tard, *August Michaelis* et *R. Kaehne* ont préparé des phosphonates par une réaction entre un ester de phosphore trivalent et un halogénure d'alkyle [18].

En 1906, *Aleksandr Erminingeldovich Arbuzov* a largement exploré et développé la réaction de Michaelis et Kaehne et il a synthétisé des phosphonates à partir de la réaction des halogénures d'alkyle avec les trialkyles phosphites [19]. Cette réaction est connue sous le nom de Michaelis-Arbuzov et elle est largement utilisée pour la synthèse de divers dérivés phosphonates.

La recherche dans ce domaine n'a pas arrêté à ce stade, elle est continuée pour trouver des nouvelles réactions de synthèse des dérivées phosphoniques, parmi ceux-ci, on trouve les réactions des chimistes russes *Vasily Abramov* et *Arkady Pudovik* où ils ont réagi des trialkylephosphites et des dialkylephosphites avec un composé carbonyle pour donner les α -hydroxyphosphonates ou avec une amine pour former les α -amino phosphonates [20].

Une autre réaction a été découverte en 1952 par les deux chimistes *Martin Izrailevich Kabachnik* et *Ellis K. Fields*, cette réaction, elle consiste de réagir en une seule fois trois réactifs, une amine, un dérivé carbonyle et un dialkylephosphite pour obtenir un dérivé α -aminophosphonates [21].

En 1959 *Horiguchi* et *Kandatsu* ont identifiés et séparés la première composé phosphonates dans les systèmes vivants, c'est l'acide 2-aminoéthylphosphonique (figure I.2), qui a été isolé par l'hydrolyse acide d'un extrait des microorganismes, notamment les acides aminés lipidiques des protozoaires présents dans le rumen du mouton [22], après six ans de cette découverte, *Hirotoishi Shimizu* et *al* ont isolé et identifié le même dérivé aminophosphonique à partir de l'extrait du cerveau du bovin [23].

De même, en 1980, *Miceli* et *al* ont découvert que 95 % du phosphore des oeufs de l'escargot d'eau douce (*Helisoma*) est sous forme des phosphonates et principalement sous forme d'acide 2-Aminoéthylphosphonique [24].

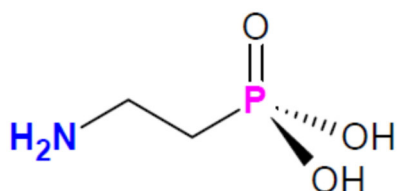


Figure I. 2 : L'acide 2-aminoéthylphosphonique.

À ce jour, seulement une vingtaine de phosphonates naturels ont été isolés et identifiés, ces molécules ont été extraites de microorganismes, d'animaux terrestres et aquatiques [25].

I.1.3. Synthèse des phosphonates

La première réaction de synthèse des phosphonates est la réaction Michaelis-Becker ; est une substitution nucléophile de base sur un halogénure d'alkyle par un réactif anionique de phosphore, produisant finalement un phosphonate d'alkyle.

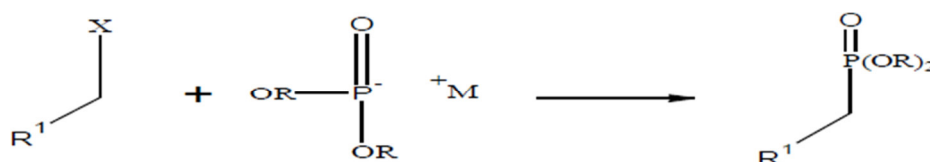


Figure I. 3: Réaction de Michaelis-Becker.

Parmi les méthodes disponibles pour la synthèse des phosphonates, on retrouve la réaction de Michaelis–Arbuzov qui est habituellement la plus utilisée. Cette réaction permet d'accéder aux phosphonates de manière relativement simple en faisant réagir à chaud un trialkylphosphite sur un halogénure d'alkyle [26] (figure I.4).

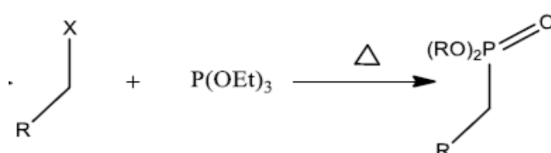


Figure I.4 : Réaction de Michaelis-Arbuzov.

Cette voie de synthèse comprend deux étapes principales [27]:

1-une quaternisation initiale de trialkylphosphite par attaque nucléophile sur l'halogénure d'alkyle.

2- une déalkylation du cation alkoxyphosphonium par l'anion libéré (figure I.5) :

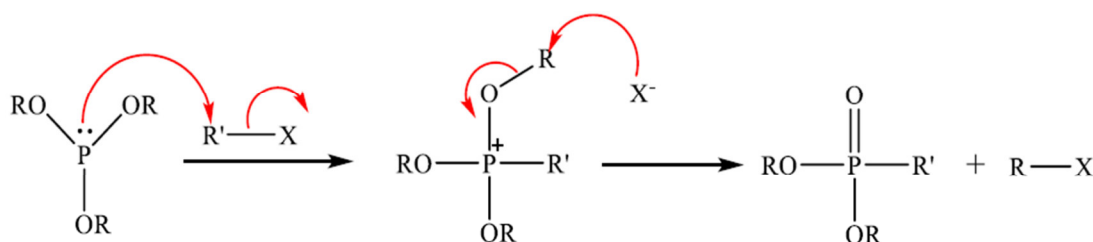


Figure I.5: Mécanisme réactionnel de la réaction de Michaelis–Arbuzov.

I.1.4. Classification des phosphonates

L'introduction des groupements phosphonates dans les différents composés organiques n'a pas été arrêtée, et la découverte des nouvelles classes sera continuée. Les principales catégories des phosphonates sont:

I.1.4.1. Les bisphosphonates (BPs)

Les bisphosphonates (BPs) sont des composés organophosphorés synthétiques caractérisés par la liaison **P-C-P** (Figure I. 3), synthétisés pour la première fois en 1897, ils sont des analogues stables des pyrophosphates, pour lesquels la liaison **P-O-P** est remplacée par une liaison **P-C-P** capable de résister à une hydrolyse enzymatique (figure I. 6).

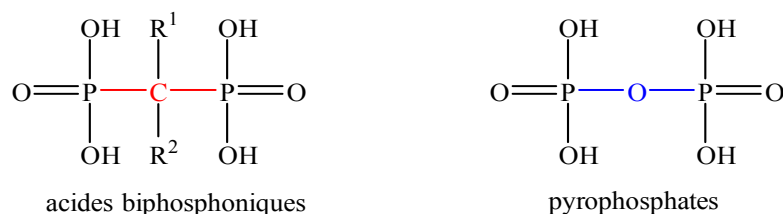


Figure I. 6: La différence entre les structures des acides biphosphoniques et les pyrophosphates.

Les BPs possèdent une forte capacité à complexer les métaux, tels que Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} ou Fe^{2+} .

Ce n'est qu'à partir des années 1950 que la propriété principale de ces composés fut vraiment exploitée par l'industrie. Le premier bisphosphonate utilisé cliniquement chez l'homme, c'est l'étidronate (figure I.7).

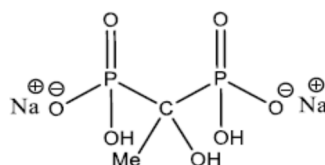


Figure I.7 : Structure d'Étidronate disodique.

Synthèse des bisphosphonates : La synthèse de BPs, la plus décrite et la plus utilisée industriellement (méthode Merck), correspond à la réaction entre un acide carboxylique et un mélange diacide phosphoreux et de trichlorure de phosphore [28]. Après avoir chauffé à 100°C pendant plusieurs heures, la réaction est hydrolysée sous conditions acides (figure I.8).

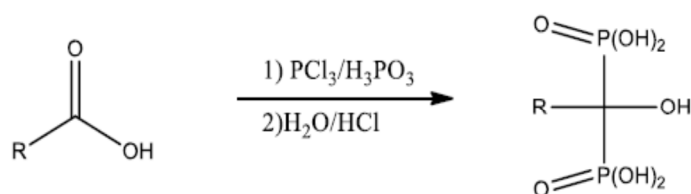


Figure I. 8 : Synthèse de BPs à partir d'un acide carboxylique.

Cette méthode, bien que très utilisée, possède des inconvénients. Tout d'abord, les conditions opératoires drastiques de cette réaction ne sont pas compatibles avec des substrats fragiles. De plus, l'extraction du bisphosphonate du milieu réactionnel est souvent délicate.

Cette méthode s'applique également avec des composés comportant une fonction nitrile [29] (figure I.9). Dans ce cas le produit final possède une fonction amine primaire en position α des deux groupements phosphonates.

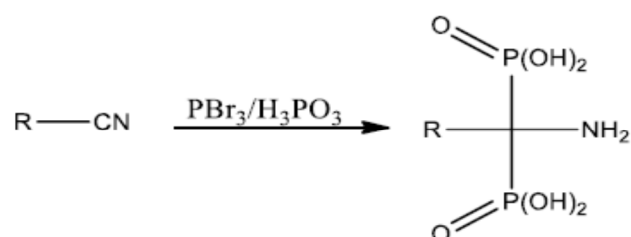


Figure I. 9: Synthèse de BPs à partir de nitrile.

I.1.4.2. Les α -aminophosphonates

Les α -aminophosphonates sont des composés organiques contenant une liaison de type -N-C-P . Les α -aminophosphonates et leurs acides α -aminophosphoniques sont les membres les plus importants en raison de leurs structures analogues à celles des acides aminés (figure I.10).

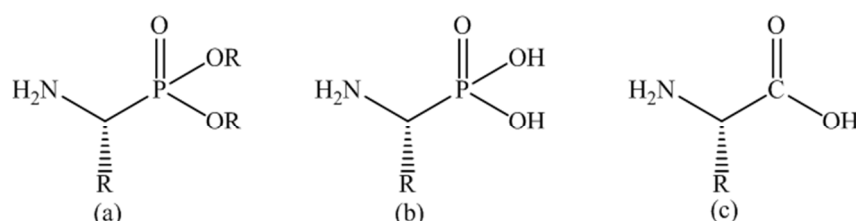


Figure I.10 : Structures des (a) α -aminophosphonates, (b) acides α -aminophosphoniques (c) acides aminés.

Les α -aminophosphonates présentent un grand intérêt pour les chimistes car ils ont de vastes applications dans des plusieurs domaines [30,31].

Synthèse des α -aminophosphonates : La condensation de Kabachnik-Fields et la réaction de Pudovik sont les deux principales méthodes de synthèse des dérivés des α -aminophosphonates.

Réaction de Kabachnik-Fields: La réaction de Kabachnik-Fields impliquant la condensation d'une amine primaire ou secondaire, de composé oxo (aldéhyde ou cétone) et d'un composé présentant un atome de phosphore (figure I.11) en particulier les phosphites de dialkyl, représente un bon choix pour la synthèse des α -aminophosphonates [21].

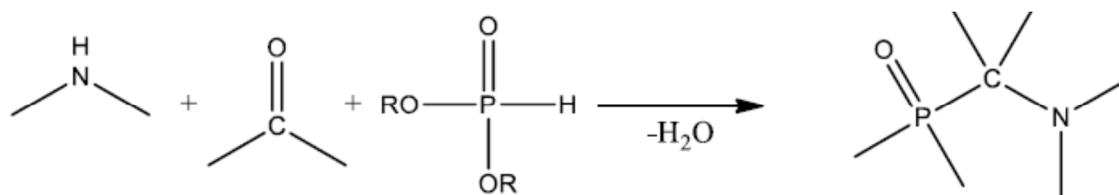


Figure I.11: La réaction de Kabachnik – Fields.

Cherkasov et al. ont étudié en détail le mécanisme de la réaction de Kabachnik – Fields. Une possibilité est qu'une imine soit formée à partir du composé carbonyle et de l'amine (primaire), puis le phosphite de dialkyle est ajouté sur l'unité C=N de l'imine.

L'autre voie suppose la formation d'un α -hydroxyphosphonate par l'addition du dialkylphosphite au groupe carbonyle du composant oxo, puis l'hydroxyphosphonate subit une substitution par l'amine pour fournir l' α -aminophosphonate. Sur la base d'études cinétiques, il a été conclu que le mécanisme dépend de la nature des réactifs [32,33], bien que la voie «imine» semble être plus générale que la voie impliquant un intermédiaire « α -hydroxy-phosphonate» [34].

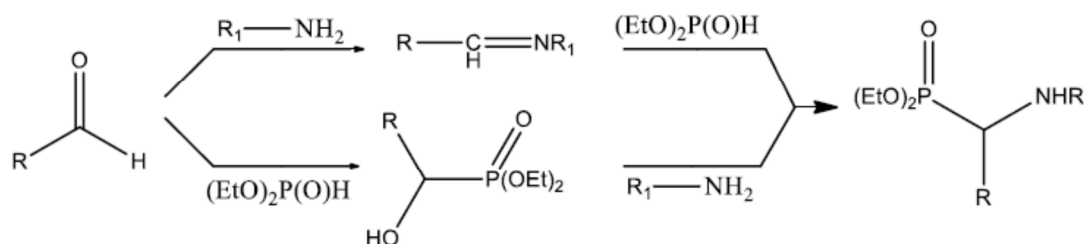


Figure I.12: Mécanismes possible pour la réaction de Kabachnik – Fields.

On peut dire que dans la réaction de Kabachnik-Fields, un nucléophile mou (le phosphite de dialkyle) et un nucléophile dur (l'amine) rivalisent pour le composé carbonyle électrophile. Plus le composé carbonyle est mou, plus il réagit rapidement avec le nucléophile P plus doux et plus il réagit lentement avec le nucléophile aminé plus dur [35].

R. Gancarz et I. Gancarz ont démontré qu'une formation réversible de l' α -hydroxyphosphonate peut également se produire, et s'il est réorganisé en phosphate correspondant, cela devient une voie «sans issue» [36].

La réaction Pudovik : La deuxième méthode est la réaction de *Pudovik*, où dialkyle phosphites sont ajoutés à des composés contenant une liaison imine (N=C) (figure I.13).

De nombreuses variétés de cette réaction existent en utilisant des catalyseurs soit des bases ou des acides de *Lewis* comme : AlCl_3 , Me_2AlCl , BF_3 , SnCl_4 et ZrCl_4 [37].

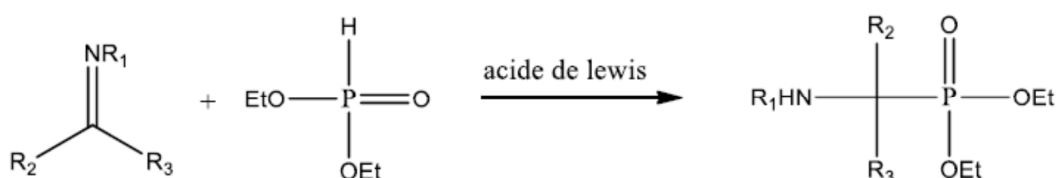


Figure I.13: La réaction de Pudovik.

Synthèse des acides α -aminophosphonique : Depuis la découverte des extraordinaires propriétés des composés contenant dans la molécule un ou plusieurs groupement $-\text{N}[\text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2]_2$ des efforts considérables ont été entrepris pour synthétiser des nouveaux composé de cette classe.

Réaction de Moedritzer et Irani: Cette méthode est basée sur la réaction d'une amine primaire avec le formaldéhyde et l'acide phosphoreux selon la réaction suivante [38] (figure I.14).

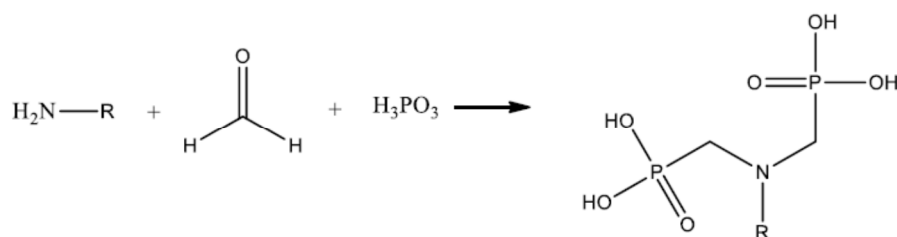


Figure I.14: La réaction de Moedritzer-Irani.

La réaction de Moedritzer-Irani est un cas particulier de la réaction de Kabachnik-Fields [32,39]. Dans la réaction Moedritzer-Irani au lieu des phosphites, on utilise de l'acide phosphoreux (également appelé acide phosphonique), au lieu de composés carbonylés, seul le formaldéhyde est utilisé (figure I.14). La réaction est conduite en milieu acide (HCl).

Cette procédure de synthèse est en quelque sorte similaire à la réaction de *Manich* qui est une aminométhylation des aldéhydes et des cétones ayant un atome d'hydrogène α -labile avec des amines primaires ou secondaires. $\text{R}^1\text{R}^2\text{CH}-\text{CHO} + \text{CH}_2\text{O} + \text{HNR}_2 \rightarrow \text{R}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CR}^1\text{R}^2-\text{CHO} + \text{H}_2\text{O}$ [40].

Réaction de Schwarzenbach : Cette méthode consiste à faire réagir une amine primaire avec l'acide chlorométhylphosphonique en solution alcaline selon la réaction (figure I.15) [41].

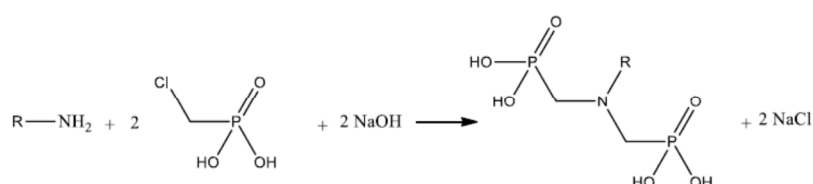


Figure I.15: Réaction de Schwarzenbach

Cette réaction est très lente. Elle nécessite plusieurs jours à des températures assez élevées (80°C) et un milieu basique dont le pH varie entre 10 et 11. Cette méthode implique des réactions secondaires qui forment des produits secondaires, parfois en quantités importantes et difficilement séparables du produit désiré; c'est le cas de l'acide hydroxyméthylphosphonique (HO-CH₂P(O)(OH)₂), formé par la réaction d'hydrolyse de l'acide chlorométhylphosphonique sous l'action de la solution alcaline [42].

I.1.4.3. Les α -hydroxyphosphonates

Les α -hydroxyphosphonates sont des organophosphonates où l'atome du carbone lié au phosphore est substitué par le groupement hydroxyle (-OH) (figure I.16).



Figure I.16: Structure générale des α -hydroxyphosphonates.

Les α -hydroxyphosphonates ainsi que leurs acides correspondant ont des activités biologiques importantes, telles que l'activité antibactérienne, antivirale, anticancéreuse, rénine inhibitrice, protéase du VIH et propriétés inhibitrices enzymatiques.

Synthèse des α -hydroxyphosphonates : La méthode principale pour obtenir les α -hydroxyphosphonates est l'addition d'un phosphite de dialkyle à un composé carbonylé, c'est la réaction de Pudovik (figure I.17) [43].

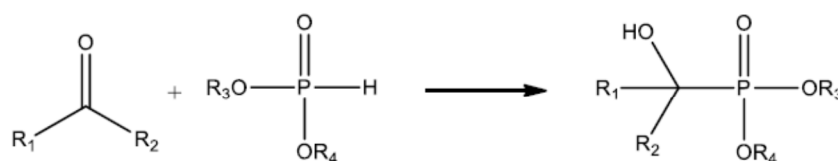


Figure I.17: Synthèse des α -hydroxyphosphonates [43].

I.1.4.4. Les nucléosides phosphonates

Les phosphonates nucléosidiques sont des analogues nucléosides naturels où le groupement phosphate (O-PO(OR)₂) est remplacé par le groupement phosphonate (CH₂-PO(OR)₂) [44].

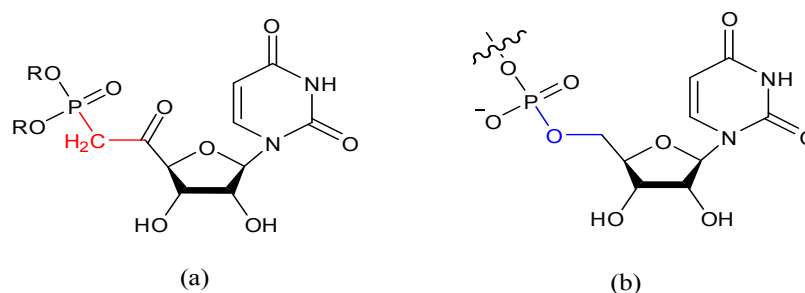
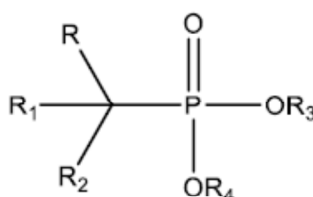


Figure I 18 : La différence entre la structure des nucléosides phosphonates(a) et nucléosides (b).

La modification du nucléoside peut être effectuée soit au niveau de la partie base soit au niveau de la partie sucre; Dans ce dernier cas, la partie glucidique peut être parfois tout simplement remplacée par une partie acyclique. On obtient dans ce cas des phosphonates acyclique nucléosidiques.

I.1.4.5. Les alkyles-phosphonates et les aryles-phosphonates

Sont des composés organophosphoré dont le groupement phosphonates est lié à un radicale alkyle ou aryle (figure I.19) [45]:



R, R₁, R₂ et R₃: un atome d'hydrogène, un groupe alkyle ou un groupe aryle

Figure I.19: Structures chimiques des alkyles-phosphonates et des aryles-phosphonates.

I.1.5. Propriétés des phosphonates

Les phosphonates contiennent trois propriétés principales :

- Ils sont efficaces comme agents chélatant di-et trivalent des ions métalliques [46].
- Ils inhibent la croissance des cristaux [47].
- Ils sont très stables dans des conditions chimiques sévères [48].

Ainsi les phosphonates contiennent d'autres propriétés par exemple : ils sont très solubles dans l'eau [49], ils sont des produits biodégradables, Ils ne sont pas volatiles [50], et ce sont des composés très actifs biologiquement [51].

I.1.6. Domaine d'application du phosphonates

Les phosphonates et leurs dérivés ont de nombreuses applications dans différents domaines pratiques y compris la médecine, l'industrie, l'agriculture, etc.

I.1.6.1. Dans la biologie et la médecine

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. Il est à noter que des propriétés antibactérienne, antivirale, anticancéreux, et antioxydants et neuro-actif ont été observées et décrites sur plusieurs composés du type phosphonate [52-53].

Aujourd'hui, le marché est riche en médicaments préparés à partir des phosphonates et leurs dérivés comme :

L'acide alendronique est un bisphosphonate commercialisé sous le nom de Fosamax®. Généralement, ce médicament est utilisé dans le traitement contre l'ostéoporose et d'autres maladies osseuses.

La fosfomycine a été découverte en 1969 utilisée comme antibiotique parentéral pour les infections systémiques mais, plus récemment, elle a été disponible sous forme de formulation orale.

Les nucléosides phosphonates acycliques qui ont annoncé une nouvelle stratégie pour le traitement de diverses infections par le virus de l'ADN (herpès, adéno-, pox, papillomavirus) (Cidofovir), SIDA (Ténofovir) et l'hépatite B (Adéfovir).

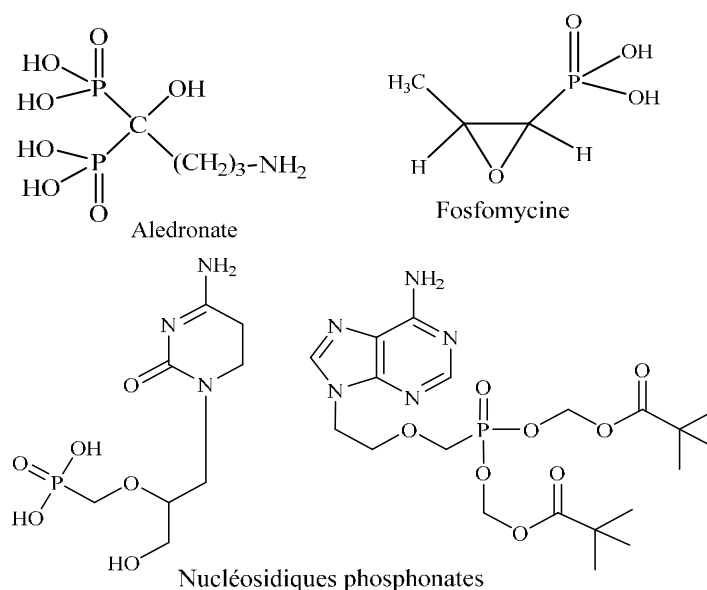


Figure I. 20 : Structures de certains exemples des médicaments à base des phosphonates.

I.1.6.2. Dans agronomie

L'herbicide le plus utilisé au monde, le glyphosate –N (phosphonométhyl) glycine (Round up ©) est un acide aminophosphonique (figure I. 21) [55].

Les régulateurs de croissance, jouent un rôle important dans l'agriculture. Glyphosine (N,N-bis (phosphonométhyl) glycine est un analogue de glyphosate, mais est utilisé pour accélérer le mûrissement et augmenter le niveau de saccharose dans la canne à sucre [56].

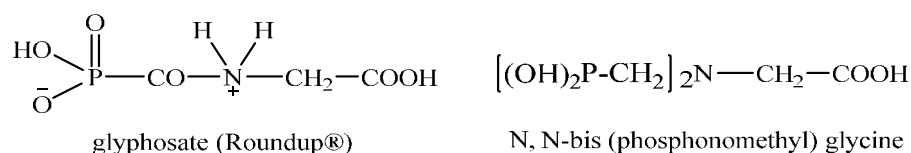


Figure I.21 : Structures des composés phosphonates utilisés dans l'agriculture.

I.1.6.3. Inhibiteur de corrosion

Les phosphonates se sont des inhibiteurs organique leur action peut être :

- La formation d'un phosphonates de calcium avec les ions Ca^{2+} et précipitation sur les cathodes.
- L'élimination des risques de dépôt de CaCO_3 sur la surface d'un acier dans des conditions de milieu peu corrosif ($\text{pH} > 8$), mais entraînant des risques de corrosion par crevasses sous des dépôts isolés de CaCO_3 en l'absence de séquestrant.

I.1.6.4. Détergent

Les phosphonates sont largement utilisés dans l'industrie des détergents en raison de leurs multiples propriétés: adoucissantes, propriétés dispersives à l'égard des salissures, stabilisation du perborate (agent blanchissant), stabilisation des sels de calcium et ayant un grand pouvoir séquestrant.

I.1.6.5. Traitement des eaux

Les phosphonates utiliser dans le traitement des eaux comme inhibiteur d'entartrage qui vent retarder ou empêcher la précipitation du carbonate de calcium et également utiliser comme inhibiteur de corrosion pour des circuits de refroidissement ouverts [57].

I.1.7. Toxicologie

Des tests montrent que la toxicité des phosphonates est faible. Pour les organismes aquatiques, on obtient des CE_{50} (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 0.25 g/l. de plus le facteur de 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. Pour l’homme, la toxicité des phosphonates est également faible, ils peuvent même être utilisés dans la composition des médicaments [58].

I.2. Activité antioxydantes

I.2.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) possédant un ou plusieurs électrons non appariés (électron célibataire) sur sa couche électronique externe. La tendance des électrons non appariés à interagir avec les autres molécules ou atomes voisins, procure aux radicaux libres une très grande instabilité [59].

Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelque nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l’électron libre se situe.

I.2.1.1. Formes des radicaux libres

a- Les espèces réactives oxygénées ERO (ou ROS Reactive Oxygen Species) : Egalement désignées dans la littérature de dérivés réactifs de l’oxygène, peuvent être définies comme des molécules qui contiennent de l’oxygène mais qui sont plus réactives que l’oxygène présent dans l’air. Les ERO incluent les radicaux libres comme l’anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyle ($\bullet OH$) et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) mais peuvent être des précurseurs des radicaux comme le peroxyde d’hydrogène (H_2O_2), l’oxygène singulet (1O_2) et l’ozone (O_3).

b- Les espèces réactives azotées ERA (ou RNS Reactive Nitrogen Species) : Les espèces réactives azotées ont été définies comme un sous groupe d’oxydants dérivés de l’oxyde nitrique ou monoxyde d’azote ($\bullet NO$).

Ceci a poussé certains auteurs à parler de RONS (Reactive Oxygen and Nitrogen Species) au lieu de ROS et RNS [60].

Tableau I.3 : Différents types des espèces réactives.

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

I.2.1.2. Les sources des radicaux libres

Les radicaux libres ont plusieurs origines :

a- Les sources exogènes : Telles que Tabagisme, l'alcool, certains modes de cuisson (barbecue, microondes), les polluants de l'air, le stress, la fatigue et les rayonnements [61].

b. Les sources endogènes : Dans l'organisme les radicaux libres sont produits au cours de nombreuses réactions engagées dans les mécanismes physiologiques, (respiration mitochondriale), dans les mécanismes pathologiques (inflammation, infection) et les allergies [62].

I.2.2. Stress oxydatif

Les ERO sont présentes dans la cellule à des doses raisonnables : leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants, ainsi, à l'état quiescent, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants (balance rédox) est en équilibre.

Cependant cet équilibre rédox peut être rompu, soit par une production excessive d'ERO, soit par une diminution des capacités antioxydantes. On parle alors de **stress oxydant**.

Le stress oxydant et les ERO peuvent être à l'origine de dommages cellulaires et sont donc à l'origine du développement de diverses pathologies, telles que le diabète, les désordres rhumatismaux [63].

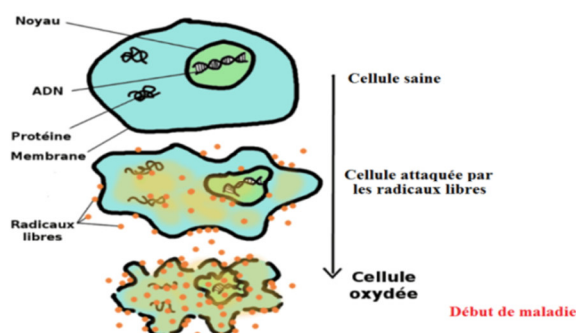


Figure I.22 : L'incidence de la Stress oxydatif dans la cellule.

I.2.3. Les antioxydants

I.2.3.1. Définition

Les antioxydants sont définis comme toute substance capable de ralentir ou inhiber le phénomène d'oxydation du substrat oxydable [64].

I.2.3.2. Classification des antioxydants

Les antioxygènes sont classés dans deux catégories différentes : les antioxydants synthétiques, et les antioxydants d'origine naturelle.

a- Antioxydants synthétiques : Parmi les antioxydants phénoliques de synthèse qui sont autorisés dans certains aliments: le BHT 321 (3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène), BHA 320 (3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole), sont l'un et l'autre soluble dans les lipides et résistent bien à la chaleur. Ils ont une action synergique, ils présentent l'inconvénient d'avoir une odeur désagréable et s'évapore rapidement. Le TBHQ (tertiobutyl-hydroxyquinone) est moins soluble dans les graisses et le PG (gallate de propyle) à l'avantage d'être relativement soluble dans l'eau, mais l'inconvénient d'être peu soluble dans les lipides, peu résistant à la chaleur et de donner avec le fer des sels de couleur foncée. Le nitrite présente des propriétés anti oxydantes, il peut aussi former des nitrosamines cancérigènes. Les chélateurs de métaux utilisés et plus efficaces sont les polyphosphates et les dérivés d'acide citrique [65].

b- Les antioxydants naturels : On distingue deux sources d'antioxydants naturels l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes [66.67].

I.2.3.3. Usage des antioxydants

A l'heure actuelle, les antioxydants sont largement utilisés dans les industries alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

a- Dans l'industrie chimique : Par exemple pour éviter le durcissement du caoutchouc, ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation montrent que des diverses substances phénoliques sont employées pour protéger le caoutchouc, le plastique, et d'autres matériaux pendant le traitement [68].

b- Dans l'industrie agro-alimentaire : les antioxydants sont considérés comme un ingrédient essentiel qui devrait être ajouté aux aliments en conserve pour protéger les molécules organiques, comme les graisses. Parmi les antioxydants utilisés on trouve l'acide L-ascorbique (vitamine C), tocopherols...[69].

c- Application en cosmétique : Les curcuminoïdes et les THC (tétrahydrocurcuminoïdes) sont des antioxydants efficaces, en raison des fonctions para-hydroxyle des noyaux benzéniques terminaux. Le pouvoir antioxydant de cette famille de molécules présente un très grand intérêt en cosmétique dans la préparation de crèmes solaires ou "anti-âge". Elles offrent une protection pour la peau contre les rayons UV, elles pourraient aussi agir au niveau de l'oxydation lipidique des différents composés de la crème [70].

I.2.3.4. Mécanismes d'antioxydation

Les antioxydants peuvent être répartis en deux types : les antioxydants préventifs et les antioxydants « chainbreaking ».

a- Les antioxydants primaires ou radicalaires : Ces antioxydants capables d'interrompre la chaîne autocatalytique de l'oxydation en agissant comme piègeurs des radicaux libres lipidiques, par transfert d'un atome d'hydrogène. L'antioxydant devient alors lui-même porteur d'un radical, mais à la différence des radicaux lipidiques, il est peu réactif, ce qui stoppe la propagation radicalaire. Ce groupe des antioxydants est constitué presque exclusivement de composés phénoliques en raison de la grande stabilité apportée par leur cycle aromatique. On trouvera ainsi dans ce groupe les additifs antioxydants, BHA, BHT, TBHQ, gallates, mais aussi les tocopherols (vitamine E) et les polyphénols végétaux (flavonoïdes, acides phénoliques, diterpénoïdes) [71,72].

b- Les antioxydants secondaires ou préventifs : Ces antioxydants capables d'inhiber de la production des radicaux libres, en agissant par des mécanismes indirects comprennent plusieurs actions: la chélation des métaux promoteurs d'oxydation type fer et cuivre comme l'acide citrique et les lécithines, la décomposition de l'hydroperoxyde en espèces non radicalaires en alcool, des thiols (glutathion, acides aminés soufrés) ou les disulfures, la réparation des antioxydants primaires par l'hydrogène ou le don d'électrons, la désactivation de l'oxygène singulet et de séquestrant d'oxygène triplet comme l'acide ascorbique le β -carotène et le lycopène, l'absorption des rayonnements ultraviolet comme les carotènes [73,74].

Chapitre II :
Méthodes expérimentales

Ce chapitre est consacré aux différentes méthodes d'analyse physico-chimiques appliquées pour identifier les produits synthétisés ainsi que les méthodes expérimentales utilisées au cours de l'évaluation de l'activité antioxydante, et les détails computationnels des calculs de chimie quantique.

II.1. Méthode de mesure de la température de fusion

II.1.1. Généralité

Ce terme désigne le changement d'état d'un matériau quand celui-ci passe d'un état solide à un état liquide. Le point de fusion est la température exacte nécessaire à cette transformation et sa détermination est très importante puisqu'elle est hautement dépendante de la pureté du matériel testé. Cette technique est donc utilisée pour définir la qualité d'une substance [75,76].

II.1.2. Échantillon de mesure

La prise du point de fusion des produits obtenus s'est faite par un Fusiomètre BÜCHI Melting point B-540, est un appareil de mesure présentant un gradient de température, varie de 40°C à 500°C. La substance est placée directement dans des tubes capillaires sans avoir besoin d'aucun accessoire, lors du chauffage à partir d'un point donné, un changement de texture apparaît dans l'échantillon.



Figure II. 1 : Un Fusiomètre.

II.2. Chromatographie sur couche mince (C.C.M)

II.2.1. Généralité

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode simple et rapide qui permet d'identifier un composé, de vérifier sa pureté ou de suivre l'avancement d'une réaction

en analysant des prélèvements successifs du milieu réactionnel afin de mettre en évidence l'apparition de produits et/ou la disparition de réactifs.

Principe de la technique : La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe (gel de silice fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi rigide de matière plastique ou d'aluminium), l'autre mobile ou éluant (un solvant ou un mélange de solvants) [77].

Les étapes de la technique : Le mélange à étudier est posé à l'aide d'un capillaire (pipette Pasteur par exemple ou micropipette) à environ 1 cm du bord de phase stationnaire puis placé dans une cuve contenant l'éluant. Le niveau de l'éluant devant être en dessous du produit déposé.

La cuve de chromatographie est ensuite fermée par un couvercle. L'éluant migre sur la plaque de silice par capillarité et entraîne les composés du mélange étudié. Attendre que l'éluant atteigne les 2/3 ou les 3/4 de la hauteur de la plaque, puis retirer cette dernière et marquer immédiatement, au crayon, la position du front d'éluant.

Il y a plusieurs façons d'identifier les endroits où se trouvent les produits ainsi séparés. La plaque de chromatographie est lue directement si les composés sont visibles (colorés), ou placée sous une lumière UV. Ils peuvent également être révélés par des révélateurs chimiques (acide phosphomolybdique, permanganate de potassium, diiode, *etc.*).

Le comportement d'une molécule est exprimé par son rapport frontal R_f qui est le rapport de la distance parcourue par cette molécule sur celle parcourue par la phase mobile (front du solvant) et qui peut donc être compris entre 0 et 1 [78].

$$R_f = \frac{d_{\text{substance}}}{d_{\text{solvant}}} \dots\dots\dots(\text{II.1})$$

Dans la quelle: $d_{\text{substances}}$: Distance parcourue par le composé (mesurée au centre de la tache).

d_{solvant} : Distance parcourue par le front du solvant.

II.2.2. Échantillon de mesure

L'analyse chromatographies sur couche mince a été réalisée sur des plaques de silice déposée sur plaque d'aluminium Alufolien, gel de silice 60 F-254 Merck de 0,2 mm d'épaisseur.

Le bon système d'éluant trouvé est un mélange entre l'acétate d'éthyle et le n-Hexane avec un rapport (2/8, V/V). La révélation de ces plaques a été faite par une lampe UV réglée sur (254, 365 nm).

II.3. Caractérisation spectroscopique

La spectroscopie est basée sur l'étude des interactions des radiations électromagnétiques avec la matière. Ces interactions sont nombreuses, les plus intéressantes et les plus étudiées font appel aux phénomènes d'absorption.

Des quantum d'énergies apportées par les ondes électromagnétiques frappent l'échantillon et sont absorbés. La quantité d'énergie absorbée dépend de la longueur d'onde du faisceau incident puisque suivant la valeur de la fréquence ν de la radiation électromagnétique, différentes transitions peuvent se produire entre les divers états d'énergie propre aux molécules de l'échantillon. Si l'on représente l'énergie absorbée en fonction de la fréquence ν on trouve en général une série de raies ou de bande d'absorption dont la position, l'intensité, la largeur et la forme vont se révéler précieuse pour le chimiste, c'est ce que l'on appelle un spectre [79].

Tableau II.1 : Les différentes transitions peuvent être induites dans une molécule organique en fonction du type de radiation absorbée.

Radiation absorbée	Effet sur la molécule et information déduite
UV-visible : $200 < \lambda < 400$ nm et $400 < \lambda < 800$ nm	Transition des électrons externes : Transition : $\sigma \rightarrow \sigma^*$; $\pi \rightarrow \pi^*$; $n \rightarrow \pi^*$ Mise en évidence d'insaturations et de conjugaison
IR : $2,5 < \lambda < 25$ $400 \quad \nu = 1/\lambda \quad 4000\text{cm}^{-1}$	Transitions vibrationnelle et rotationnelles des atomes. Mise en évidence de groupes fonctionnels (cétone, alcool, amines...)
Microondes $\nu = 9,5 \cdot 10^9$ Hz	Résonance paramagnétique électronique (RPE). Détection des radicaux libres (électrons célibataires)
Fréquences radio $60 < \nu < 600$ MHz	Résonance paramagnétique nucléaire (RMN). Changement dans les propriétés de certains noyaux exemple : ^1H . ^{13}C .

II.3.1. Spectrophotométrie UV-Visible

II.3.1.1. Généralité

Le domaine du visible et de l'UV a été abondamment étudié depuis longtemps. Mais s'il est indispensable pour une approche expérimentale de la nature de la liaison, il est pauvre en information structurale.

Principe : La spectroscopie UV-visible est basée sur l'absorption d'une énergie élevée (= 200 - 800 nm) permettant aux électrons de valence des atomes et des molécules de passer d'un état fondamental à un état excité (transitions électroniques).

La lumière ultraviolette et la lumière visible provoquent l'excitation des électrons d'une orbitale moléculaire occupée (OM) de basse énergie vers une orbitale moléculaire vacante (OM*) d'énergie plus élevée [80].

Les diverses transitions possibles:

❖ *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 [81].

Spectre UV-Visible: Un spectre UV-Vis est une courbe, représente en effet l'intensité de l'absorption en fonction de la longueur d'onde ou de la fréquence.

A une longueur d'onde spécifique pour une substance donnée, il y a un rapport entre l'absorbance **A**, le nombre de molécules (la concentration) **C**, le trajet optique **l** exprimé en cm. Ce rapport est exprimé par la loi de Beer-Lambert :

$$A = \log I_0/I = \epsilon \cdot c \cdot l \dots \dots \dots (II.2)$$

I₀ : intensité de la lumière incidente ; **I** : intensité de la lumière transmise.

ε : est une constante, appelée coefficient d'extinction molaire.

II.2.1.1. Échantillon de mesure

Les spectres électroniques d'absorption des composés synthétisés et ceux des produits de départ ont été enregistré à la température ambiante dans des cuves en quartz de trajet optique de

1 mm dans le domaine allant de 200 nm à 900 nm, en utilisant un spectrophotomètre JASCO V-650 piloté par le logiciel Spectra Manager.

Le Méthanol est utilisé comme solvant pour la préparation des solutions.

II.3.2. Spectroscopie FT-IR

II.3.2.1. Généralité

La spectroscopie infrarouge est l'une des méthodes spectroscopiques les plus utilisées pour donner des informations sur les groupements fonctionnels présents dans une molécule et de donner la structures de certaines molécules simples. Le succès de cette technique repose sur la rapidité de caractérisation et la sensibilité des molécules existantes.

Principe : Le domaine infrarouge entre 4000 et 400 cm^{-1} correspond au domaine d'énergie de vibrations des molécules. Lorsque l'énergie apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistre une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise.

Mode vibrationnels : Quand les molécules absorbent l'énergie de ces radiations, la structure moléculaire se met à vibrer : ceci a pour effet de modifier les distances interatomiques (vibrations de valence ou d'élongation) et les angles de valence (vibrations de déformation).

Appareillage et spectre IR : L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier qui envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les longueurs d'onde auxquelles le matériau absorbe la radiation et les intensités de l'absorption.

Un spectromètre IR conduit à un spectre infrarouge qui portant en abscisse l'inverse de la longueur d'onde (nombre d'onde) exprimée en cm^{-1} . En ordonnée, est reportée, pour chaque radiation, la transmittance, ou son pourcentage (%T). Chaque molécule produit un spectre d'absorption que lui est caractéristique [82.83]

II.2.2.2. Échantillon de mesure

Les spectres FT-IR des produits synthétisés et les produits de départ ont été enregistrés dans la région 4000-600 cm^{-1} sur un spectromètre IR JASCO-4200 avec l'attachement de réflectance diffuse (ATR) à une résolution de 4 cm^{-1} . Les transmissions reportées sont exprimées en nombre d'onde (cm^{-1}).

II.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Dans la pratique, plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des composés, ces méthodes sont nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres.

Il existe souvent des différences de valeurs entre les méthodes du fait que les sources des radicaux libres soient différentes, et que les antioxydants répondent différemment aux méthodes de mesure, par conséquent, il est difficile de comparer une méthode entièrement à une autre [84]. L'activité antioxydante ne doit pas être conclue sur la base d'une seule méthode de test antioxydant et il est recommandé d'utiliser plusieurs méthodes pour estimer la capacité antioxydante d'une substance [85, 86].

Le choix du test pour la mesure de l'activité antioxydante doit se faire en fonction du composé à tester, des conditions opératoires supportables ou non par ce composé et des équipements du laboratoire... [84].

II.4.1. Méthode de DPPH

II.4.1.1. Principe

Le test DPPH est l'une des méthodes les plus courantes et relativement rapides utilisées pour estimer l'activité antioxydante d'un composé.

Le DPPH[•] (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable, a une maximale absorption vers $\lambda_{\max} = 517$ nm dans le méthanol et l'éthanol avec un coefficient d'extinction molaire $\epsilon_{517\text{ nm}} = 11240$ l/mol.cm.

Le radical DPPH est de couleur violette sous sa forme oxydée, si on ajoute un antioxydant il devient jaune [87].

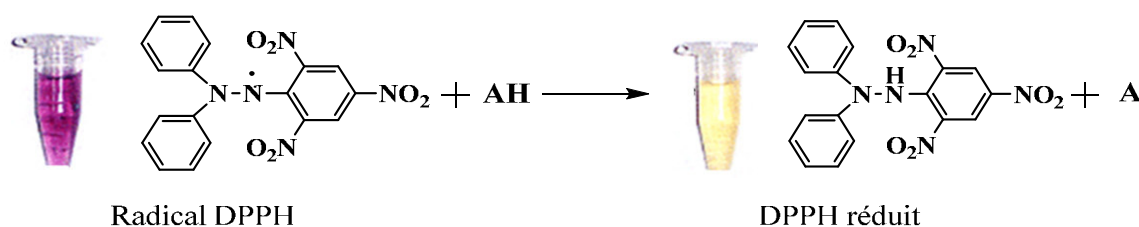


Figure II. 2 : Réduction du radical DPPH[•].

Lorsqu'une solution de DPPH est mélangé avec une substance qui peut donner un hydrogène, cette réaction donne lieu à la forme réduite avec perte de la couleur violette, la forme

réduite n'absorbe plus à $\lambda = 517$ nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

La réduction de DPPH^{*} est suivie par la spectrophotométrie visible en enregistrant la décroissance de la bande d'absorption du DPPH^{*} à $\lambda=517$ nm (diminution de la coloration violette) [88].

Ce test permet de déterminer IC₅₀, concentration en substrat nécessaire pour réduire de 50% la concentration initiale en DPPH^{*}. 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.

Le problème que pose ce radical est son instabilité à la lumière, son absorbance à $\lambda=517$ nm décroît sans l'intervention d'un quelconque antioxydant. C'est pourquoi les tests réalisés avec le DPPH^{*} doivent impérativement se faire dans l'obscurité [89].

II.4.1.2. Déroulement de l'expérience

Pour toutes les molécules, nous avons appliqué le même protocole expérimental. Nous avons ajouté 1 ml des produit testé (ou standard BHT) dissous dans du méthanol à différentes concentrations à 1 ml de la solution méthanolique de DPPH (0.08 mg/ml), le mélange obtenu est laissé dans l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. La diminution de l'absorbance a été mesurée à $\lambda = 517$ nm par rapport aux blancs. L'activité de piégeage des radicaux (APR_{DPPH}) des divers composés testés a été calculée en utilisant l'équation suivante [86].

$$APR_{DPPH} \% = \frac{A_{DPPH} - A_{\text{échantillon}}}{A_{DPPH}} \times 100 \dots \dots \dots (II. 3)$$

où : A_{DPPH} est l'absorbance de contrôle négatif (1 mL de la solution méthanolique de DPPH plus 1mL de méthanol).

A_{échantillon} : est l'absorbance de l'échantillon.

Le BHT est connu par ses propriétés antioxydantes il est donc utilisé comme contrôle positif. La valeur de l'CI₅₀ exprimée en (μ g/ml) est calculée et comparée à celle du BHT.

Tous les tests ont été effectués trois fois et les valeurs IC₅₀ ont été rapportées comme moyennes \pm SD (l'écart type (standard deviation en anglais)) de triplicata.

II.4.2. Procédé au phosphomolybdate d'ammonium

II.4.2.1. Principe

Ce procédé est une méthode spectroscopique pour la détermination de capacité antioxydant, par la formation d'un complexe de phosphomolybdène. Le dosage est basé sur la réduction de Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence d'un antioxydant pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide [90].

II.4.2.2. Déroulement de l'expérience

Un volume de 0.3 ml de produit testé solubilisé dans l'acétonitrile est mélangé avec 3 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml du solvant et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, BHT dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Tous les tests ont été effectués en triple et les résultats sont exprimés en valeurs moyennes \pm SD.

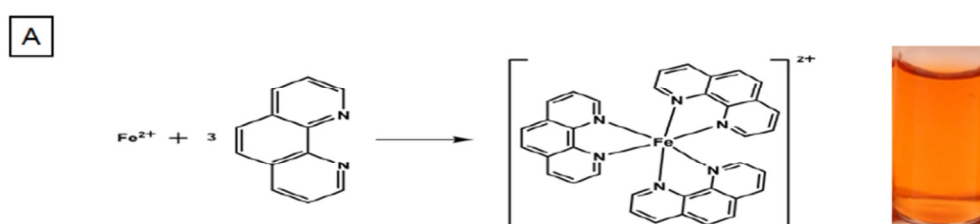
Enfin, la concentration des produits testés fournissant 0.5 d'absorption (EC_{50}) a été calculée à partir du graphe d'absorbance par rapport à la concentration des produits.

II.4.3. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 scavenging activity).

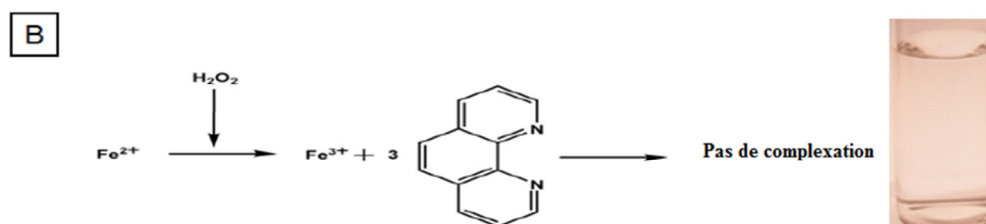
II.4.3.1. Principe

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV [91].

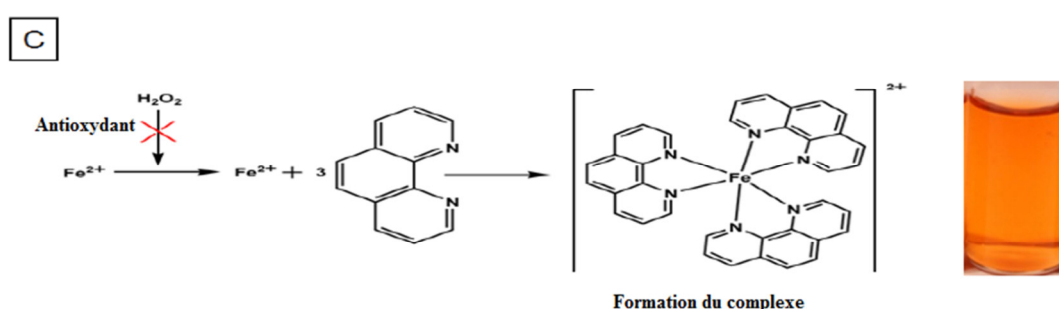
(A) Réaction entre le fer ferreux et la 1,10-phénanthroline et formation d'un complexe tri-phénanthroline de couleur orange :



(B) Oxydation de l'ion ferreux en ferrique par H_2O_2 conduisant à la non-complexation de la 1,10-phénanthroline :



(C) L'ajout de piégeur entraîne une minimisation de l'effet de H_2O_2 entraînant la formation d'un complexe tri-phénanthroline de couleur orange.



II.4.3.2. Déroulement de l'expérience

Le potentiel de piégeage du peroxyde d'hydrogène des esters synthétisés est estimé par la méthode de Mukhopadhyay et ses collaborateurs [91]. 250 μl de sulfate d'ammonium ferreux (2 mM) sont ajoutés à 1.5 ml de différentes concentrations des esters. Le mélange est agité vigoureusement, puis 62.5 μL de peroxyde d'hydrogène (5 mM) sont ajoutés et le mélange est agité et laissé au repos à la température du laboratoire pendant 5 min. Ensuite, 1.5 ml de 1,10-phénanthroline (1 mM) ont été ajoutés à chaque tube. Le mélange est incubé pendant 10 minutes à température ambiante. Enfin, l'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 510 nm. La même procédure a été répétée pour BHT qui est utilisé comme standard.

Le calcul de la capacité des composés ayant une activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{H}_2\text{O}_2 = \frac{A_{\text{test}}}{A_{\text{blanc}}} \times 100$$

Où A_{blank} est l'absorbance de la solution contenant seulement le sulfate d'ammonium ferreux et la 1,10-phénanthroline et A_{test} est l'absorbance de la solution contenant le sulfate d'ammonium ferreux, le peroxyde d'hydrogène ainsi que le composé testé. Tous les essais ont

été effectués en triplicata et les données ont été présentées dans le graphique sous forme de moyenne \pm SD.

II.5. Calculs théoriques par la méthode DFT

Avec l'arrivée des méthodes théoriques de calcul et des ressources de computation plus accessibles, la chimie par ordinateur est maintenant accueillie comme un outil de plus en plus utile à la fois pour le milieu académique et l'industrie. La modélisation moléculaire par ordinateur d'une molécule implique généralement une présentation graphique de la géométrie ou de la configuration des atomes de la molécule suivie de l'application d'une méthode théorique, comme la mécanique quantique semi-empirique ou encore la mécanique moléculaire, pour évaluer les propriétés physiques de la molécule à l'étude.

Aujourd'hui, la modélisation moléculaire nous permet de traiter des systèmes contenant plus d'atomes (molécules de solvant explicite pouvant atteindre des dizaines de milliers d'atomes, grandes surfaces moléculaires et protéines). De ce fait, un phénomène de compétition entre la taille des systèmes moléculaires et la puissance des superordinateurs est apparu [92].

II.5.1. Objectifs de la modélisation moléculaire

Nous citons dans ces lignes les principaux objectifs de la chimie théorique,

- Visualisation et dessin des molécules à partir de données structurales.
- Utilisation de banques de données pour identifier les systèmes moléculaires.
- Obtention d'informations sur les mouvements dynamiques des molécules et sur leurs énergies.
- Déterminer les propriétés moléculaires et les distances interatomiques.
- Reproduction et prédiction qualitative des propriétés des molécules et des macromolécules.
- Corrélation entre des propriétés moléculaires et une structure moléculaire donnée
- Évaluation de la validité d'une structure moléculaire. La plupart des méthodes de calculs quantiques utilisent l'approximation de Born Oppenheimer (BO).

La modélisation moléculaire sert à simuler des systèmes moléculaires, des méthodes de calculs théoriques telles que ;

II.5.1.1. Mécanique quantique

Les méthodes de la mécanique quantique, qui font appel à la distribution des électrons répartis en orbitales autour de la molécule, impliquent des temps de calcul souvent élevés qui

limitent leur usage à de petites molécules. Elles sont particulièrement adaptées au calcul des charges et des potentiels électrostatiques, à l'approche des mécanismes réactionnels ou à la polarisabilité.

II.5.1.2. Mécanique moléculaire

L'énergie conformationnelle est la sommation de termes d'interactions évaluées à partir de tables pré calculées (les champs de force) contenant les constantes d'élongation, de déformation, de torsion, d'attraction et répulsion électrostatique. C'est la méthode la plus fréquemment retenue car elle produit les temps de calcul les plus courts.

II.5.1.3. La dynamique Moléculaire

Elle prend en compte l'effet de la température, de la pression et du temps, calcule les trajectoires des atomes et approche la flexibilité des molécules, leur comportement en solution ou les modes de vibration.

II.5.2. La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)

La théorie de la fonctionnelle de la densité électronique a été développée en deux temps, en 1964 et en 1965, par Hohenberg, Kohn et Sham [Hohenberg-1964, Kohn-1965]. Elle consiste à réduire le problème à plusieurs corps en un problème à un seul corps dans un champ effectif prenant en compte toutes les interactions dans le système. L'idée fondamentale est que les propriétés exactes de l'état fondamentale d'un système formé de noyaux et d'électrons sont des fonctionnelles (fonction d'une fonction) de la seule densité électronique. La DFT est basée sur les deux théorèmes suivants : [93]

II.5.2.1. Domaine d'application de la DFT

Les études théoriques s'orientent actuellement vers la conceptualisation rationnelle "Rational design" qui signifie que la connaissance des relations entre les propriétés et la structure moléculaire des molécules connues permet au scientifique de développer des nouvelles molécules, avec une assez bonne anticipation tel que le produit final aura un ensemble sur mesure de propriétés prédéfinies [94].

Les résultats obtenus en DFT sont souvent de meilleure qualité que ceux obtenus dans le cadre HF [95].

a- Energies totales : L'énergie totale calculée diffère entre 3 et 5 kcal/mol de la valeur attendue par l'expérience. Cette corrélation entre calculs et expérience pourrait être encore améliorée en diminuant la contribution d'échange exact qui est présent au sein de la

fonctionnelle B3LYP [96]. Il est à noter que les calculs DFT sont toujours équivalents à des calculs réalisés dans le vide. Ainsi, si l'on souhaite modéliser l'interaction du système étudié avec son environnement, relatif à la protéine ou au solvant par exemple, les calculs couplant mécanique quantique et mécanique moléculaire (QM/MM) ou encore le modèle COSMO [97] implémenté au sein du programme Gaussian est parmi les plus adaptés pour ce type de démarche.

b- Interprétation de la réactivité : La MM peut permettre l'interprétation des effets stériques sur la réactivité. On peut distinguer dans ce cas deux méthodes d'exploitation : - Les comparaisons dans un ensemble de molécules similaires pour caractériser des relations entre les changements de structure ou des substituants et la réactivité. Les comparaisons intramoléculaires pour prévoir une voie de réarrangement, une région sélectivité ou une stéréo sélectivité.

c- Analyse conformationnelles : Quand aucune liaison n'est rompue, ni formée et qu'aucun intermédiaire chargé n'intervient, l'inter conversion conformationnelle se prête particulièrement bien à une description par la MM. On peut obtenir grâce à cette analyse des informations structurales sous formes d'un profil énergétique (en fonction d'un angle dièdre par exemple) ou des cartes énergétique 3D.

La recherche multi conformère consiste à trouver un ensemble de conformères. Deux types de méthodes sont possibles : stochastiques ou déterministe. Parmi les méthodes stochastiques nous citons la dynamique Brownienne, ou Monte Carlo Métropolis.

Parmi les méthodes déterministes, il existe en particulier des méthodes de déformations spatiales séquentielles et des méthodes de déformations spatiales temporelles sous le nom générique de D.M. (Dynamique moléculaire).

De toutes ces méthodes il faut retenir qu'aucune d'elle ne permet à coup sûr d'obtenir toutes les conformations réellement existantes dans une fenêtre énergétique donnée quels que soit les durées offertes pour les calculs. Généralement on utilise plusieurs méthodes en même temps pour être plusieurs d'avoir toutes les conformations les plus probables Un ensemble de conformères issu de ces calculs peut être scindé en familles conformationnelles caractérisées par une spécificité géométrique donnée et une énergie moyenne [98].

II.5.2.2. Avantages et inconvénients de la DFT

a- Les avantages : La DFT permet souvent d'obtenir, à plus faible cout, des résultats d'une précision proche de celle obtenue avec des calculs post Hartre-fock. De plus, elle peut être utilisée pour étudier des systèmes relativement gros, contenant jusqu'à plusieurs centaines

d'électrons, que les calculs post-Hartre-fock ne peuvent pas traiter. Ceci explique que la DFT soit aujourd'hui très utilisée pour étudier les propriétés des systèmes moléculaires ou même biologiques.

De nombreux travaux effectués ces dernières années montrent que les calculs DFT donnent de bons résultats sur des systèmes très divers (métalliques, ioniques, organométalliques).

Pour de nombreuses propriétés (les structures moléculaires, les fréquences de vibration, les potentiels d'ionisation, ...) [99-100].

Par la suite elle donne des informations sur toutes les propriétés liées à la structure électronique et les méthodes peuvent donner des informations fiables. Également on travaille à 0 K mais on peut également prendre en compte la température [101].

b- Les inconvénients : Toutefois, ces méthodes souffrent encore de plusieurs défauts. Par ailleurs, on ne comprend pas toujours les bons ou les mauvais résultats de la DFT sur certains systèmes, et il n'existe aucun critère véritable qui permet d'améliorer une fonctionnelle donnée, ce qui rend parfois l'utilisation de la DFT délicate. De plus, les états excités ne sont pas accessibles dans le formalisme développé. Des développements récents en utilisant un formalisme dépendant du temps pour une description des états excités ont été faits. Les calculs peuvent être très longs. Nécessite une bonne connaissance des équations de base [102].

Chapitre III :
Synthèse et caractérisation

Dans ce chapitre nous décrivons le procédé appliqué pour la synthèse de deux molécules appartenant à la famille d'ester α -aminophosphonate. Ensuite nous présentons les différentes méthodes physicochimiques et spectroscopiques telles que l'UV-Vis et FT-IR, utilisées pour l'identification des structures des composés obtenus.

III.1. Réactifs et solvants utilisés

Tous les produits chimiques utilisés dans ce travail sont des produits commercialisés de type, Sigma-Aldrich ou Fluka, ils sont utilisés sans traitement préalable. Les tableaux III.1. et III.2. représentent les caractères physicochimiques principaux des réactifs et des solvants utilisés.

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

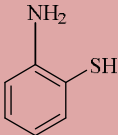
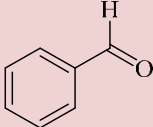
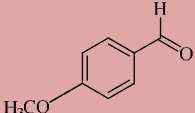
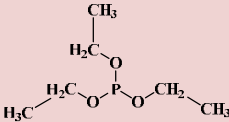
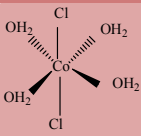
Réactifs	Pureté	Formule brute	M (g/mol)	Densité	Structure chimique
2-aminothiophenol	99%	C ₆ H ₇ NS	125.19	0,804	
Benzaldéhyde	98%	C ₇ H ₆ O	106.121	1.049	
4-méthoxybenzaldéhyde	98%	C ₈ H ₈ O ₂	136.15	1.119	
Triéthylphosphite	98%	C ₆ H ₁₅ O ₃ P	166.155	0.969	
Chlorure de cobalt		CoCl ₂ · 6H ₂ O	237.839	1.92	
Sulfate de magnésium		MgSO ₄	120.366		

Tableau III. 2 : Caractères physicochimiques des solvants utilisés.

<i>Solvants</i>	<i>Formule brute</i>	<i>M</i>	<i>Pureté %</i>	<i>T d'ébullition (°C)</i>
L'eau distillée	H ₂ O	18.00		100
L'acétate d'éthyle	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	99.4	77
<i>n</i> -hexane	C ₆ H ₁₄	86.18	95	69
Dichlorométhane	CH ₂ Cl ₂	119.38	99	61.2
Méthanol	CH ₃ OH	32.04	99.8	65

III.2. Montage utilisé pour la synthèse

Le montage expérimental de synthèse utilisé, est un montage à reflux simple constitué des éléments suivants:

- Une plaque chauffante.
- Un bain de sable équipé par une sonde de température.
- Un réfrigérant serpentant.
- Un ballon de 50 mL.
- Un barreau magnétique.

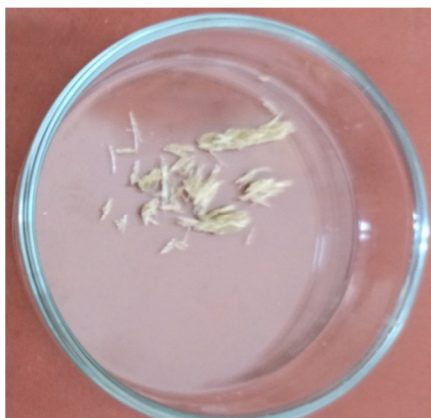
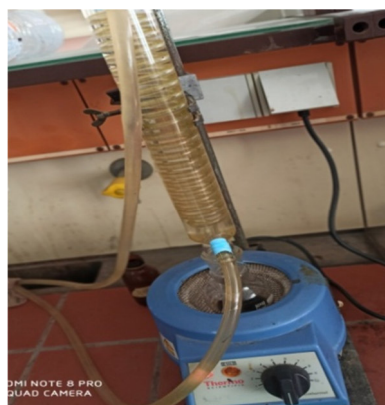
III.3. Synthèse des esters α -aminophosphonates

Parmi les méthodes citées dans la littérature pour la synthèse des α -aminophosphonates, on a choisi la méthode de Kabachnik-Fields, qui consiste à faire réagir trois composants: une amine, un aldéhyde et le triéthylphosphite. Il s'agit d'une simple réaction, avec l'obtention de rendement élevé et dans une courte durée on conduisant directement aux α -aminophosphonates pure sans passé à la séparation [21].

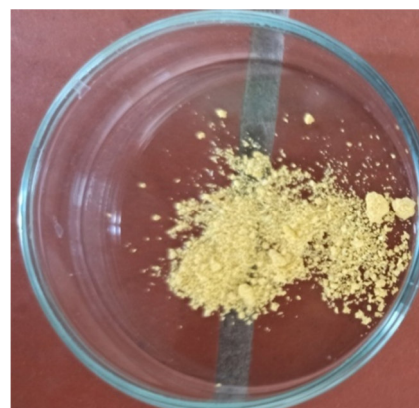
* Mode opératoire :

Pour la préparation de l'ester, on fait réagir à la fois trois composés : 1 mmol de 2-aminothiophinol, 1 mmol de benzaldéhyde (ou 4-méthoxybenzaldéhyde) et 1 mmol du triéthylphosphite en présence de 0.5 mmol de CoCl₂.6H₂O comme catalyseur, ensuite le mélange est mis sous agitation magnétique à la température ambiante pendant 3 h. L'évolution de la réaction est contrôlée par CCM en utilisant un système d'élution constituée *n*-hexane / acétate d'éthyle (8/2).

On arrête la synthèse selon la CCM et on a ajouté 10 ml de dichlorométhane pour solubiliser le mélange réactionnel qui sera ensuite traité par l'eau distillée, afin d'extraire la phase minérale ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), et de récupérer la phase organique, celle-ci a été séchée par l'ajout du MgSO_4 pour absorber les traces de l'eau, puis on filtre. Le filtrat est concentré par l'élimination du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide. À la fin, le composé obtenu est recristallisé par éthanol. Les différentes étapes de synthèse sont présentées par la figure III.1.



Ester 1



Ester 2

Figure III. 1 : Les différentes étapes de synthèse de l'ester.

La séquence réactionnelle est présentée par la figure III.2.

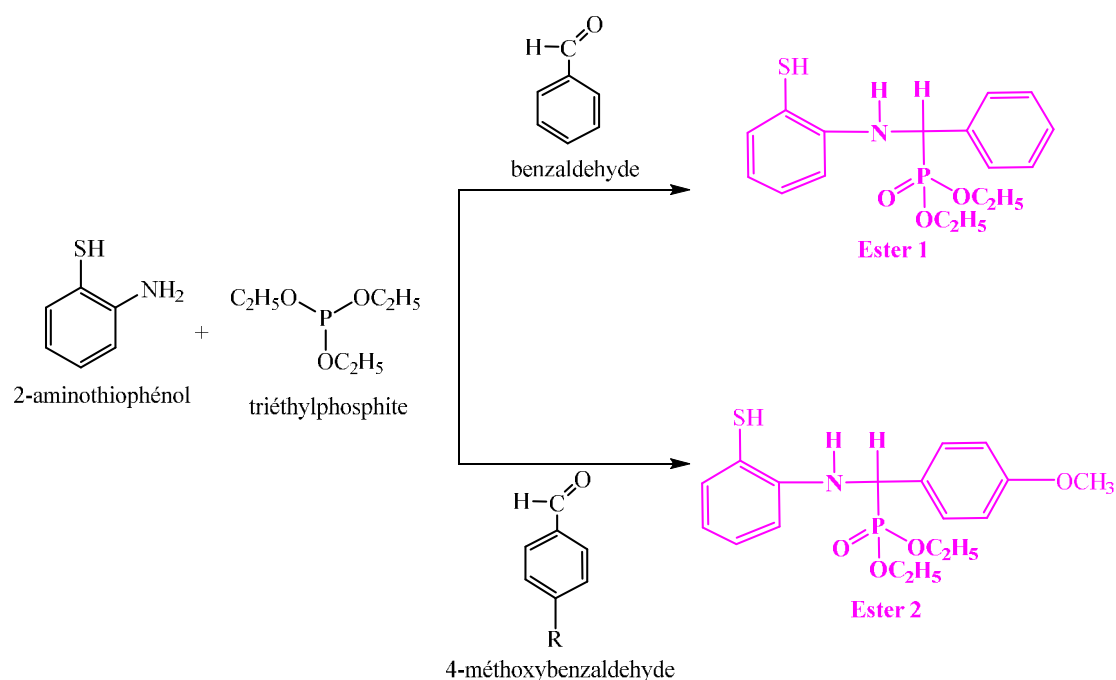


Figure III.2. Séquence réactionnelle générale de synthèse des ester α -aminophosphonates.

III.4. Mécanisme réactionnel

Pour la synthèse de nos esters on propose le mécanisme réactionnel suivant :

- La première étape de la réaction est une attaque nucléophile du doublet libre de l'atome d'azote sur le carbonyle de benzaldéhyde, l'alcoolate formé se réarrange par transfert de proton intramoléculaire pour conduire à un amino-alcool instable qui se déshydrate pour former l'imine.

- La deuxième étape est l'attaque du doublet libre de phosphore sur le carbone de fonction imine, puis une autre attaque nucléophile par le groupement OH sur l'atome de phosphore accompagné par un départ de l'un des trois groupements éthoxy, ensuite le phosphonate se forme lorsque l'éthanoate prend l'hydrogène labile du groupement OH (figure III.3) :

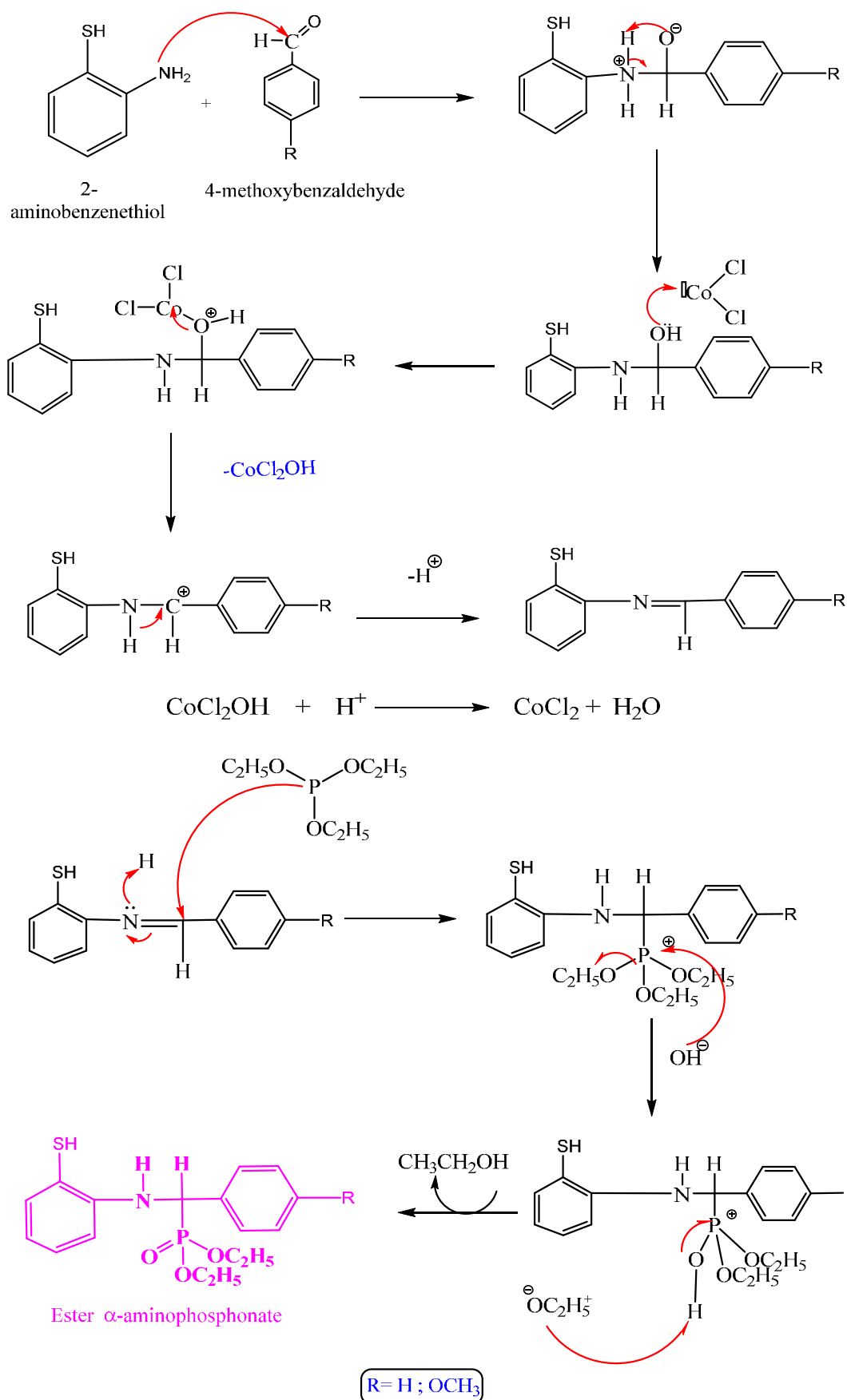

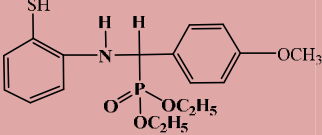


Figure III. 3 : Mécanisme réactionnel proposé pour la formation de l'Ester 1 et Ester 2.

III.5. Caractérisation des produits synthétisés

La dénomination des produits obtenus a été faite selon l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC).

Tableau III. 3. Nom et abréviation des α -aminophosponates synthétisés.

<i>Nom et structure proposé</i>	<i>Formule brute</i>	<i>Abréviation</i>
	C ₁₇ H ₂₂ NO ₃ PS	Ester 1
	diethyl (((2-mercaptophenyl) amino)(phenyl)methyl)phosphonate	
	C ₁₈ H ₂₄ NO ₄ PS	Ester 2
	diethyl (((2-mercaptophenyl)amino)(4-methoxyphenyl)methyl)phosphonate	

III.5.1. Aspects et couleur des produits

Le premier signe de la marche de la réaction est le changement d'état et la couleur du produit finale, l'aspect et la couleur de tous les produits est rassemblé dans le tableau III. 04:

Tableau III. 4: Aspects et couleur des produits de départ et le composé synthétisé.

Produits	Aspects	Couleur
2-aminothiophenol	Liquide	Jaune
Benzaldéhyde	Liquide	Transparent
4-méthoxybenzaldéhyde	Liquide	Jaune claire
Triéthylphosphite	Liquide	Transparent
Ester 1	Solide	Blanc
Ester 2	Solide	Jaune

Les deux composées synthétisées sont des solides, alors que les réactifs sont des composés liquides. Ce changement de l'état physique des produits obtenus par rapport aux produits de départ c'est un indice significatif sur la formation de nouveaux produits.

III.5.2. Tests de solubilité

La solubilité est une caractéristique qualitative utilisée pour décrire le comportement d'une espèce chimique vis-à-vis d'un solvant. Elle désigne la capacité d'une espèce chimique à se dissoudre ou non dans un solvant.

Des tests qualitatifs de solubilité effectués dans les solvants habituels à froid montrent que les composés Ester 1 et Ester 2 sont parfaitement insolubles dans l'eau et peu solubles dans les solvants polaires. Les tests sont regroupés dans le tableau.III.5.

Tableau III. 5 : Solubilité des produits synthétisés dans des différents solvants.

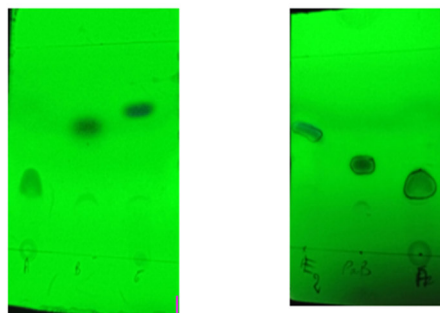
Solvant	2-aminothiophenol	Ester 1	Ester 2
<i>Eaux</i>	Insoluble	Insoluble	Insoluble
<i>Méthanol</i>	Soluble	Peu soluble	Peu soluble
<i>Ethanol</i>	Soluble	Peu soluble	Peu soluble
<i>Acétate d'éthyle</i>	Soluble	Soluble	Soluble
<i>Dichlorométhane</i>	Soluble	Soluble	Soluble
<i>Toluène</i>	Soluble	Soluble	Soluble
<i>n-Hexane</i>	Insoluble	Peu soluble	Peu soluble
<i>DMSO</i>	Soluble	Soluble	Soluble

III.5.3. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Durant cette synthèse, on a utilisé la CCM qui peut assurer la fin de la réaction et la pureté des produits obtenus. Pour cette raison on a utilisé des petites plaques de CCM (6 X 4 cm) et l'éluant l'acétate d'éthyle et le n-Hexane (2/8, V/V).

Le choix de l'éluant est basé sur la bonne migration des échantillons analysés qui permis d'avoir une bonne séparation et une visibilité acceptable des spots

La figure III.4. représente les plaques de CCM sous la lampe UV.



A : amine ; B : aldéhyde ; E1 : ester 1 ; E2 : ester 2

Figure III. 4 : Résultats d'analyse par CCM de Ester 1 et Ester 2.

D'après les plaques CCM on observe la disparition totale des taches de l'amine et l'aldéhyde dans la tache du mélange réactionnel et l'apparition d'une nouvelle tache différente des spots des produits de départ se qui confirme la fin de réaction et aussi la formation des nouveaux composés.

On outre on remarque que la réaction a donné une seule tache, cela confirme bien la pureté de nos produits synthétisés.

Les plaque de CCM, nous permet de calculer les rapports frontal (R_f), et les valeurs obtenus sont rassembler dans le tableau III.6.

Tableau III. 6: Rapports frontaux des produits de départ et les composés synthétisés.

Produits	Rapports frontaux
2-aminothiophenol	0.32
Benzaldéhyde	0.57
4- méhoxybenzaldéhyde	0.42
Ester 1	0.70
Ester 2	0.62

D'après les résultats de tableau (III.6) on observe que l'amine à une faible valeur de R_f ce qui explique que l'amine est plus polaire que les autres produits (aldéhydes et esters). On observe aussi la faible migration de l'ester 2 par rapport à l'ester 1 ce qui explique que ester 2 est plus polaire que l'ester1.

III.5.4. Rendements

Après la récupération de produit finale et après le séchage on a calculé le rendement de la réaction selon l'équation III.1:

$$R(\%) = \frac{\text{Masse expérimentale}}{\text{Masse théorique}} \times 100 \dots \dots \dots (III. 1).$$

Tableau III. 7: Rendements des produits synthétisés.

Les ester α -aminophosphonates	Rendements R (%)
Ester 1	70
Ester 2	85

III.5.5. Température de fusion

Les valeurs de point de fusion des ester synthétisés sont regroupées dans le tableau III.8.

Tableau III. 8 : Caractères physicochimiques principaux des produits synthétisés.

Produits	Formule brute	T _f (°C)
<i>Ester 1</i>	C ₁₇ H ₂₂ NO ₃ PS	100
<i>Ester 2</i>	C ₁₈ H ₂₄ NO ₄ PS	112

III.5.6. Caractérisation spectroscopique

III.5.6.1. Caractérisation des produits synthétisés par la spectrophotométrie UV-Vis

Les figures III.5 et III.6 représentent les spectres de toutes les produits synthétisées et réactifs enregistrés en solution méthanolique de même concentration molaire 10⁻⁵ mol/ l, ce qui a facilité leur comparaison et l'observation des modifications entre les réactifs et les molécules synthétisées.

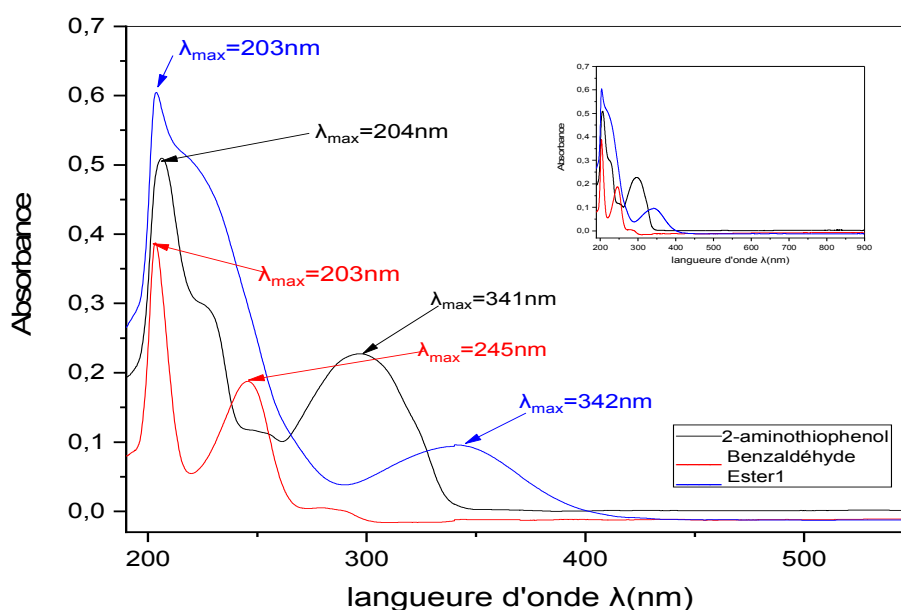


Figure III. 5 : Spectres UV-Vis du 2-aminothiophénol, benzaldéhyde et Ester 1.

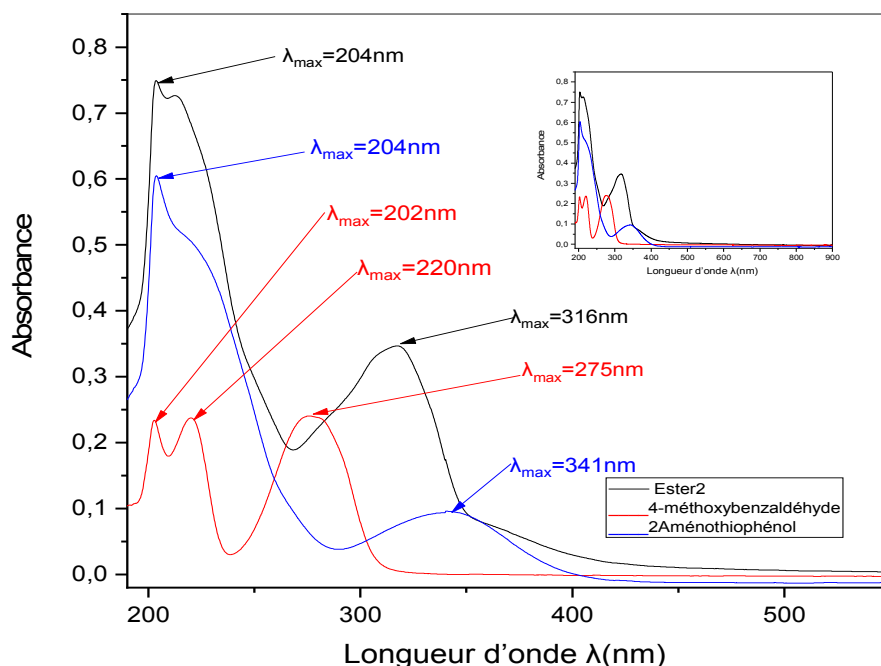


Figure III. 6: Spectres UV-Vis du 2-aminothiophénol, 4-méthoxybenzaldéhyde et Ester2.

L'interprétation des spectres représentés par les figures III.5 et III.6 montrant que :

❖ Les spectres enregistrés dans la région du visible montrent que ces composés sont transparents et ne présentent aucune absorption.

❖ Les spectres d'absorptions UV-vis des molécules analysés sont tous caractérisés par une forte bande d'absorption située dans l'ultraviolet autour de 200 nm qui est attribué aux systèmes aromatiques [103, 104].

❖ Le spectre de 2-aminothiophénol est caractérisé par deux bandes d'absorption bien définies dans le domaine UV, une bande très intense à $\lambda_{\max} = 204$ nm et une bande large d'intensité moyenne à $\lambda_{\max} = 341$ nm.

❖ Le spectre de benzaldéhyde représente deux bandes d'absorption: une forte bande à $\lambda_{\max} = 203$ nm et une bande d'intensité moyenne à $\lambda_{\max} = 245$ nm.

❖ Le spectre de 4-méthoxybenzaldéhyde est caractérisé par trois bandes d'absorption bien définies située à $\lambda_{\max} = 202$ nm, $\lambda_{\max} = 220$ et $\lambda_{\max} = 275$ nm.

❖ Le spectre UV-Vis caractéristique du composé Ester 1 est caractérisé par deux bandes d'absorption, une bande très intense située à $\lambda_{\max} = 203$ nm, une bande d'intensité moyenne à $\lambda_{\max} = 342$ nm.

❖ Le spectre UV-Vis caractéristique du composé Ester 2 présente une bande d'absorption située à $\lambda_{\max} = 204$ nm et $\lambda_{\max} = 316$ nm.

On remarque d'après ces résultats, une différence entre les spectres des produits obtenu et les spectres des réactifs. Donc on peut confirmer l'obtention des nouveaux produits.

Les spectres UV-Vis sont utilisés, aussi, en analyse quantitative par application de la loi de Beer Lambert, ce qui permet de calculer le coefficient d'absorption molaire ϵ .

Les valeurs des longueurs d'onde et les coefficients d'absorption molaire sont représentés dans le tableau II.9.

Tableau III.9: Paramètres spectrales caractéristiques des spectres UV-Vis des esters synthétisés enregistrés en méthanol.

<i>Produits</i>	λ_{max} (nm)	<i>Absorbance</i>	ϵ (l /cm.mol)
2-aménothiophénol	$\lambda_{max}=204$	A=0.602	$\epsilon =60200$
	$\lambda_{max}=341$	A=0.095	$\epsilon =9500$
Benzaldéhyde	$\lambda_{max}=203$	A=0.385	$\epsilon =38500$
	$\lambda_{max}=245$	A=0.189	$\epsilon =18900$
Ester1	$\lambda_{max}=203$	A=0.601	$\epsilon =60100$
	$\lambda_{max}=342$	A=0.096	$\epsilon =9600$
Para-méthoxy Benzaldéhyde	$\lambda_{max}=202$	A=0.233	$\epsilon =23300$
	$\lambda_{max}=220$	A=0.237	$\epsilon =23700$
	$\lambda_{max}=275$	A=0.240	$\epsilon =24000$
Ester2	$\lambda_{max}=204$	A=0.748	$\epsilon =74800$
	$\lambda_{max}=318$	A=0.346	$\epsilon =34600$

III.5.6.2. Caractérisation des produits synthétisés par spectroscopie FT-IR

Pour caractériser les propriétés vibrationnelles des produits synthétisés et confirmer la présence des groupements fonctionnels des esters α -aminophosphonates nous avons effectué les analyses par spectroscopie infrarouges.

Les figures III. 7 et III 8, présentent les spectres IR des molécules synthétisées et leurs produits de départ.

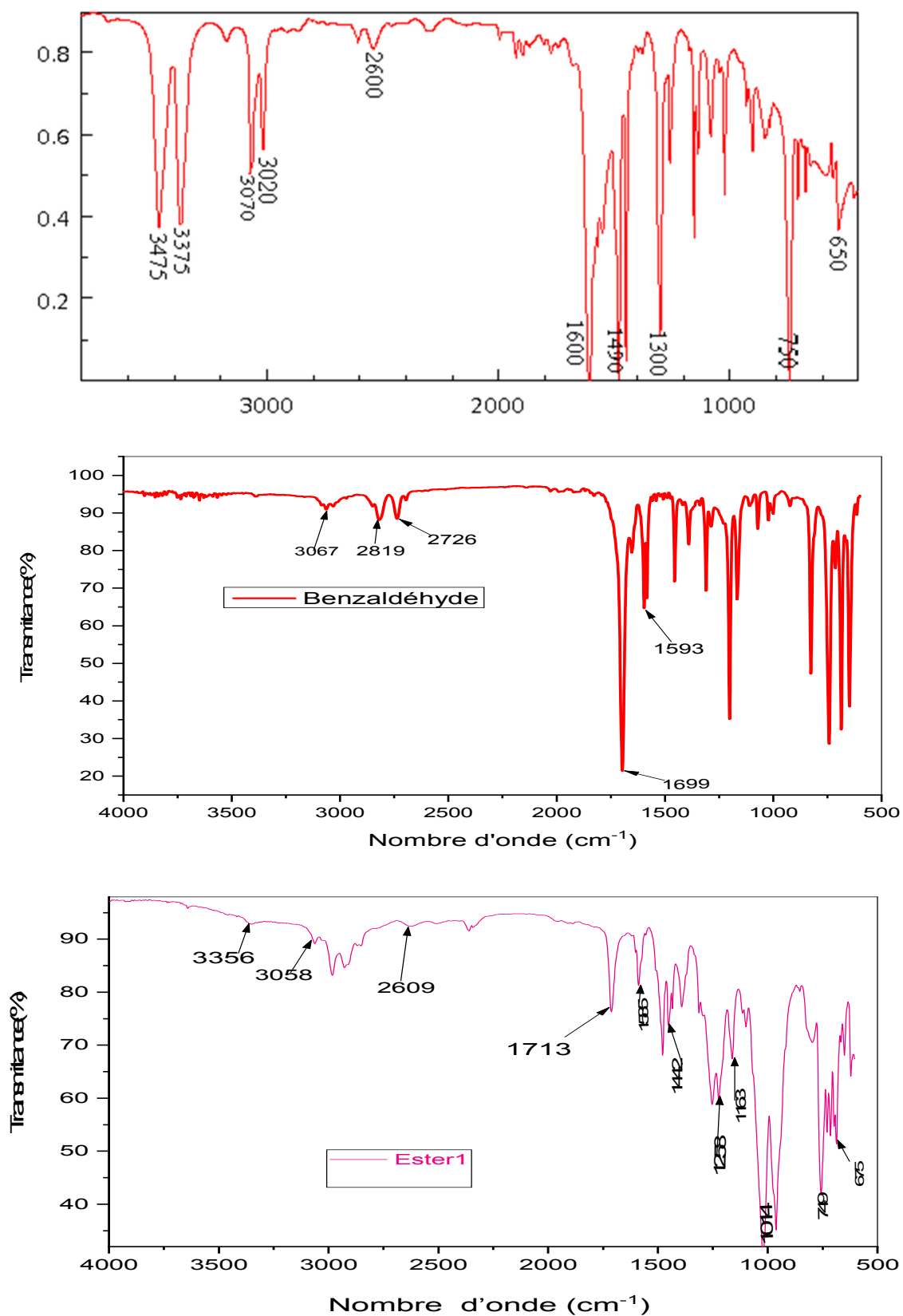


Figure III. 7 : Spectres IR caractéristiques du composé synthétisé **Ester 1** et ces réactifs.

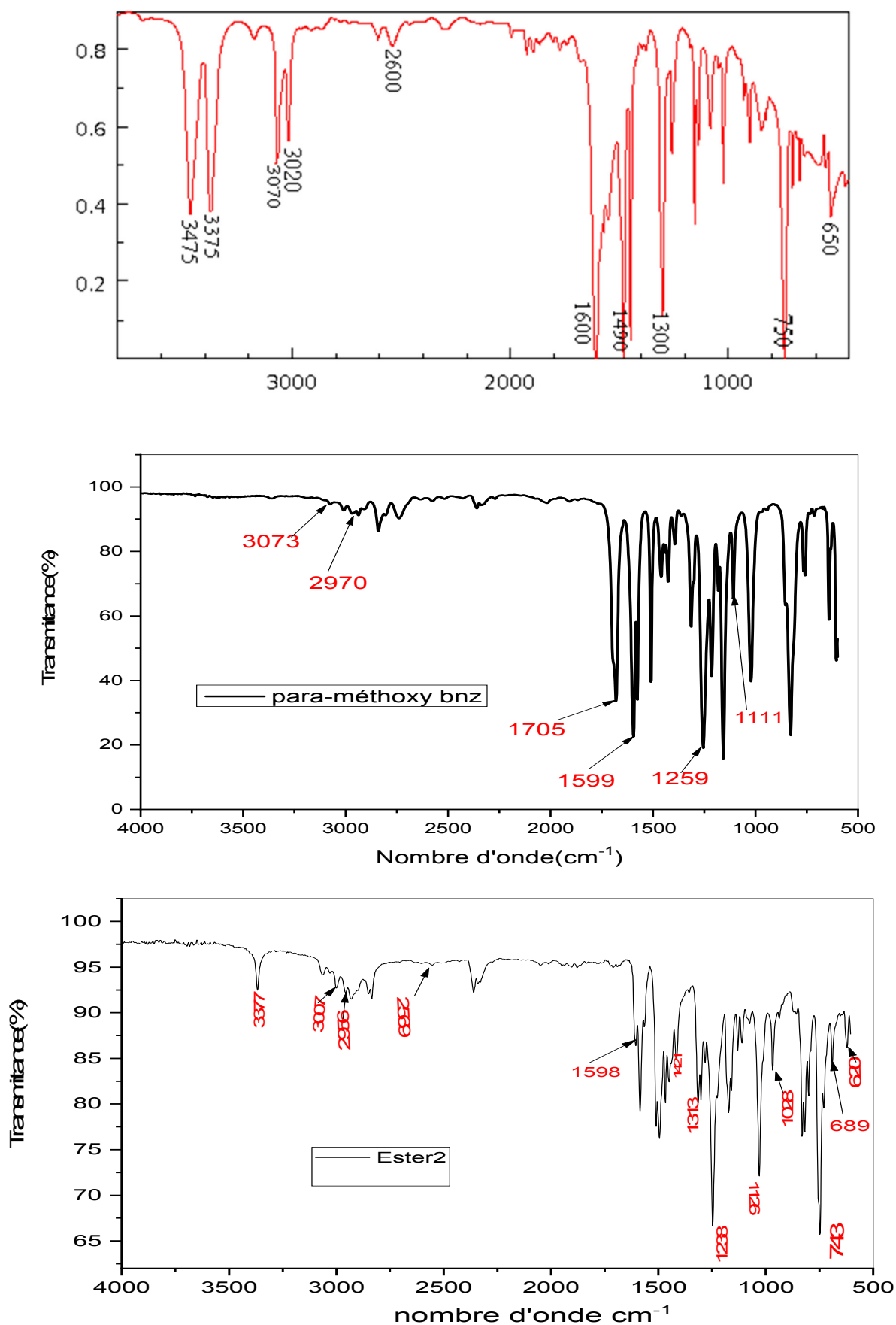


Figure III. 8 : Spectres IR caractéristiques du composé synthétisé Ester 2 et ces réactifs.

L'identification des pics caractéristiques des spectres obtenus montre bien une différence claire entre les fréquences d'absorption des composés synthétisés et celles des produits de départ.

La comparaison des spectres des produits de départ et celles des composés synthétisés, montre la disparition des pics caractéristiques du groupe carbonyles ν (C = O) des l'aldéhyde, et le remplacement de deux pics caractéristiques du groupe amine primaire (NH)₂ de l'amine de départ par un seul pic caractéristique du groupe amine secondaire (NH) dans les spectres des ester.

Les spectres infrarouges de deux esters α -aminophosphonates sont caractérisés par l'apparition des nouveaux pics suivants :

- ❖ Un pic situé à 1163cm⁻¹ pour ester 1 et 1238cm⁻¹ pour ester 2 attribué à la fonction P=O.
- ❖ Un pic d'absorption situé à 749 cm⁻¹ pour ester1 et 689 cm⁻¹ pour ester 2 attribué à la fonction P-O-C.
- ❖ Un pic situé à 1442 cm⁻¹ pour ester 1 et 1421 cm⁻¹ pour ester 2 attribués à la fonction C-P.
- ❖ Un pic situé à 1028 cm⁻¹ attribué à la fonction C-O de groupe méthoxy pour l'ester 2.
- ❖ Un pic à 3356 cm⁻¹ pour ester1 et 3377cm⁻¹ pour ester 2 attribué au groupement N-H.
- ❖ Les pics situés entre 2970 cm⁻¹ et à 2950 cm⁻¹ sont attribués à C-H aliphatiques.

Le tableau III.10 suivants présente les principales bandes d'absorption des composés synthétisés comparées avec celles des produits de départ.

Tableau III.10: Attribution des bandes d'absorption du produit synthétisé et les réactifs.

Fréquences cm ⁻¹					
amine	benzaldéhyde	4-méthoxy benzaldéhyde	Ester1	Ester2	ATRIBUTION
3475 3375	/	/	3356	3377	$\bar{\nu}$ -NH amine Première
3070 3020	3067	3073 3015	3058	3007	$\bar{\nu}$ -CH aromatique
/	/	2970	2963	2956	$\bar{\nu}$ -CH aliphatique
/	2819 2726	2838 2732	/	/	$\bar{\nu}$ -CH aldéhydique
2600	/	/	2600	2569	$\bar{\nu}$ -SH
/	1699	1705		/	$\bar{\nu}$ -C=O
1600	1593	1599	1585	1598	$\bar{\nu}$ C=C aromatique

Fréquences cm^{-1}					ATRIBUTION
amine	Benzaldéhyde	4-méthoxy benzaldéhyde	Ester 1	Ester 2	
1300	/	/	1258	1313	$\bar{\nu}_{\text{C-N}}$
/	/	/	1442	1421	$\bar{\nu}_{\text{P-C Aliphatique}}$
/	/	/	1163	1238	$\bar{\nu}_{\text{P=O}}$
/	/	1111	/	1028	$\bar{\nu}_{\text{C-O}}$
650	/	/	675	620	$\bar{\nu}_{\text{C-S}}$
/	/	/	749	689	$\bar{\nu}_{\text{P-O-C}}$

Chapitre IV :
Activité antioxydante et
calculs quantiques

Ce chapitre est subdivisé en deux parties nous exposerons dans la première partie l'étude de l'activité antioxydant des esters synthétisés. Dans la deuxième partie nous présentons les résultats des calculs de chimie quantiques par la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT).

IV. 1. Evaluation de l'activité antioxydant des molécules synthétisées

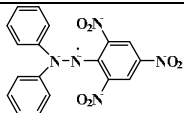
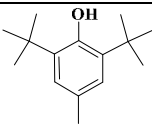
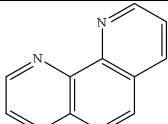
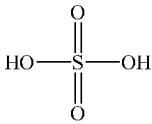
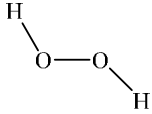
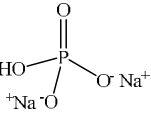
Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de l'activité antioxydante d'un composé, ces méthodes sont nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres [105].

Dans notre travail on a choisi trois méthodes :

1. Test de réduction du radical stable DPPH.
2. Test de phosphomolybdate d'ammonium
3. Test de Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ scavenging activity)

IV.1.1.Réactifs et solvants utilisés

Tableau IV.1 : Structures chimiques et propriétés physique des réactifs utilisés.

Réactifs	Formule	M (g/mol)	Structure
2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆	394.32	
Hydroxytoluène butylé (BHT)	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	
1,10-phénanthroline	C ₁₂ H ₈ N ₂	180.20	
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄	98.078	
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂	34.0147	
Hydrogénophosphate de sodium	Na ₂ HPO ₄	141.95	
Sulfate d'ammonium et de fer	FeNH ₄ (SO ₄) ₂	266. 01	
Molybdate d'ammonium	(NH ₄) ₂ MoO ₄	142	

IV.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

La première méthode choisie pour mesurer l'activité antioxydante du composé synthétisé est celle du DPPH. Cette méthode est facile à utiliser, à une grande sensibilité, permet l'analyse rapide de l'activité antioxydants d'un grand nombre d'échantillons et donne des résultats reproductibles.

L'activité antioxydante des produits vis-à-vis du radical DPPH est estimée par le degré de décoloration de la solution de DPPH, pour cela nous avons utilisé un spectrophotomètre UV-Vis pour mesurer les absorbances des échantillons à $\lambda = 517$ nm, les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau IV.2.

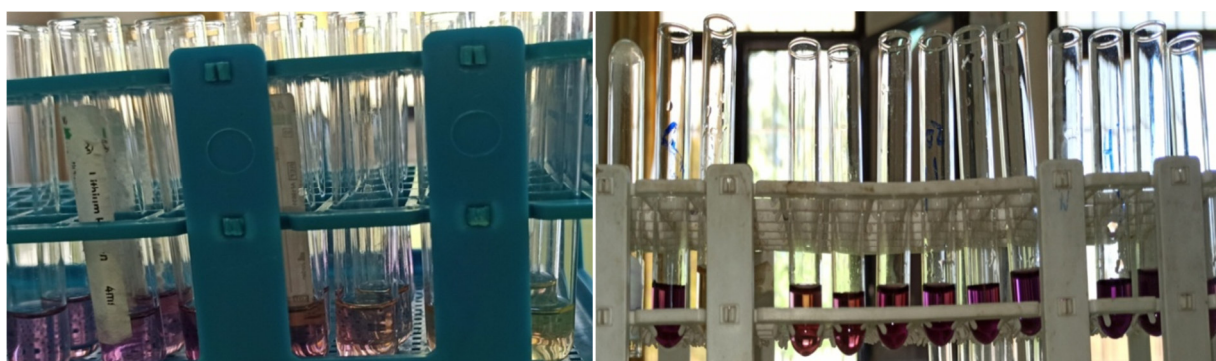


Figure IV.1 : Représentation photographique de la réaction de ester 1 et 2 avec le radicale DPPH[•]

Tableau IV.2 : Evolution de l'absorption mesurée à $\lambda = 517$ nm pour les molécules Ester 1, Ester 2 et le standard BHT.

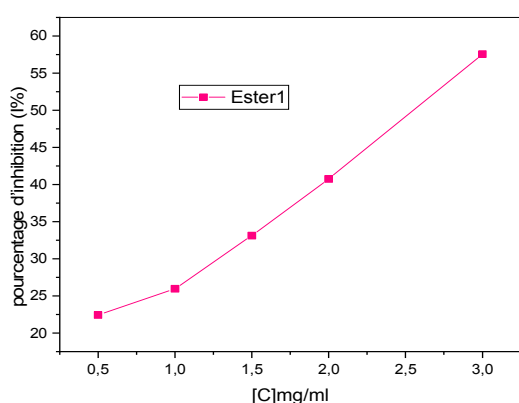
Ester 1		Ester 2		BHT	
Concentration (mg/ml)	Absorbance moyenne	concentration (mg/ml)	Absorbance moyenne	Concentration (µg/ml)	Absorbance moyenne
0.5	0.508	0.2	0.511	10	0.994
1	0.485	0.4	0.452	20	0.817
1.5	0.438	0.5	0.416	30	0.704
2	0.388	0.6	0.403	40	0.647
2.5	0.365	0.7	0.274	50	0.583
3	0.278	0.8	0.191		

Pour chaque test, le pourcentage de l'activité antioxydante des échantillons est calculé selon l'équation (II. 3).

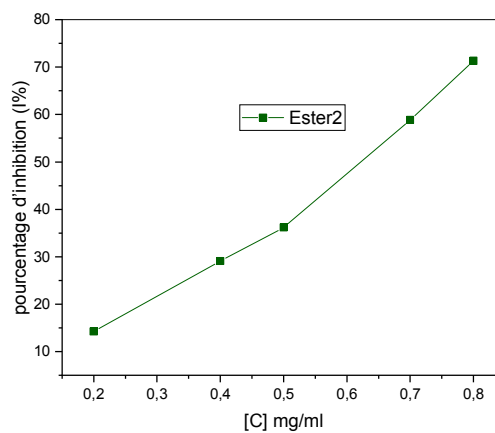
$$APR_{DPPH} \% = \frac{A_{DPPH} - A_{\text{échantillon}}}{A_{DPPH}} \times 100$$

Sachant que $APR_{DPPH} \%$, A_{DPPH} et $A_{\text{échantillon}}$ sont respectivement le pourcentage de l'activité antioxydant des molécules, l'absorption de contrôle et l'absorption de l'échantillon.

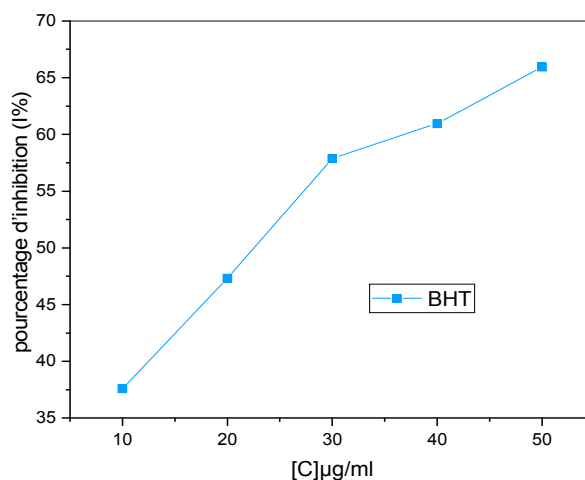
Les résultats obtenus, permettent de tracer les courbes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des molécules synthétisés $I\% = f(C)$ (figures IV. 2).



(a)



(b)



(c)

Figure IV. 2: Activité de piégeage radicalaire de (a) Ester1, (b) Ester 2 et (c) BHT avec différentes concentrations.

Ces figures montrent que tous les produits testés présentent une augmentation progressive de l'activité avec une augmentation de la concentration.

Pour mieux évaluer la capacité antioxydante de nos composés vis-à-vis du DPPH^{*}, les résultats ont été exprimés en IC₅₀; paramètre couramment utilisé pour mesurer l'activité antioxydante d'une molécule. L'IC₅₀ est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est intéressante [106]. Pour chaque produit testé la valeur d'IC₅₀ est déduite de la droite d'étalonnage correspondante.

Tableau IV.3: IC₅₀ des molécules l'Ester 1, Ester 2 et BHT, (valeur moyenne ± S.D pour n=3).

Produits	Ester 1	Ester 2	BHT
IC ₅₀ (mg/ml)	2.57 ± 0.94	0.60 ± 0.88	0.024 ± 0.37

D'après le tableau IV.3, l'antioxydant standard (BHT) montré une activité antiradicalaire très puissante avec l'IC₅₀ égale 0.024 mg/ml.

Parmi les deux produits testés, l'Ester2 représente la valeur de l'IC₅₀ la plus faible de l'ordre de 0.60 mg/ml ce qui traduit par un pouvoir antiradicalaire le plus puissant, par contre l'Ester1 a un IC₅₀ plus élevé (IC₅₀= 2.57 mg/ml) ce qui correspond à la capacité antioxydante la plus faible.

L'action de ces esters est supposée être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène, la présence du groupement-(OCH₃), groupements donneur, fait de l'Ester 2 plus active para rapport à Ester 1.

IV.1. 2. Activité antioxydante au phosphomolybdate d'ammonium

Des études antérieures ont montré que la capacité de donation d'électrons dans une réaction d'oxydoréduction peut être aussi utilisée dans la mesure de l'activité antioxydante d'un composé [107, 108].

Dans cette étude, le pouvoir réducteur des esters est mesuré par la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par un échantillon réducteur pour former un complexe phosphomolybdate (V) ayant une absorption à 695 nm. Dans cette technique, la couleur jaune de la solution change au vert mesurée par spectrophotométrie à 695 nm. Une absorbance élevée indique un pouvoir réducteur élevé.

La lecture des absorbances des solutions préparées a permis de tracer les courbes : Absorption = f (concentrations), présentées sur la figure IV.3, IV.4 et IV.5.

Tableau IV.4: Evolution de l'absorption mesurée à $\lambda=695\text{nm}$ pour l'ester1.

Concentration (mg/ml)	Absorbance
0	0
1	0.233
1.5	0.297
2	0.361
2.5	0.435
3	0.499
3.5	0.553

Figure. IV.3: Activité de piégeage de l'ester1 avec différentes concentrations. à 695nm.

Tableau IV.5: Evolution de l'absorption mesurée à $\lambda=695\text{nm}$ pour l'ester2.

Concentration (mg /ml)	Absorbance
0	0
0.1	0.116
0.3	0.235
0.4	0.275
0.5	0.310
0.8	0.455
0.9	0.502
1	0.569

Figure. IV.4: Activité de piégeage de l'ester 2 avec différentes concentrations à 695nm.

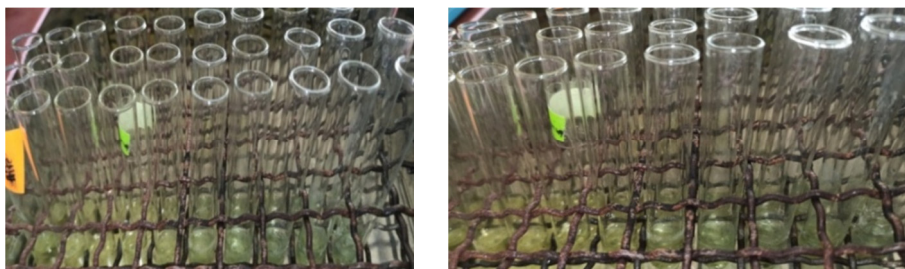


Figure IV.6 : Représentation photographique de test de phosphomolybdate d'ammonium.

Tableau IV.6: Evolution de l'absorption mesurée à $\lambda=695$ nm pour l'acide ascorbique

Concentration (mg/ml)	Absorbance
0	0
0,7	1,659
0,3	0,686
0,2	0,486
0,15	0,315
0,08	0,166
0,01	0,037

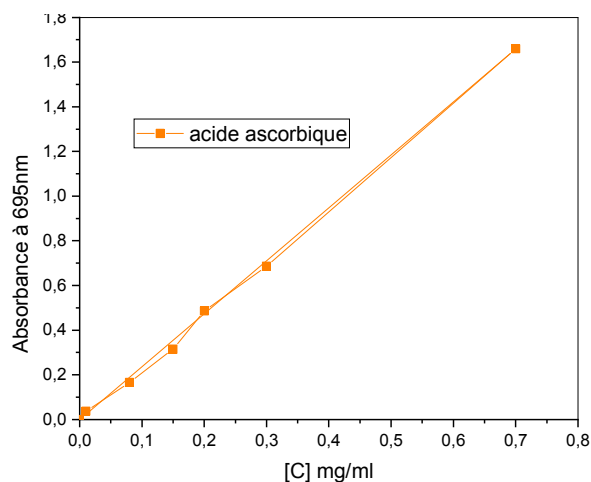


Figure. IV.5: Activité de piégeage de l'acide ascorbique avec différentes concentrations à 695nm.

Pour chaque produit l'EC₅₀ (concentration effective: la concentration des produits testés fournissant 0.5 d'absorption) est déduite de la droite d'étalonnage correspondante, les valeurs obtenues sont regroupées dans le tableau IV.7.

Tableau IV.7 : EC₅₀ des molécules l'Ester 1, Ester 2 et acide ascorbique, (valeur moyenne ± S.D pour n=3).

Produit	Ester 1	Ester 2	acide ascorbique
EC ₅₀ (mg/ml)	2.98± 0.495	0.871± 0.714	0.214

Les valeurs EC₅₀, montrent que la capacité la plus élevée des esters synthétisés est obtenue pour l'Ester2 (0.871± 0,714 mg /ml), alors que l'Ester1 a présenté un pouvoir réducteur inférieur.

Ces valeurs indiquent que les molécules Ester 1 et Ester 2 possèdent des capacités réductrices. Cela démontre leurs propriétés de donation d'électrons et par conséquent leur capacité à neutraliser les radicaux libres.

IV.1.4. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ scavenging activity)

L'activité antioxydante des produits vis-à-vis de piégeage du peroxyde d'hydrogène a été évaluée par spectrophotométrie, pour cela nous avons utilisé un spectrophotomètre UV-Vis pour mesurer les absorbances des échantillons à $\lambda= 517$ nm, les résultats sont regroupés dans le tableau IV.8.

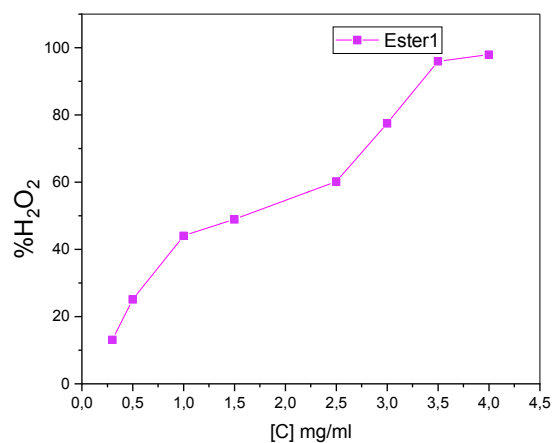
Tableau IV.8: Evolution de l'absorption mesurée à $\lambda=510$ nm pour l'Ester 1, Ester 2 et BHT.

Ester 1		Ester 2		BHT	
Concentration (mg/ml)	Abs	Concentration (mg/ml)	Abs	Concentration (mg/ml)	Abs
0.3	0.113	0.2	0.105	0.00452	0.241
0.5	0.218	0,3	0.140	0.036	0.267
1	0.380	0.4	0.176	0.06325	0.289
1.5	0.422	0.5	0.202	0.09036	0.309
2.5	0.519	0.6	0.395	0.1446	0.318
3	0.668	0.7	0.427	0.1897	0.476
3.5	0.827	0.8	0.916	0.2168	0.580
4	0.880			0.235	0.780

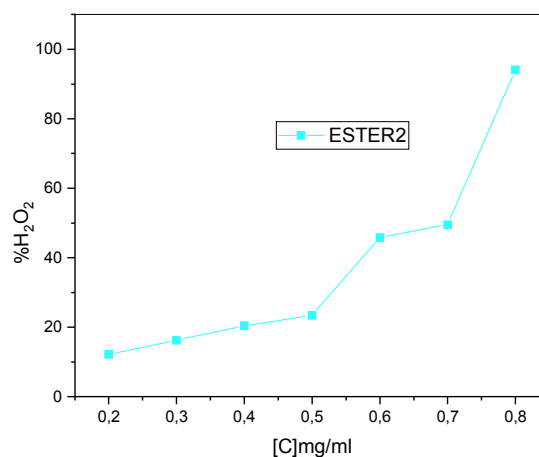
Le calcul de la capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène des composés (Ester 1, Ester 2 et BHT) a été calculé à l'aide de la formule II.4:

$$H_2O_2\% = \frac{A_{test}}{A_{blanc}} \times 100$$

Les résultats obtenus, permettent de tracer les courbes I% = f(C) (figures IV. 7 et IV.8).



(a)



(b)

Figure IV.7: Activité de piégeage de (a) Ester 1 et (b) Ester 2 vis-à-vis du H₂O₂.

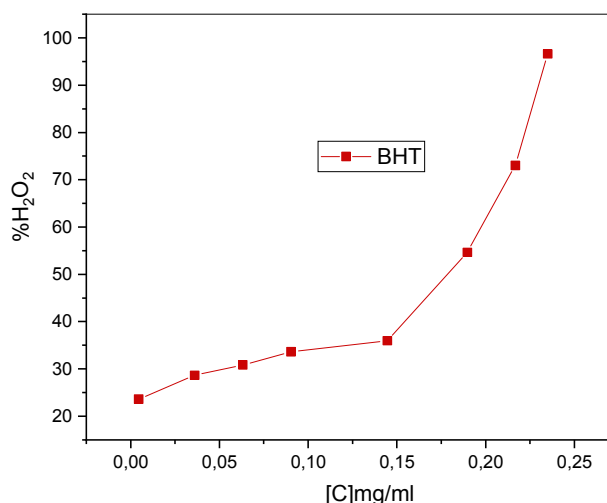


Figure IV.8: Activité de piégeage de BHT vis-à-vis du H₂O₂.

Les résultats obtenus révèlent que le pourcentage d'inhibition du H₂O₂ augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour les esters ou pour le standard.

Les résultats représentés dans le tableau IV.9 ci-dessous, montrent les valeurs IC₅₀ (mg/ml) d'Ester 1, Ester 2 et BHT.

Tableau IV.9: IC₅₀ des molécules l'Ester 1, Ester 2 et acide ascorbique (valeur moyenne pour n=3).

Produits	Ester1	Ester2	BHT
CI ₅₀ (mg/ml)	1.62	0.60	0.133

D'après le tableau : l'ester 2 est plus actif avec une IC₅₀ = 0.60 mg/ml. L'action de ces esters est supposée être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons.

IV.2. Calculs théoriques par DFT

Nous avons présenté les résultats de calculs théoriques par la méthode DFT des molécules synthétisées. Tous les calculs ont été implémentés avec des optimisations géométriques totales en utilisant le logiciel Gaussian 09W pour le but est de déterminer les propriétés structurale et énergétique.

IV.2.1 Optimisation structurale

Les résultats obtenus ont été visualisés au moyen du logiciel GaussView 5.0.8. L'optimisation de la géométrie a été réalisée par la théorie de la fonctionnelle de densité (DFT) au niveau B3LYP (Becke-3- paramètres-Lee-Yang-Parr) avec la base 6-31G (d, p).

Les structures moléculaires optimisées obtenues des inhibiteurs étudiés sont présentés sur la figure IV.9.

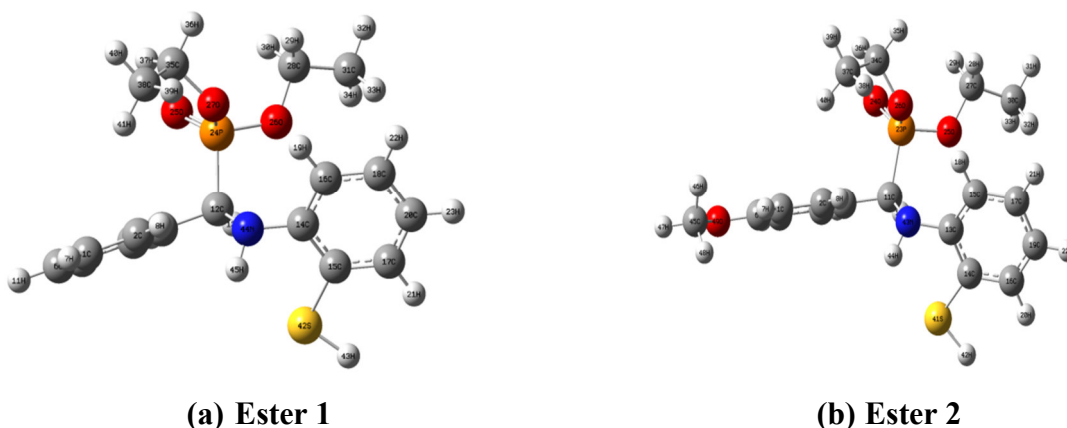


Figure IV. 9 : Les structures optimisée de (a) ester 1, (b) ester 2.

IV.2.2 Analyse des orbitales moléculaires frontières

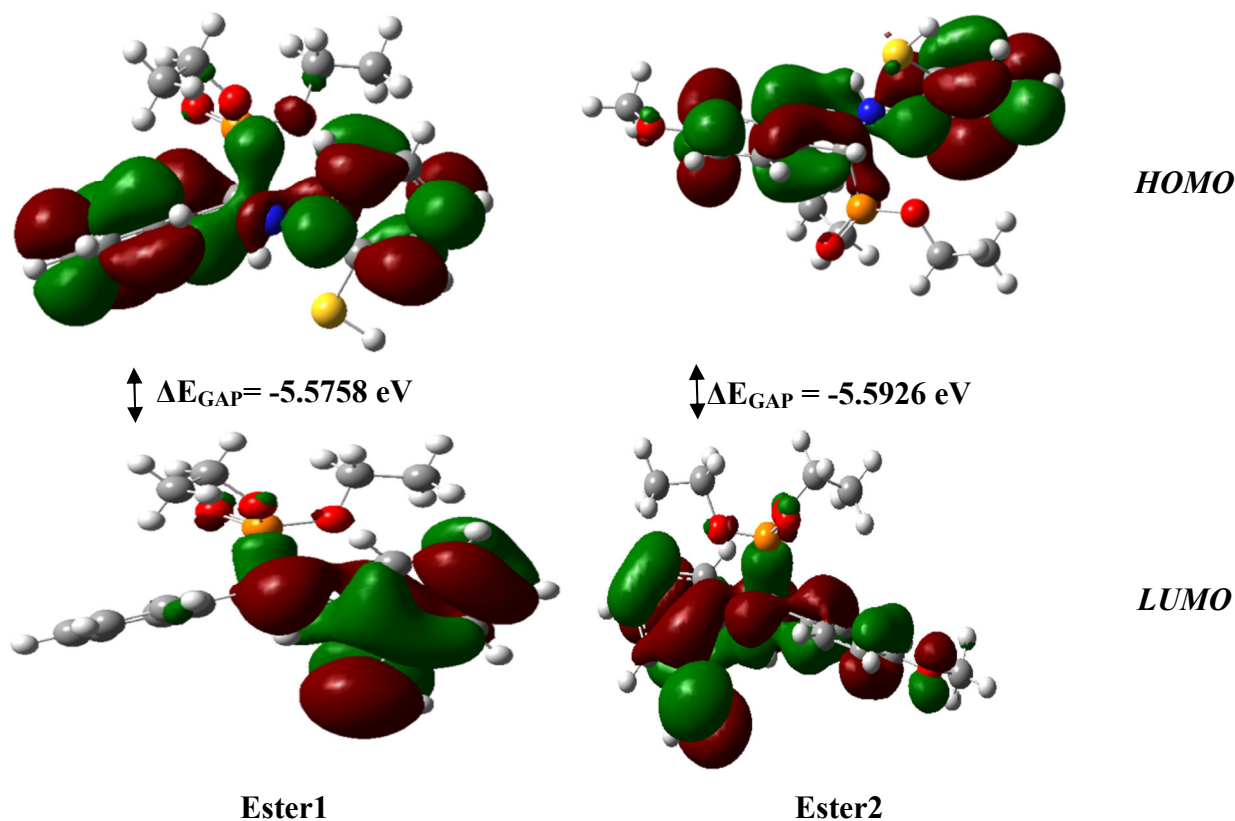


Figure IV. 10: Les orbitales moléculaires (HOMO-LUMO) du Ester 1 et Ester 2

La figure au dessus présente les résultats des calculs de la distribution des donneurs d'électrons dans l'orbitale moléculaire occupée la plus élevée (HOMO) et la distribution des accepteurs d'électrons dans l'orbitale moléculaire inoccupée la plus basse (LUMO).

La figure IV.10 montre que les distributions de densité orbitale de LUMO de ces deux aminophosphonates sont similaires les une aux autres dans la forme, mais la différence est dans les couleurs de HOMO et LUMO, bien que HOMO sont principalement localisée dans la zone du cycle aromatique (cycle 1) ainsi que sur le groupe N-H pour les deux ester, inversement au LUMO, qui sont localisées dans le second aromatique (cycle 2).

De plus, une petite distribution est observée dans l'atome d'oxygène de - (P = O) pour HOMO et LUMO selon la théorie de l'orbitale moléculaire frontière, la formation d'un état de transition est due à une interaction entre l'orbitale moléculaire occupée la plus élevée (HOMO) et l'orbitale moléculaire inoccupée la plus basse (LUMO) des réactifs [109]. Des valeurs élevées d' E_{HOMO} sont susceptibles d'indiquer une tendance de la molécule à donner des électrons à des molécules acceptuses appropriées avec des orbitales moléculaires vides de faible énergie. E_{LUMO} indique la capacité d'accepter des électrons en molécule [110,111].

IV.2.3. Les indices de réactivités

L'énergie de l'HOMO élevée correspond à une molécule plus réactive et donc sa capacité à perdre un électron est élevée. D'autre part, la plus petite énergie LUMO, indique la plus grande affinité pour les électrons,

La molécule avec une plus grande énergie HOMO est l'Ester 2 ($E_{\text{HOMO}}=-5.7320\text{eV}$), suivi par l'ester 1 ($E_{\text{HOMO}}=-5.80491\text{eV}$). La plus petite énergie LUMO est celle de Ester 1 ($E_{\text{LUMO}}=-0.2291\text{eV}$)

Ces résultats montrent, qu'Ester 2 est le plus stable et le moins réactif, alors qu'Ester 1 est la molécule la plus réactive. D'autre part, on note :

Les valeurs des énergies (HOMO, LUMO) nous permettent de calculer les indices de réactivités qui sont représentées dans le (Tableau IV.10) :

Tableau IV. 10 : Les indices de réactivités Ester1 et Ester 2.

<i>Paramètres quantiques (eV)</i>	<i>Ester 1</i>	<i>Ester 2</i>
E_{Tot}	-1653.89	-1768.41
E_{LUMO}	-0.2291	-0.13932
E_{HOMO}	-5.80491	-5.7320
Energie gap (Δ)	-5.5758	-5.5926
Potentiel d'ionisation (I)	5.80491	5.7320
Affinité électronique (A)	0.2291	0.13932
La dureté globale (η)	2.78790	2.79634
Le potentiel chimique	0.2291	0.13932
L'indice de l'électrophile globale	1.758782	1.54096
L'électronégativité (χ)	3.131555	2.93566
Moment dipolaire (en Debye)	2.4079	2.8734

La dureté globale (η) et de la mollesse (σ) : sont des paramètres importants pour déterminer la stabilité et la réactivité moléculaire. La dureté globale indique la résistance à la déformation ou à la polarisation du nuage des électrons des atomes, des ions ou des molécules sous une petite perturbation de la réaction chimique. Une molécule dure elle a un gap énergétique élevé et une molécule molle présente un gap énergétique petite [112].

La dureté globale est :

$$\eta = 1/2 (E_{LUMO}-E_{HOMO}).....(IV.1)$$

L'inverse de la dureté globale est désigné comme la douceur, comme suit :

$$\sigma = 1 / 2\eta.....(VI.2)$$

Le tableau IV.10 présente que la dureté de l'Ester 2 (2.79634eV) est supérieur à celle de Ester1 (2.787905 eV)

En outre, les résultats indiquent que le composé Ester 1 a une plus petite mollesse donc il est moins stable et la plus réactive.

Potentiel d'ionisation vertical (I) et l’Affinité électronique verticale (A) :
 Conformément à l’approximation de Janak, il existe un lien entre le potentiel d’ionisations verticales (I) et E_{HOMO} ($I \approx -E_{\text{HOMO}}$) ainsi qu’entre l’affinité électronique vertical et E_{LUMO} ($A \approx -E_{\text{LUMO}}$).

$$I = - E_{\text{HOMO}} \dots \dots \dots (\text{IV.3})$$

$$A = - E_{\text{LUMO}} \dots \dots \dots (\text{IV.4})$$

Dans la présente étude, les potentiels d’ionisation de Ester1 et Ester 2 et 5.80491eV et 5.7320 eV, respectivement, ce qui indique clairement que l’Ester 2 est très stable par rapport a l’Ester1.

Potentiel chimique électronique (μ): Le Potentiel chimique électronique est défini comme le négatif de l'électronégativité d'une molécule et déterminée en utilisant l'équation 3.

$$\mu = 1/2 (E_{\text{LUMO}} + E_{\text{HOMO}}) \dots \dots (\text{IV.5})$$

Physiquement, μ décrit la tendance de fuite des électrons à partir d’un système à l’équilibre. Les valeurs de μ pour les esters sont présentées dans le tableau IV.10. Plus le potentiel chimique électronique de la molécule est petit, plus elle est réactive. Ceci est en bon accord avec les résultats de calculs de la dureté. [113]

Électronégativité / électrophilie : L’indice d’électronégativité absolue (χ) et l’indice d’électrophilie globale (ω) sont calculés comme suit :

$$\chi = -(E_{\text{LUMO}} + E_{\text{HOMO}})/2 \dots \dots (\text{IV.6})$$

Indice global d’électrophilie (ω), introduit par Parr, est calculé en utilisant le potentiel chimique électronique et la dureté chimique comme indiqué dans l’équation suivante :

$$\omega = \mu^2/2\eta \dots \dots \dots (\text{IV.7})$$

L’indice d’électrophilie mesure la capacité d’une espèce, d’accepter les électrons. Il est une mesure de la stabilisation de l’énergie après qu’un système accepte une quantité supplémentaire de charge électronique de l’environnement.

Le moment dipolaire : Le moment dipolaire (μ) Souvent, le moment dipolaire (μ) est dû à la polarité d’une molécule et est associée à la capacité l’ester. Le tableau IV.10 montre que le moment du polaire de l’ester2 ($\mu = 2.8734$ Debye) est supérieure à celle de l’ester ($\mu = 2.4079$ Debye).

IV.2.4. Les charges atomiques

L'attribution des charges positives et négatives présente un facteur essentiel dans les calculs de chimie quantique; ceci est dû aux différentes propriétés du système moléculaire affecté par les charges atomiques, telles que la structure électronique, la polarisabilité moléculaire, le moment dipolaire et le comportement acide-base.

Tableau IV.11: Charges atomiques des molécules Ester 1 et Ester 2 calculées par B3LYP / 6-31G (d, p).

Ester 1				Ester 2			
Atom	MM Charge	Atom	MM Charge	Symbol	MM Charge		
C1	-0.0932730	H34	0.1253150	C1	-0.140675	H28	0.1064210
C2	-0.1087800	C35	0.0375010	C2	-0.120713	H29	0.1281020
C3	0.0436100	H36	0.1043410	C3	0.041703	C30	-0.337298
C4	-0.0852770	H37	0.1428380	C4	-0.093185	H31	0.1041030
C5	-0.0885070	H38	-0.3299400	C5	-0.116605	H32	0.1284000
C6	-0.0805400	H39	0.1174850	C6	0.3534340	H33	0.1254020
H7	0.0858760	H40	0.1057830	H7	0.0848650	C34	0.0375860
H8	0.1097610	H41	0.1269500	H8	0.1108430	H35	0.1034730
H9	0.0954890	S42	-0.0024890	H9	0.0957600	H36	0.1424860
H10	0.0887990	H43	0.0615430	H10	0.096771	C37	-0.3303120
H11	0.0854310	N44	-0.6026720	C11	-0.167562	H38	0.1170800
C12	-0.1678610	H45	0.2624350	H12	0.1400380	H39	0.1046380
H13	0.1421260			C13	0.2166920	H40	0.1270330
C14	0.2157070			C14	-0.113015	S41	-0.0025630
C15	-0.1121870			C15	-0.045111	H42	0.0607960
C16	-0.0458740			C16	-0.106226	N43	-0.6019610
C17	-0.1061100			C17	-0.115896	H44	0.2614730
C18	-0.1159310			H18	0.1092340	C45	-0.0782480
H19	0.1098880			C19	-0.069560	H46	0.1120130
C20	-0.0693300			H20	0.0815250	H47	0.1247790
H21	0.0820850			H21	0.0846020	H48	0.1115300
H22	0.0854000			H22	0.0855480	O49	-0.5173440
H23	0.0862680			P23	1.2093740		
P24	1.2086600			O24	-0.577590		
O25	-0.5761810			O25	-0.550663		
O26	-0.5500380			O26	-0.570848		
O27	-0.5698710			C27	0.0496700		
C28	0.0497350						
H29	0.1080820						
H30	0.1280330						
C31	-0.3378970						
H32	0.1045900						
H33	0.1290270						

D'après le tableau IV.11, on constate que les charges négatives sont localisées dans les tomes O, N et S.

Tous les protons ont une charge positive tandis les atomes de carbone se sont avérées être positives ou négatives.

IV.2.5. Spectres infrarouges théoriques

Les fréquences ont été calculées à l'aide de DFT/B3LYP avec la base 6-31G (d,p).

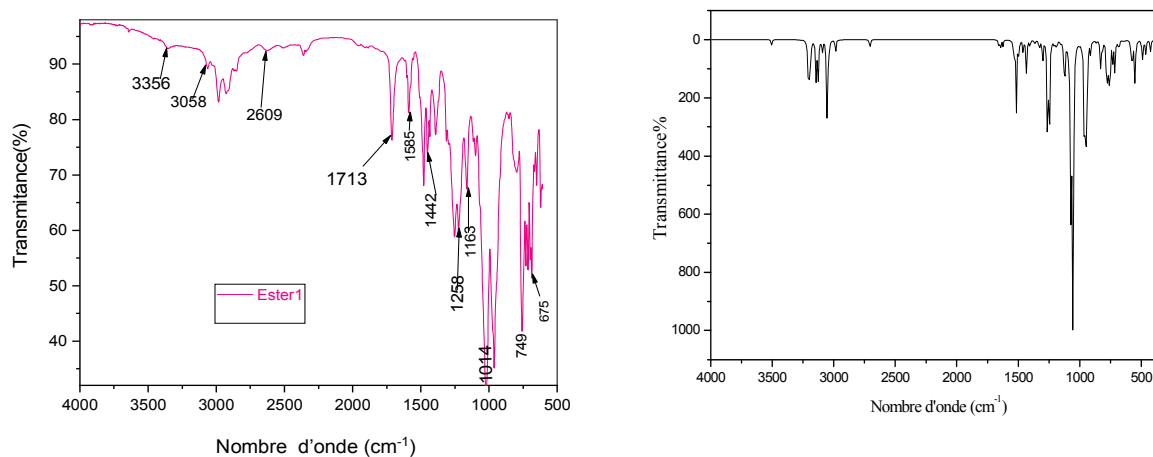


Figure VI.11: Spectre IR Ester 1, (a) expérimental, (b) théorique.

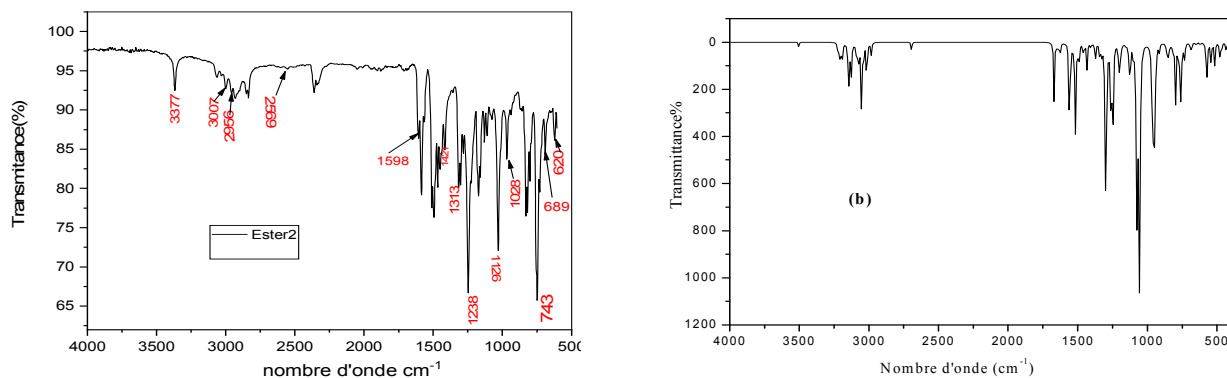


Figure VI.12 : Spectre IR ESTER 2, (a) expérimental, (b) théorique.

Les spectres IR théoriques (figures VI.11 (b) et VI. 112 (b)), montrent presque les mêmes pics qui ce trouve dans les spectres IR expérimentaux (figures VI.11 (a) et VI. 12 (a)).

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Conclusion générale

Dans le présent travail, nous avons synthétisé deux molécules α -aminophosphonates par la réaction de Kabachnik-Fields à partir de trois composés : une amine, aldéhyde et triéthylphosphite en présence d'un catalyseur. Les composés obtenus sont des solides stables.

La spectrophotométrie UV-Vis a permis de différencier et de confirmer l'obtention de nouveaux produits par le déplacement significatif de leurs bandes d'absorption par rapport à celles caractéristiques des produits de départ.

La spectroscopie infrarouge ATR-FTIR indique la disparition des pics caractéristiques des amines primaires et l'apparition de nouveaux pics caractérisant les groupements phosphonates (P=O, P-OH, P-C.).

L'évaluation de l'activité antioxydante des molécules synthétisées a été réalisée par trois méthodes : DPPH, test de phosphomolybdate d'ammonium et test de piégeage du peroxyde d'hydrogène.

Les molécules synthétisées possèdent toutes une activité antioxydante modérée.

Pour une meilleure compréhension de l'activité, les paramètres de la chimie quantique ont été calculés en utilisant la méthode DFT. Une bonne corrélation était visible entre les valeurs rapportées expérimentalement et les paramètres de la chimie quantiques calculés.

Les perspectives envisagées au terme de ce travail de thèse peuvent être présentées comme suit:

- ✓ la synthèse des acides α -aminophosphoniques.
- ✓ étude de l'affinité des molécules synthétisées à former des complexes avec les métaux de transition, les lanthanides et les actinides.
- ✓ poursuite de la mise en évidence des activités biologiques et pharmaceutiques des molécules synthétisées.

Références bibliographiques

- [1] Aris S.R.S., Mustafa S., Ahmat N., Jaafar F.M., Ahmad R., Phenolic content and antioxidant activity of fruits of *Ficus deltoidea* var *angustifolia* sp, *Malays. J. Anal. Sci.* 13 (2009) 146–150.
- [2] Miller H.E., Rigelhof F., Marquart L., Prakash A., Kanter M., Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables, *J. Am. Coll. Nutr.* 19 (2000) 312S–319S.
- [3] Hussain H.H., Babic G., Durst T., Wright J.S., Fluerau M., Chichirau A., Chepelev L.L., Development of novel antioxidants: Design, Synthesis, and Reactivity, *J. Org. Chem.* 68 (2003) 7023–7032.
- [4] Zino S., Skeaff M., Williams S., Mann J., Randomised controlled trial of effect of fruit and vegetable consumption on plasma concentrations of lipids and antioxidants, *Brit. Med. J.* 314 (1997) 1787–1791.
- [5] Madsen H.L., Nielsen B.R., Bertelsen G., Skibsted L.H., Screening of antioxidative activity of spices. A comparison between assays based on ESR spin trapping and electrochemical measurement of oxygen consumption, *Food Chem.* 57 (1996) 331–337.
- [6] Halliwell B., Free radicals and antioxidants: A personal view, *Nutr. Rev.* 52 (1994) 253–265.
- [7] Halliwell B., Antioxidants in human health and disease, *Annu. Rev. Nutr.* 16 (1996) 33–50.
- [8] Vani T., Rajani M., Sarkar S., Shishoo C.J., Antioxidant properties of the ayurvedic formulation triphala and its constituents, *Int. J. Pharmacogn.* 35 (1997) 313–317.
- [9] Larson R.A., The antioxidants of higher plants, *Phytochemistry* 27 (1988) 969–978.
- [10] Kleszczyńska H., Sarapuk J., Dziamska A., The physicochemical properties of some new aminophosphonates, *Cell. Mol. Biol. Lett.* 5 (2000) 415–422.
- [11] Kleszczyńska H., Sarapuk J., New aminophosphonates with antioxidative activity, *Cell. Mol. Biol. Lett.* 6 (2001) 83–91.
- [12] Krishna A.B., Reddy M.V.N., Reddy G.C.S., Krishna B.S., Nayak S.K., Reddy C.S., Synthesis, anti-oxidant and anti-bacterial properties of diethyl (4-flouro-3-nitro phenylamino) (substituted phenyl) methyl phosphonates, *Int. J. Appl. Biol. Pharm.* 1 (2010) 873–882.
- [13] Cherkasov R.A., Galkin V.I., The Kabachnik–Fields reaction: synthetic potential and the problem of the mechanism, *Russ. Chem. Revol.* 67 (1998) 857–882.
- [14] [Troev](#) K.D. «Chemistry and Application of H-Phosphonates». Elsevier Science, 19 juillet 2006.
- [15] Menschutkin N, Ueber die Einwirkung des Chloracetyls auf phosphorige Säure, *Ann Chem Pharm.* 133(1865) 317–20.
- [16] Von Baeyer H, Hofmann KA. Acetodiphosphorige Säure. *Beitr Dtsch Chem Ges.* 30(1897) 1973–1978.

- [17] Michaelis A, Becker T., Uber die Constitution der phosphorigen Säure. Ber. 30 (1897) 1003–9.
- [18] Michaelis A, Kaehne R. Ueber das Verhalten der Jodalkyle gegen die sogen. Phosphorigsäureester oder O-Phosphine. Berichte. 31 (1898) 1048–55.
- [19] Arbuzov AE. Reactions of alkyl halides with phosphites. J. Russ. Phys. Chem. Soc. 38 (1906):687.
- [20] Pudovik AN, Zametaeva GA. New Method For The Synthesis Of Phosphonic And Phosphinic Esters And Their Thio Analogs Communication 13. Addition Of O,O-diethyl Hydrogen Phosphorothidite To Ketones And Aldehydes. Russian Chemical Bulletin 1 (1952) 825–30.
- Abramov VS. 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.
- [21] Kabachnik MI, Medved TY. Новый метод синтеза α -аминофосфиновых кислот. Dokl Akad Nauk SSSR. 83(1952) 689 -92.
- Fields EK. The Synthesis of Esters of Substituted Amino Phosphonic Acids. J. Am. Chem. Soc. 74(1952) 1528–31.
- [22] Horiguchi M, Kandatsu M. Isolation of 2-aminoethane phosphonic acid from rumen protozoa. Nature. 184(1959) 901–2.
- [23] Shimizu H, Kakimoto Y, Nakajima T, Kanazawa A, Sano I. Isolation and Identification of 2-Aminoethyl-phosphonic Acid from Bovine Brain. Nature 207(1965) 1197–8.
- [24] Miceli MV, Henderson TO, Myers TC. 2-Aminoethylphosphonic Acid Metabolism During Embryonic Development of the Planorbid Snail *Helisoma*. Science 209(1980) 1245–7.
- [25] Yao GY, Ye MY, Huang RZ, Li YJ, Pan YM, Xu Q, Liao ZX, Wang HS. Synthesis and antitumor activities of novel rhein α -aminophosphonates conjugates. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 24(2014) 2501–507.
- [26] Engel R, J. L. Cohen, Synthesis of Carbon–Phosphorus Bonds, 2nd ed.; CRC Press: Boca Raton, (2003).
- [27] Mourad Saady, Luc Lebeau, Charles Mioskowski, First Use of Benzyl Phosphites in the Michaelis-Arbuzov Reaction Synthesis of Mono-, Di-, and Triphosphate Analogs, HELVETICA CHIMICA ACTA,78 (1995) 670-678.
- [28] Kieczkowski G.R, Jobson R.B, Mellilo D.G, Reinhold D.F, Grenda V.J.et al., J. Org.Chem., 60, 8310-8312. (1995).
- [29] Thomae G. brevet DE, Synthèse et application de composés gem-bisphosphonates, de puissants complexants de métaux, thèse de doctorat, université Paris XI Orsay Français, 2007.

- [30] Palacios F., Vicario J., Maliszewska A., Aparicio D.. Synthesis of α -Phosphorylated α,β -Unsaturated Imines and Their Selective Reduction to Vinylogous and Saturated α -Aminophosphonates, *J. Org. Chem.* 72(2007) 2682.
- [31] Rezaei Z., Khabnadideh S., Zomorodian K., Pakshir K., Nadali S., Mohtashami N., Mizraei E.F., Design, synthesis, and antifungal activity of new α -aminophosphonates, *International journal of medicinal chemistry* 2011 (2011) 1-11.
- [32] Cherkasov R.A.; Galkin V.I., The Kabachnik–Fields reaction: synthetic potential and the problem of the mechanism. *Russ. Chem. Rev.*, 67(1998)857–882.
- [33] Galkin V.I., Zvereva E.R., Sobanov A.A., Galkina I.V., Cherkasov R.A., Kinetics and mechanism of Kabachnik–Fields reaction in dialkylphosphite-benzaldehyde-aniline system. *Zhur. Obsch. Khim*, 63(1993)2224–2227.
- [34] Zefirov N.S.; Matveeva E.D., Catalytic Kabachnik-Fields reaction: New horizons for old reaction. *Arkivoc*, (2008)1–17.
- [35] Gancarz R., Nucleophilic addition to carbonyl compounds. competition between hard (amine) and soft (phosphite) nucleophile. *Tetrahedron*, 51(1995)10627–10632.
- [36] Gancarz R.; Gancarz I., Failure of aminophosphonate synthesis due to facile hydroxyphosphonate-phosphate rearrangement. *Tetrahedron Lett*, 34(1993)145–148.
- [37] Meenen E.V., Moonen K., Straightforward continuous synthesis of α -aminophosphonates under microreactor conditions, Acke D., Stevens C.V., *Arkivoc*, 1 (2006) 31-45,.
- [38] Moedritzer K., Irani R.R., The direct synthesis of α -amino methylphosphonic acids. Mannich-type reactions with orthophosphorous acid, *J. Org. Chem.*, 31 (1966) 1603.
- [39] Zefirov N. S., Matveeva E. D., Catalytic Kabachnik—Fields Reaction: New Horizons for Old Reaction *ARKIVOC*, i (2008) 1-17.
- [40] Troev K.D. «Chemistry and Application of H-Phosphonates ». Elsevier Science, 19 juillet 2006.
- [41] Schwarzenbach G., Biedermann W., Bangerter F., *Helv. Chim. Acta*, 49, 811 (1946).
- [42] Freedman L.D, Doak G.O, The Preparation and Properties of phosphonic acids, *Chem. Rev.*, 57 (1957) 479–523.
- [43] Pudovik A.N., Konovalova I.V.A., Addition reactions of esters of phosphorus (III) acids with unsaturated systems. *Synthesis*, 2 (1979)81–96.
- [44] HuanShen G., Hee Hong J. et al. , Synthesis of nucleoside phosphonate analogs having phosphonodifluoromethylene moieties and their biological activities, *Journal of Fluorine Chemistry* 224, 1–34, (2019).

- [45] Serim S., Baer, P., Verhelst, S. H. L, Mixed Alkyl Aryl Phosphonate Esters as Quenched Fluorescent Activity-based Probes for Serine Proteases. *Org. Biomol. Chem*, 13(2015) 2293–2299.
- [46] John Wiley, A Clearfield - Progress in inorganic chemistry, 1998.
- [47] Gratz AJ, Hillner PE. Poisoning of calcite growth viewed in the atomic force microscope (AFM). *J Cryst Growth*, 129 (1993)789–93.
- [48] Paquette L. A., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, Wiley, New York, 8 (1995) 1736–1737.
- [49] Friedfeld, S.J., He, S., and Tomson, M.B, The Temperature and Ionic Strength Dependence of the Solubility Product Constant of Ferrous Phosphonate, *Langmuir* 14 (1998) 3698-3703.
- [50] Kim K.S., Hurh E.Y., Youn J.N., Park J.I.J., *Org. Chem* 1999, 121, 4555.
- [51] Steber J., Wierich P., Properties of aminotris(methylenephosphonate) affecting its environmental fate: Degradability, sludge adsorption, mobility in soils and bioconcentration. *Chemo-sphere* 16(1987)1323.
- [52] Kukhar V.P., Hudson H.P., *Amonophosphonic and Aminophosphinic Acids: Chemistry and Biological Activity* ;Kukhar, V. P., Ed.; Wiley: New York, 2000.
- [53] Rapp C.; Jung G.; Kulger M., and Loeffler W., Rhizotocins — new phosphono oligopeptides with antifungal activity. *Liebigs Ann Chem.*,7 (1988).655-661.
- [54] Maier L., *organic phosphorus compounds* 91.¹ synthesis and properties of 1-amino-2-arylethylphosphonic and-phosphinic acids as well as -phosphine oxides, *Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements* 53 (1990) 43-67.
- [55] Petra D. and Martin D.E., , Acyclic nucleoside bisphosphonates: Synthesis and properties of chiral 2-amino-4,6 bis[(phosphonomethoxy)alkoxy]pyrimidines, *Med J. Chem.*44 (2009) 2408.
- [56] Emsley J., Hall D., *The chemistry of phosphorus*, Harper and Row, Wiley, New York, 1976.
- [57] Karanov E., Trendafilova D., Georgieva M., Aleksieva V., Vasileva V., K. Troev. *Dokl. Bulg. Akad. Nauk* .1991, 44, 11.
- [58] Sandrine Oberte , Florence Menard-szczebara, Alain Vidal, La sécurisation légionelle des tours aérorefrigerants humide, Anjou recherche Holcim granulats -58000 Nevers-Saint-Eloi.
- [59] M. Bertrand, Contribution à l'évaluation du risque écotoxicologique et toxicologique des résidues de production d'eau potable, mémoire de fin d'étude formation des ingénieurs de génie sanitaire, Paris 2006.
- [60] Cheesman K., Slater H. An introduction to free radicals biochemistry. *British Medical Bulletin*. 49(1993) 481-493.

- [61] Mac Laren D. Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. 8. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier (2007).
- [62] Chen, L.; Hu, J.Y.; Wang, S.Q. The role of antioxidants in photoprotection: A critical review. *J. Am. Acad. Dermatol.* 67 (2012) 1013–1024
- [63] Krishna A.B., Reddy M.V.N., Reddy G.C.S., Krishna B.S., Nayak S.K., Reddy C.S., *IJABPT*, 1 (2010)873-882.
- [64] Favier A., Le stress oxydant, *L'actualité Chimique*. 108 (2003).
- [65] Litescu S.C., Eremia S.A., Diaconu M., Tache A., Radu G.-L., Biosensors applications on assessment of reactive oxygen species and antioxidants, *Environmental Biosensors* (2011) 95.
- [66] Bartosz, G., Generation of Reactive Oxygen Species in Biological Systems, *Comments on Toxicology*, 9(2003)5-21.
- [67] Haleng J, Pincemail J, Defraigne J O, Charlier C, Chapelle J P. Oxidative stress, *Revue médicale de Liège*, 62 (2007)628-638.
- [68] Laguerre M, López-Giraldo L J, Lecomte J, Pina M et Villeneuve P. Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 14 (2007) 278-292.
- [69] Knop A., Scheib W., *Chemistry and application of phenolic resins*, Berlin ; New York : Springer-Verlag (1979).
- [70] Hercberg S., Preziosi P., Briancon S., Galan P., Triol I., Malvy D., Roussel A-M., Favier A., A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population: the SU.VI.MAX study-design, methods, and participant characteristics. *Supplémentassions en Vitamines et Minéraux Antioxydants. Control Clin Trials*, 19 (1998) 336-51.
- [71] Elise Portes, «Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes: Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle». Thèse de docteur Spécialité: chimie organique, université bordeaux, 2008.
- [72] Cuvelier M E, Maillard M N, Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids, Qualité - sécurité alimentaire*, 19(2012), 125-132.
- [73] Galano A. Free radicals induced oxidative stress at a molecular level: the current status, challenges and perspectives of computational chemistry based protocols. *Journal of the mexican chemical society*, 59 (2015), 231-262.
- [74] Pisoschi A. M, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97(2015) 55-74.
- [75] Mesplède J., Randon J., *100 manipulations de chimie générale et analytique*, Editions Bréal 2004.

- [76] Jensen W.B., The Oesper Collections In The History Of Chemistry, Papers Of The American Chemical Society, (2002).
- [77] Benard A.S., Clède S., Emond M., Monin-Soyer H., Quérard J., Techniques expérimentales en chimie, Dunod (2014).
- [78] Randerath K., « Chromatographie sur couches minces ». Gauthier-Villars, Paris, 1971.
- [79] Smain H, Méthode d'Analyse Spectroscopiques en Chimie Organique UV-Visible, IR, RMN Spectroscopie de masse, 2017
- [80] Chavanne M., Jullien A., Flamand E., Chimie organique expérimentale. Beaudoi, 2^{ème} edit, 1998.
- [81] Silverstein R.M., Basler G.C., Morill T.C., Identification spectrométrique de composés organique, Paris Bruxelles, 1998.
- [82] Willard H. H., Merritt L. L. Jr., Dean J. A., Settle F. A. Jr., Instrumental Methods of Analysis, Wadworth Publishing Co., New York, 1981.
- [83] Browning D. R., Methodes spectroscopiques, Masson, Paris, (1975).
- [84] Françoise M., Andre D., Laurence D.B. , Carine F., Michel B., Pierre F., Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments, Medecine Sciences 20 (2004) 387-490.
- [85] Salazar R., Pozos M.E., Cordero P., Perez J., Salinas M.C., Waksman N., Determination of the antioxidant activity of plants from northeast Mexico, Pharm. Biol. 46 (2008) 166–170.
- [86] Georgieva S., Boyadzhiev L., Angelov G., Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant, Revue de génie industriel. 5 (2010) 124-132.
- [87] Yingkum Q., Yingjie C., Yupin P., Hisashi M., Masayuki Y., Constituents with radical scavenging effect from *Opuntia dillenii*: Structures of new co-pyrone and Flavonol glycoside, Chem. Pharm. Bull. 50 (2002) 1507-1510.
- [88] Molyneux P., The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, Technol J. Sci. 26 (2004) 211-219.
- [89] Portes E., Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes: Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle. Thèse de doctorat en chimie organique, Université Bordeaux, 2008.
- [90] Prieto P, Pineda M, Aguilar M, Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E, Anal. Biochem, 2 (1999) 337-41.
- [91] Debanjan Mukhopadhyay, Pinakpani Dasgupta, Debalina Sinha Roy, Shauroseni Palchoudhuri, Ipsita Chatterjee, Shahnaz Ali, Sujata Ghosh Dastidar, A Sensitive In vitro

Spectrophotometric Hydrogen Peroxide Scavenging Assay using 1,10-Phenanthroline, Free Radicals and Antioxidants,6(2016) 121-131.

[92] Kohn W., Sham L.J., Phys. Rev .140 1133(1965)

[93] Richard M. Martin, Electronic Structure: Basic Theory and Practical Methods, Cambridge University Press, 2005.

[94] Fan L., Ziegler T.; McGrady J. E., Lovell T., R. Stranger, M. G. J. Chem. Phys., 4004, 94, 6057, 1991-1997.

[95] Siegbahn P. E. M., The performance of hybrid DFT for mechanisms involving transition metal complexes in enzymes, Biol J.. Inorg. Chem., 11, 695, 2006.

[96] Noodleman L. and Han W.-G., Structure, redox, pK_a , spin. A golden tetrad for understanding metalloenzyme energetics and reaction pathways, Biol J.. Inorg. Chem., 11, 674, 2006.

[97] Klamt A. and Schüürmann G., COSMO: a new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient, J. Chem. Soc. Perkin. Trans., 2, 799, 1993.

[98] H.R. Allcock, Rational Design and Synthesis of New Polymeric Material, Science, 225, 1106. 1992.

[99] Aggarwal K., Khurana J.M., X-ray diffraction, spectroscopic characterization and quantum chemical calculations by DFT and HF of novel 2-hydroxy-12-(4-hydroxyphenyl)-9,9-dimethyl-9,10-dihydro-8H-benzo[a]xanthen-11(12H)-one, Journal of Molecular Structure, 1079, 21, 2015.

[100] Rabilloud F., Etude théorique et expérimentale des agrégats de bromure d'argent, thèse de doctorat, université de Paul Sabatier Toulouse III, 2000.

[101] Trouillas P., Modélisation Moléculaire et biologie, université de limoges, UNSPF /07-10-2009.

[102] Metavan Faassen KieronBurke , A new challenge for time-dependent density functional theory, Chemical Physics Letters 431, 410, 2006.

[103] K. Kirubavathi, K. Selvaraju, S. Kumararaman, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 71 (2008) 1-4.

[104] G. Madhurambal, B. Ravindran, M. Mariappan, S.C. Mojumdar, Thermal, UV and FTIR spectral studies in alkali metal cinnamates, J. Therm. Anal., 100 (2010) 811-815.

[105] Georgieva S., Boyadzhiev L., Angelov G., Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. Revue de génie industriel. 5(2010)124-132.

- [106] D. Prakash, S. Suri, G. Upadhyay, B.N. Singh, Total phenol, antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 58 (2007) 18–28.
- [107] K. Le, F. Chiu, K. Ng, Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii* *Food Chem*. 105 (2007) 353-363.
- [108] YP. Zou, YH. Lu, DZ. Wei, Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. *J. Agric. Food Chem*. 52 (2004) 5032-5039.
- [109] L.X. Xiao, K. Li, D.Q. Shi, Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 183 (2008)3156–3165,
- [110] C. Fest, K.J. Schmidt, *The Chemistry of Organophosphorus Pesticides*, vol. 12, *Springer*, (1982).
- [111] J. Bird, R.C. De Mello, G.P. Harper, D.J. Hunter, E.H.Karran, R.E.Markwell, A.J.Miles-Williams, S.S. Rahman, R.W. Ward, Synthesis of novel *N*-phosphonoalkyl dipeptide inhibitors of human collagenase. *J. Med. Chem*. 37 (1994)158–169.
- [112] Obi-Egbedi NO, Obot IB, El-Khaiary MI, Umoren SA, Ebenso EE. Computational simulation and statistical analysis on the relationship between corrosion inhibition efficiency and molecular structure of some phenanthroline derivatives on mild steel surface. *Int J Electrochem Sci* 6 (2011)5649–75.
- [113] A.P. Kaplan, P.A. Bartlett, *Biochemistry*, 30 (1991)8165.

ABSTRACT:

This work target the synthesis of α -aminophosphonic derivatives of 2-aminothiophenol, in the first step. All products obtained were characterized by chromatographic and spectroscopies methods.

In the second stage we have subjected the compounds prepared to study biological application via evaluation of their antioxidant activities by DPPH method, phosphomolybdate d'ammonium and H_2O_2 scavenging activity.

The obtained results have been confirmed by calculations of quantum chemistry (DFT).

Keywords: *Synthesis; α -aminophosphonates; antioxidant; DFT.*

RESUME:

Ce travail vise en première étape la synthèse de deux esters α -aminophosphoniques dérivés de 2-Aminothiophénol. L'ensemble de produits obtenus a été caractérisé par les méthodes chromatographiques et spectroscopiques.

Dans la deuxième étape on a soumis les composés préparés à une étude d'application biologique via l'évaluation de leurs activités antioxydantes par les méthodes DPPH, test de phosphomolybdate d'ammonium et test de piégeage du peroxyde d'hydrogène.

Les résultats obtenus ont été confirmés par les calculs de la chimie quantique (DFT).

Mots clés: *Synthèse ; α -aminophosphonates ; antioxydant ; DFT.*

ملخص:

يهدف هذا العمل كخطوة أولى في تخليق اثنين من استرات ألفا أمينوفوسفونيك 2-مشتقات أمينوثيوفينول. تتميز مجموعة المنتجات التي تم الحصول عليها بـ الطرق الكروماتوغرافية والطيفية. في الخطوة الثانية خضعت المركبات المحضرة لدراسة للتطبيق البيولوجي من خلال تقييم أنشطتها المضادة للأكسدة بواسطة طرق DPPH واختبار فوسفوموليبدات الأمونيوم واختبار انحباس البيروكسيد هيدروجين.

تم تأكيد النتائج التي تم الحصول عليها من خلال حسابات كيمياء
الكم (DFT).