

République Algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université des frères Mentouri - Constantine 1

Faculté des sciences exactes

Département de chimie

N° d'ordre : 186/OS/2019

Série : 18/CH/2019

THÈSE

Présentée par

Rafik BENSEGUENI

En vue de l'obtention du Doctorat en sciences.

Spécialité : Chimie théorique.

Intitulée :

Étude de l'activité et des propriétés thérapeutiques d'une série de composés organiques azotés : approches expérimentale et théorique.

Soutenue le : 10/12/2019

Devant le jury composé de :

Prof. Douadi KHELIFI	Université des frères Mentouri Constantine1.	Président
Prof. Mustapha BENCHARIF	École normale supérieure de Constantine.	Directeur de thèse
Prof. Med Abdelhafid HAMIDECHI	Université des frères Mentouri Constantine1.	Examinateur
Prof. Wahiba KAABAR	Université des frères Mentouri Constantine1.	Examinatrice
Dr. Widad SOBHI	Université Ferhat Abbas Sétif1.	Examinatrice
Dr. Boualem HARFI	Centre de Recherche en Biotechnologie.	Examinateur

Année Universitaire : 2019/2020

À la mémoire de mon cher papa,

À ma mère,

À mon épouse,

À mes enfants,

À ma sœur et mes frères,

À toute ma famille & à tous mes amis.

﴿عَنْ أَبِي عَبْدِ الرَّحْمَنِ السُّلَمِيِّ عَنْ عَبْدِ اللَّهِ قَالَ،
قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ: إِنَّ اللَّهَ عَزَّ
وَجَلَّ لَمْ يُزَلْ دَاءٌ إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً عِلْمَهُ مَنْ عِلْمَهُ
وَجَهْلَهُ مَنْ جَهْلَهُ﴾

مسند الإمام أحمد

Remerciement

Je remercie Monsieur le professeur *Douadi Khelifi* d'avoir accepté de présider le jury de ma thèse.

Je remercie également Mesdames la professeure *Wahiba Kaabar* et le docteur *Widad Sobhi* ainsi que Messieurs le professeur *Mohammed Abdelhafid Hamidechi* et le docteur *Boualem Harfi* de m'avoir honoré en examinant ce manuscrit et faire partie de mon jury de thèse.

Ma profonde gratitude va au professeur *Mustapha Bencharif* pour son accompagnement autant psychique que scientifique, tout au long de ces années. Ses précieux conseils et son soutien ont rendu possible l'aboutissement de ce travail.

J'exprime ma grande reconnaissance à Monsieur *Chawki Bensouici* ainsi que son équipe, de m'avoir accueilli dans son laboratoire de biochimie au centre de recherche en biotechnologie (CRBt). Je le remercie pour son aide inestimable, sa générosité et son engagement.

Je tiens vivement à remercier mon épouse, le docteur *Bensegueni née Guergouri Mounia*, sans qui ce travail n'aurait pas vu le jour. Je la remercie également pour son soutien inconditionnel, sa patience et son dévouement inestimable.

Un grand Merci à mon frère, le docteur *Mohamed Abdellatif Bensegueni* pour toute l'aide qu'il m'a apportée et pour sa disponibilité inconditionnelle.

Merci à tous les membres de notre laboratoire (LCMC) pour leur sympathie et leur soutien et je citerai surtout *Madjid, Yacine, Ikram, Sonia* et *M^{me} Bencheriet*.

Je remercie aussi Docteur *Noudjoud Hamdouni* du laboratoire de cristallographie du département de physique, qui nous a réalisé l'analyse infrarouge de nos produits.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près, de peu ou de prou à l'accomplissement de cette thèse.

Rafik Bensegueni

Liste des symboles et abréviations

BDE	: « Bond Dissociation Energy » Energie de dissociation d'une liaison.
BHA	: « Butylatedhydroxyanisole » L'hydroxyanisolebutylé.
BHT	: « Butylatedhydroxytoluene » L'hydroxytoluènebutylé.
CUPRAC	: « Cupric reducing antioxidant capacity » Capacité antioxydante par réduction de cuivre.
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.
DFT	: « Density Functional Theory » Théorie de la fonctionnelle de la densité.
ETE	: « Electron transfer enthalpy » Enthalpie du transfert d'électron.
FRAP	: « Ferric reducing-antioxidant power » Pouvoir réducteur du fer.
GEA	: « Gradient Expansion Approximation » Approximation d'expansion du gradient.
GGA	: « Generalized Gradient Approximation » Approximation du gradient généralisé.
GSH	: Forme réduite du glutathion.
GSSG	: Forme oxydée du glutathion.
HAT	: « Hydrogen Atom Transfer » Transfert d'atome d'hydrogène.
HOMO	: « Highest occupied molecular orbital » La plus haute orbitale moléculaire occupée.
IEFPCM	: « The integral equation formalism variant of the polarizable continuum model » la variante du formalisme d'équation intégrale du modèle du continuum polarisable.
IC ₅₀	: « Half maximal inhibitory concentration » Concentration inhibitrice médiane.
IP	: « Ionization Potential » Potentiel d'ionisation.
IR	: Infrarouge.
LDA	: « Locale density approximation » Approximation de la densité locale.
L-DOPA	: L- 3,4-dihydroxyphénylalanine.
LUMO	: « Lowest un-occupied molecular orbital » La plus basse orbitale moléculaire inoccupée.
<i>m</i> GGA	: Approximation méta GGA.
OA	: Orbitale atomique.
PA	: « Proton Affinity » Affinité protonique.

PDB	: « Protein Data Bank » Banque de données sur les protéines.
PDE	: « Proton Dissociation Enthalpy » Enthalpie de dissociation du proton.
RMN ¹ H	: Résonance magnétique nucléaire du proton.
ROS	: « Reactive Oxygen Species » Radicaux libres oxygénés.
RX-H	: Molécule antioxydante.
RX [°]	: Radical neutre.
RX-H ^{o+}	: Radical cationique.
RX ⁻	: Radical anionique.
SET – PT	: « Single Electron Transfer – Proton Transfer » Transfert d'électron suivi d'un transfert de proton.
SOMO	: « Singly occupied molecular orbital » Orbitale moléculaire semi-occupée.
SPLET	: « Sequential Proton Loss Electron Transfer » Perte de proton avec transfert séquentiel d'électron.
$\Delta G_{\text{binding}}$: Énergie libre de liaison du complexe protéine-ligand.

Liste des figures

Figure 1. 1. Structure générale des imines.	4
Figure 1. 2. Structure des différents composés contenant une fonction imine.....	4
Figure 1. 3. Structures de quelques antioxydants non-enzymatiques endogènes.....	9
Figure 1. 4. Formule développée de l' α -tocophérol.....	10
Figure 1. 5. Structure de la vitamine C.	10
Figure 1. 6. Structures de quelques polyphénols.....	11
Figure 1. 7. Représentations conventionnelles des orbitales atomiques de type <i>s</i> , <i>p</i> et <i>d</i>	20
Figure 1. 8. Schéma illustratif de l'amarrage (docking) moléculaire.....	22
Figure 2. 1. Schéma illustrant le principe du test du piégeage du radical stable DPPH ^o	25
Figure 3. 1. Structures chimiques des oximes étudiées.....	31
Figure 3. 2. Les isosurfaces des SOMO des radicaux cationiques (RX-H ^{o+}) des cinq oximes étudiées.....	35
Figure 3. 3. Structures tridimensionnelles des cinq radicaux cationiques d'oximes.....	36
Figure 3. 4. Interactions de la tyrosinase avec: OX4 (A), OX3 (B) et OX1 (C).....	41
Figure 4. 1. Structures chimiques des azométhines (SIC, SIF, SIM et SIT) et des phénylhydrazones (SIP et NIP) étudiées.....	45
Figure 4. 2. Schéma explicatif du mécanisme proposé du piégeage du DPPH par les deux phénylhydrazones (SIP et NIP), montrant l'origine du proton transféré vers le DPPH, pour les deux molécules.....	49
Figure 4. 3. Les isosurfaces des SOMO des radicaux cationiques (RX-H ^{o+}) des six des azométhines et phénylhydrazones étudiées.....	53
Figure 4. 4. Structures tridimensionnelles des radicaux cationiques des six azométhines et phénylhydrazones étudiées.....	54
Figure 4. 5. Distribution de la densité de spin des molécules étudiées, dans un milieu éthanolique (droite) et en phase gazeuse (gauche), niveau UB3LYP/6-311G (d,p).....	55
Figure 5. 1. Structures chimiques des semicarbazones étudiées.....	58
Figure 5. 2. Interactions de la tyrosinase avec: SEM1 (A), SEM2 (B), SEM3 (C) et SEM4 (D).	64
Figure 5. 3. Les isosurfaces des SOMO des radicaux cationiques (RX-H ^{o+}) des quatre semicarbazones étudiées.	64

Liste des tableaux

Tableau 3. 1. Résultats des tests de l'activité antioxydante (activité du piégeage du DPPH, FRAP et CUPRAC) pour les oximes étudiées. Les valeurs correspondantes des standards antioxydants y sont rapportées.	34
Tableau 3. 2. Valeurs des descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) (kJ/mol) calculés dans le solvant (éthanol), pour les oximes testées et les antioxydants standards.	37
Tableau 3. 3. Valeurs des descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) (kJ/mol) calculés sous vide (phase gazeuse), pour les oximes testées et les antioxydants standards.	37
Tableau 3. 4. Effet du solvant sur les descripteurs moléculaires (Δ BDE, Δ IP, Δ PDE, Δ PA et Δ ETE) (kJ/mol), pour les oximes testées.	38
Tableau 3. 5. Les niveaux d'énergie des orbitales HOMO et LUMO (en eV) calculés pour les oximes étudiées.	39
Tableau 3. 6. Valeurs du pourcentage d'inhibition de la tyrosinase (à 200 μ g/mL d'échantillon) et du $\Delta G_{\text{binding}}$ des oximes testées.	39
Tableau 3. 7. Interactions intermoléculaires favorables entre les trois oximes actifs (OX4, OX3 et OX1) et l'enzyme (tyrosinase).	40
Tableau 3. 8. Évaluation des propriétés de « <i>druglikeness</i> » des cinq oximes étudiées par le calculateur de propriétés moléculaires - <i>Molinspiration</i>	42
Tableau 4. 1. Résultats des tests de l'activité antioxydante (activité du piégeage du DPPH, CUPRAC et FRAP) des azométhines et phénylhydrazones étudiées. Les résultats des standards antioxydants correspondants y sont mentionnés.	47
Tableau 4. 2. Valeurs des descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) (kJ/mol) calculés sous vide, pour les azométhines et les phénylhydrazones testées et les standards utilisés.	49
Tableau 4. 3. Valeurs des descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) (kJ/mol) calculés dans l'éthanol, pour les azométhines et les phénylhydrazones testées et les standards utilisés.	50
Tableau 4. 4. Effet du solvant sur les descripteurs moléculaires (Δ BDE, Δ IP, Δ PDE, Δ PA et Δ ETE) (kJ/mol), pour les azométhines et les phénylhydrazones étudiées.	50
Tableau 4. 5. Les valeurs de la BDE et du PA de la liaison N-H (kJ/mol) calculées dans le vide et dans l'éthanol, pour le NIP et le SIP.	51
Tableau 4. 6. Les niveaux d'énergie des orbitales HOMO et LUMO (en eV) calculés pour les azométhines et les phénylhydrazones étudiées.	51

Tableau 4. 7. Évaluation des propriétés de « <i>druglikeness</i> » des azométhines et phénylhydrazones étudiées par le calculateur de propriétés moléculaire - <i>Molinspiration</i>	56
Tableau 5. 1. Résultats des tests de l'activité antioxydante (activité du piégeage du DPPH, FRAP et CUPRAC) réalisés sur la série des semicarbazones. Les valeurs correspondantes des standards antioxydants y sont rapportées.	60
Tableau 5. 2. Valeurs des descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) (kJ/mol) calculées dans le solvant (éthanol), pour les semicarbazones testées et les standards.	61
Tableau 5. 3. Valeurs des descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) (kJ/mol) calculées sous vide (phase gazeuse), pour les semicarbazones testées et les standards.	61
Tableau 5. 4. Effet du solvant sur les descripteurs moléculaires (Δ BDE, Δ IP, Δ PDE, Δ PA et Δ ETE) (kJ/mol), pour les semicarbazones étudiées.	62
Tableau 5. 5. Les valeurs de la BDE et du PA des trois liaisons N-H du SEM1 semicarbazones étudiées (kJ/mol), calculées dans le vide et dans l'éthanol.	62
Tableau 5. 6. Les niveaux d'énergie des orbitales HOMO et LUMO (en eV) calculés pour les semicarbazones étudiées.	62
Tableau 5. 7. Valeurs du pourcentage d'inhibition de la tyrosinase (à 200 μ g/mL d'échantillon) et du $\Delta G_{\text{binding}}$ des semicarbazones testées.	63
Tableau 5. 8. Interactions intermoléculaires favorables entre les quatre semicarbazones et l'enzyme (tyrosinase).	65
Tableau 5. 9. Évaluation des propriétés de « <i>druglikeness</i> » des semicarbazones étudiées par le calculateur de propriétés moléculaires - <i>Molinspiration</i>	66

Table des matières

Remerciement.....	V
Liste des symboles et abréviations	VI
Liste des figures	VIII
Liste des tableaux	IX
Introduction générale.....	1
Chapitre I : Contexte et aperçu bibliographique	4
I.1. Généralités sur les composés azotés étudiés	4
I.2. L'activité antioxydante	5
I.3. Les méthodes de la chimie numérique.....	11
<i>a.</i> La Méthode de Hartree – Fock	13
<i>b.</i> La théorie de la fonctionnelle de densité (DFT)	14
I.4. Activité anti-tyrosinase	22
I.5. Amarrage moléculaire.....	22
Chapitre II : Protocoles expérimentaux et computationnels utilisés	24
II.1. Produits chimiques utilisés	24
II.2. Protocoles expérimentaux	24
<i>a.</i> Le test d'activité du piégeage du DPPH	24
<i>b.</i> Le test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	25
<i>c.</i> Le test du pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP)	25
<i>d.</i> Matériel utilisé dans l'étude expérimentale.....	26
<i>e.</i> Activité anti-tyrosinase	26
II.3. Protocoles computationnels.....	26
<i>a.</i> Modélisation moléculaire et optimisation de la géométrie	26
<i>b.</i> Calcul des descripteurs moléculaires	27
<i>c.</i> Amarrage moléculaire.....	28
<i>d.</i> La règle de cinq de Lipinski.....	29
Chapitre III : Étude de la série des oximes.....	31
III.1. Introduction	31
III.2. Synthèse	32
<i>a.</i> Préparation des oximes	32
<i>b.</i> Préparation de la chalcone précurseuse (la (E) -3- (3,4-éthylènedoxythényl) - 1- (4-méthoxyphényl) prop-2-èn-2-one).....	33

III.3.Évaluation de l'activité antioxydante.....	33
<i>a.</i> Le test d'activité du piégeage du DPPH	33
<i>b.</i> Le test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	33
<i>c.</i> Le test du pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP)	34
III.4.Les calculs DFT.....	34
<i>a.</i> Modélisation moléculaire et optimisation de la géométrie	34
<i>b.</i> Calcul des descripteurs moléculaires	35
III.5.Activité anti-tyrosinase.....	39
III.6.Amarrage moléculaire	39
III.7.La règle de cinq de Lipinski	41
III.8.Conclusion.....	42
Chapitre IV : Étude de la série des azométhines et phénylhydrazones	44
IV.1. Introduction	44
IV.2. Synthèse.....	45
IV.3. Évaluation de l'activité antioxydante.....	46
<i>a.</i> Le test d'activité du piégeage du DPPH	46
<i>b.</i> Le test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	46
<i>c.</i> Le test du pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP)	47
IV.4. Les calculs DFT.....	47
<i>a.</i> Modélisation moléculaire et optimisation de la géométrie	47
<i>b.</i> Calcul des descripteurs moléculaires	48
<i>c.</i> Calcul des orbitales frontières et des densités de spin	51
IV.5. Activité anti-tyrosinase.....	53
IV.6. La règle de cinq de Lipinski	54
IV.7. Conclusion.....	56
Chapitre V : Étude de la série des semicarbazones	58
V.1. Introduction	58
V.2. Synthèse	58
V.3. Évaluation de l'activité antioxydante.....	59
<i>a.</i> Le test d'activité du piégeage du DPPH	59
<i>b.</i> Le test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	60
<i>c.</i> Le test du pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP)	60
V.4. Les calculs DFT.....	60

<i>a.</i>	Modélisation moléculaire et optimisation de la géométrie	60
<i>b.</i>	Calcul des descripteurs moléculaires	61
V.5.	Activité anti-tyrosinase.....	62
V.6.	Amarrage moléculaire	63
V.7.	La règle de cinq de Lipinski	66
V. 8.	Conclusion	66
	Conclusion générale	68
	Références bibliographiques	70
	Annexe (Caractérisation RMN ¹ H et IR des composés synthétisés).....	83
A.1.	Les oximes	83
A. 2.	Les azométhines.....	86
A. 3.	Les phénylhydrazones	87
A. 4.	Les semicarbazones	88
	Publications	
	Summary	
	ملخص	
	Résumé	

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

La recherche de composés antioxydants de plus en plus efficaces, continue à attirer l'intérêt des scientifiques et des acteurs des industries pharmaceutique, parapharmaceutique et alimentaire. En effet, l'existence des radicaux libres dans le corps humain est essentielle pour la défense immunitaire. Cependant, leur excès peut être nocif pour la santé. Le déséquilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en faveur de ces derniers, est appelé stress oxydant (ou stress oxydatif) et il est à l'origine de plusieurs maladies dégénératives. D'où l'apport d'agents antioxydants exogènes, qui peuvent être naturels ou de synthèse, demeurent indispensable.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antioxydante d'une série de molécules organiques azotées synthétisées au sein de notre laboratoire (laboratoire de chimie des matériaux Constantine) selon deux approches, expérimentale et théorique, différentes certes, mais qui se complètent pour donner une meilleure compréhension des mécanismes d'action des agents antioxydants. Ainsi, nous avons réalisé une série de tests expérimentaux sur l'activité antioxydante des composés synthétisés, dans un premier temps. Ensuite, nous avons effectué des calculs de modélisation moléculaire afin d'expliquer les résultats obtenus expérimentalement. L'étude d'une éventuelle activité anti-tyrosinase pour nos différents composés en est aussi abordée par les deux approches. Des calculs d'amarrage moléculaire furent donc sollicités pour explorer les interactions enzyme-ligands possibles.

Les composés organiques azotés englobent une large gamme de produits chimiques, allant des amines aux acides aminés et protéines, qui ont un grand champ d'applications. Citons, à titre d'exemples, les 1,2,3-triazoles qui sont utilisés en tant que colorants, agents inhibiteurs de corrosion, photostabilisants et matériaux photographiques (1), ou les amines aromatiques qui sont utilisées comme intermédiaires dans la fabrication de plastiques, de colorants, de médicaments, d'explosifs, de caoutchouc, de polymères époxydiques, de colorants azoïques, de produits de polyuréthane aromatiques et de pesticides (2), ou encore les bases de Schiff qui sont connues pour avoir des activités antimicrobiennes (3), antifongiques (4), antitumorales (5) et herbicides (6). Les bases de Schiff ont également été utilisées comme ligands pour la complexation des ions métalliques (7 ; 8).

Notre choix s'est porté sur un ensemble de molécules appartenant à quatre familles différentes et qui sont les oximes, les azométhines, les phénylhydrazones et les semicarbazones. Le rôle des groupes N-H dans l'activité antioxydante des composés organiques azotés est peu exploré, comparé à celui des groupes hydroxyles. Dans la présente thèse, ce rôle fut investigué théoriquement afin de proposer le mécanisme de piégeage des radicaux libres le plus favorable thermodynamiquement.

Le présent manuscrit se présente comme suit : Après cette introduction générale, un aperçu bibliographique sur les différents aspects du sujet traité est exposé dans un premier chapitre, mettant en valeur le contexte historique de notre étude, notamment. Le deuxième chapitre est entièrement consacré aux protocoles expérimentaux et computationnels utilisés dans ce travail. Ensuite, nous relatons les détails de synthèses et les résultats des tests expérimentaux et des calculs théoriques pour chaque famille de composés citées plus haut, dans les troisième, quatrième et cinquième chapitres, respectivement. Nous terminons ce manuscrit par une conclusion générale qui illustre les résultats les plus importants, obtenus au cours du présent travail. Enfin est rapportée, une annexe contenant les résultats de la caractérisation par résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^1H) et par infrarouge (IR) de toutes les molécules synthétisées.

Chapitre I

CONTEXTE ET APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Contexte et aperçu bibliographique

I.1. Généralités sur les composés azotés étudiés

Les composés organiques azotés étudiés sont des imines, composés possédant une double liaison carbone-azote dans laquelle l'azote est lié à un groupe organique ou à un atome d'hydrogène. Ces composés sont préparés à partir d'aldéhydes ou de cétones, en remplaçant leur atome d'oxygène par un groupe $-NR$ (Figure 1. 1).

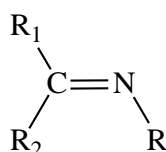


Figure 1. 1. Structure générale des imines.

La nature du radical R détermine le type du composé. Il peut s'agir alors d'oximes, de phénylhydrazones ou de semicarbazones, lorsque R est un groupement hydroxyle, un groupement $-NH$ -phényle ou un groupement $-NH-CO-NH_2$, respectivement (Figure 1. 2). Quand il s'agit d'un autre groupement on parle d'imines tout court (appelées aussi azométhines ou de bases de Schiff).

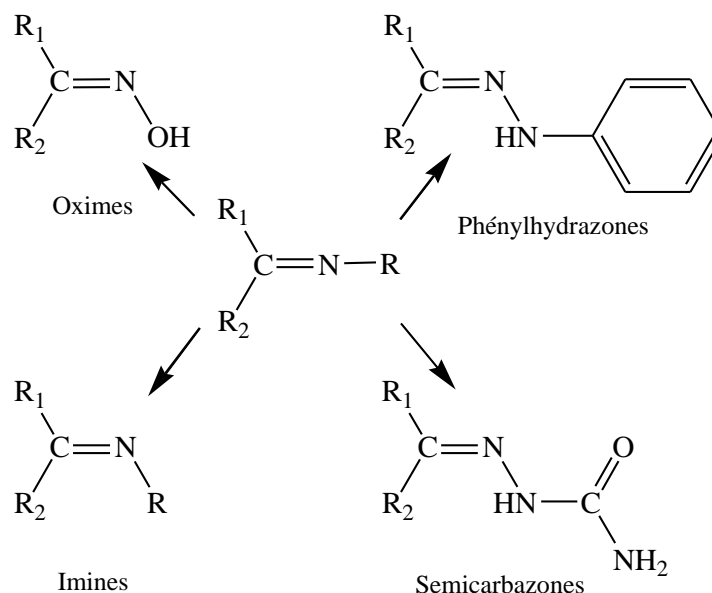


Figure 1. 2. Structure des différents composés contenant une fonction imine.

La facilité de leur préparation ainsi que leurs fortes propriétés chélatrices des métaux, ont fait des azométhines des cibles attrayantes pour le domaine de la chimie médicinale (9). Ces composés présentent une multitude de propriétés pharmacologiques : antibactériennes, antifongiques, antipaludiques, anti-inflammatoires et antivirales (10 - 14). Il a été également découvert que les imines possèdent des propriétés cytotoxiques et une activité antiproliférative vis-à-vis de plusieurs cancers comme l'adénocarcinome colorectal, la leucémie et le cancer du pancréas (15 - 20).

I.2. L'activité antioxydante

a. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés (21 ; 22). Ils sont instables et réagissent rapidement avec les autres molécules, en capturant leurs électrons afin d'acquérir plus de stabilité. Les molécules attaquées deviennent à leur tour des radicaux libres et l'oxydation s'enchaîne (23). Les radicaux libres peuvent être générés par des facteurs externes ou internes à l'organisme (24) ; des facteurs externes comme le tabagisme, l'alcool, certains modes de cuisson (barbecue, micro-ondes), la pollution, le stress, la fatigue, les rayons X (radiographie), l'exposition au soleil, le changement hormonal, et certains médicaments, et des facteurs internes tels que les allergies, les inflammations, les infections et les microlésions tissulaires. Plusieurs espèces radicalaires existent dans la nature, celles dérivant de l'oxygène sont spécifiquement, appelées espèces libres oxygénés (ROS).

b. Le stress oxydatif

Les cellules du corps produisent des radicaux libres au cours des processus métaboliques normaux et produisent également des antioxydants qui neutralisent ces radicaux libres. En général, le corps est capable de maintenir un équilibre entre les radicaux libres et les antioxydants, mais il est possible qu'un déséquilibre se produit entre eux entraînant ainsi ce qu'on appelle un stress oxydatif (25). Le stress oxydatif se produit naturellement et joue un rôle dans le processus de vieillissement, mais un état incontrôlé peut accélérer ce processus et entraîner des dommages aux cellules et aux tissus.

c. Mécanismes d'action des radicaux libres

Les radicaux libres sont normalement produits dans toutes les cellules de l'organisme lors des réactions biochimiques, mais en faible quantité. Pour les contrer, l'organisme fait appel aux enzymes antioxydantes présentes dans nos cellules et en utilise aussi les vitamines E et C, la provitamine A, le sélénium et le zinc. Lorsque ces systèmes de défense sont défectueux, les radicaux libres s'attaquent aux membranes cellulaires modifiant ainsi la structure de leurs acides gras insaturés (lipoperoxydation des membranes cellulaires), agressant les protéines, les microfibrilles de collagène, l'acide hyaluronique, les acides nucléiques des chromosomes et transformant même l'ADN. Tous ces changements entraînent à la fin l'apparition d'anomalies dont le risque de cancérisation.

d. Les conséquences moléculaires du stress oxydatif

Les radicaux libres sont à l'origine des destructions cellulaires. Leurs cibles essentielles sont :

d.1. L'ADN

Des événements cellulaires tels que les mutations de l'ADN ou l'arrêt de ses réplifications peuvent être provoqués par les radicaux libres. En effet, ils causent l'oxydation de bases, ce qui donne naissance à un grand nombre de bases modifiées. Ils déstabilisent aussi la forme géométrique de l'ADN en rompant les liaisons hydrogène entre bases complémentaires (pontage entre bases A-T ou C-G) ou en provoquant des pontages ADN-protéines (26). Ils peuvent aussi s'attaquer aux protéines qui protègent l'ADN (histones) ou qui le lisent (enzymes et facteurs de la réplication ou de la transcription), entraînant des pontages de protéines.

d.2. Les protéines

Les radicaux libres peuvent altérer la structure des protéines en réagissant avec leurs différents acides aminés. Ils sont également responsables de la formation de ponts disulfures qui modifient la conformation des protéines et nuisent à leur activité biologique (22).

d. 3. Les lipides

Les acides gras polyinsaturés des phospholipides membranaires sont la cible privilégiée des radicaux libres. Ces derniers, principalement le radical hydroxyle, arrachent l'hydrogène des carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué. Certains de ces métabolites libérés qui ont un caractère cytotoxique et mutagène, provoquent des lésions secondaires (25).

d. 4. Les glucides

Les Glucides sont eux aussi attaqués par les radicaux libres. Cette attaque génère des réactifs intermédiaires, qui attaquent à leur tour d'autres molécules propageant ainsi un dommage oxydatif.

e. Le stress oxydatif et les maladies

Faisant apparaître des molécules biologiques anormales, le stress oxydant sera à l'origine de plusieurs maladies, comme: le cancer, le diabète, l'athérosclérose, la cataracte, le rhumatisme, les infections intestinales, le syndrome de détresse respiratoire aiguë, l'œdème pulmonaire, l'Alzheimer, le Parkinson et le vieillissement accéléré (Progéria) (27 ; 28).

f. Les antioxydants

On peut aider à protéger le corps contre le stress oxydatif par l'effet neutralisant des antioxydants. En effet, les antioxydants sont des molécules qui inhibent ou éliminent les radicaux libres en les réduisant ou en les dismutant. Ils sont capables d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives (25).

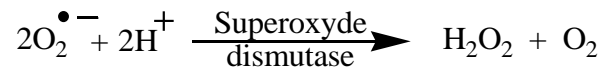
Il existe deux types d'antioxydants:

f. 1. Les antioxydants endogènes

Le système enzymatique antioxydant de l'organisme humain est constitué principalement de trois enzymes: la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (29).

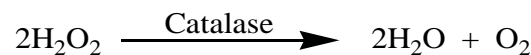
f. 1. 1. La superoxyde dismutase (SOD)

La SOD est une enzyme qui par une réaction de dismutation, élimine l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) et produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Elle existe sous deux formes : la première cytoplasmique avec les ions de cuivre et de zinc comme cofacteurs (CuZnSOD) et la deuxième mitochondriale avec le manganèse comme cofacteur (MnSOD) (22).



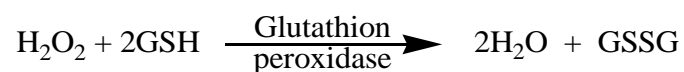
f. 1. 2. La catalase

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) produit par la réaction de dismutation et qui en s'accumulant peut subir une réaction de Fenton (22) grâce à une catalase.



f. 1. 3. La glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase qui constitue l'une des lignes principales de la défense est l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elle est capable non seulement de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultant de l'oxydation du cholestérol ou d'acides gras (30). La réaction suivante représente l'oxydation du glutathion, où GSH et GSSG sont ses formes réduite et oxydée, respectivement.



f. 1. 4. Les antioxydants non-enzymatiques endogènes

Ils existent de nombreux réducteurs non-enzymatiques endogènes, participant à la protection de l'organisme contre les radicaux libres. Les plus importants sont le glutathion, la bilirubine, l'acide urique, le coenzyme Q10, les œstrogènes, la mélanine, la mélatonine et l'acide lipoïque (31).

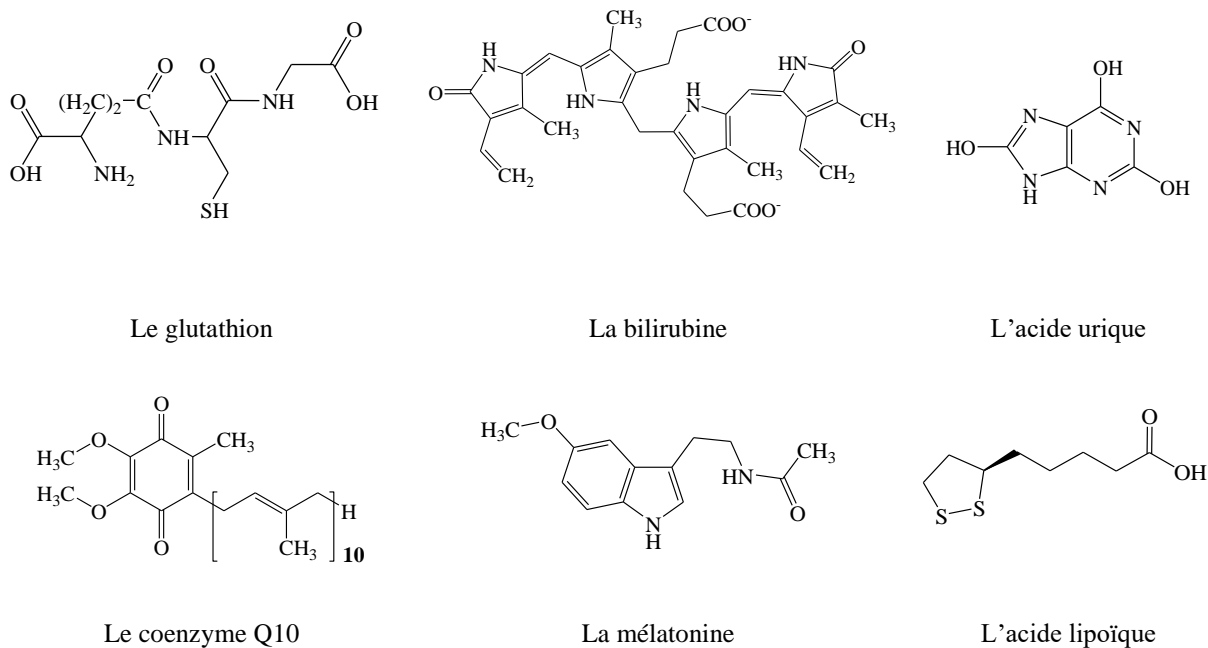


Figure 1. 3. Structures de quelques antioxydants non-enzymatiques endogènes.

f. 1. 5. Les chélateurs de métaux

La liste des ions métalliques potentiellement toxiques qui envahissent nos cellules est déjà conséquente et l'augmentation de leur taux provoque de plus en plus de dysfonctionnements cellulaires. Plusieurs protéines qui circulent dans le sérum peuvent prendre en charge ces métaux, en les chélatant et en les maintenant sous forme inactive (22). Parmi ces chélateurs figure la transferrine, responsable de la chélation du fer.

f. 2. Les antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes sont des molécules provenant de sources externes dont notre alimentation. Les plus connus sont la vitamine E, la vitamine C et les polyphénols.

f. 2. 1. La vitamine E

La vitamine E ou α -tocophérol, est un antioxydant liposoluble, désignant un ensemble de huit molécules organiques, quatre tocophérols et quatre tocotriénols. Elle se localise entre les chaînes d'acides gras des phospholipides qui constituent les membranes et les lipoprotéines. Cette vitamine capte les radicaux peroxydes lipidiques qui propagent les chaînes de peroxydation. Après son action, sa forme oxydée est réduite par des systèmes réducteurs

tel que l'ascorbate, lui permettant ainsi d'assurer son rôle d'antioxydant à plusieurs reprises malgré sa faible concentration dans les cellules (32).

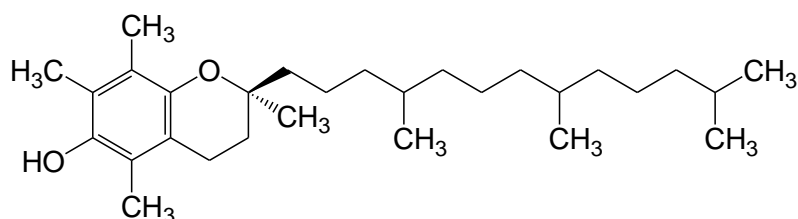


Figure 1. 4. Formule développée de l' α -tocophérol.

f. 2. 2. La vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique, est une vitamine hydrosoluble. L'ascorbate est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés qui réagit avec les radicaux hydroxyles et les radicaux superoxydes. Il assure aussi, la régénération de la vitamine E par réduction spontanée du radical tocophéryl. Il est recyclé en partie, par dismutation du radical ascorbyle (32).

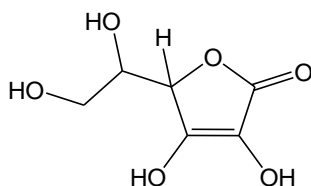


Figure 1. 5. Structure de la vitamine C.

f. 2. 3. Les polyphénols

Les polyphénols sont des molécules hydrosolubles constituées dont la structure contient au moins deux groupements phénoliques et qui sont largement présents dans le règne végétal. En effet, on les trouve dans diverses substances naturelles sous forme d'anthocyanine dans les fruits rouges, de proanthocyanidines dans le chocolat, d'acides caféoylquinique et féruloylquinique dans le café, de flavonoïdes dans les agrumes, de catéchines, comme le gallate d'épigallocatechine, dans le thé vert et sous forme de quercétine dans les pommes, les oignons, etc. Ces composés jouent un rôle très important dans la protection contre les cancers et les maladies cardio-vasculaires.

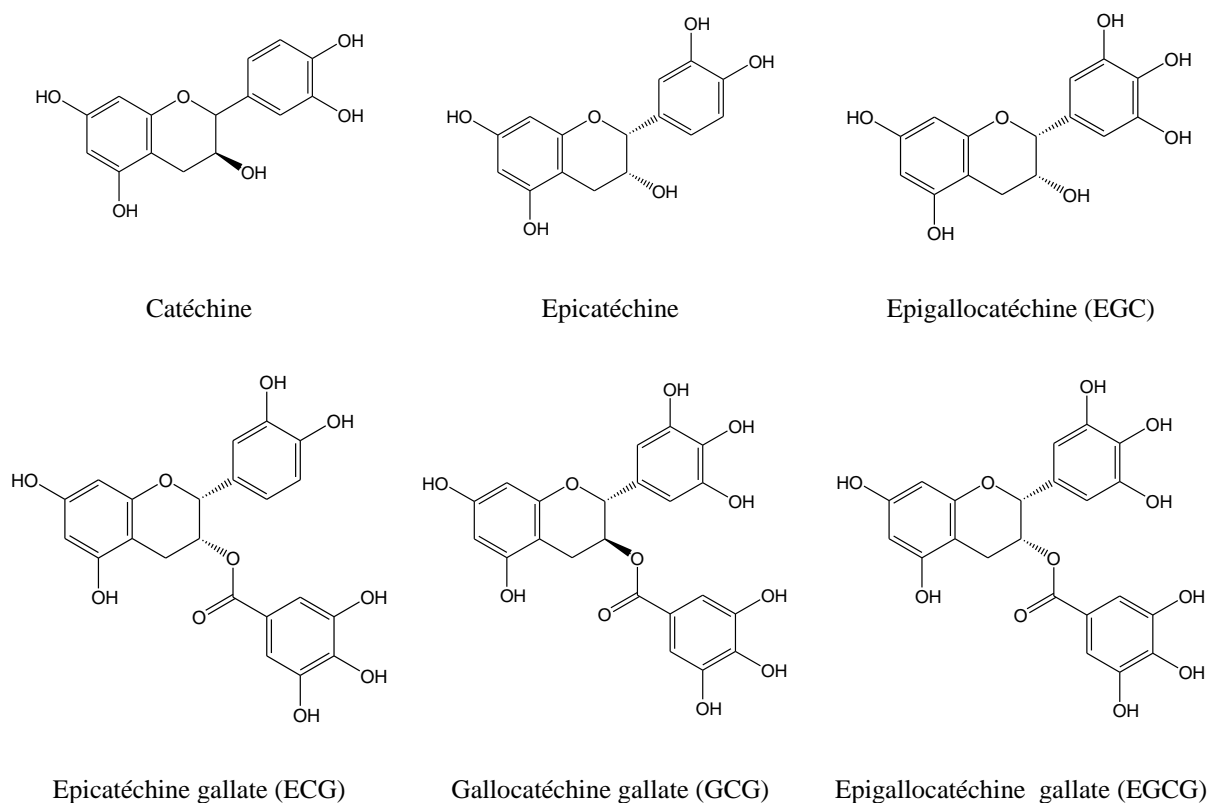


Figure 1. 6. Structures de quelques polyphénols.

I.3. Les méthodes de la chimie numérique

Les méthodes de calcul en chimie numérique (ou computationnelle) sont réparties en deux grandes classes, les méthodes de la mécanique moléculaire (MM) utilisant des champs de force et basées essentiellement sur la mécanique Newtonienne et les méthodes de la mécanique quantique (QM) fondées sur l'équation fondamentale de Schrödinger. Un autre type de méthodes dites mixtes (QM/MM) existe et qui combine entre les deux types de méthodes précédentes. Les méthodes QM ont la faculté d'être plus précises dans le traitement des systèmes chimiques mais elles sont parfois trop coûteuses en termes de temps de calcul et de ressources informatiques qui y sont nécessaires, par rapport aux méthodes MM et notamment quand il s'agit de macromolécules telle que les protéines.

Classée comme étant une méthode QM, ou comme une troisième classe indépendante de méthodes de calcul, la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) fut développée grâce aux contributions de Pierre Hohenberg, Walter Kohn et Lu Sham dans les années 1960 (33).

Avant d'en arriver à la DFT et pour avoir une idée sur le développement des méthodes numériques en chimie et particulièrement celles de la mécanique quantique, nous devons remonter plus d'un siècle dans le temps.

À l'aube du XX^{ème} siècle, une nouvelle discipline scientifique surgit, c'est la mécanique quantique. Elle naquit après une ère très importante dans l'histoire de l'humanité marquée par de nombreuses inventions. À cette époque, tout laissa penser qu'il n'avait plus rien à découvrir, ou presque. Toutefois, il y avait certaines observations expérimentales qui n'avaient pas d'explications par la théorie classique. Ce fut le cas du phénomène du rayonnement du corps noir, un objet idéal qui n'émit et n'absorbe aucune radiation sauf quand il change de température, dont l'explication par la mécanique classique conduisit à un échec, appelé dans l'histoire de la science catastrophe ultraviolette ! C'est là (en 1900) qu'un physicien allemand appelé Max Planck eut l'idée de la quantification (discontinuité ordonnée) du rayonnement émis par un corps noir. Une idée qui ne convainquit personne, y compris Max Planck. Ceci va donner naissance à une nouvelle théorie qu'on baptisa théorie du quanta « *quantum theory* ». Une nouvelle brèche fut donc ouverte devant les curieux scientifiques du moment qui se sont bousculés essayant d'apporter « leur pierre à l'édifice ». Nous citerons entre autres, les noms d'Albert Einstein, Louis de Broglie, Niels Bohr, Arnold Sommerfeld, Werner Heisenberg, etc. Ils commencèrent à interpréter les résultats expérimentaux qui furent équivoques, dans le cadre de cette nouvelle théorie. Ils arrivèrent ensuite à proposer de nouveaux modèles atomiques en se basant sur les modèles classiques de J. J. Thomson et d'Ernest Rutherford. Une nouvelle conception de la matière fut fondée. Une nouvelle vision du monde fut née ! Des explications énigmatiques sont données par les scientifiques de l'époque, mais qui sont en harmonie avec la réalité, forçant ainsi le cerveau humain à les admettre. Des notions dont on était habitués à utiliser furent substituées par d'autres. À l'instar des notions de trajectoire et de position qui sont remplacées par la fonction d'onde ou la probabilité de présence, respectivement. L'effet qu'ont les lois de la mécanique quantique n'est souvent apercevable qu'à l'échelle de l'infiniment petit.

Durant des années, les scientifiques furent entrés dans de nombreuses controverses tournant autour des natures ondulatoire et corpusculaire de la matière et de la lumière. Les hypothèses de Planck et Einstein qui furent confirmées ultérieurement, par l'expérience, décrète une dualité onde-corpuscule pour la lumière. Concernant la matière et après l'annonce du postulat de de Broglie qui considéra que la matière n'est faite que de

paquets d'ondes, donnant parfois l'illusion d'être constituée de particules, Erwin Schrödinger tenta d'en trouver une équation et il réussit à le faire en 1925. Cette équation sera dès lors considérée comme étant l'équation fondamentale de la mécanique quantique. Par analogie, elle est ce que la loi fondamentale de Newton représente pour la mécanique classique. Ainsi, sa résolution permet d'avoir accès aux propriétés intrinsèques du système en question (énergie, fonction d'onde, probabilité de présence...).

L'équation de Schrödinger unidimensionnelle indépendante du temps s'écrit comme suit :

$$\left(-\frac{\hbar^2}{2m} \frac{\partial^2}{\partial x^2} + V(x) \right) \Psi(x) = E \Psi(x) \dots \dots \dots (1.1)$$

Ou sous sa forme réduite :

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \dots \dots \dots (1.2)$$

Où : \hat{H} est l'opérateur Hamiltonien (opérateur propre de l'énergie). E est l'énergie totale du système. Ψ est la fonction d'onde.

Pour un système à n électrons, l'Hamiltonien s'écrit comme suit :

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_{i=1}^n \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^n \frac{Ze^2}{4\pi\epsilon_0 r_i} + \sum_{i=1}^n \sum_{j>i}^n \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \dots \dots \dots (1.3)$$

Ces trois termes représentent l'énergie cinétique des électrons, l'énergie potentielle des électrons et l'énergie de répulsion inter-électronique, respectivement. La résolution de cette équation donne des couples de solutions (énergie, fonctions d'onde). Cependant, le problème qu'elle posa, et continuer à poser, est qu'elle est analytiquement irrésolvable pour les systèmes à plus d'un seul électron, à cause du 3^{ème} terme de l'équation (1.3) présent dans l'opérateur Hamiltonien de ces systèmes, dont les variables monoélectroniques sont inséparables, d'où la nécessité de recourir à des approximations.

a. La Méthode de Hartree – Fock

La Méthode de Hartree – Fock (H-F) est l'une des méthodes d'approximation les plus connues et les plus anciennes. Elle exprime les fonctions d'onde polyélectroniques sous forme

de déterminants de Slater (des combinaisons linéaires qui tiennent compte du principe d'indiscernabilité de Pauli) de spinorbitales (des fonctions d'onde monoélectroniques qui prennent en considération le spin de l'électron). La méthode H-F repose sur un processus itératif, ou champ autocohérent (SCF). Le point de départ étant de considérer une fonction d'onde initiale, appelée fonction d'essai (Ψ^0) et d'en calculer l'énergie moyenne correspondante (E^0). Cette énergie est ensuite minimisée (principe variationnel) et réintroduite dans une équation aux valeurs propres, appelée équation de Fock (1.4), dont l'opérateur (opérateur de Fock (\hat{F})) dépend de la fonction Ψ^0 , pour obtenir une nouvelle fonction d'onde (Ψ^1).

$$\hat{F} \Psi = E^0 \Psi \dots \dots \dots (1.4)$$

En suite, l'énergie moyenne correspondante (E^1) est calculée, puis comparée à E^0 . Si la différence entre E^1 et E^0 est négligeable (généralement, entre 10^{-8} et 10^{-6} Hartree), le calcul s'arrête. Sinon, un autre cycle de calcul est lancé et ainsi de suite (34).

b. La théorie de la fonctionnelle de densité (DFT)

La DFT est actuellement, le choix numéro un en chimie quantique numérique car elle offre la possibilité de résoudre des systèmes multi-échelles avec une bonne précision et un coût de calcul relativement raisonnable (35 ; 36). Le principe de la méthode est d'utiliser la densité électronique totale (ρ) comme variable de l'énergie, transformant ainsi le problème à $3n$ dimensions (où n est le nombre d'électrons) en un simple problème à 3 dimensions. L'énergie est donc fonction d'une autre fonction qui est la densité électronique, d'où le nom de fonctionnelle qui veut dire fonction de fonctions. Cette idée fut évoquée auparavant dans le modèle de L. H. Thomas et E. Fermi (1927) (37) ainsi que dans les travaux de J. C. Slater (1951) (37). Néanmoins, aucune preuve formelle de cette notion n'a été donnée avant la publication du théorème de P. Hohenberg et W. Kohn (1960) (32) qui démontra que l'énergie de l'état fondamental d'un système électronique non dégénéré et les propriétés électroniques correspondantes sont uniquement définies par sa densité électronique (39). En 1965, W. Kohn et L. Sham (40) développèrent un formalisme qui constitue la base de l'application actuelle de la DFT, en introduisant les orbitales atomiques (OA). Ce formalisme fournit un moyen pratique de résoudre le théorème de Hohenberg-Kohn, qui consiste en l'utilisation d'un système fictif à n électrons non interagissant ayant une densité électronique totale égale à celle du système réel.

$$\rho_{fictif}(r) = \rho_0(r) \dots \dots \dots (1.5)$$

L'équation de Schrödinger correspondante est donnée par :

$$\hat{H}^{KS} \Psi_i^{KS}(r) = E_i \Psi_i^{KS}(r) \dots \dots \dots (1.6)$$

$$\text{Avec: } \hat{H}^{KS} = \sum_{i=1}^n \left[-\frac{1}{2} \nabla_i^2 + v_{fictif}(r_i) \right] = \sum_{i=1}^n h_i^{KS} \dots \dots \dots (1.7)$$

L'expression de l'énergie du système réel est la suivante :

$$E[\rho] = T_{fictif}[\rho] + E_H[\rho] + V_{ne}[\rho] + E_{xc}[\rho] \dots \dots \dots (1.8)$$

où: $T_{fictif}[\rho]$ est l'énergie cinétique du système fictif.

$E_H[\rho]$ est l'énergie de l'interaction de coulomb classique entre les électrons du système réel.

$V_{ne}[\rho]$ est l'énergie de l'interaction électrons – noyaux.

$E_{xc}[\rho]$ est l'énergie d'échange – corrélation.

L'équation (1.8) peut être réécrite comme suit :

$$E[\rho] = T_{fictif}[\rho] + V_{eff}(r) \dots \dots \dots (1.9)$$

Comme dans la méthode H-F, la détermination de V_{eff} se fait par un calcul SCF. Ceci commence par choisir une densité électronique initiale ρ_1 qui permet de déterminer la première valeur de $V_{eff(1)}$. Cette valeur est par la suite, introduite dans l'équation (1.6) et les solutions Ψ_i^{KS} ainsi obtenues sont utilisées dans l'équation (1.10) pour calculer les valeurs de ρ_2 et E_2 et les comparer à ρ_1 et E_1 si la différence est négligeable, satisfaisant le critère de convergence fixé au préalable, le processus est arrêté. Sinon, une autre itération est lancée et ainsi de suite.

$$\rho_{K+1}(r) = \sum_{i=1}^n |\Psi_i^{KS}|^2 \dots \dots \dots (1.10)$$

Le plus grand défi de la DFT est la description du terme d'échange-corrélation, les autres termes étant calculables. Ce terme représente la correction de l'énergie cinétique résultant de la nature des électrons en interaction et de toutes les corrections non classiques de l'énergie de répulsion électron-électron. Il peut être subdivisé en deux parties (1.11), une énergie d'échange E_x , associée aux interactions entre électrons d'un même spin, et une énergie de corrélation E_c , représentant surtout les interactions entre électrons de spins opposés.

$$E_{xc}[\rho] = E_x[\rho] + E_c[\rho] \dots \dots \dots (1.11)$$

Pour calculer E_{xc} , nous aurons besoin d'approximations. C'est d'ailleurs la source d'erreur en DFT. Il existe deux types de fonctionnelles pour exprimer E_x et E_c , locales dépendant uniquement de la densité électronique (ρ) et corrigées du gradient qui dépendent à la fois de (ρ) et de son gradient ($\Delta\rho$).

b.1. Approximation de la densité locale (LDA)

La LDA consiste à estimer l'énergie d'échange-corrélation d'un système hétérogène (E_{xc}) en utilisant les résultats d'un gaz homogène d'électrons de densités égales (1.12). Cette approximation est appropriée aux systèmes à densité électronique peu variable dans l'espace.

$$E_{xc}^{LDA}[\rho] = \int \rho(r) \varepsilon_{xc}(\rho(r)) dr \dots \dots \dots (1.12)$$

ε_{xc} étant l'énergie d'échange-corrélation d'un système uniforme en densité électronique. Si l'énergie d'échange pour un gaz homogène d'électrons (ε_x) est connue exactement (1.13) (41), son énergie de corrélation (ε_c) ne peut être exprimée d'une façon précise. Vosko, Wilk et Nussair (VWN) ont donné une approximation de cette énergie (42) en extrapolant les résultats des calculs Monte-Carlo menés par Ceperley et Alder (43) sur le gaz uniforme d'électrons (1.14).

$$\varepsilon_x[\rho] = -\frac{3}{4} \left(\frac{3\rho(r)}{\pi} \right)^{\frac{1}{3}} \dots \dots \dots (1.13)$$

$$\varepsilon_c[\rho] = \frac{A}{2} \left[\ln \frac{x}{X(x)} + \frac{2b}{Q} \tan^{-1} \frac{Q}{2x+b} - \frac{bx_0}{X(x_0)} \left(\ln \frac{(x-x_0)^2}{X(x)} \right) + \frac{2(b+2x_0)}{Q} \tan^{-1} \frac{Q}{2x+b} \right] \dots (1.14)$$

$$\text{avec: } \begin{cases} x = \sqrt{\rho} \\ X(x) = x^2 + bx + c \\ Q = \sqrt{4c - b^2} \end{cases} \quad \begin{cases} A = 0,0621814 \\ x_0 = 0,409286 \\ b = 13,0720 \\ c = 42,7198 \end{cases}$$

Notons que la LDA surestime certaines grandeurs telles que les énergies de liaisons et en sous-estime d'autres, telles que les longueurs de liaisons (44). La LSDA est la variante de cette approximation issue de l'introduction du spin. Elle est utilisée surtout pour les systèmes pour lesquels la densité électronique ne change pas rapidement (45). Mais on lui reproche la surévaluation des énergies de liaisons et la sous-estimation des gaps des semi-conducteurs et des composés isolants (46).

b. 2. Approximation d'expansion du gradient (GEA)

L'énergie d'échange – corrélation dans ce cas s'écrit comme suit :

$$E_{xc}^{GEA}[\rho] = \int \varepsilon_{xc}^{GEA}(\rho(r))\rho(r)dr + \int C_{xc}(\rho(r)) \frac{|\nabla\rho(r)|}{\rho^{4/3}(r)} dr \dots \dots \dots (1.14)$$

La sujétion de cette fonctionnelle aux conditions aux limites principale ($E_x > 0$, $E_c > 0$) a donné naissance à l'approximation du gradient généralisé (GGA). Concernant les fonctionnelles appelées méta-GGA, elles sont issues de l'incorporation du Laplacien de la densité de spin orbitaire $\nabla^2\rho_{i\sigma}(r)$ ou de la densité d'énergie cinétique orbitaire $\tau_{\sigma}(r)$ (47 ; 48) améliorant ainsi les résultats de la GGA.

$$E_{xc}^{mGEA}[\rho] = \int \varepsilon_{xc}[\rho(r), |\nabla\rho(r)|, \nabla^2\rho_{i\sigma}(r), \tau_{\sigma}(r)]\rho(r)dr \dots \dots \dots (1.15)$$

b. 3. Les fonctionnelles hybrides

Proposées par Axel D. Becke en 1993 (49), elles combinent l'échange – corrélation de la GGA conventionnelle avec un pourcentage d'échange de Hartree-Fock. Un certain degré d'empirisme est utilisé pour optimiser le facteur de pondération de chaque composant et les fonctionnelles mélangées. Une façon de le faire est d'adapter ces coefficients aux énergies expérimentales d'atomisation, aux potentiels d'ionisation, aux affinités du proton, aux énergies atomiques totales et à d'autres données, pour un ensemble représentatif de petites molécules. Becke a montré que la fonctionnelle d'échange-corrélation peut être corrigée par une combinaison linéaire d'un système de référence Kohm-Sham purement non-interagissant avec

un système réel totalement interagissant, en proposant une expression (1.16) à trois paramètres empiriques a_0 , a_x et a_c , qu'il désigne par B_3 (50).

$$E_{xc} = E_{xc}^{LDA} + a_0(E_x^{exact} - E_x^{LDA}) + a_x \Delta E_x^{B88} + a_c \Delta E_c^{PW91} \dots \dots \dots (1.16)$$

Où: E_x^{exact} est l'énergie d'échange exacte obtenue par la méthode H – F.

B88 est une fonctionnelle proposée par Becke en 1988 (51).

PW91 est une fonctionnelle proposée par Perdew et Wang en 1991 (52).

Les fonctions hybrides sont devenues très populaire en chimie quantique, elles ont permis une amélioration significative des propriétés moléculaires calculée, par rapport aux GGA. Cependant, en physique des solides, ce type de fonction a eu beaucoup moins de succès en raison des difficultés rencontrées pour calculer la partie à échange exact dans un ensemble de base d'ondes planes.

Parmi les fonctionnelles hybrides les plus connues, nous citerons B3P86, B3PW91, B97-1, B97-2, B98, BH&HLYP, MPW1K, mPW3LYP, O3LYP, X3LYP et B3LYP (53) que nous allons utilisée dans ce travail. Elle est la fonctionnelle la plus populaire, notamment en optimisation de la géométrie des molécules (54). Ses bonnes performances quant aux calculs des énergies de dissociation de liaisons (BDE) ont été bien démontrées (55 ; 56). E_{xc}^{B3LYP} s'exprime da la manière suivante :

$$E_{xc}^{B3LYP} = a_0 E_{xc}^{LDA} + (1 - a_0) E_x^{exact} + a_1 E_x^{B88} + E_c^{LDA} + a_2 (E_c^{LYP} - E_c^{LDA}) \dots \dots \dots (1.17)$$

Où: $a_0 = 0,80$; $a_1 = 0,72$ et $a_2 = 0,81$ (57).

E_c^{LYP} est l'énergie de corrélation GGA.

Il existe un autre type de fonctionnelles appelées hybrides méta-GGA qui se basent sur une approximation m GGA au lieu d'une GGA simple. Elles représentent une amélioration par rapport aux formalismes précédents, en particulier dans la détermination des barrières énergétiques et d'énergies d'atomisation (58).

b. 4. Les bases d'orbitales atomiques

Les fonctions d'ondes Ψ^{KS} (ou orbitales de Kohn et Sham) sont exprimées en fonction d'un ensemble d'OA, sous forme de combinaisons linéaires, appelées bases. Leur choix relève d'une grande importance pour la qualité d'un calcul de DFT. En général, elle augmente en élargissant la base des OA. Les orbitales atomiques les plus utilisées sont de type Slater (STO) (59) ou de type Gaussienne (GTO) (60).

L'expression générale des STO s'écrit comme suit :

$$\chi^{STO}(r, \theta, \varphi) = NY_{l,m}(\theta, \varphi)r^{n-1}e^{-\xi r} \dots \dots \dots (1.18)$$

Où : N : facteur de normalisation ($N = (2\xi)^{n+1/2} [(2n)!]^{-1/2}$).

n, l et m : nombres quantiques.

ξ : exposant de Slater déterminant la taille de l'orbitale,

$Y_{l,m}$: harmoniques sphériques constituant la partie angulaire de la fonction.

Quant au GTO, une forme a été proposée par Boys (61) et s'exprime de la manière suivante :

$$g(\alpha, \vec{r}) = Cx^n y^l z^m \exp(-\alpha r^2) \dots \dots \dots (1.19)$$

Où : α : Constante déterminant la taille de l'orbitale.

n, l et m : nombres quantiques dont la somme ($\Sigma = n+l+m$) définit le type de l'OA.

Nous avons ainsi des OA de type s, p ou d (Figure 1. 7) si $\Sigma = 0, 1$ ou 2 , respectivement.

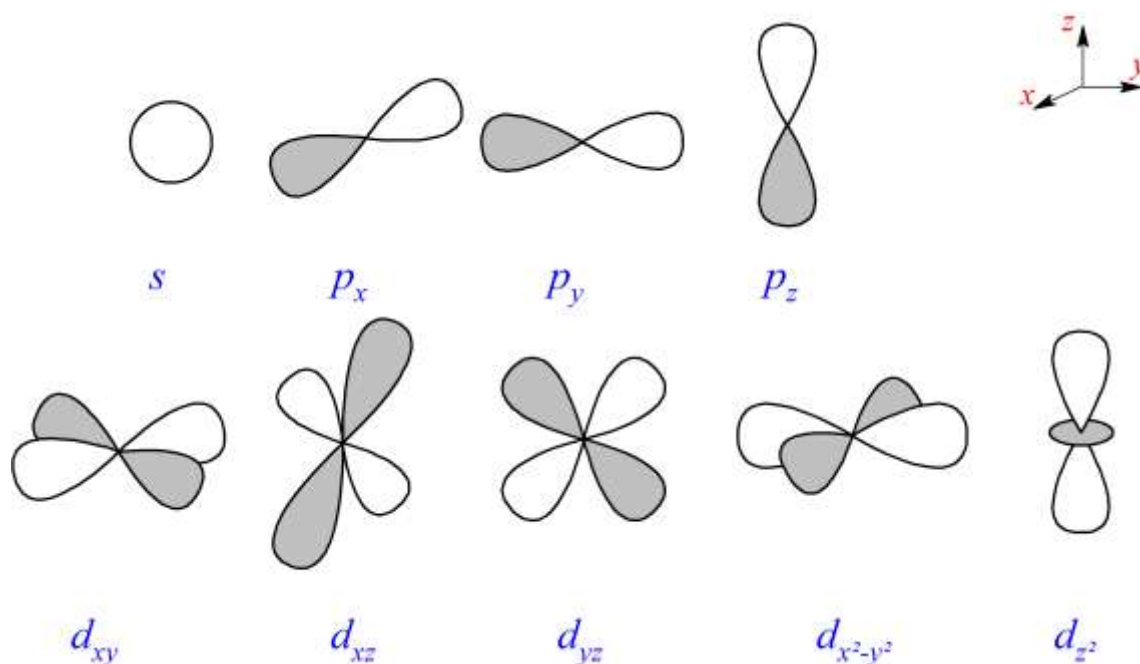


Figure 1. 7. Représentations conventionnelles des orbitales atomiques de type s , p et d .

L'avantage des STO est qu'elles ont la même forme des fonctions propres de l'atome d'hydrogène. Cependant et malgré la simplicité de leur expression analytique, les STO ne sont plus trop utilisées par les programmes de chimie numérique car elles nécessitent la résolution d'intégrales à multi-centres très complexes, pesant ainsi sur le coût du calcul (temps et ressources matériels). Tandis que les GTO sont largement utilisées à cause d'une propriété du produit des fonctions de ce type qui donne aussi une gaussienne. Ceci facilite d'une façon remarquable, les calculs d'intégrales à multi-centres. Leur inconvénient est qu'elles représentent mal les OA.

Afin d'avoir une certaine précision pour le calcul avec un coût moindre, il est commode d'exprimer les STO en combinaison linéaire de GTO, qui représentent mieux les propriétés nodales des OA. La plus simple base combinée est STO-nG, appelée base minimale. Ceci signifie que les STO sont exprimées en n gaussiennes primitives (PGTO). Ces bases combinées présentent des problèmes au voisinage du noyau. Pour cela, des bases gaussiennes étendues ont été élaborées et qui sont constituées de plusieurs fonctions gaussiennes contractées (CGTO). Ces dernières sont des combinaisons linéaires de PGTO et s'écrivent comme suit :

$$G^{CGTO} = \sum_{\lambda=1}^k d_{\lambda} g_{\lambda} PGTO \dots \dots \dots (1.20)$$

Où : d_{λ} : coefficient de contraction de la gaussienne primitive g_{λ} .

k : degré de contraction.

Nous obtenons alors une base simple zêta (SZ), double zêta (DZ) ou triple zêta (TZ), lorsque k est égal à 1, 2 ou 3, respectivement.

Les fonctions de polarisations, sont surtout utilisées pour l'étude des propriétés magnétiques, optiques, et peuvent aussi être ajoutées pour accroître la qualité des résultats. Elles serviront à décrire la forme du nuage électronique par rapport à la symétrie sphérique de l'atome.

Les bases introduites par Pople et coll. (62 ; 63) sont notées n -ijG pour les bases DZ et n -ijkG pour les bases TZ. Avec n PGTO pour les orbitales internes alors que i , j et k sont les nombres de PGTO pour les orbitales de valence. Une fonction de polarisation ajoutée aux atomes légers (H et He) est notée : n -ijkG** (ou n -ijkG(d,p)). Elle augmente la flexibilité de la base, permettant ainsi aux orbitales moléculaires d'être plus asymétriques par rapport aux noyaux. Ceci est important pour une description précise de la liaison entre atomes, car la présence de l'autre atome déforme l'environnement de ses électrons. L'association de signes plus (+ ou ++) à la notation d'une base signifie que des fonctions gaussiennes diffuses sont ajoutées (aux atomes lourds uniquement ou aux atomes légers également). Ceci augmentera la représentativité de la base dans sa partie éloignée du noyau. Cette propriété peut être importante dans le cas des anions ou de grosses molécules.

La base d'OA utilisée dans cette thèse est 6-311G(d,p) qui est une base de Pople triple zêta. Cette notation exprime l'utilisation de six PGTO pour représenter les OA internes (de cœur), trois PGTO pour représenter la première STO, une pour la deuxième STO et une autre pour la troisième STO. Des fonctions de polarisation (de type d pour les atomes lourds et de type p pour les atomes légers) y sont aussi rajoutées. L'utilisation de cette base dans le calcul des enthalpies de formations des molécules organiques contenant des éléments de la première et deuxième période du tableau périodique, donne un bon accord avec les résultats expérimentaux (64).

I.4. Activité anti-tyrosinase

La mélanine est une macromolécule qui joue un rôle important dans la protection de la peau humaine et sa biosynthèse en est indispensable. Sa couleur contribue à la pigmentation de la peau. La tyrosinase est une enzyme impliquée dans la première étape de la biosynthèse de la mélanine. Elle catalyse la transformation de la tyrosine en l-dopaquinone (65 ; 66). C'est une enzyme oxydoréductase à trois atomes de cuivre (EC 1.14.18.1) présente dans différents organismes, allant des bactéries aux animaux (67). Les inhibiteurs de la tyrosinase, tels que les dérivés d'acide kojique, sont couramment utilisés dans l'industrie cosmétique contre les maladies de la peau (68).

I.5. Amarrage moléculaire

L'amarrage moléculaire (ou Docking moléculaire) est un type de calcul de la modélisation moléculaire dans lequel l'affinité d'une molécule appelée ligand, le plus souvent un candidat-médicament, par rapport au site actif d'une protéine cible est évaluée (figure 1. 8). Cette affinité est estimée à travers la valeur de l'énergie libre de liaison ($\Delta G_{\text{binding}}$) appelé score et donnée par l'équation suivante : $\Delta G_{\text{binding}} = G_{\text{complexe}} - (G_{\text{cible}} + G_{\text{ligand}})$. Plus elle est faible, plus le complexe protéine-ligand est stable.

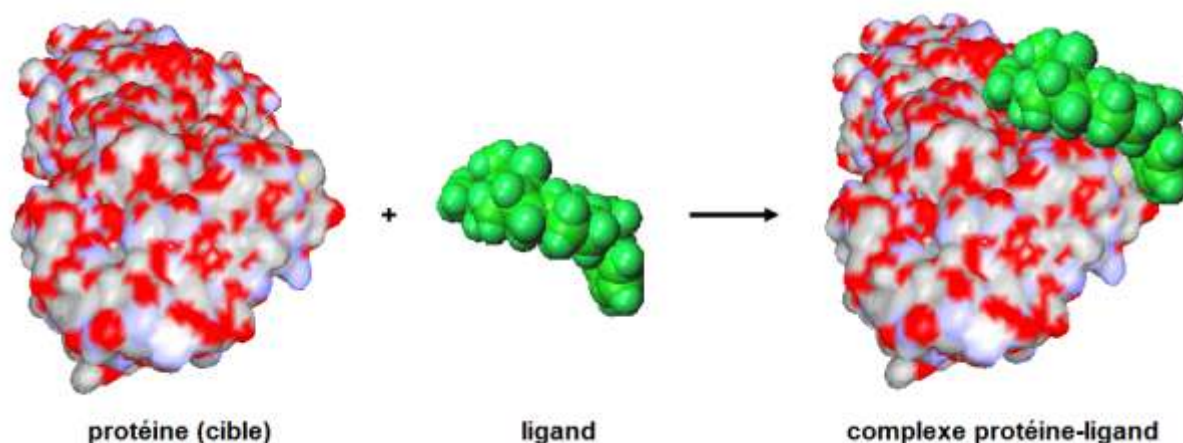


Figure 1. 8. Schéma illustratif de l'amarrage (docking) moléculaire.

Selon la flexibilité de la cible et/ou du ligand, on distingue trois types d'amarrage moléculaire à savoir, flexible, semi-flexible et rigide. Il existe plusieurs logiciels offrant ce type de calcul (Autodock Vina, FlexX, GOLD, Arguslab, Hex, GRID...) chacun utilisant une fonction de score pour calculer $\Delta G_{\text{binding}}$.

Chapitre II

**PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX ET COMPUTATIONNELS
UTILISÉS**

Chapitre II : Protocoles expérimentaux et computationnels utilisés

II.1. Produits chimiques utilisés

Pour les synthèses : Le salicylaldéhyde, le 2-hydroxy-1-naphtalaldéhyde, le 2-1H-indole-3-carbaldéhyde, 3,4-éthylènedioxythiophène-2-carbaldéhyde, la benzaldéhyde, le 4-fluorobenzaldéhyde, le 4-méthoxyacétophénone, le 3-amino-9-éthylcarbazole, le 2-aminobenzimidazole, le 2-aminobenzothiazole, le chlorhydrate d'hydroxylamine, le chlorhydrate de phénylhydrazine, chlorhydrate de semicarbazide, l'acétate de sodium, l'acide acétique, la pyridine et l'éthanol sont des produits Sigma-Aldrich. Le thiophénecarbaldéhyde, le 2-aminofluorène et l'hydroxyde de sodium sont des produits FLUKA.

Pour les tests d'antioxydants: 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH), hydroxyanisole butyle (BHA), hydroxytoluène butyle (BHT), néocuproïne, acide trichloroacétique (TCA), ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$), tyrosinase de mushroom (EC 1.14.18.1, ≥ 1000 unités/mg de solide), L-DOPA (3,4-Dihydroxy-L-phénylalanine), acide kojique ont été obtenus auprès de Sigma Chemical Co. (Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Allemagne), le chlorure de fer (III) ($FeCl_3$), le chlorure de cuivre (II) ($CuCl_2$), l'acétate d'ammonium ($ACNH_4$) ont été obtenus auprès de Biochem Chemopharma. Tous les autres produits chimiques et solvants étaient de qualité analytique.

II.2. Protocoles expérimentaux

a. Le test d'activité du piégeage du DPPH

L'activité de piégeage du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) a été déterminée selon la méthode de Blois (69). Ce radical est caractérisé par deux couleurs violette et jaune correspondant à sa forme oxydée et réduite, respectivement. Le protocole consiste à préparer 40 μ l de chaque échantillon dans de l'éthanol à différentes concentrations et l'ajouter à 160 μ l d'une solution éthanolique de DPPH (0,1 mM). Le mélange est ensuite laissé dans l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 517 nm en utilisant un lecteur de microplaques. L'hydroxytoluène butylé (BHT) et l'hydroxyanisole butylé (BHA) ont été utilisés comme standards antioxydants, dans cette étude. Les résultats sont donnés en valeurs d' IC_{50} (μ g/ml) correspondant à la concentration de l'échantillon capable de piéger

50% de la concentration initiale du DPPH. Le pourcentage de piégeage (ou d'inhibition) du DPPH est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{Echantillon}} - A_{\text{Contrôle}}}{A_{\text{Echantillon}}} \times 100$$

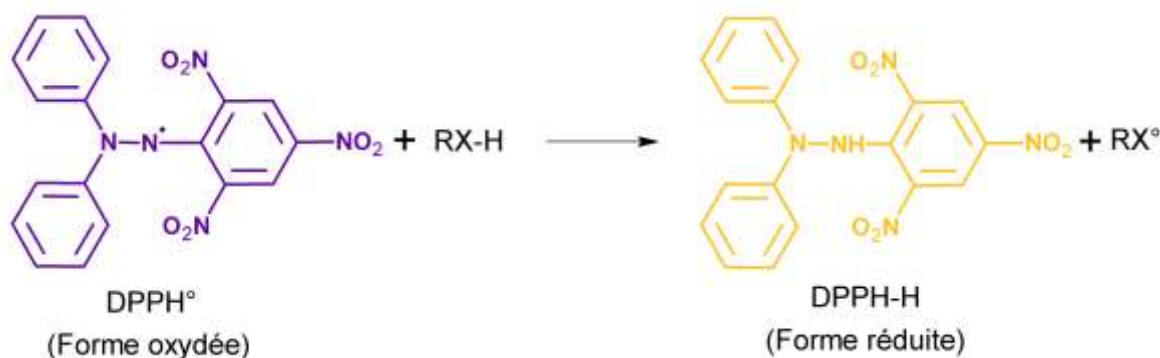


Figure 2. 1. Schéma illustrant le principe du test du piégeage du radical stable DPPH°.

b. Le test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

La capacité antioxydante par réduction de cuivre a été évaluée selon la méthode d'Apak (70). Dans laquelle, chaque puits de la microplaque contient le mélange de 40 μL de l'échantillon à tester, 50 μL de solution de chlorure de cuivre (II), 50 μL de solution alcoolique de neocuproïne et 60 μL de tampon d'acétate d'ammonium à pH 7. Puis, ce mélange est gardé 30 minutes avant de mesurer son absorbance à 450 nm. Les résultats sont exprimés en $A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$). Cette grandeur correspond à la concentration de l'échantillon indiquant une absorbance de 0,5.

c. Le test du pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP)

La méthode d'Oyaizu (71) a été utilisée pour estimer le pouvoir réducteur du fer de nos composés. Cette méthode consiste à mélanger 10 μL de chaque échantillon, à différentes concentrations, avec 40 μL de tampon phosphate à 0,2 M (pH 6,6) et 50 μL de ferricyanure de potassium (1%). Le tout est incubé pendant 20 minutes à 50 °C. Ensuite y est incorporés, 50 μL d'acide trichloroacétique (10%), 10 μL de chlorure ferrique (0,1%) et 40 μL d'eau distillée. Le pouvoir antioxydant réducteur ferrique est suivi par spectrophotométrie à 700 nm et les valeurs de $A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$) sont calculées.

Tous les résultats des tests de l'activité antioxydante sont exprimés en moyenne de trois essais \pm leur écart-type. Les différences significatives entre les moyennes ont été déterminées en utilisant le test t de Student. Les valeurs de $p < 0,05$ ont été considérées comme significatives.

d. Matériel utilisé dans l'étude expérimentale

Les spectres de RMN ^1H ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker Avance DPX 250 avec du tétra méthyle silane (TMS) comme référence interne. L'analyse IR a été réalisée sur un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier de type Jasco FT/IR-6300. Les mesures et les calculs de l'activité antioxydante ont été effectués sur un lecteur de microplaque à 96 puits (Perkin Elmer Multimode Plate Reader EnSpire).

e. Activité anti-tyrosinase

L'activité inhibitrice de la tyrosinase de champignons a été étudiée par spectrophotométrie, comme indiqué par Masuda et al. (72) avec des modifications mineures. La L-DOPA a été utilisée comme substrat et l'acide kojique comme standard. Ainsi, 150 μL de tampon du phosphate de sodium 100 mM (pH 6,8), 10 μL de la solution méthanolique de l'échantillon à différentes concentrations et 20 μL de la solution tamponnée de l'enzyme (la tyrosinase) ont été mélangés et incubés pendant 10 minutes à 37 °C. Ensuite, 20 μL de L-DOPA y ont été ajoutés. Le mélange a été incubé une seconde fois pendant 10 minutes à 37 °C avant de lire son absorbance à 475 nm à l'aide d'une microplaque à 96 puits.

$$\% \text{ d' inhibition de la tyrosinase} = \frac{A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

II.3. Protocoles computationnels

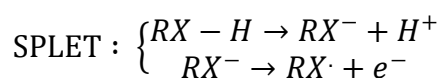
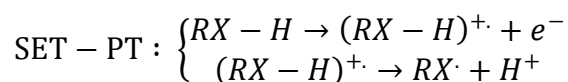
a. Modélisation moléculaire et optimisation de la géométrie

Les structures de toutes les molécules ont été optimisées par DFT en utilisant la fonctionnelle B3LYP avec 6-311G (d,p), comme base. Aucune contrainte géométrique n'a été appliquée. Les calculs de fréquences vibrationnelles ont été effectués au même niveau de la théorie. Pour les radicaux générés, neutres (RX°) et cationiques (RX-H^+), systèmes à couches ouvertes, un calcul non-restreint au niveau UB3LYP/6-311G (d,p), a été réalisé. Les effets du

solvant ont été pris en compte via la variante du formalisme d'équation intégrale du modèle du continuum polarisable (IEFPCM) comme modèle de solvation (73).

b. Calcul des descripteurs moléculaires

Dans le cadre de la DFT, cinq descripteurs moléculaires thermodynamiques (BDE, IP, PDE, PA et ETE) ont été calculés pour les molécules testées, afin de proposer le mécanisme le plus favorable pour l'activité de piégeage des radicaux libres. Pouvant coexister, les trois mécanismes possibles sont: le transfert d'atome d'hydrogène (HAT), le transfert d'électron suivi d'un transfert de proton (SET-PT) et la perte de proton avec transfert séquentiel d'électron (SPLET) (74 ; 75). Ces mécanismes sont définis par les équations suivantes:



Chaque mécanisme est caractérisé par un ou plusieurs descripteurs. Ainsi, le mécanisme HAT est lié à l'enthalpie de dissociation de la liaison O – H (BDE), alors que la première étape du mécanisme SET – PT est contrôlée par le potentiel d'ionisation (IP) et que la seconde est régie par l'enthalpie de dissociation du proton (PDE) du radical cation correspondant. Pour le mécanisme SPLET, l'affinité protonique (PA) de l'anion RX et l'enthalpie de transfert d'électrons (ETE) sont les descripteurs qui gèrent les deux étapes du mécanisme, respectivement. Par conséquent, BDE, IP et PA sont les principaux descripteurs moléculaires qui déterminent le mécanisme antioxydant thermodynamiquement préféré. Plus leurs valeurs sont basses, plus l'activité de piégeage est importante (76).

Pour les tests FRAP et CUPRAC, le mécanisme consiste en un transfert d'électrons de la molécule étudiée au complexe de fer (III) et au complexe de cuivre (II) (77), respectivement. C'est pourquoi les activités correspondantes sont liées aux valeurs du potentiel d'ionisation (IP) du composé testé. Plus sa valeur est élevée, plus l'activité antioxydante est faible.

Les descripteurs moléculaires sont calculés à l'aide des équations (1) - (5) à 298,15 K et 1 atmosphère. Pour la phase gazeuse, les valeurs d'enthalpie d'atome d'hydrogène (H°), de proton (H^+) et d'électron (e^-) sont égales à -1309,408 kJ/mol, 6,197 kJ/mol et 3,145 kJ/mol, respectivement (78; 79). Dans l'éthanol, la valeur de -1307,479 kJ/mol est utilisée pour l'enthalpie de l'atome d'hydrogène (80), tandis que celles des protons et des électrons, $H(H_{sol}^+)$ et $H(e_{sol}^-)$ sont obtenues à partir des enthalpies de solvation correspondantes (81) et sont égales à -1012,303 kJ/mol et -102,154 kJ/mol, respectivement.

$$BDE = H(RX^\cdot) + H(H^\cdot) - H(RX - H) \quad (1)$$

$$IP = H((RX - H)^{\cdot+}) + H(e^-) - H(RX - H) \quad (2)$$

$$PDE = H(RX^\cdot) + H(H^+) - H((RX - H)^{\cdot+}) \quad (3)$$

$$PA = H(RX^-) + H(H^+) - H(RX - H) \quad (4)$$

$$ETE = H(RX^\cdot) + H(e^-) - H(RX^-) \quad (5)$$

La comparaison de ces descripteurs permet de proposer le mécanisme le plus favorable à l'activité de piégeage des radicaux libres, du point de vue thermodynamique.

Tous les calculs réalisés ont été effectués avec le logiciel GAUSSIAN 9.0 (82), tandis que GaussView 5.0.9 (83) a été utilisé pour la visualisation et l'analyse des résultats.

c. Amarrage moléculaire

Le logiciel Arguslab 4.0.1 (84) a été utilisé pour estimer l'affinité entre la tyrosinase et les molécules testées et pour analyser les interactions intermoléculaires impliquées. Ainsi, un calcul d'amarrage moléculaire a été effectué en considérant la flexibilité des ligands. La stabilité du complexe enzyme-ligand est inversement proportionnelle à son $\Delta G_{\text{binding}}$, calculée par la fonction Ascore mise en œuvre dans Arguslab et donnée par:

$$\Delta G_{\text{binding}} = \Delta G_{\text{vdW}} + \Delta G_{\text{hydrophobe}} + \Delta G_{\text{liaison-H}} + \Delta G_{\text{liaison-H(chg)}} + \Delta G_{\text{déformation}} + \Delta G^\circ$$

Où ΔG_{vdW} représente l'interaction de van der Waals entre la protéine et le ligand, $\Delta G_{\text{hydrophobe}}$ représente l'effet hydrophobe, $\Delta G_{\text{liaison-H}}$ et $\Delta G_{\text{liaison-H(chg)}}$ sont attribuées à la liaison hydrogène et la liaison hydrogène impliquant des groupes donneurs et/ou accepteurs chargés entre le ligand et la protéine, respectivement, l'effet de déformation est donné par

$\Delta G_{\text{déformation}}$ et enfin par ΔG° qui correspond aux effets de la perte d'entropie en translation et en rotation lors de la complexation.

Déjà modélisés et optimisés au niveau B3LYP/6-311G (d,p) de la théorie de la DFT, les ligands seront directement utilisés. Quant à la structure tridimensionnelle de l'enzyme, elle est obtenue à partir de la banque de données de protéines du RCSB (<http://www.rcsb.org/>). Par conséquent, l'entrée 1wx2, qui répond aux critères de sélection d'un fichier pdb proposé par G. L. Warren et al. (85), a été sélectionné. Des atomes d'hydrogène ont été ajoutés et les paramètres d'amarrage ont été adaptés en tant que dimensions de la boîte de liaison du site de liaison, qui étaient égales à: 20 x 20 x 15 Å³. L'algorithme d'amarrage ArgusDock a été choisi et la valeur par défaut de la résolution de la grille (0,4 Å) a été conservée. L'analyse des interactions intermoléculaires a été réalisée à l'aide du logiciel Discovery Studio 4.0 (86).

d. La règle de cinq de Lipinski

Donnée par Christopher A. Lipinski en 1997 (87), la règle empirique de cinq repose sur certains critères permettant d'estimer la capacité d'une molécule ayant une activité pharmacologique, à être un médicament administrable à l'homme (ou druglikeness). Ces critères sont: le log P inférieur à 5, le nombre de liaisons hydrogène donneurs inférieur à 5, le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène inférieures à 10 et le poids moléculaire n'excédant pas 500 Da. La règle est utilisée dans la conception de médicaments pour présélectionner des molécules présentant de bonnes propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (ADME) que doit avoir un médicament dans l'organisme. Nous avons utilisé le calculateur de propriétés moléculaires - *Molinspiration* (<http://www.molinspiration.com>) pour calculer les quatre paramètres de la règle de Lipinski en plus du nombre de liaisons rotatoires qui doivent être inférieures à 10, afin d'avoir une bonne biodisponibilité orale (88).

Chapitre III

ÉTUDE DE LA SÉRIE DES OXIMES

Chapitre III : Étude de la série des oximes

III.1. Introduction

Les oximes sont des composés caractérisés par une structure de la forme $R'R''C = N-OH$. Largement étudiée, leur activité antioxydante a été bien démontrée dans diverses études (89 - 92). Elles sont également utilisées dans d'autres applications thérapeutiques comme par exemple, le traitement antidote des intoxications par des agents neurotoxiques organophosphorés (93). Cependant, le mécanisme d'action antioxydante des oximes n'a pas été suffisamment étudié théoriquement. Dans le présent travail, un ensemble de cinq oximes, notés OX1 à OX5, ont été synthétisées (figure 3. 1), caractérisées par RMN 1H et IR, puis soumises à trois tests d'activité antioxydante: le test d'activité du piégeage du DPPH, le test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC) et le test du pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP).

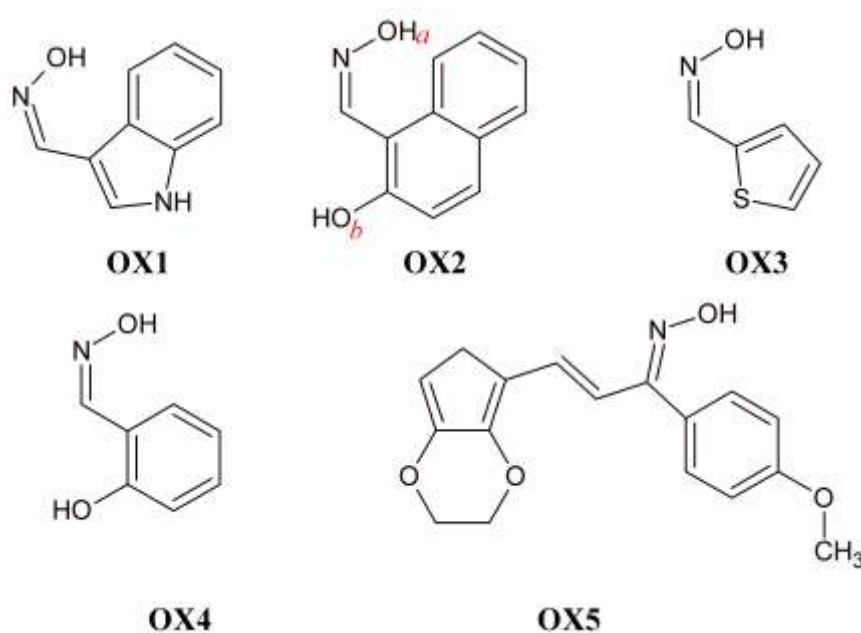


Figure 3. 1. Structures chimiques des oximes étudiées.

L'activité anti-tyrosinase de nos oximes a été évaluée expérimentalement. Ensuite, les résultats ainsi obtenus sont analysés et interprétés théoriquement à l'aide d'un calcul d'amarrage moléculaire. Il est à noter qu'un pouvoir anti-tyrosinase pour certaines oximes a été démontré (94 ; 95).

III.2. Synthèse

a. Préparation des oximes

Nos composés ont été synthétisés par condensation entre un aldéhyde (ou une chalcone dans le cas de OX5) et une hydroxylamine. Un mélange équimolaire (0,04 mol) de chlorhydrate d'hydroxylamine $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, de pyridine et du composé carbonyle est dissous dans 20 ml d'éthanol et chauffé à reflux pendant trois heures. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM). Après évaporation de l'éthanol, le mélange réactionnel est repris dans de l'éther et lavé avec une solution d'HCl à 10% pour éliminer la base résiduelle. Après lavage à l'eau jusqu'à pH neutre, la phase organique est séchée et évaporée sous vide puis recristallisée dans l'éthanol pour obtenir l'oxime (Schéma 3.1) (96).

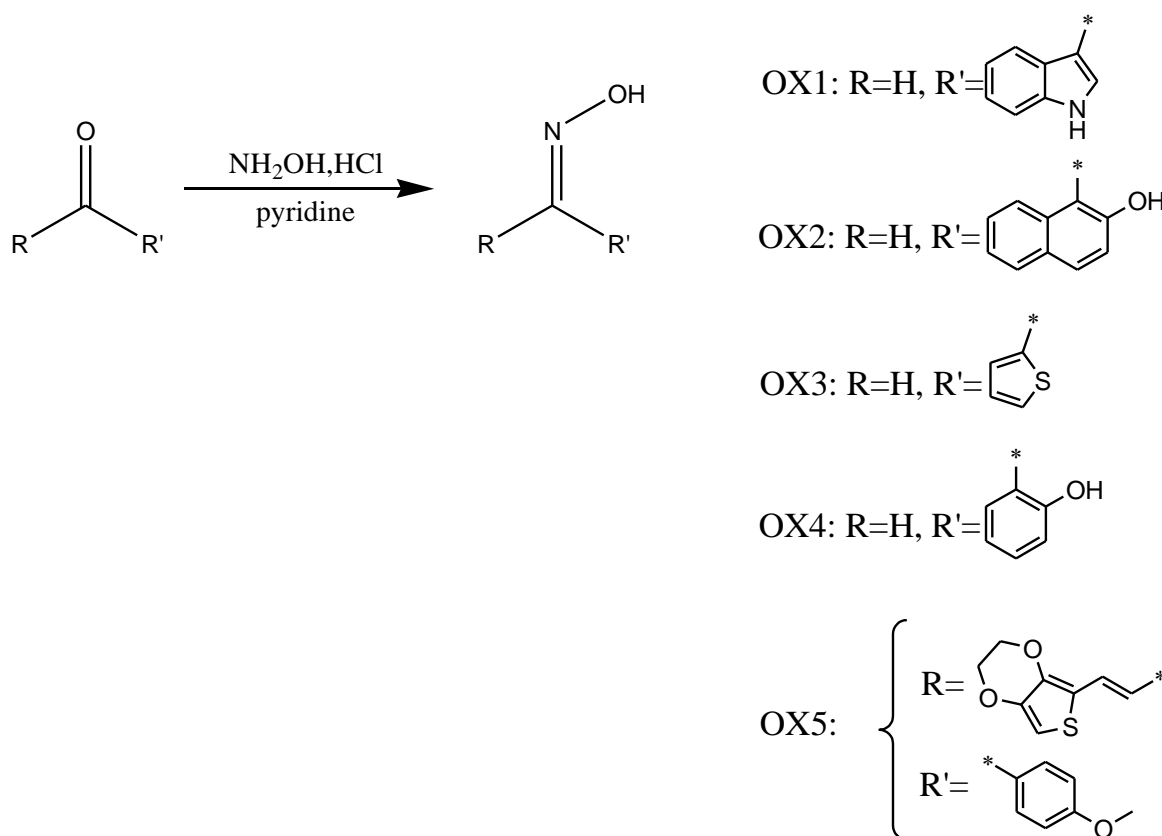


Schéma 3.1. Schéma de synthèse des oximes étudiées.

b. Préparation de la chalcone précurseuse (la (E) -3- (3,4-éthylènedioxythényl) -1- (4-méthoxyphényl) prop-2-èn-2-one)

Dans un ballon, du 3,4-éthylènedioxythiophène-2-carbaldéhyde (5 mmol) et de la 4-méthoxyacétophénone (5 mmol) ont été dissous dans 6 ml d'éthanol. 7 ml de NaOH à 10% ont été ajoutés et le mélange a été agité à 60 °C pendant 20 minutes. Le mélange a été refroidi et versé dans 50 g d'eau glacée. Le précipité a été filtré, lavé à l'eau froide et puis séché.

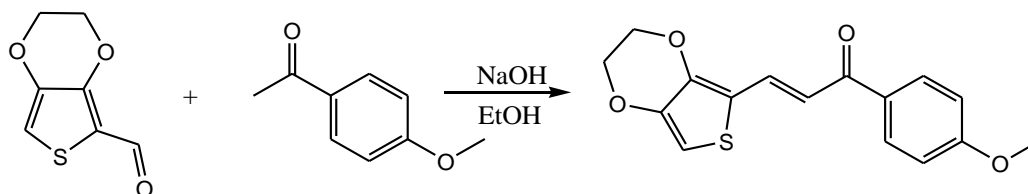


Schéma 3. 2. Schéma de synthèse de la chalcone précurseuse des oximes préparées.

III.3. Évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des cinq oximes a été évaluée à l'aide de trois tests qui sont le test d'activité du piégeage du DPPH, le test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC) et le test du pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP). Les composés BHA et BHT ont été utilisés comme standards positifs. Les résultats des trois tests utilisés sont rassemblés dans le tableau 3.1.

a. Le test d'activité du piégeage du DPPH

Parmi les composés testés, OX2 et OX1 présentent l'activité la plus élevée, avec un pourcentage d'inhibition de $74,63 \pm 2,94$ et de $34,50 \pm 1,56$, respectivement. La première valeur est assez proche de celles du BHA et BHT.

b. Le test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

Les résultats obtenus à partir du test CUPRAC ont montré que OX1 et OX2 présentaient une meilleure activité antioxydante que les standards testés, avec une $A_{0,50}$ de $2,60 \pm 0,16$ $\mu\text{g/mL}$ et de $3,62 \pm 0,31$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement. De manière globale, l'ordre du pouvoir antioxydant du test CUPRAC pour les oximes étudiées est: OX1 > OX2 > OX4 > OX3 > OX5.

c. Le test du pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP)

Les résultats de FRAP ont montré que l'OX2, une fois encore, a la meilleure activité de pouvoir réducteur parmi les molécules testées avec un $A_{0,5}$ de $6,89 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$, une valeur comparable à celle des standards utilisés. Si OX5 présentait une activité de FRAP relativement faible, aucune activité significative n'a été observée pour OX4, OX1 et OX3.

Tableau 3. 1. Résultats des tests de l'activité antioxydante (activité du piégeage du DPPH, FRAP et CUPRAC) pour les oximes étudiées. Les valeurs correspondantes des standards antioxydants y sont rapportées.

Composé	Activité antioxydante		
	Test du DPPH	Test CUPRAC	Test du FRAP
	% d'inhibition ^c	$A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$) ^b	$A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$) ^b
OX1	$34,50 \pm 1,56$	$2,60 \pm 0,16$	> 200
OX2	$74,63 \pm 2,94$	$3,62 \pm 0,31$	$6,89 \pm 0,23$
OX4	$4,56 \pm 0,45$	$9,52 \pm 5,62$	> 200
OX3	$6,98 \pm 4,36$	$13,71 \pm 3,07$	> 200
OX5	PA ^a	> 200	$187,25 \pm 9,89$
BHA	$84,18 \pm 0,10$	$5,35 \pm 0,71$	$6,77 \pm 1,15$
BHT	$94,00 \pm 0,31$	$8,97 \pm 3,94$	$5,39 \pm 0,91$

^aPA : Pas d'absorbance.

^b $A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$) : La concentration de l'échantillon indiquant une absorbance de 0,5.

^cLe pourcentage d'inhibition a été calculé à une concentration de $100 \mu\text{g/mL}$ de l'échantillon.

III.4. Les calculs DFT

a. Modélisation moléculaire et optimisation de la géométrie

Les calculs de fréquences vibrationnelles pour les structures optimisées de l'ensemble des oximes, n'ont montré aucune fréquence négative affirmant qu'il s'agit bien de minima réels et non pas imaginaires.

b. Calcul des descripteurs moléculaires

b.1 Comparaison des descripteurs avec les résultats du test du piégeage du DPPH

Pour toutes les molécules sous vide, la séquence suivante: BDE > IP > PA, est respectée, ce qui favorise un mécanisme HAT. Alors que le mécanisme SPLET est préféré pour les cinq molécules dans l'éthanol, les trois descripteurs étant ordonnés de la manière suivante: PA > BDE > IP (tableau 3. 2). Ceci est en accord avec la littérature où le mécanisme HAT est favorisé dans les milieux non polaires et les mécanismes SET-PT ou SPLET sont préférés dans les milieux polaires en raison de la présence considérable d'espèces chargées (97).

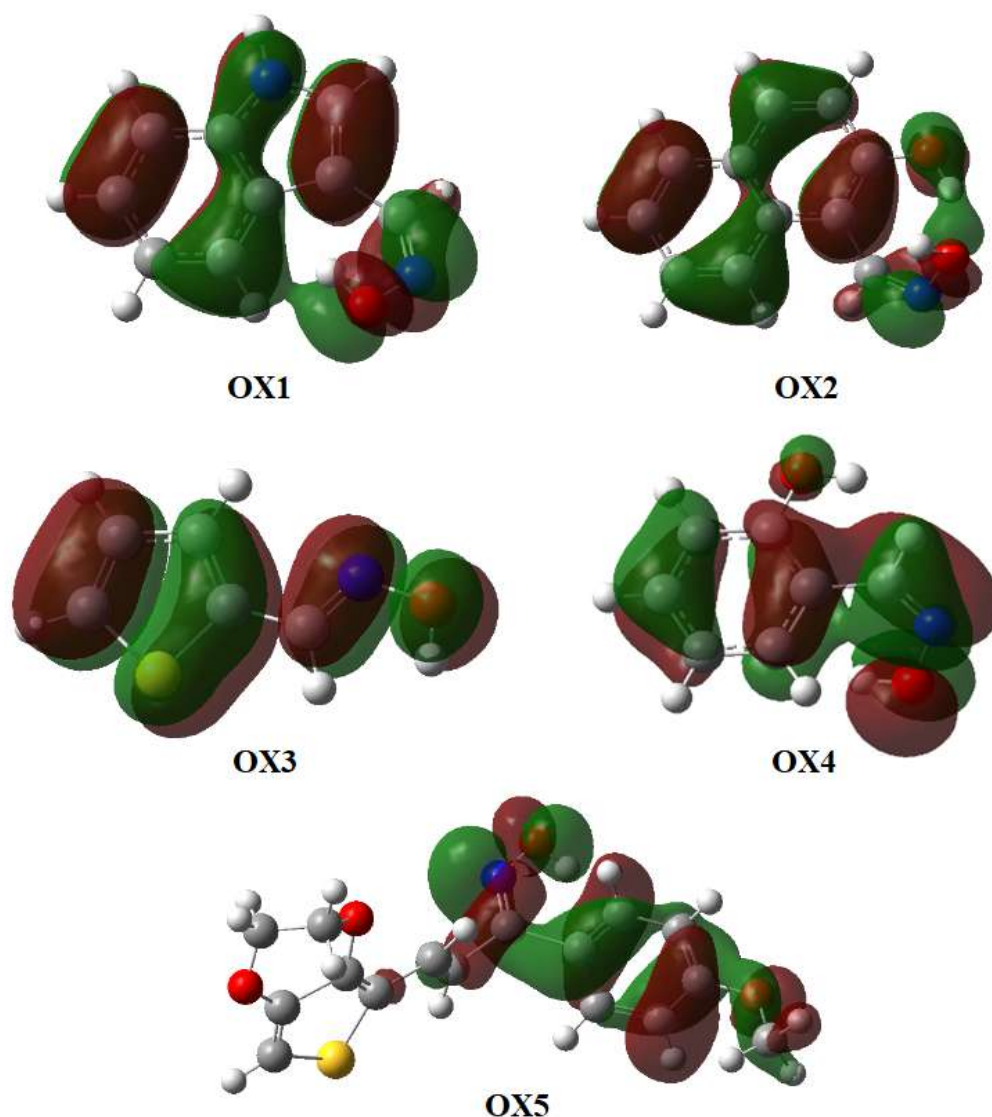


Figure 3. 2. Les isosurfaces des SOMO des cinq radicaux cationiques (RX-H^+) des oximes, calculés au niveau UB3LYP/6-311G (d,p) de la théorie, en phase éthanolique. A l'exception de l'OX5, chacune de ces isosurfaces est délocalisée sur tout le radical cationique correspondant.

Notons que trois de nos molécules (OX1, OX2 et OX4) présentent chacune deux atomes d'hydrogène transférables. Dans le cas de OX4 et OX2, ces atomes seront notés H_a et H_b , comme indiqué sur la figure 3. 1. Pour déterminer quel transfert d'atome est favorable dans chaque cas, nous devons comparer les valeurs de PA correspondantes, PA étant le descripteur déterminant en phase éthanolique. Ainsi, pour OX1, les résultats ont montré que le départ du proton de la liaison N-H est plus favorable que celui de la liaison O-H. Cela peut être dû au fait que la libération du proton de la liaison N-H crée une résonance stabilisante au niveau des deux anneaux indoles. Concernant OX2 et OX4, la valeur du PA du proton H_b est inférieure à celle de H_a pour OX4, alors que la situation inverse est observée pour OX2. Cela indique que le proton le plus labile est l' H_b pour OX4 et H_a pour OX2. Dans l'ensemble, l'ordre des valeurs PA est: OX2- H_a < OX4- H_b < OX1-N < OX3 < OX5. Ceci est en quasi parfaite concordance avec l'expérience (tableau 3. 1). D'autre part, les calculs effectués en phase gazeuse ont montré la séquence suivante de valeurs de BDE (descripteur déterminant en phase gazeuse): OX1-N < OX3 < OX5 < OX2- H_a < OX4- H_a , montrant ainsi l'effet important du solvant sur les valeurs du PA (tableau 3. 3).

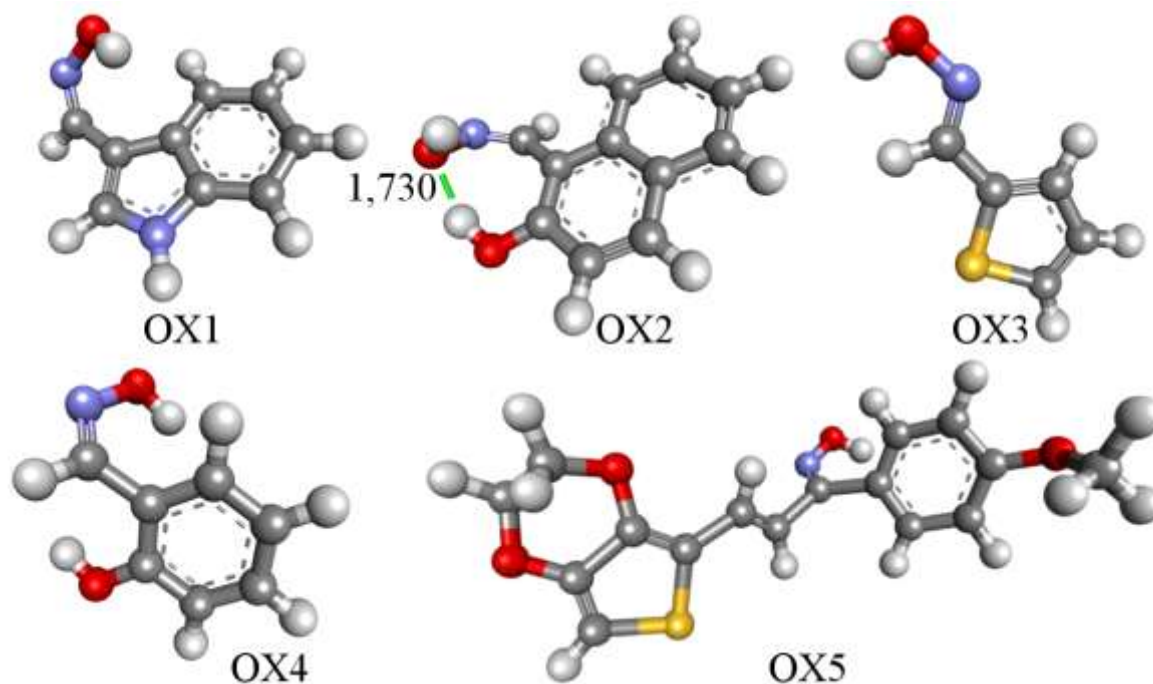


Figure 3. 3. Structures tridimensionnelles des cinq radicaux cationiques d'oximes, obtenues au niveau UB3LYP/6-311G (d,p) de la théorie, en phase éthanolique. Seuls le radical cationique d'OX2 présente une liaison hydrogène intramoléculaire (en trait pointillé vert). Sa longueur (en Å) est mentionnée. Le logiciel Discovery Studio 4.0 est utilisé pour représenter les structures et mesurer les longueurs de liaisons (86).

b. 2. Comparaison des descripteurs avec les résultats des tests CUPRAC et FRAP

Comme nous l'avons dit précédemment pour ce test basé sur le transfert d'électrons, l'activité antioxydante est inversement proportionnelle aux valeurs d'IP des molécules. Dans l'éthanol, les IP de nos oximes sont ordonnés comme suit: OX1 < OX2 < OX3 < OX4 < OX5. Ceci constitue un accord presque parfait entre l'approche théorique et expérimentale.

Tableau 3. 2. Valeurs des descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) (kJ/mol) calculés dans le solvant (éthanol), pour les oximes testées et les antioxydants standards.

Molécule	BDE	IP	PDE	PA	ETE
OX4- H_b	376,58	532,46	37,13	239,60	330,00
OX2- H_b	404,65	493,43	104,24	266,37	331,30
OX4- H_a	367,04	532,46	27,60	269,44	290,62
OX2- H_a	378,50	493,43	78,09	229,28	342,24
OX5	355,92	1067,55	119,89	271,95	276,99
OX1	390,40	473,23	110,19	294,49	288,67
OX3	375,16	500,15	68,03	258,02	310,16
OX1-N	402,80	473,23	122,59	254,45	301,34
BHA	357,61	447,17	103,46	288,79	261,84
BHT	347,45	464,94	75,53	264,36	276,11

Tableau 3. 3. Valeurs des descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) (kJ/mol) calculés sous vide (phase gazeuse), pour les oximes testées et les antioxydants standards.

Molécule	BDE	IP	PDE	PA	ETE
OX4- H_b	414,94	796,26	937,41	1525,02	208,66
OX2- H_b	411,29	773,22	956,80	1472,35	257,68
OX4- H_a	389,84	796,26	912,32	1470,62	237,96
OX2- H_a	369,87	773,22	915,38	1450,15	238,46
OX5	369,57	655,43	1032,88	1483,88	204,43
OX1	356,86	758,21	917,39	1535,97	139,63
OX3	351,29	835,91	834,12	1500,64	169,38
OX1-N	351,26	758,21	949,01	1438,15	269,07
BHA	363,39	717,91	926,50	1488,69	156,76
BHT	349,19	722,41	943,59	1461,39	204,61

L'effet du solvant sur les différents descripteurs moléculaires peut être observé en comparant leurs valeurs en présence et en absence de ce dernier (3.1). De ce fait, nous pouvons remarquer que les calculs en présence d'éthanol ont baissé les valeurs du PA et ont haussé celles de la BDE, favorisant ainsi le mécanisme SPLET, pour les molécules les plus actives. Concernant les valeurs d'IP, l'ajout du solvant les a sensiblement diminuées (entre -263,80 et -335,76 kJ/mol), sauf pour l'OX5 qui ne présente quasiment aucune activité antioxydante (tableau 3. 4).

$$\Delta X = X_{(Ethanol)} - X_{(vide)} \dots \dots \dots (3.1)$$

avec: $X = BDE, IP, PDE, PA$ ou EET .

Tableau 3. 4. Effet du solvant sur les descripteurs moléculaires (ΔBDE , ΔIP , ΔPDE , ΔPA et ΔETE) (kJ/mol), pour les oximes testées.

Molécule	ΔBDE	ΔIP	ΔPDE	ΔPA	ΔETE
OX4- H_b	-38,36	-263,80	-900,28	-1285,42	121,34
OX2- H_b	-6,64	-279,79	-852,56	-1205,98	73,62
OX4- H_a	-22,80	-263,80	-884,72	-1201,18	52,66
OX2- H_a	8,63	-279,79	-837,29	-1220,87	103,78
OX5	-13,65	412,12	-1032,88	-1211,93	72,56
OX1	33,54	-284,98	-807,2	-1241,48	149,04
OX3	23,87	-335,76	-766,09	-1242,62	140,78
OX1-N	51,54	-284,98	-826,42	-1183,70	32,27

Les isosurfaces des orbitales moléculaires semi-occupées (SOMO) des cinq radicaux cationiques ($RX-H^{+\bullet}$) sont distribuées de manière homogène, synonyme de stabilité, à l'exception d'OX5 (figure 3. 2). Ainsi, le transfert d'électrons est favorable à partir de toutes les molécules neutres correspondantes mais d'une façon moins importante pour l'OX5. Ceci est en bon accord avec les résultats expérimentaux issus des tests CUPRAC et du DPPH. Un autre facteur de stabilisation pour le radical cationique du OX2, la molécule les plus actives parmi les oximes testées, est l'existence d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'atome d'hydrogène H_b est l'oxygène lié à l'atome d'azote (figure 3. 3).

Tableau 3. 5. Les niveaux d'énergie des orbitales HOMO et LUMO et les valeurs du Gap ($E_{\text{LUMO}}-E_{\text{HOMO}}$) (en eV) calculés pour les oximes étudiées.

Molécule	OX1	OX2	OX3	OX4	OX5
E_{HOMO} (eV)	-6,01	-6,23	-6,27	-6,59	-5,63
E_{LUMO} (eV)	-1,10	-1,93	-1,67	-1,44	-1,97
Gap (eV)	4,91	4,30	4,60	5,15	3,66

III.5. Activité anti-tyrosinase

Trois des oximes testées présentaient une activité anti-tyrosinase. OX4 a révélé l'activité la plus élevée parmi ces composés avec $51,89 \pm 6,04\%$ de la quantité d'enzyme inhibée à 200 $\mu\text{g/mL}$ de la concentration de l'échantillon. À la même concentration, OX3 et OX1 ont montré une activité moindre avec un pourcentage d'inhibition de $32,95 \pm 11,07\%$ et de $10,33 \pm 7,17\%$, respectivement (tableau 3. 6). Aucun effet d'inhibition n'a été observé dans le cas d'OX2 et OX5.

Tableau 3. 6. Valeurs du pourcentage d'inhibition de la tyrosinase (à 200 $\mu\text{g/mL}$ d'échantillon) et du $\Delta G_{\text{binding}}$ des oximes testées.

Molécule	% d'inhibition à 200 $\mu\text{g/mL}^a$	$\Delta G_{\text{binding}}$ (kcal/mol)
OX4	$51,89 \pm 6,04$	-4,706
OX3	$32,95 \pm 11,07$	-4,428
OX1	$10,33 \pm 7,17$	-4,348
OX2	NA ^b	NAP ^c
OX5	NA	NAP
Acide Kojique	$66,95 \pm 2,24$	-5,859

^aLes valeurs exprimées sont les moyennes \pm écarts-types de trois mesures parallèles ($p < 0,05$)

^bNA: pas d'absorbance.

^cNAP: aucune pose acceptable trouvée par Arguslab.

III.6. Amarrage moléculaire

D'après les résultats du calcul d'amarrage moléculaire (tableau 3. 6); le meilleur score est attribué à OX4 avec une valeur de $\Delta G_{\text{binding}}$ de -4,706 kcal/mol, suivi par OX3 et OX1 avec une $\Delta G_{\text{binding}}$ égale à -4,428 kcal/mol et -4,348 kcal/mol, respectivement. Cet ordre est

identique à celui du test expérimental anti-tyrosinase. Comme prévu pour OX2 et OX5, Arguslab n'a trouvé aucune position de ligand acceptable, ce qui signifie qu'il n'y a pas d'affinité thermodynamique entre ces deux molécules et l'enzyme. Un amarrage moléculaire avec la molécule standard (acide kojique) a également été réalisé et le $\Delta G_{\text{binding}}$ obtenu est égal à -5,859 kcal/mol, ce qui est un résultat logique par rapport à l'expérience. De plus, l'analyse des interactions enzyme-ligands a montré que les trois molécules présentant un effet inhibiteur étaient ancrées dans la poche du site actif de l'enzyme (figure 3. 3), située autour du centre bi-nucléaire de cuivre (CuA et CuB) (98). OX4 présente une liaison hydrogène avec Pro324, tandis qu'OX3 forme une interaction hydrophobe et une interaction soufre-X avec Pro324 et une interaction électrostatique avec Asp323. Ensuite, le mode de liaison de OX1 consistait en une liaison hydrogène carbone-oxygène avec Asp323 et une interaction hydrophobe avec Pro324 (tableau 3. 7).

Tableau 3. 7. Interactions intermoléculaires favorables entre les trois oximes actifs (OX4, OX3 et OX1) et l'enzyme (tyrosinase).

Molécule	Liaisons hydrogène		Interactions hydrophobiques		Interactions électrostatiques		Autres interactions	
	Interaction	Distance (Å)	Résidu impliqué	Distance (Å)	Résidu impliqué	Distance (Å)	Interaction	Distance (Å)
OX4	OH...O:Pro324	2,012	/	/	/	/	/	/
OX3	/	/	Pro324	4,651	Asp323	2,197	S...O:Pro324	2,373
OX1	CH...O:Asp323	2,925	Pro324	4,696	/	/	/	/

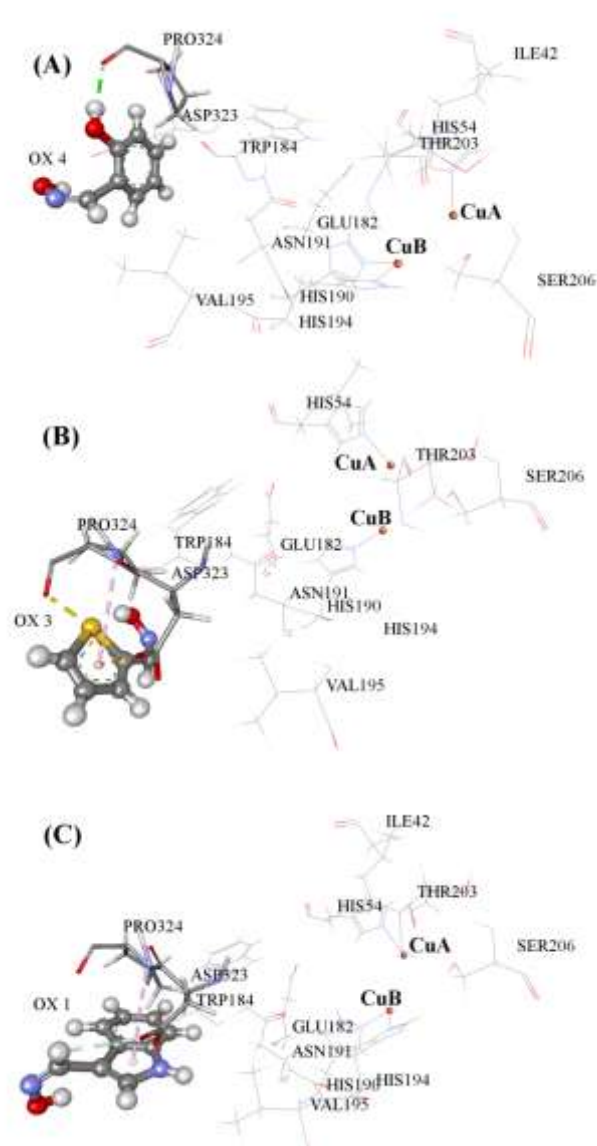


Figure 3. 4. Interactions de la tyrosinase avec: OX4 (A), OX3 (B) et OX1 (C). Les ligands sont représentés sous forme de boules-bâtonnets, tandis que tous les autres résidus sont représentés sous forme de fil de fer, à l'exception de ceux interagissant avec le ligand concerné. Les boules ocres correspondent aux ions de cuivre.

III.7. La règle de cinq de Lipinski

Toutes nos molécules répondent aux critères de la règle de Lipinski et à la condition supplémentaire relative au nombre de liaisons rotatoires (tableau 3. 8) suggérant leur bonne perméabilité pharmacocinétique et leur biodisponibilité orale, ce qui peut leur permettre de constituer le principal composé pour le traitement des maladies du stress oxydatif.

Tableau 3. 8. Évaluation des propriétés de « *druglikeness* » des cinq oximes étudiées par le calculateur de propriétés moléculaires - *Molinspiration*.

Molécule	Log P ^a	MW ^b	nON ^c	nOHNH ^d	Nrotb ^e
OX1	2,51	160,18	3	2	1
OX2	3,46	187,20	3	2	1
OX3	2,25	127,17	2	1	1
OX4	2,30	137,14	3	2	1
OX5	3,48	317,37	5	1	4

^aLog P : coefficient de partage octanol-eau.

^bMW : poids moléculaire.

^cnON : nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène.

^dnOHNH : nombre de donneurs de liaisons hydrogène.

^eNrotb : nombre de liaisons rotatoires.

III.8. Conclusion

Les résultats obtenus à partir du test CUPRAC montrent que la plupart de nos oximes présentent une bonne activité antioxydante, avec des valeurs de $A_{0,5}$ inférieures à celles des standards antioxydants utilisés, pour OX1 et OX2 ($2,60 \pm 0,16$ et $3,62 \pm 0,31$ contre $5,35 \pm 0,71$ et $8,97 \pm 3,94$, respectivement). Ces deux molécules exhibaient aussi les capacités de piégeage du DPPH les plus importantes. Pour lesquelles, le mécanisme le plus favorable sur le plan thermodynamique a été étudié théoriquement et ce sont les mécanismes SPLET et HAT qui sont proposés pour les phases éthanolique et gazeuse, respectivement. L'ordre des valeurs du PA, qui est le descripteur déterminant du mécanisme SPLET, est en parfait accord avec l'expérience. De même pour le test CUPRAC dont les résultats étaient en harmonie avec l'IP calculé. D'autre part, OX3, OX4 et OX1 ont révélé une activité anti-tyrosinase plus ou moins intense. Cependant, aucun effet inhibiteur à l'encontre cette enzyme n'a été observé, pour OX2 et OX5. Ce même résultat est obtenu théoriquement via un calcul d'amarrage moléculaire. La soumission de nos molécules au calculateur de propriétés moléculaires - *Molinspiration* a montré qu'elles remplissaient la règle de cinq de Lipinski. Ce qui constitue un avantage ces composés par rapport à leur biodisponibilité orale. L'ensemble de ces résultats nous permet de dire qu'avec davantage de tests, nos oximes pourraient être proposées comme agents antioxydants pour les domaines pharmaceutique, cosmétique ou alimentaire.

Chapitre IV

**ÉTUDE DE LA SÉRIE DESAZOMÉTHINES ET
PHÉNYLHYDRAZONES**

Chapitre IV : Étude de la série des azométhines et phénylhydrazones

V.1. Introduction

Les azométhines ou bases de Schiff sont des composés caractérisés par une structure de la forme $RN=CR'R''$, dont l'activité antioxydante a été étudiée et démontrée dans plusieurs travaux (99 ; 100). Les bases de Schiff peuvent également former avec des ions métalliques des complexes très intéressants avec des activités biologiques (101 – 104). Les azométhines phénoliques en particulier, constituent une classe de médicaments pour les maladies de stress oxydatif (105). Les phénylhydrazones sont des composés qui contiennent un groupe $Ph-NH-N=CH-Ph$ dans leurs structures. L'activité antioxydante des phénylhydrazones et de leurs dérivés a été établie dans diverses études (106 ; 107). D'autres applications de ces composés, dans plusieurs domaines, ont été citées dans la littérature, telle que leur utilisation en tant que polymères conducteurs (108), ou comme capteurs de fluorescence (109), ou en tant que catalyseurs (110). Les études théoriques rapportées sur les phénylhydrazones essayent d'en proposer des relations structure-propriétés et d'en corréliser les résultats expérimentaux aux résultats computationnels (111 ; 112).

Dans ce travail, quatre azométhines et deux phénylhydrazones ont été synthétisées (figure 4. 1), caractérisées par RMN 1H et IR. Elles étaient ensuite soumises à trois tests d'activité antioxydante à savoir, le test d'activité du piégeage du DPPH, le test CUPRAC et le test FRAP. Nos six composés seront notés SIC, SIF, SIM et SIT pour les azométhines et SIP et NIP pour les phénylhydrazones. La partie théorique de cette étude porte sur le calcul de quelques descripteurs moléculaires thermodynamiques des molécules testées, avec la théorie fonctionnelle densité (DFT).

D'autres propriétés comme les énergies des orbitales moléculaires ou les distributions de densité de spin, qui permettent d'analyser et d'expliquer les résultats expérimentaux obtenus ont été calculées.

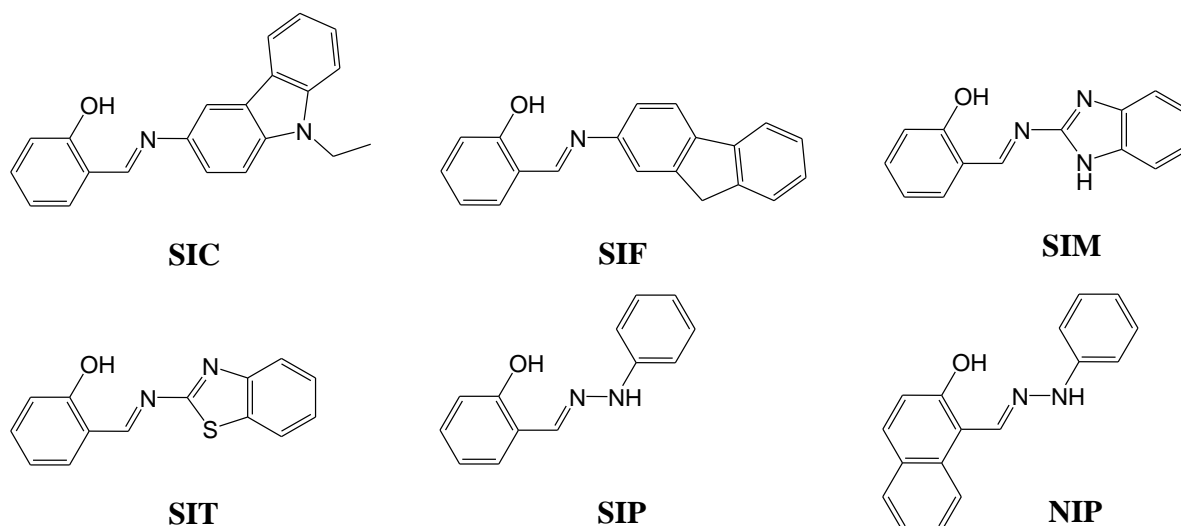


Figure 4. 1. Structures chimiques des azométhines (SIC, SIF, SIM et SIT) et des phénylhydrazones (SIP et NIP) étudiées.

V.2. Synthèse

Les azométhines (SIC, SIF, SIM et SIT) ont été synthétisées par condensation entre le salicyaldéhyde et l'amine correspondante en milieu éthanolique (113). Une solution contenant du salicyaldéhyde (5,2 mmol) et une amine (5,2 mmol) dans de l'éthanol (12 ml) a été chauffée au reflux pendant 1 heure et refroidie à 5 °C. Le précipité résultant a été recueilli par filtration et lavé avec de l'éthanol froid (Schéma 4.1).

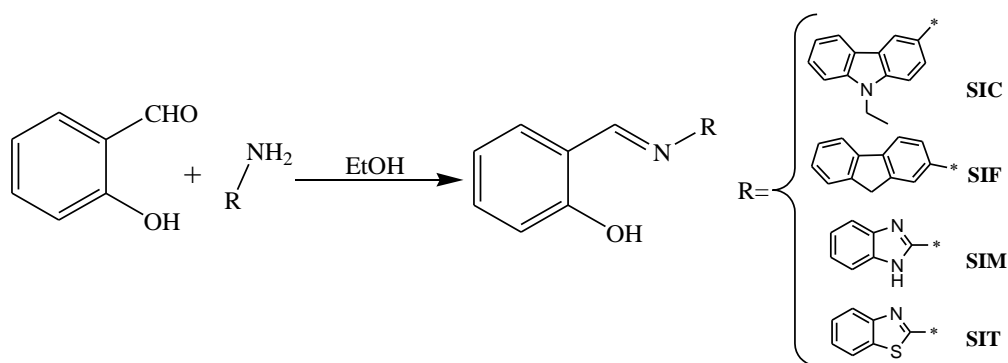


Schéma 4. 1. Schéma de synthèse des azométhines étudiées.

Les phénylhydrazones (SIP et NIP) ont été synthétisés par action du chlorhydrate de phénylhydrazine sur l'aldéhyde en milieu acétate.

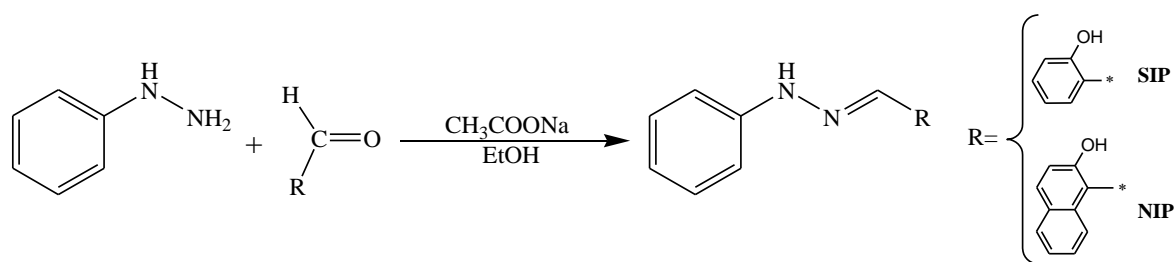


Schéma 4. 2. Schéma de synthèse des phénylhydrazones étudiées.

À un mélange équimolaire (0,025 mol) de chlorhydrate de phénylhydrazine NH_2NHPH , HCl et d'acétate de sodium CH_3COONa , dissous dans l'eau, on a ajouté 0,02 mol du composé carbonyle qui est placé dans l'éthanol. Ensuite, le mélange a été chauffé au reflux. Dans la solution colloïdale, le précipité s'est graduellement formé, filtré et fortement lavé avec de l'eau distillée.

V.3. Évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des composés NIP, SIP, SIC, SIF, SIT et SIM a été testée en utilisant l'activité du piégeage du DPPH, le test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC) et le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP). BHA et BHT ont été utilisés comme standards antioxydants. Les résultats des trois méthodes utilisées sont rassemblés dans le tableau 4. 1.

a. Le test d'activité du piégeage du DPPH

Le composé NIP présentait l'activité la plus élevée ($\text{IC}_{50} = 3,81 \pm 0,26 \mu\text{g/mL}$) plus que les standards BHA et BHT ($\text{IC}_{50} = 6,14 \pm 0,41$ et $12,99 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$, respectivement) suivi du composé SIP ($\text{IC}_{50} = 6,59 \pm 0,37 \mu\text{g/mL}$) montrant une meilleure activité également, en comparaison avec les standards.

b. Le test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

Les résultats obtenus avec le test CUPRAC ont montré que NIP, SIP, SIF et SIC présentaient une meilleure activité antioxydante que les étalons testés, avec un $A_{0,50}$ de $3,09 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$, $4,26 \pm 0,44 \mu\text{g/mL}$, $4,29 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$ et $6,98 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$, respectivement. La SIM et la SIT ont une activité relativement faible avec un $A_{0,50}$ de $20,02 \pm 2,34 \mu\text{g/mL}$ et de $126,22 \pm 10,36 \mu\text{g/mL}$, respectivement.

c. Le test du pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP)

Les résultats de la FRAP ont montré que le NIP et le SIP ont la meilleure activité réductrice parmi les molécules testées avec un $A_{0,5}$ de $9,21 \pm 1,91 \mu\text{g/mL}$ et de $10,37 \pm 1,07 \mu\text{g/mL}$, respectivement. SIF présente une activité moins importante. Aucune activité significative n'a été observée pour SIC, SIT et SIM.

Tableau 4. 1. Résultats des tests de l'activité antioxydante (activité du piégeage du DPPH, CUPRAC et FRAP) des azométhines et phénylhydrazones étudiées. Les résultats des standards antioxydants correspondants y sont mentionnés.

Composé	Activité antioxydante		
	Test DPPH IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) ^c	Test CUPRAC $A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$) ^b	Test FRAP $A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$)
NIP	$3,81 \pm 0,26$	$3,09 \pm 0,08$	$9,21 \pm 1,91$
SIP	$6,59 \pm 0,37$	$4,26 \pm 0,44$	$10,37 \pm 1,07$
SIC	> 200	$6,98 \pm 0,13$	> 200
SIF	> 200	$4,29 \pm 0,23$	$42,46 \pm 1,01$
SIT	> 200	$126,22 \pm 10,36$	> 200
SIM	NA ^a	$20,02 \pm 2,34$	> 200
BHA	$6,14 \pm 0,41$	$5,35 \pm 0,71$	$6,77 \pm 1,15$
BHT	$12,99 \pm 0,41$	$8,97 \pm 3,94$	$5,39 \pm 0,91$

^aNA: Aucune absorbance.

^b $A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$): Concentration de l'échantillon indiquant une absorbance de 0,5.

^c IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$): Concentration de l'échantillon correspondant au piégeage de 50% de la concentration initiale du DPPH.

V.4. Les calculs DFT

a. Modélisation moléculaire et optimisation de la géométrie

Aucune fréquence négative n'a été observée, pour les structures optimisées des six molécules étudiées dans cette partie, ce qui confirme l'inexistence de minima imaginaires.

b. Calcul des descripteurs moléculaires

b.1. Comparaison des descripteurs moléculaires avec les résultats du test de piégeage du DPPH

Les seules molécules montrant une activité de piégeage du radical DPPH sont les deux phénylhydrazones (NIP et SIP). La comparaison des descripteurs moléculaires calculés permet de constater que le mécanisme HAT est favorable dans la phase gazeuse (vide) tandis que le mécanisme SPLET est favorable dans le solvant (ici l'éthanol). Car les trois descripteurs moléculaires déterminants sont ordonnés comme suit : BDE < IP < PA et PA < BDE < IP dans les deux milieux, respectivement (tableaux 4. 2 et 4. 3). Les deux phénylhydrazones (NIP et SIP) présentent deux possibilités de transfert d'atome d'hydrogène vers la molécule de DPPH. La première possibilité concerne l'atome d'hydrogène de la fonction alcool (O-H) alors que la seconde concerne la liaison N-H (figure 4. 1).

Par ailleurs, la comparaison des valeurs de la BDE calculées pour les deux phénylhydrazones dans le vide, indique que le départ d'hydrogène de la liaison N-H est plus favorable que celui de la liaison O-H (tableaux 4. 2 et 4. 5). Parallèlement, les valeurs du PA calculées dans le solvant (tableaux 4. 3 et 4. 5) montrent que le départ du proton de la liaison N-H est plus favorable dans le cas du SIP, alors que pour le NIP c'est le transfert du proton de la liaison O-H qui l'en est (figure 4. 2). Ainsi, le départ préférentiel du proton de la liaison N-H peut être expliqué par sa faible énergie par rapport à celle de la liaison O-H, 314 ± 17 kJ/mol contre $428 \pm 2,1$ kJ/mol, respectivement (114). Cependant, l'existence d'un groupe phényle dans la molécule du NIP avec son effet d'attracteur d'électrons, semble affaiblir la liaison O-H et rend l'abstraction de l'atome d'hydrogène, sous forme de proton, plus favorable. Enfin, notons que la valeur du PA du NIP est plus faible que celle du SIP, ce qui lui permet d'avoir une meilleure activité anti-radicalaire conformément aux résultats expérimentaux.

D'autre part, l'absence d'un hydrogène N-H dans les quatre azométhines (figure 4. 1) peut être responsable de la perte de l'activité du piégeage du DPPH. Ce fait confirme notre hypothèse selon laquelle le départ du proton de la liaison N-H, dans le cas du SIP, est plus favorable que celui de la liaison O-H.

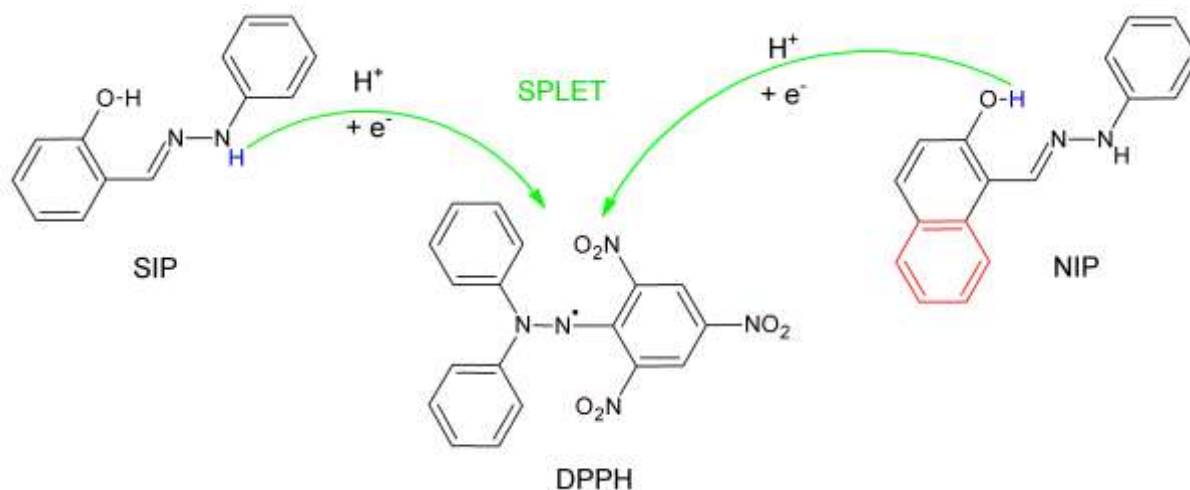


Figure 4. 2. Schéma explicatif du mécanisme proposé du piégeage du DPPH par les deux phénylhydrazones (SIP et NIP), montrant l'origine du proton transféré vers le DPPH, pour les deux molécules.

b.2. Comparaison des descripteurs moléculaires avec les résultats des tests CUPRAC et FRAP

Etant basés sur un mécanisme à transfert d'électron, l'activité antioxydante correspondante doit être inversement proportionnelle aux valeurs d'IP des molécules. Les valeurs de l' $A_{0,5}$ y sont ordonnées comme suit : $NIP < SIP < SIF < SIC < SIM < SIT$, pour le test CUPRAC et $NIP < SIP < SIF$, pour le test FRAP. En outre, les valeurs d'IP dans l'éthanol sont classées comme suit: $SIT > SIM > SIF > SIC > SIP > NIP$, ce qui constitue un accord quasi-parfait entre l'approche théorique et expérimentale.

Tableau 4. 2. Valeurs des descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) (kJ/mol) calculés sous vide, pour les azométhines et les phénylhydrazones testées et les standards utilisés.

Molécule	BDE	IP	PDE	PA	ETE
NIP	392,62	645,62	1065,73	1491,19	220,16
SIP	397,47	672,76	655,30	1512,01	204,20
SIC	361,84	649,78	1030,79	1446,91	233,67
SIF	428,73	685,98	1061,49	1510,98	236,49
SIT	381,68	721,60	978,81	1283,59	416,82
SIM	380,28	699,58	999,44	1440,52	258,50
BHA	363,39	717,91	926,50	1488,69	156,76
BHT	349,19	722,41	943,59	1461,39	204,61

Tableau 4. 3. Valeurs des descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) (kJ/mol) calculés dans l'éthanol, pour les azométhines et les phénylhydrazones testées et les standards utilisés.

Molécule	BDE	IP	PDE	PA	ETE
NIP	383,88	402,22	174,69	244,73	332,17
SIP	394,02	417,08	169,95	293,54	293,49
SIC	361,99	417,99	137,02	239,22	315,79
SIF	421,43	453,52	160,93	297,21	317,25
SIT	381,53	489,90	84,64	233,77	340,78
SIM	379,41	468,19	104,24	240,61	331,82
BHA	357,61	447,17	103,46	288,79	261,84
BHT	347,45	464,94	75,53	264,36	276,11

L'utilisation du solvant dans le calcul des différents descripteurs moléculaires a fait augmenter considérablement les valeurs du PA et un peu moins celles d'IP mais quasiment aucun changement n'est observé pour la BDE (tableau 4. 4). Ainsi, l'ajout du solvant a favorisé encore une fois, le mécanisme SPLET pour le piégeage des radicaux. La différence entre les descripteurs moléculaires des deux phases utilisées est calculée à partir de l'équation 1.3.

Tableau 4. 4. Effet du solvant sur les descripteurs moléculaires (Δ BDE, Δ IP, Δ PDE, Δ PA et Δ ETE) (kJ/mol), pour les azométhines et les phénylhydrazones étudiées.

Molécule	Δ BDE	Δ IP	Δ PDE	Δ PA	Δ ETE
NIP	8,74	243,4	891,04	1246,46	-112,01
SIP	3,45	255,68	485,35	1218,47	-89,29
SIC	-0,15	231,79	893,77	1207,69	-82,12
SIF	7,3	232,46	900,56	1213,77	-80,76
SIT	0,15	231,7	894,17	1049,82	76,04
SIM	0,87	231,39	895,2	1199,91	-73,32

Tableau 4. 5. Les valeurs de la BDE et du PA de la liaison N-H (kJ/mol) calculées dans le vide et dans l'éthanol, pour le NIP et le SIP.

Molécule	BDE		PA	
	Vide	Ethanol	Vide	Ethanol
NIP	320,82	330,25	1438,15	265,68
SIP	328,32	337,68	1446,41	268,11

c. Calcul des orbitales frontières et des densités de spin

La répartition des orbitales frontières qui sont la plus haute orbitale moléculaire occupée (HOMO) et la plus basse orbitale moléculaire inoccupée (LUMO) des structures moléculaires optimisées a été établie au niveau B3LYP/6-311G (d,p) du calcul DFT. Les densités de spin des radicaux ont été calculées, en utilisant le niveau de calcul non-restreint UB3LYP/6-311G (d,p), à travers le calcul des fréquences de vibration des radicaux générés RX° et $RX-H^{+\circ}$. Il est à noter qu'aucun changement significatif n'a été observé dans les résultats obtenus après optimisation géométrique de ces derniers.

L'énergie de l'HOMO (E_{HOMO}) est également un critère révélateur de la réactivité entre la molécule correspondante et le DPPH, de telle sorte que le transfert électronique se fait de l'entité ayant l' E_{HOMO} la plus haute à celle possédant l' E_{HOMO} la plus faible. Par conséquent, le transfert électronique est énergiquement défavorable dans le cas où l' E_{HOMO} du DPPH est la plus haute. Les valeurs calculées de l' E_{HOMO} dans l'éthanol sont de -513,88 kJ/mol, -527,66 kJ/mol et de -553,71 kJ/mol pour le NIP, le SIP et le DPPH, respectivement, ce qui correspond bien aux résultats du test de piégeage du DPPH. Concernant les tests CUPRAC et FRAP, le don d'électrons est d'autant plus facile que l' E_{HOMO} de la molécule concernée est élevée (115). L'ordre des valeurs d' E_{HOMO} dans l'éthanol, pour les six composés testés est le suivant: NIP > SIP > SIC > SIF > SIM > SIT (tableau 4. 6), qui est en bon accord avec l'expérience (tableau 4. 1).

Tableau 4. 6. Les niveaux d'énergie des orbitales HOMO et LUMO les valeurs du Gap ($E_{LUMO}-E_{HOMO}$) (en eV) calculés pour les azométhines et les phénylhydrazones étudiées.

Molécule	NIP	SIP	SIC	SIF	SIM	SIT
E_{HOMO} (eV)	-5,33	-5,47	-5,71	-5,86	-6,01	-6,26
E_{LUMO} (eV)	-1,80	-1,86	-2,10	-2,20	-2,49	-1,55
Gap (eV)	3,53	3,61	3,61	3,66	3,52	4,71

Les isosurfaces des orbitales (SOMO) des six (RX-H°) de la présente famille de molécules, sont distribuées de manière homogène, synonyme de stabilité (figure 4. 3). Ainsi, le transfert d'électrons est favorable à partir de toutes les molécules neutres correspondantes. Un autre élément stabilisateur pour les radicaux cationiques des trois molécules les plus actives (NIP, SIP et SIF) est l'existence d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'atome d'hydrogène O-H et l'atome d'azote le plus proche (figure 4. 4).

Le calcul de fréquences pour les radicaux neutres et cationiques a été effectué et aucune contamination de spin (mélange des états de spin) n'a été observée. La comparaison de la distribution de la densité de spin permet d'évaluer la stabilité relative des molécules. Plus la densité de spin est délocalisée, plus le radical est stable et sa formation est favorable. Nous pouvons noter que la valeur la plus élevée de densité de spin dans chaque radical est localisée sur l'atome d'oxygène hydroxyle. Plus cette valeur est basse, meilleure est la distribution de spin homogène. Les valeurs les plus basses sont attribuées aux NIP et SIP, respectivement, comme nous le prévoyions (figure 4. 5). De plus, pour toutes les molécules présentes, cette valeur est toujours plus faible dans l'éthanol que dans le vide, ce qui signifie que les radicaux formés sont davantage stabilisés par les molécules de solvant, comme indiqué dans la littérature (116).

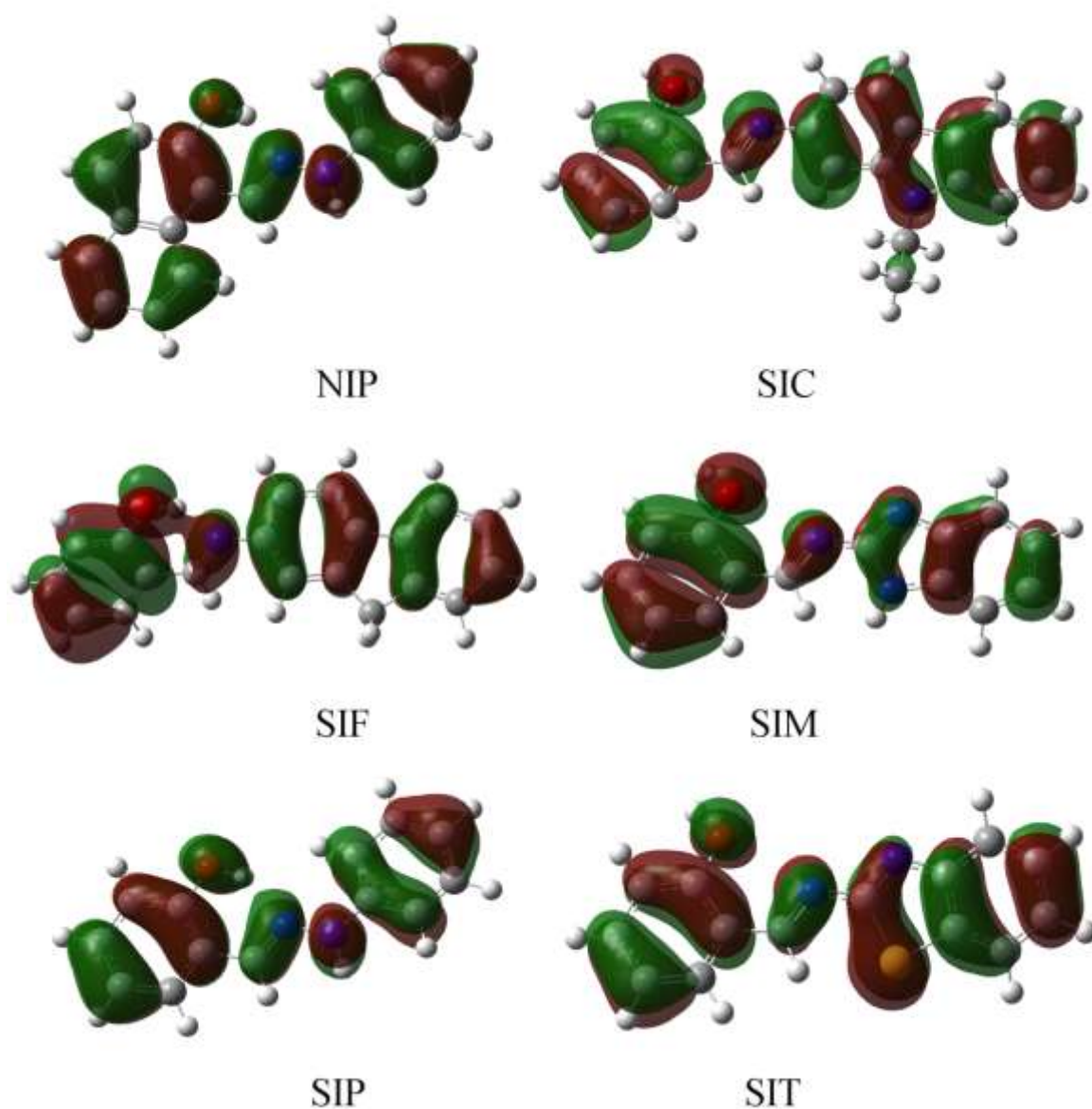


Figure 4. 3. Les isosurfaces des SOMO des radicaux cationiques ($RX-H^{\circ+}$) des six des azométhines et phénylhydrazones étudiées, calculés au niveau UB3LYP/6-311G (d,p) de la théorie, en phase éthanolique. Chacune de ces isosurfaces est délocalisée sur tout le radical cationique correspondant.

V.5. Activité anti-tyrosinase

Aucune activité anti-tyrosinase n'a été observée pour l'ensemble des azométhines et phénylhydrazones étudiées.

V.6. La règle de cinq de Lipinski

Les six molécules de cette série remplissent les critères de la règle de cinq de Lipinski et la condition supplémentaire relative au nombre de liaisons rotatoires (tableau 4. 7). Ceci devrait leur conférer une bonne perméabilité pharmacocinétique et leur biodisponibilité orale, qui sont des critères primordiaux pour un candidat-médicament.

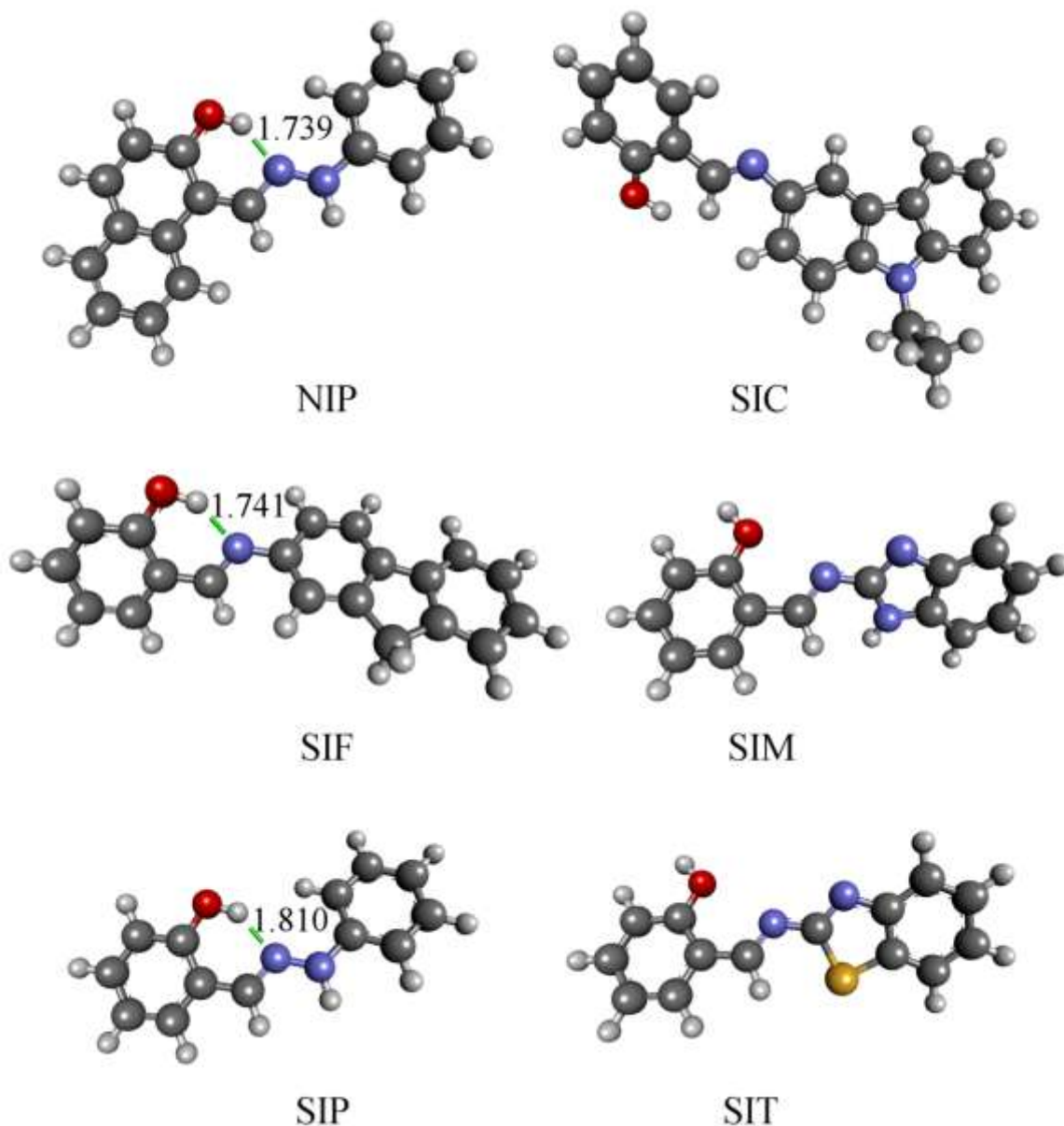


Figure 4. 4. Structures tridimensionnelles des radicaux cationiques des six azométhines et phénylhydrazones étudiées, obtenues au niveau UB3LYP / 6-311G (d, p) de la théorie, en phase éthanolique. Seuls les radicaux cationiques du NIP, du SIF et du SIP ont une liaison hydrogène intramoléculaire (en trait pointillé vert). Les valeurs mentionnées des longueurs des liaisons hydrogène (en Å) sont obtenues à l'aide du logiciel Discovery Studio 4.0 (86).

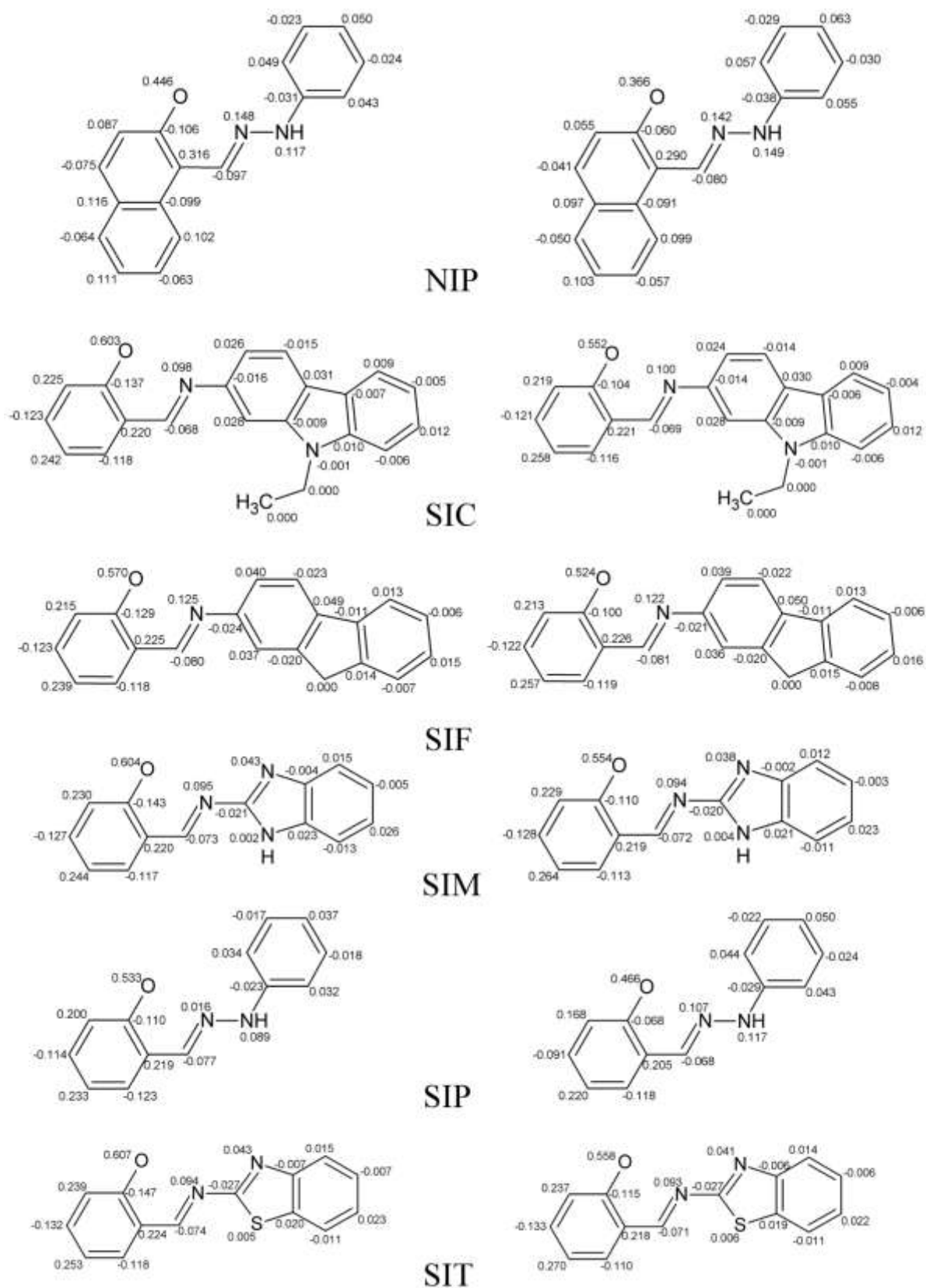


Figure 4. 5. Distribution de la densité de spin des molécules étudiées, dans un milieu éthanolique (droite) et en phase gazeuse (gauche), niveau UB3LYP/6-311G (d,p).

Tableau 4. 7. Évaluation des propriétés de « *druglikeness* » des azométhines et phénylhydrazones étudiées par le calculateur de propriétés moléculaire - *Molinspiration*.

Molécule	Log P ^a	MW ^b	nON ^c	nOHNH ^d	Nrotb ^e
NIP	5,86	262,31	3	2	3
SIC	5,36	314,39	3	1	3
SIF	5,28	285,35	2	1	2
SIM	3,22	237,26	4	2	2
SIP	4,70	212,25	3	2	3
SIT	3,97	254,31	3	1	2

^aLog P : coefficient de partage octanol-eau.

^bMW : poids moléculaire.

^cnON : nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène.

^dnOHNH : nombre de donneurs de liaisons hydrogène.

^eNrotb : nombre de liaisons rotatoires.

V.7. Conclusion

L'activité piégeage du radical stable DPPH est bien établie pour les deux phénylhydrazones (NIP et SIP) qui étaient même meilleures que les standards antioxydants BHA et BHT. Concernant leurs mécanismes d'action sur ce radical, nous proposons SPLET comme étant le mécanisme le plus favorable thermodynamiquement dans l'éthanol, avec une différence dans la nature du proton transféré. Ainsi, l'extraction du proton de la liaison O-H est plus favorable pour le NIP, alors que le départ du proton de la liaison N-H est plus approprié, dans le cas du SIP, marquant ainsi le rôle important que pourra jouer cette la liaison N-H dans l'activité anti-radicalaire. D'autre part, pour les tests CUPRAC et FRAP, les molécules testées ont été ordonnées comme suit: "NIP > SIP > SIF > SIC > SIM > SIT" et "NIP > SIP > SIF", respectivement. Ces résultats sont en excellent accord avec les valeurs d'IP et d'E_{HOMO} calculés. L'existence de liaisons hydrogène intramoléculaires pour les radicaux cationiques des molécules les plus actives exclusivement, NIP, SIP et SIF, constitue un élément stabilisant quant à la formation de ces radicaux. Notons qu'aucune activité anti-tyrosinase n'a été enregistrée pour les six composés étudiés dans ce chapitre. Par ailleurs, la perméabilité pharmacocinétique et la biodisponibilité orale des molécules de cette série a été évaluée par le calculateur des propriétés moléculaires - *Molinspiration*. Les résultats de cette évaluation sont très rassurants. Ainsi et en se basant sur les parties expérimentales et théoriques de notre étude, nous pensons qu'avec des tests supplémentaires, nos composés peuvent être utilisés pour prévenir l'oxydation des produits pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires où encore être proposés comme candidat-médicament.

Chapitre V

ÉTUDE DE LA SÉRIE DES SEMICARBAZONES

Chapitre V : Étude de la série des semicarbazones

V.1. Introduction

Les semicarbazones sont des composés caractérisés par le groupe $C=N-NH-C(=O)-NR'R''$. Plusieurs études ont illustré l'activité antioxydante de ce type d'entités chimiques (117) ainsi que leurs complexes (118).

Dans la présente partie de ce travail, une série de quatre semicarbazones, notées SEM1 à SEM4 (figure 5. 1), ont été synthétisées, caractérisées par RMN 1H et IR. Leur activité antioxydante a été ensuite évaluée par trois tests: le test d'activité du piégeage du DPPH, le test CUPRAC et le test FRAP. Le mécanisme d'action correspondant est investigué à travers le calcul des descripteurs moléculaires dans le cadre de la DFT. Nous avons aussi testé l'activité anti-tyrosinase de nos semicarbazones expérimentalement et réalisé un calcul d'amarrage moléculaire, en parallèle.

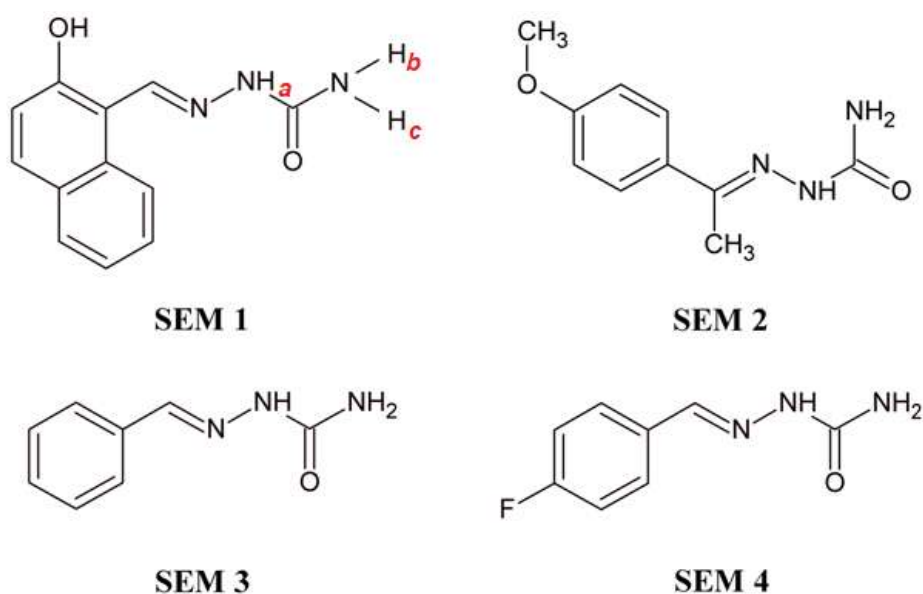


Figure 5. 1. Structures chimiques des semicarbazones étudiées.

V.2. Synthèse

Nos semicarbazones ont été synthétisés en ajoutant une quantité catalytique d'acide acétique à un mélange de 0,01 mol d'aldéhyde dissout dans 10 ml d'éthanol. Le mélange réactionnel est mis sous agitation pendant 20 minutes. Lorsque la solution devient claire, 0,01

mol de chlorhydrate de semicarbazide sont alors ajoutés, et le mélange est mis sous reflux pendant 20 minutes. Le précipité formé est ensuite filtré, lavé à l'éthanol froid et séché.

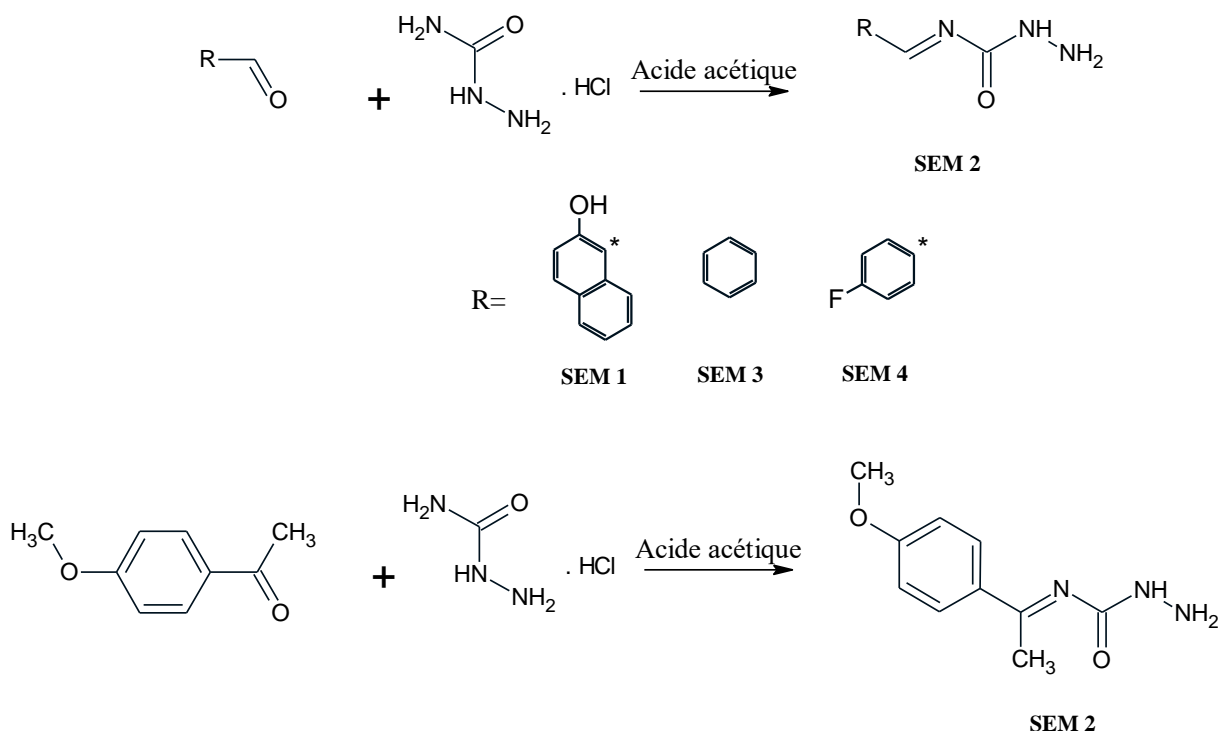


Schéma 5.1. Schéma de synthèse des quatre semicarbazones étudiées.

V.3. Évaluation de l'activité antioxydante

Les tests d'activité du piégeage du DPPH, de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC) et pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP) ont été utilisés pour estimer l'activité antioxydante des quatre semicarbazones. Les standards positifs utilisés sont le BHA et le BHT. Les résultats des trois tests sont regroupés dans le tableau 5. 1.

a. Le test d'activité du piégeage du DPPH

Parmi les semicarbazones étudiées, il n'y a que le SEM1 qui possède une activité anti-radicalaire vis-à-vis du DPPH, avec un IC_{50} de $34,73 \pm 11,23 \mu\text{g/mL}$ (tableau 5. 1). SEM1 est la seule molécule qui possède une fonction hydroxyle. Généralement, cette fonction joue un rôle très important dans l'activité antioxydante (119), particulièrement dans les composés phénoliques et polyphénoliques (120). Les autres molécules possèdent une faible activité à des concentrations supérieures à $200 \mu\text{g/mL}$, probablement due au groupe NH.

b. Le test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

Les résultats du test CUPRAC ont montré que SEM1 et SEM2 présentent une activité antioxydante, meilleure que les standards testés dans le cas du SEM1, avec des valeurs de $A_{0,50}$ de $4,05 \pm 0,68 \mu\text{g/mL}$ et de $89,10 \pm 10,97 \mu\text{g/mL}$, respectivement. Alors qu'aucune activité n'a été observée pour le SEM3 et le SEM4.

c. Le test du pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP)

Le SEM1 est encore une fois la seule molécule qui a montré un pouvoir réducteur par rapport au complexe du fer avec une $A_{0,50}$ de $5,40 \pm 1,04 \mu\text{g/mL}$ (tableau 5. 1). Les autres semicarbazones testés n'ont pas d'activité.

Tableau 5. 1. Résultats des tests de l'activité antioxydante (activité du piégeage du DPPH, FRAP et CUPRAC) réalisés sur la série des semicarbazones. Les valeurs correspondantes des standards antioxydants y sont rapportées.

Composé	Activité antioxydante		
	Test du DPPH $IC_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$) ^c	Test CUPRAC $A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$) ^b	Test FRAP $A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$)
SEM1	$43,04 \pm 3,17$	$4,05 \pm 0,68$	$5,40 \pm 1,04$
SEM2	PA ^a	$89,10 \pm 10,97$	> 200
SEM3	> 200	> 200	> 200
SEM4	> 200	> 200	> 200
BHA	$6,14 \pm 0,41$	$5,35 \pm 0,71$	$6,77 \pm 1,15$
BHT	$12,99 \pm 0,41$	$8,97 \pm 3,94$	$5,39 \pm 0,91$

^aPA : Pas d'absorbance.

^b $A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$) : La concentration de l'échantillon indiquant une absorbance de 0,5.

^c IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$): Concentration de l'échantillon correspondant au piégeage de 50% de la concentration initiale du DPPH.

V.4. Les calculs DFT

a. Modélisation moléculaire et optimisation de la géométrie

Pour toutes les structures optimisées des semicarbazones étudiées, les calculs de fréquences vibrationnelles, n'ont montré aucune fréquence négative affirmant qu'il ne s'agit pas de minima imaginaires.

b. Calcul des descripteurs moléculaires

D'après les valeurs des descripteurs moléculaires calculés dans le solvant, nous constatons que pour SEM1, la seule molécule qui a présenté une activité de piégeage du DPPH, l'ordre des descripteurs était $PA < BDE < IP$ (tableau 5. 2). Cela signifie que le mécanisme le plus probable du point de vue thermodynamique est SPLET.

Tableau 5. 2. Valeurs des descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) (kJ/mol) calculées dans le solvant (éthanol), pour les semicarbazones testées et les standards.

Molécule	BDE	IP	PDE	PA	ETE
SEM1	351,84	449,59	95,27	231,45	313,42
SEM2	NOB ^a	415,70	NOB	NOB	NOB
SEM3	NOB	492,14	NOB	NOB	NOB
SEM4	NOB	495,38	NOB	NOB	NOB
BHA	357,61	447,17	103,46	288,79	261,84
BHT	347,45	464,94	75,53	264,36	276,11

^aNOB: aucune liaison O-H.

Tableau 5. 3. Valeurs des descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) (kJ/mol) calculées sous vide (phase gazeuse), pour les semicarbazones testées et les standards.

Molécule	BDE	IP	PDE	PA	ETE
SEM1	363,75	736,14	271,22	1414,32	268,17
SEM2	NOB ^a	683,87	NOB	NOB	NOB
SEM3	NOB	744,27	NOB	NOB	NOB
SEM4	NOB	741,62	NOB	NOB	NOB
BHA	363,39	717,91	926,50	1488,69	156,76
BHT	349,19	722,41	943,59	1461,39	204,61

^aNOB: aucune liaison O-H.

L'effet du solvant sur les différents descripteurs moléculaires du SEM1, montre clairement que le mécanisme SPLET est thermodynamiquement favorisé, à travers l'abaissement important de la valeur du PA. D'autre part, les valeurs d'IP sont réduites aussi, encourageant ainsi toute activité antioxydante à transfert d'électrons (tableau 5. 4).

Tableau 5. 4. Effet du solvant sur les descripteurs moléculaires (Δ BDE, Δ IP, Δ PDE, Δ PA et Δ ETE) (kJ/mol), pour les semicarbazones étudiées.

Molécule	Δ BDE	Δ IP	Δ PDE	Δ PA	Δ ETE
SEM1	-11,91	-286,55	-175,95	-1182,87	45,25
SEM2	/	-268,17	/	/	/
SEM3	/	-252,13	/	/	/
SEM4	/	-246,24	/	/	/

La semicarbazone la plus active SEM1, possède trois autres possibilités de transfère d'hydrogène, noté H_a , H_b , H_c , à partir de ses liaisons N-H (figure 5. 1). La comparaison de leurs valeurs de la BDE et du PA (tableau 5. 5) avec celles de la liaison O-H (tableaux 5. 2, 5. 3) permet de dire que le transfert du proton O-H, via un mécanisme SPLET, est thermodynamiquement plus favorable.

Tableau 5. 5. Les valeurs de la BDE et du PA des trois liaisons N-H du SEM1 semicarbazones étudiées (kJ/mol), calculées dans le vide et dans l'éthanol.

N-H	BDE		PA	
	Vide	Ethanol	Vide	Ethanol
SEM1 H_a	357,10	378,61	1444,44	266,68
SEM1 H_b	455,86	460,77	1536,75	327,70
SEM1 H_c	422,16	442,92	1513,78	315,84

Tableau 5. 6. Les niveaux d'énergie des orbitales HOMO et LUMO et les valeurs du Gap ($E_{LUMO}-E_{HOMO}$) (en eV) calculés pour les semicarbazones étudiées.

Molécule	SEM1	SEM2	SEM3	SEM4
E_{HOMO} (eV)	-5,81	-5,82	-6,18	-6,16
E_{LUMO} (eV)	-1,89	-1,20	-1,61	-1,64
Gap (eV)	3,92	4,62	4,57	4,52

V.5. Activité anti-tyrosinase

Toutes les semicarbazones testées exhibent une activité anti-tyrosinase moyenne. SEM2 en a montré l'activité la plus élevée parmi cette famille de composés avec pourcentage d'inhibition de $42,39 \pm 2,82$ % à 200 μ g/mL de la concentration de l'échantillon. À cette même concentration, l'ordre des autres semicarbazones selon leur activité anti-tyrosinase est : SEM1 > SEM3 > SEM4 (tableau 5. 7).

Tableau 5. 7. Valeurs du pourcentage d'inhibition de la tyrosinase (à 200 µg/mL d'échantillon) et du $\Delta G_{\text{binding}}$ des semicarbazones testées.

Molécule	% d'inhibition à 200 µg/mL ^a	$\Delta G_{\text{binding}}$ (kcal/mol)
SEM1	29,25 ± 3,59	-8,150
SEM2	42,39 ± 2,82	-7,133
SEM3	25,49 ± 1,88	-7,718
SEM4	29,01 ± 2,82	-7,010
Acide Kojique	66,95 ± 2,24	-5,859

^aLes valeurs exprimées sont les moyennes ± écarts-types de trois mesures parallèles (p<0.05).

^bNAP: aucune pose acceptable trouvée par Arguslab.

V.6. Amarrage moléculaire

D'après les résultats du calcul d'amarrage moléculaire (tableau 5. 7), le meilleur score est attribué à SEM1 avec une valeur de $\Delta G_{\text{binding}}$ de -8,150 kcal/mol, suivi par SEM3, SEM2 et SEM4 avec une $\Delta G_{\text{binding}}$ égale à -7,718 kcal/mol, -7,133 kcal/mol et -7,010 kcal/mol, respectivement. Cet ordre est quasiment celui du test expérimental d'anti-tyrosinase. Le résultat de l'amarrage moléculaire avec la molécule standard (acide kojique) est également donné et vaut -5,859 kcal/mol.

L'analyse des interactions enzyme-ligands a montré que les quatre molécules étaient ancrées dans la poche du site actif de l'enzyme (figure 5. 2), située autour du centre bi-nucléaire de cuivre (CuA et CuB) (98). Ces interactions sont de différents types avec notamment des liaisons hydrogène (quatre pour SEM3, trois pour SEM2 une pour SEM1 et SEM4), plusieurs interactions électrostatiques pour SEM1 et SEM2, des interactions hydrophobiques pour SEM3 et SEM4. D'autres interactions de type halogène sont observées pour SEM4 (tableau 5. 8).

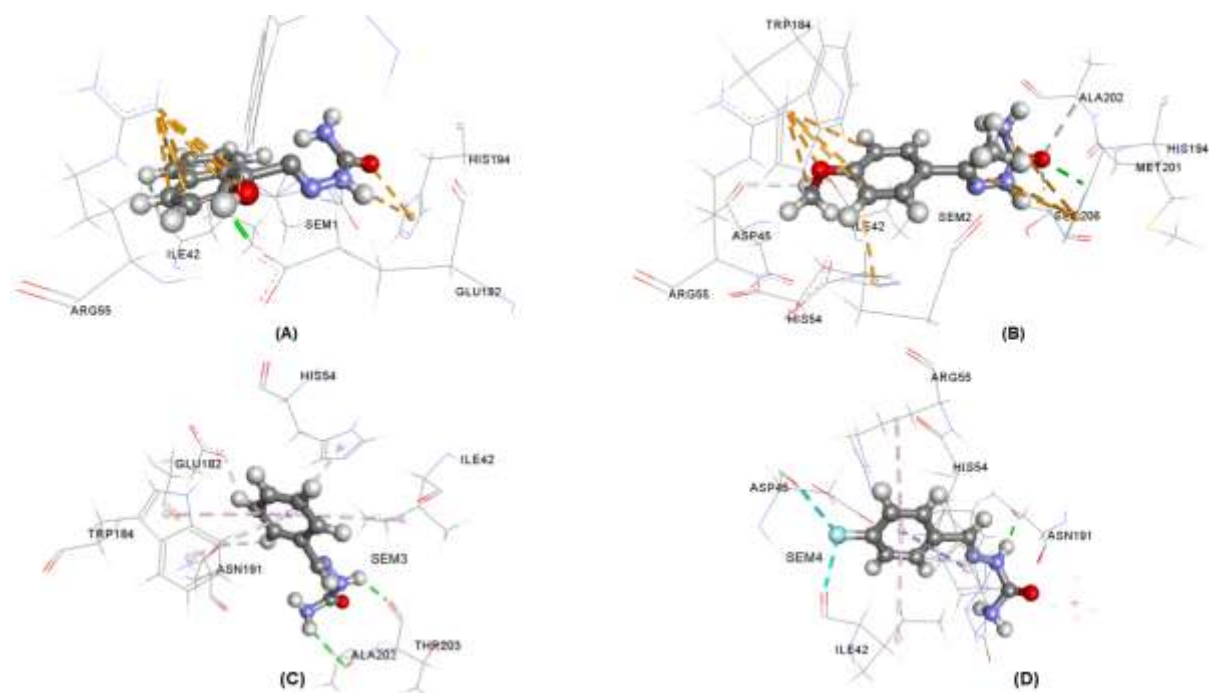


Figure 5. 2. Interactions de la tyrosinase avec: SEM1 (A), SEM2 (B), SEM3 (C) et SEM4 (D). Les ligands sont représentés sous forme de boules-bâtonnets, tandis que tous les autres résidus sont représentés sous forme de fil de fer, à l'exception de ceux qui interagissent avec le ligand.

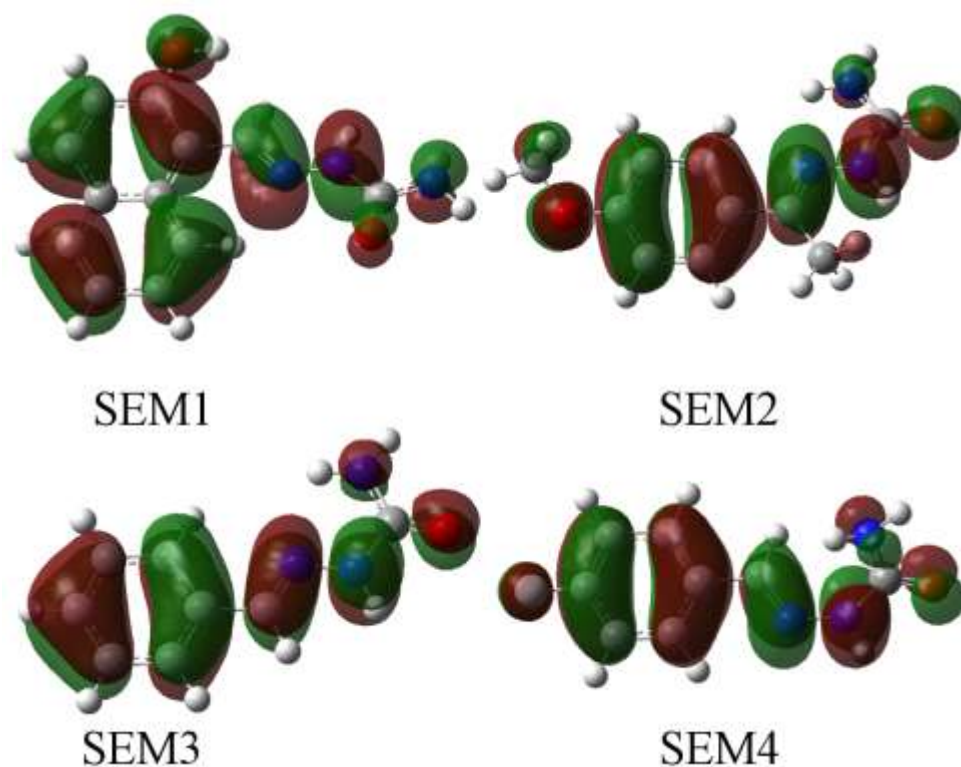


Figure 5. 3. Les isosurfaces des SOMO des radicaux cationiques ($RX-H^+$) des quatre semicarbazones étudiées, calculés au niveau UB3LYP/6-311G (d,p) de la théorie, en phase éthanolique. Chacune de ces isosurfaces est délocalisée sur tout le radical cationique correspondant.

Tableau 5. 8. Interactions intermoléculaires favorables entre les quatre semicarbazones et l'enzyme (tyrosinase).

Molécule	SEM1		SEM2		SEM3		SEM4		
	Résidu impliqué	Distance (Å)	Résidu impliqué	Distance (Å)	Résidu impliqué	Distance (Å)	Résidu impliqué	Distance (Å)	
Liaisons hydrogène	Glu182	1,875	His194	2,387	Ala202	2,791	Asn191	1,942	
			Ala202	2,975	Thr203	2,211			
			Ser206	2,038	Asn191	2,724			
					Glu182	2,185			
Interactions électrostatiques	Arg55	4,675	Arg55	3,985	/	/	/	/	
		3,958		4,190					
		3,390		3,700					
		3,868		4,630					
		3,676		2,869					
		4,116							
		3,428							
		His194		His54					4,742
		3,007							4,351
		4,306		His194					3,256
		4,984							
Interactions hydrophobiques	/	/	/	/	Ile42	5,041	Arg55	4,834	
					His54	4,316	His54	4,523	
					Trp184	5,343	Ile42	4,655	
					Trp184	4,776			
Autres	/	/	/	/	/	/	Halogène		
							Ile42	2,618	
							Asp45	2,871	

V.7. La règle de cinq de Lipinski

Toutes nos molécules répondent aux critères de la règle de Lipinski et à la condition supplémentaire relative au nombre de liaisons rotatoires (tableau 5. 9) suggérant leur bonne perméabilité pharmacocinétique et leur biodisponibilité orale.

Tableau 5. 9. Évaluation des propriétés de « *druglikeness* » des semicarbazones étudiées par le calculateur de propriétés moléculaires - *Molinspiration*.

Molécule	Log P ^a	MW ^b	nON ^c	nOHNH ^d	Nrotb ^e
SEM1	2,44	229,24	5	4	2
SEM2	1,31	207,23	5	3	3
SEM3	1,34	163,18	4	3	2
SEM4	1,50	181,17	4	3	2

^aLog P : coefficient de partage octanol-eau.

^bMW : poids moléculaire.

^cnON : nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène.

^dnOHNH : nombre de donneurs de liaisons hydrogène.

^eNrotb : nombre de liaisons rotatoires.

V.8. Conclusion

L'ensemble des tests expérimentaux utilisés (DPPH, CUPRAC et FRAP) montrent bien que parmi les semicarbazones testées, seul SEM1 présentait une bonne activité antioxydante. Ceci est étroitement lié à la fonction hydroxyle dont il se dote et qui est absente pour les autres molécules de cette série. L'existence de liaisons N-H dans les structures de nos semicarbazones n'avaient aucun rôle dans le piégeage des radicaux. Le mécanisme de piégeage du DPPH le plus favorable sur le plan thermodynamique a été étudié théoriquement et c'est le mécanisme SPLET qui est suggéré. En outre, toutes nos semicarbazones ont exhibé une activité anti-tyrosinase modérée. SEM2 en présentait la meilleure activité. L'analyse des résultats obtenus théoriquement via un calcul d'amarrage moléculaire, ont permis d'identifier les interactions qui y sont éventuellement engagées. La sujétion des quatre molécules au calculateur de propriétés moléculaires - *Molinspiration* a montré qu'elles obéissaient à la règle des cinq de Lipinski et qu'elles ne devaient présenter aucun problème quant à leur biodisponibilité orale. Enfin, pour prétendre à une éventuelle utilisation à l'échelle industrielle, SEM1 est la seule semicarbazone que nous pouvons proposer pour des tests antioxydants plus avancés.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion générale

Au bout de ce travail, nous avons pu évaluer l'activité antioxydante et anti-tyrosinase d'un ensemble de composés organiques azotés qui ont été synthétisés au laboratoire de chimie des matériaux Constantine (LCMC). Les résultats de cette évaluation expérimentale, à travers trois tests notamment (DPPH, CUPRAC et FRAP), ont dévoilé un pouvoir antioxydant confirmé, plus ou moins important. Les molécules notées SIP et NIP ont montré les meilleures activités antioxydantes dans la série des azométhines et phénylhydrazones étudiés. Elles étaient supérieures aux standards utilisés (BHA et BHT). Quant aux familles des oximes et semicarbazones testés, OX2 et SEM1, respectivement, ont présenté les meilleurs pouvoirs antioxydants parmi les autres molécules de la même famille. L'étude théorique menée en parallèle, nous a permis de proposer le mécanisme SPLET comme étant le plus favorable thermodynamiquement pour toutes les molécules présentant une activité de piégeage par rapport au radical DPPH. Les valeurs de l'affinité protonique (PA), le descripteur déterminant du mécanisme SPLET, sont en bon accord avec les résultats expérimentaux. Il convient de noter que la liaison N-H peut jouer un rôle dans l'activité anti-radicalaire, comme c'est le cas pour le SIP. D'autre part, pour les tests à transfert électronique, CUPRAC et FRAP en l'occurrence, les résultats correspondants sont en harmonie avec les potentiels d'ionisation calculés (IP).

Concernant l'activité anti-tyrosinase, les molécules testées ont montré une activité modérée. Les meilleurs résultats sont obtenus dans le cas des semicarbazones et des composés nommés SIM, SIT et OX5. Un calcul d'amarrage moléculaire nous a permis d'identifier la nature des interactions éventuellement engendrées entre la molécule testée et l'enzyme. Les énergies libres de complexation des composés exhibant une activité anti-tyrosinase, sont relativement faibles assurant ainsi une stabilité considérable aux complexes enzyme-ligand étudiés.

Ainsi, les résultats obtenus ont montré une bonne corrélation entre les études théoriques et expérimentales, confirmant conjointement le pouvoir antioxydant de nos composés, ce qui pourrait leur permettre d'être utilisés dans les industries pharmaceutiques et alimentaires. La non-violation des règles de Lipinski par nos composés constitue un bon signe quant à leur biodisponibilité orale. Néanmoins, des tests plus poussés sont nécessaires pour ratifier ces conclusions. Cela nous encourage à continuer l'investigation autour de nos

molécules en les soumettant notamment à des tests de toxicité *in vitro* et des tests *in vivo* pour confirmer leurs propriétés thérapeutiques et leur disposition à être administrés chez l'être humain.

Références bibliographiques

1. **Lee T, Cho M, Ko S Y, Youn H J, Baek D J, Cho W J, Kang C Y, Kim S J.** Synthesis and evaluation of 1,2,3-triazole containing analogues of the immunostimulant α -GalCer. *J Med Chem.* 2007; Vol. 50, n° 3, p. 587 - 589.
2. **Mortensen S K, Trier X T, Foverskov A, Petersen J H.** Specific determination of 20 primary aromatic amines in aqueous food stimulants by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2005; Vol. 1091, n° (1-2) p. 40 - 50.
3. **More P G, Bhalvankar R B, Pattar S C.** Synthesis and biological activities of Schiff bases of aminothiazoles. *J Indian Chem Soc.* 2001; Vol. 78, p. 474 - 475.
4. **Singh W M, Dash B C.** Synthesis of some new Schiff bases containing thiazole and oxazole nuclei and their fungicidal activity. *Pesticides.* 1988; Vol. 22, p. 33 - 37.
5. **Hodnett E M, Dunn W J.** Structure-antitumour activity correlation of some Schiff bases. *J Med Chem.* 1970; Vol. 13, p. 768 - 770.
6. **Samadhiya S, Halve A.** Synthetic utility of Schiff bases as potential herbicidal agents. *Orient J Chem.* 2001; Vol. 17, p. 119 - 122.
7. **Aydogan F, Öcal N, Turgut Z, Yolacan C.** Transformations of aldimines derived from pyrrole-2-carboxaldehyde. Synthesis of thiazolidino-fused compounds. *Bull Korean Chem Soc.* 2001; Vol. 22, p. 476 - 480.
8. **Siddiqui H, Iqbal A, Ahmad S, Weaver W.** Synthesis and spectroscopic studies of new Schiff bases. *Molecules.* 2006; Vol. 11, n° 2, p. 206 - 211.
9. **Sztanke K, Maziarka A, Osinka A, Sztanke M.** An insight into synthetic Schiff bases revealing antiproliferative activities invitro. *Bioorg Med Chem.* 2013; Vol. 21, p. 3648 - 3666.
10. **da Silva C M, da Silva D L, Modolo L V, Alves R B, de Resende M A, Martins C V B.** Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *J Adv Res.* 2011; Vol. 2, p. 1 - 8.

11. **Panneerselvam P, Priya MG, Kumar NR, Saravanan G.** Synthesis and pharmacological evaluation of Schiff bases of 4-(2-aminophenyl)-morpholines. *Indian J Pharm Sci.* 2009; Vol. 71, n° 4, p. 428 - 432.
12. **Neelakantan M A, Esakkiammal M, Mariappan S S, Dharmaraja J, Jeyakumar T.** Synthesis, characterization and biocidal activities of some Schiff base metal complexes. *Indian J Pharm Sci.* 2010; Vol. 72, n° 2, p. 216 - 222.
13. **Alaghaz A M A, Zayed M E, Alharbi S A.** Synthesis, spectral characterization, molecular modeling and antimicrobial studies of tridentate azo-dye Schiff base metal complexes. *J Mol Struct.* 2015; Vol. 1084, p. 36 - 45.
14. **Purtas F, Sayin K, Ceyhan G, Kose M, Kurtoglu M.** New fluorescent azo-Schiff base Cu(II) and Zn(II) metal chelates; spectral, structural, electrochemical, photoluminescence and computational studies. *J Mol Struct.* 2017; Vol. 1137, p. 461-475.
15. **Ren T, Wang J, Li G, Li Y.** Synthesis, characterization and in vitro antitumor activity of novel Schiff bases containing pyrazole group. *Asian J Chem.* 2014; Vol. 26, p. 8309 - 8313.
16. **Gama S, Mendes F, Marques F, Santos I C, Carvalho M F, Correia I.** Copper(II) complexes with tridentate pyrazolebased ligands: synthesis, characterization, DNA cleavage activity and cytotoxicity. *J Inorg Biochem.* 2011; Vol. 105, p. 637 - 644.
17. **Abu Bakr S, Abd El-Karim S S, Said M M, Youns M M.** Synthesis and anticancer evaluation of novel isoxazole/ pyrazole derivatives. *Res Chem Intermed.* 2016; Vol. 42, p. 1387 - 1399.
18. **Eren T, Köse M, Kurtoğlu N, Ceyhan G, McKee V, Kurtoğlu M.** An azo-azomethine ligand and its copper(II) complex: Synthesis, X-ray crystal structure, spectral, thermal, electrochemical and photoluminescence properties. *Inorg Chim Acta.* 2015; Vol. 430, p. 268 - 279.
19. **Köse M, Kurtoğlu N, Gümüşsu Ö, Tutak M, McKee V, Karakaş D, Kurtoğlu M.** Synthesis, characterization and antimicrobial studies of 2-{(E)-[(2-hydroxy-5-

- methylphenyl)imino]methyl}-4-[(E)-phenyldiazenyl] phenol as a novel azo-azomethine dye. *J Mol Struct.* 2013; Vol. 1053, p. 89 - 99.
20. **Zakerhamidi M S, Nejati K, Sorkhabi S G, Saati M.** Substituent and solvent effects on the spectroscopic properties and dipole moments of hydroxyl benzaldehyde azo dye and related Schiff bases. *J Mol Liq.* 2013; Vol. 180, p. 225 - 234.
 21. **Jadot G.** *Antioxydant et vieillissement.* Paris : Jhon Libbey Eurotext, 1994, 300 p.
 22. **Jacques B, André R.** *Biochimie métabolique.* Paris : Ellipses, 2004, 285 p.
 23. **Martinez-Cayuela M.** Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.* 1995; Vol. 77, p. 147 - 161.
 24. **Bhuiyan M A R, Hoque M Z, Hossain S J.** Free radical scavenging activities of zizyphus mauritiana. *World Journal of Agricultural Sciences.* 2009; Vol. 3, n° 5, p. 318 - 322.
 25. **Favier A.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* 2003; p. 108 - 115
 26. **Krippeit-Drews P, Lang F, Haussinger D, Drews G.** H₂O₂ induced hyperpolarization of pancreatic B-cells. *Pflugers Arch.* 1994; Vol. 426, p. 552 - 554.
 27. **Atawodi S E.** Antioxidant potential of African plants. *Afr J Biotechnol.* 2005; Vol. 2, n° 4, p. 128 - 133.
 28. **Georgetti S R, Casagrande R, Di Mambro V M, Azzolini Ana E C S, Fonseca Maria J V.** Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS PharmSci Tech.* 2003; Vol. 2, n° 5, p. 86 - 87.
 29. **Avissar N, Whitin JC, Allen PZ.** Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. *J Biol Chem.* 1989; Vol. 2, p. 15850 - 15855.
 30. **Ganther H E.** Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxinreductase. *Carcinogenesis.* 1999; Vol. 19, n° 20, p. 1657- 1666.

31. **Mirończuk-Chodakowska I, Witkowska AM, ElżbietaZujko M.** Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body, *Adv Med Sci.* 2018; Vol. 63, n° 1, p 68 – 78.
32. **Gardès-Albert M, Bonnefont-Rousselot D, Abedinzadeh Z, Jore D.** Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique.* 2003; Vol. 270, p. 91 - 96.
33. **Hohenberg P, Kohn W.** Inhomogeneous electron gas. *Phys Rev.* 1964; Vol. 136, p. b864 - b871.
34. **Chaquin P.** *Manuel de chimie théorique. Application à la structure et à la réactivité en chimie moléculaire.* Paris : Ellipses Edition Marketing S.A, 2000, 224 p.
35. **Becke A D.** Perspective: Fifty years of density-functional theory in chemical physics. *J Chem Phys.* 2014; Vol. 18, n° 140, p. 18A301-1 - 18A301-18.
36. **Moltved K A, Kepp K P.** Chemical bond energies of 3d transition metals studied by density functional theory. *J Chem Theory Comput.* 2018; Vol. 7, n° 14, p. 3479 - 3492.
37. **Thomas L H.** The calculation of atomic fields. *Proc Cambridge Philos Soc.* 1927; Vol. 23, p. 542 - 548.
38. **Slater J C.** A Simplification of the Hartree-Fock method. *Phys Rev.* 1951; Vol. 81, p. 385 - 390.
39. **Sousa S F, Fernandes P A, Ramos M J.** General performance of density functionals. *J Phys Chem A.* 2007; Vol. 111, p. 10439-10452.
40. **Kohn W, Sham L J.** Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Phys Rev A.* 1965; Vol. 140, p. 1133 - 1138.
41. **Dirac P A M.** Note on exchange phenomena in the Thomas atom. *Proc Camb Phil Soc.* 1930; Vol. 26, n° 3, p. 376 - 385.
42. **Vosko S H, Wilk L, Nusair M.** Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis. *J Phys.* 1980; Vol. 58, n° 8, p. 1200 - 1211.

43. **Ceperley D M, Alder B J.** Ground state of the electron gas by a stochastic method. *J Phys Rev Lett.* 1980; Vol. 45, p. 566 - 569.
44. **Cazade P-A.** *Interactions chromophore-substrat dans les matériaux hybrides : approche spectroscopique expérimentale et théorique.* Thèse de doctorat en chimie - physique, Pau : Université de Pau et des pays de l'Adour, 2008, 322 p.
45. **Betranhandy E.** *Proposition et études ab initio des stabilités relatives de nouveaux matériaux par géomimétisme structural : Modélisation des propriétés physico-chimiques.* Thèse de doctorat en physico-chimie de la matière condensée. Bordeaux : Université de Bordeaux 1, 2005, 170 p. Format PDF. Disponible sur : <<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00010964/document>> (consulté le 24/10/2019).
46. **Kherrouba A.** *Etude par DFT et TD-DFT de la structure et des propriétés optiques de quelques complexes de métaux de transition.* Mémoire de magister en chimie théorique. Constantine : Université de Constantine 1, 2011, 85 p. Format PDF. Disponible sur : <<https://bu.umc.edu.dz/theses/chimie/KHE6155.pdf>> (consulté le 24/10/2019).
47. **Tschinke V, Ziegler T.** On the shape of spherically averaged Fermi-hole correlation functions in density functional theory. 1. Atomic systems. *Can J Chem.* 1989; Vol. 67, p. 460 - 472.
48. **Perdew J P, Kurth S, Zupan A, Blaha P.** Accurate Density Functional with Correct Formal Properties: A Step Beyond the Generalized Gradient Approximation. *Phys Rev Lett.* 1999; Vol. 82, n° 12, p. 2544 - 2547.
49. **Becke A D.** A new mixing of Hartree–Fock and local density-functional theories. *J Chem Phys.* 1993; Vol. 98, n° 2, p. 1372 - 1377.
50. **Becke A D.** Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J Chem Phys.* 1993; Vol. 98, n° 7, p. 5648 - 5656.
51. **Becke A D.** Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behaviour. *Phys Rev A.* 1988; Vol. 38, p. 3098 - 3100.
52. **Perdew J P, Wang Y.** Accurate and simple analytic representation of the electron-gas correlation energy. *Phys Rev B.* 1992; Vol. 45, p. 13244 - 13249.

53. **Lee C, Yang W, Parr R G.** Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys Rev B.* 1988; Vol. 37, p. 785 - 789.
54. **Swart M, Bickelhaupt F M, Duran M.** *DFT2016 Poll.* [en ligne]. (Crée en Octobre 2016). Disponible sur : <<http://www.marcelswart.eu/dft-poll/news2016.pdf>> (Consulté le 04/10/2019).
55. **Nam P C, Quan V V, Thong N M, Thao P T T.** Bond dissociation enthalpies in benzene derivatives and effect of substituents: an overview of density functional theory (B3LYP) based computational approach. *Vietnam J Chem.* 2017; Vol. 55, n° 6, p. 679 - 691.
56. **Klein E, Rimarčík J, Lukeš V.** DFT/B3LYP Study of the O–H bond dissociation enthalpies and proton affinities of para- and meta-substituted phenols in water and benzene. *Acta Chim Slov.* 2009; Vol. 2, n° 2, p. 37 - 51.
57. **Cramer. C,** *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*, ed. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, 2004, 618 p.
58. **Peverati R, Truhlar D G.** Improving the accuracy of hybrid meta-gga density functionals by range separation. *J Phys Chem Lett.* 2011; Vol. 21, n° 2, p. 2810 – 2817.
59. **Slater J C.** Atomic Shielding Constants. *Phys Rev.* 1930; Vol. 36, p. 57 - 64.
60. **Silver D M.** Basis sets of Gaussian and Slater-type atomic orbitals. *Chem Phys Lett.* 1970; Vol. 7, n° 5, p. 511 - 516.
61. **Boys S F.** Electronic wavefunctions. I. A general method of calculation for stationary states of any molecular system. *Proc Roy Soc.* 1950; Vol. A200, p. 542 - 554.
62. **Ditchfield R, Hehre W J, Pople J A.** Self-consistent molecular-orbital methods. IX. An extended Gaussian-type basis for molecular-orbital studies of organic molecules. *J Chem Phys.* 1971; Vol. 54, n° 2, p. 724 - 728.
63. **Hehre W J, Ditchfield R, Pople J A.** Self-consistent molecular orbital methods. XII. Further extensions of Gaussian—type basis sets for use in molecular orbital studies of organic molecules. *J Chem Phys.* 1972; Vol. 56, p. 2257 - 2261.

64. **Wong M W, Gill P M W, Nobes R H, Radom L.** 6-311G (MC)(d, p): a second-row analogue of the 6-311G (d, p) basis set: calculated heats of formation for second-row hydrides. *J Phys Chem.* 1988; Vol. 92, p. 4875 - 4880.
65. **Yi W, Dubois C, Yahiaoui S, Haudecoeur R, Belle C, Song H, Hardré R, Réglie M, Boumendjel A.** Refinement of arylthiosemicarbazone pharmacophore in inhibition of mushroom tyrosinase. *Eur J Med Chem.* 2011; Vol. 46, n° 9, p. 4330 - 4335.
66. **Khan V.** Effect of kojic acid on the oxidation of DL-DOPA, norepinephrine, and dopamine by mushroom tyrosinase. *Pigment Cell Res.* 1995; Vol. 8, p. 234 - 240.
67. **Van Gelder C W G, Flurkey W H, Wichers H J.** Sequence and structural features of plant and fungal tyrosinases. *Phytochemistry.* 1997; Vol. 45, p. 1309 - 1323.
68. **Rho H S, Baek H S, Ahn S M, Kim M K, Ghimeray A K, Cho D H, Hwang J S.** Synthesis and biological evaluation of kojyl thioether derivatives as tyrosinase inhibitors. *Bull Korean Chem Soc.* 2010; Vol. 31, p. 2375 - 2378.
69. **Blois M S.** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* 1958; Vol. 81, p. 1199 - 1200.
70. **Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir S E.** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J Agric Food Chem.* 2004; Vol. 52, p. 7970 - 798.
71. **Oyaizu M.** Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr.* 1986; Vol. 44, p. 307 - 315.
72. **Masuda T, Yamashita D, Takeda Y, Yonemori S.** Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *garcinia subelliptica*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2005; Vol. 69, p. 197 - 201.
73. **Cancès E, Mennucci B, Tomasi J.** A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: Theoretical background and applications to isotropic and anisotropic dielectrics. *J Chem Phys.* 1997; Vol. 107, p. 3032 - 3041.

74. **Leopoldini M, Russo N, Toscano M.** The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chem.* 2011; Vol. 125, p. 288 - 306.
75. **Musialik M, Litwinienko G.** Scavenging of dpph• radicals by vitamin E is accelerated by its partial ionization: the role of sequential proton loss electron transfer. *Org Lett.* 2005; Vol. 7, p. 4951 - 4954.
76. **Fifen J J, Nsangou M, Dhaouadi Z, Motapon O, Jaidane N.** Solvent effects on the antioxidant activity of 3,4-dihydroxyphenylpyruvic acid : DFT and TD-DFT studies. *Comput Theor Chem.* 2011; Vol. 966, p. 232 - 243.
77. **Apak R, Güçlü K, Demirata B, Özyürek M, Çelik S E, Bektaşoğlu B, Berker K I, Özyurt D.** Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules.* 2007; Vol. 12, p. 1496 - 1547.
78. **Jabbari M, Mir H, Kanaani A, Ajloo D.** Kinetic solvent effects on the reaction between flavonoid naringenin and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical in different aqueous solutions of ethanol: an experimental and theoretical study. *J Mol Liq.* 2014; Vol. 196, p. 381 - 391.
79. **Bartmess J E.** Thermodynamics of the electron and the proton. *J Phys Chem.* 1994; Vol. 98, p. 6420 - 6424.
80. **Bamonti L, Hosoya T, Pirker K F, Böhmendorfer S, Mazzini F, Galli F, Netscher T, Rosenau T, Gille L.** Tocopheramines and tocotrienamines as antioxidants: ESR spectroscopy, rapid kinetics and DFT calculations. *Bioorg Med Chem.* 2013; Vol. 21, p. 5039 - 5046.
81. **Tošović J, Marković S, Milenković D, Marković Z.** Solvation enthalpies and Gibbs energies of the proton and electron: influence of solvation models. *J Serb Soc Comput Mech.* 2016; Vol. 10, p. 66 - 76.
82. Gaussian 09, Revision E.02, **Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Scalmani G, Barone V, Petersson GA, Nakatsuji H, Li X, Caricato M, Marenich A, Bloino J, Janesko BG, Gomperts R, Mennucci B, Hratchian HP, Ortiz JV, Izmaylov AF, Sonnenberg JL, Williams-Young D, Ding F, Lipparini F,**

- Egidi F, Goings J, Peng B, Petrone A, Henderson T, Ranasinghe D, Zakrzewski VG, Gao J, Rega N, Zheng G, Liang W, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Vreven T, Throssell K, Montgomery JA, Jr., Peralta JE, Ogliaro F, Bearpark M, Heyd JJ, Brothers E, Kudin KN, Staroverov VN, Keith T, Kobayashi R, Normand J, Raghavachari K, Rendell A, Burant JC, Iyengar SS, Tomasi J, Cossi M, Millam JM, Klene M, Adamo C, Cammi R, Ochterski JW, Martin RL, Morokuma K, Farkas O, Foresman JB, Fox DJ, Gaussian Inc, Wallingford CT, 2016.**
83. GaussView, Version 5.0.9, Dennington R, Keith TA, Millam JM, Semichem Inc., Shawnee Mission, KS, 2016.
84. **Thompson M A.** (2004). Molecular docking using ArgusLab, an efficient shape-based search algorithm and the AScore scoring function. ACS meeting, Philadelphia, 172, CINF 42, PA.
85. **Warren G L, Do T D, Kelley B P, Nicholls A, Warren S D.** Essential considerations for using protein-ligand 2 structures in drug discovery. *Drug Discov Today*. 2012; Vol. 17, p. 1270 - 1281.
86. Dassault systèmes biovia, discovery studio modeling environment, release 2017, San Diego: Dassault systèmes, 2016.
87. **Lipinski C A, Lombardo F, Dominy B W, Feeney P J.** Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev*. 1997; Vol. 23, n° 1-3, p. 3 - 25.
88. **Veber D F, Johnson S R, Cheng H-Y, Smith B R, Ward K W, Kopple K D.** Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem*. 2002; Vol. 45, p. 2615 - 2623.
89. **Potaniec B, Grabarczyk M, Stompor M, Szumny A, Zieliński P, Żołnierczyk A K, Anioł M.** Antioxidant activity and spectroscopic data of isoxanthohomol oxime and related compounds. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc*. 2014; Vol. 118, p. 716 - 723.

90. **Türkkan B, Özyürek M, Bener M, Güçlü K, Apak R.** Synthesis, characterization and antioxidant capacity of naringenin-oxime. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc.* 2012; Vol. 85, p. 235 - 240.
91. **Puntel G O, Gubert P, Peres G L, Bresolin L, Rocha J B T, Pereira M E, Carratu V S, Soares F A A.** Antioxidant properties of oxime 3-(phenylhydrazono) butan-2-one. *Arch Toxicol.* 2008; Vol. 82, p. 755 - 762.
92. **Tallam S K, Latha D S, Sowjanya G, Swathi P, Bharathi V, Sreenivasulu V.** Synthesis, characterization and pharmacological evaluation of substituted N-benzyl isatin 3-oximes. *J Global Trends Pharm Sci.* 2016; Vol. 7, p. 3057 - 3064.
93. **Kassa J.** Review of oximes in the antidotal treatment of poisoning by organophosphorus nerve agents. *J Toxicol Clin Toxicol.* 2002; Vol. 40, p. 803 - 816.
94. **Ley J P, Bertram H-J.** Hydroxy- or methoxy-substituted benzaldoximes and benzaldehyde-o-alkyloximes as tyrosinase inhibitors. *Bioorg Med Chem.* 2001; Vol. 9, p. 1879 - 1885.
95. **Radhakrishnan S, Shimmon R, Conn C, Baker A.** Integrated kinetic studies and computational analysis on naphthyl chalcones as mushroom tyrosinase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2015; Vol. 25, p. 4085 - 4091.
96. **Greene T W, Wuts P G M.** *Protective groups in organic synthesis.* New York, NY : John Wiley & Sons Inc, 2006, 1264 p.
97. **Zhang H Y, Ji H F.** How vitamin E scavenges DPPH radicals in polar protic media. *New J Chem.* 2006; Vol. 30, p. 503 - 504.
98. **Matoba Y, Kumagai T, Yamamoto A, Yoshitsu H, Sugiyama M.** Crystallographic evidence that the dinuclear copper center of tyrosinase is flexible during catalysis. *J Biol Chem.* 2006; Vol. 281, p. 8981 - 8990.
99. **Pânzariu A, Vasincu I M, Dragostin O M, Drăgan M, Buron F, Routier S, Profire L.** New arginine derivatives - synthesis and biological evaluation. *FARMACIA.* 2015; Vol. 63, n° 4, p. 581 - 585.

100. **Anouar E H, Raweh S, Bayach I, Taha M, Baharudin M S, Di Meo F, Hasan M H, Adam A, Ismail N H, Weber J F, Trouillas P.** Antioxidant properties of phenolic Schiff bases: structure–activity relationship and mechanism of action. *J Comput Aided Mol Des.* 2013; Vol. 27, n° 11, p. 951 - 964.
101. **Arulmurugan S, Kavitha H P, Venkatraman B R.** Biological activities of Schiff base and its complexes: a review. *Russ J Chem.* 2010; Vol. 3, n° 3, p. 385 - 410.
102. **Zaltariov M F, Rudic V, Rudi L, Chiriac T, Shova S, Vlada A, Cazacu M.** Synthesis, characterization and evaluation of antioxidant activity of a new ferrocenyl-imine containing siloxane sequence. *Rev Roum Chim.* 2015; Vol. 60, n° 7, p. 797 - 802.
103. **Wang X, Chen Y F, Yan W, Cao L L, Ye Y H.** Synthesis and biological evaluation of benzimidazole phenylhydrazone derivatives as antifungal agents against phytopathogenic fungi. *Molecules.* 2016; Vol. 21, n° 11, p. 1574 - 1587.
104. **Tadele K T.** Antioxidant activity of Schiff bases and their metal complexes: a recent review. *J Pharm Med Res.* 2017; Vol. 3, n° 1, p. 73 - 77.
105. **Cheng L X, Tanga J J, Luo H, Jin X L, Dai F, Yang J, Qian Y P, Li X Z, Zhou B.** Antioxidant and antiproliferative activities of hydroxyl-substituted Schiff bases. *Bioorg Med Chem Lett.* 2010; Vol. 20, n° 8, p. 2417 - 2420.
106. **Yorur-Goreci C, Altas-Kiyamaz N, Peksel A, Bilgin-Eran B, Sonmez M.** New p-substituted salicylaldehyde phenylhydrazone derivatives synthesis, characterization, and antioxidant activities. *Sci Pharm.* 2014; Vol. 82, n° 4, p. 735 - 747.
107. **Kumar G V, Khatoon B B A, Kumar K A.** Design and synthesis of novel pyrazolines as potent antimicrobial and antioxidant agents. *J Chem Pharm Res.* 2015; Vol. 7, n° 4, p. 854 - 859.
108. **Guergouri M, Bensegueni R, Khelifa Baghdouche A, Bencharif L.** A Comparative Study of Two Different Media Effect on the Electropolymerization of 2-(9-ethylcarbazol-3-yliminomethyl)phenol by Cyclic Voltammetry, Impedance Spectroscopy, XPS, UV-visible Measurements and DFT Calculation. *Int Res J Pure Appl Chem.* 2017; Vol. 15, n° 3, p. 1 - 18.

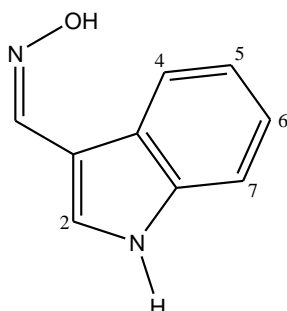
109. **Lee S A, You G R, Choi Y W, Jo H Y, Kim A R, Noh I, Kim S J, Kim Y, Kim C.** A new multifunctional Schiff base as a fluorescence sensor for Al³⁺ and a colorimetric sensor for CN⁻ in aqueous media: an application to bioimaging. *Dalton Trans.* 2014; Vol. 43, n° 18, p. 6650 - 6659.
110. **Cozzi P G.** Metal–salen Schiff base complexes in catalysis : practical aspects. *Chem Soc Rev.* 2004; Vol. 33, p. 410 - 421.
111. **Petrovic Z D, Dorovic J, Simijonovic D, Petrovic V P, Markovic Z.** Experimental and theoretical study of antioxidative properties of some salicylaldehyde and vanillic Schiff bases. *RSC Adv.* 2015; Vol. 5, p. 24094 - 24100.
112. **Baykara H, Ilhan S, Levent A, Seyitoglu M S, Özdemir S, Okumus V, Öztomsuk A, Cornejo M.** Synthesis, characterization and experimental, theoretical, electrochemical, antioxidant and antibacterial study of a new Schiff base and its complexes. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2014; Vol. 130, p. 270 - 279.
113. **Langlois N, Dang T P, Kagan H B.** Synthèse asymétrique d'amines par hydrosilylation d'imines catalysée par un complexe chiral du rhodium. *Tetrahedron Lett.* 1973; Vol. 14, 49, p. 4865 - 4868.
114. **Weast R C, Astle M J.** *Hand book of chemistry and physics CRC, 61st ed.* Boca Raton, Florida : CRC Press, 1980, 2502 p.
115. **Antonczak S.** Electronic description of four flavonoids revisited by DFT method. *J Mol Struct THEOCHEM.* 2008; Vol. 856, n° 1-3, p. 38 - 45.
116. **Xue Y, Zheng Y, An L, Dou Y, Liu Y.** Density functional theory study of the structure–antioxidant activity of polyphenolic deoxybenzoins. *Food Chem.* 2014; Vol. 151, p. 198 - 206.
117. **Singhal M, Paul A, Singh H P.** Synthesis and reducing power assay of methyl semicarbazone derivatives. *J Saudi Chem Soc.* 2014; Vol. 18, p. 121 - 127.
118. **Choudhary A, Sharma R, Nagara M, Mohsin M, Meena H S.** Synthesis, characterization and antioxidant activity of some transition metal complexes with terpenoid derivatives. *J Chil Chem Soc.* 2011; Vol. 56, n° 4, p. 911 - 917.

119. **Kawada N, Seki S, Inoue M, Kuroki T.** Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupffer cells. *Hepatology*. 1998; Vol. 27, p. 1265 - 1274.
120. **Stivala L A, Savio M, Carafoli F, Perucca P, Bianchi L, Maga G, Forti L, Pagnoni U M, Albinii A, Prospero E, Vannini V.** Specific Structural Determinants are responsible for the antioxidant activity and the cell cycle effects of resveratrol. *J Biol Chem*. 2001; Vol. 276, n° 25, p. 22586 - 22594.

Annexe (Caractérisation RMN¹Het IR des composés synthétisés)

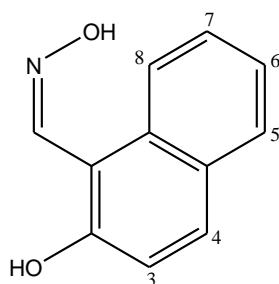
A.1. Les oximes

Identification de 1H-Indole-3-carbaldéhyde oxime (OX1)



Aiguilles blanches fines, rendement quantitatif. P.f.: 195 ° C. RMN ¹H (CDC13, 250 MHz): 11,00 (s, 1H, -NH); 10,7 (s, 1H, NOH); 7,85 (s, 1H, CH = N); 7,52 (s, 1H, H₂); 7,31 (d, 1H, H₄, ³J = 8,52 Hz); 7,03 (d, 1H, H₇, ³J = 7,9 Hz); 6,55 (t, 2H, H₅, H₆, ³J = 7,52-7,61 Hz). IR (cm⁻¹): 3380 (ν_{N-H}), 3047 (ν_{NO-H}), 3157–2745 (ν_{C-H}), 1635 (ν_{C=N}), 1456 (ν_{N-O}), 1412 (δ_{C-C}), 1335 (ν_{C-N}), 1229 (ν_{N-O}), 1096 (ν_{C-N}).

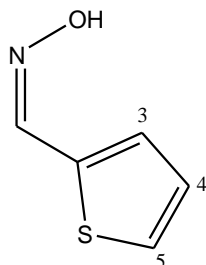
Identification de 2-hydroxynaphthalaldéhyde oxime (OX2)



Poudre vert clair, rendement: 92%. P.f.: 157 ° C. RMN ¹H (DMSO-d₆, 250 MHz): 11,6 (s, 1H, NOH); 11,17 (s, 1H, OH); 9,12 (s, 1H, CH = N); 8,5 (d, 1H, H₄, ³J = 8,55 Hz); 7,83 (d, 2H, H₅, H₈, ³J = 9,15 Hz); 7,52 (t, 1H, H₇, ³J = 7,49 Hz); 7,4 (t, 1H, H₆, ³J = 7,35 Hz); 7,24 (d,

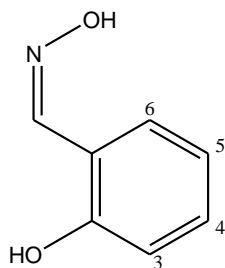
1H, H_3 , $^3J = 8,9$ Hz). IR (cm^{-1}): 3322 ($\nu_{\text{O-H}}$), 3025 ($\nu_{\text{NO-H}}$), 3010–2800 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1631 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1589 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1465 ($\nu_{\text{N-O}}$), 1238 ($\nu_{\text{C-O}}$), and 937 ($\delta_{\text{C=C}}$).

Identification de 2-thiénylcarbaldéhyde oxime (OX3)



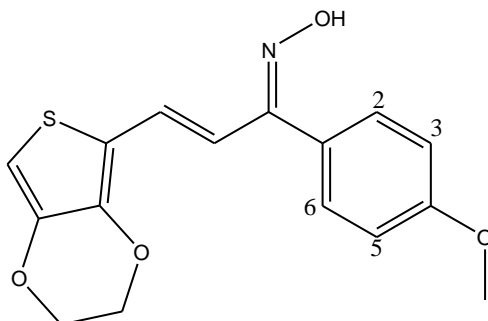
Poudre blanche, rendement: 82%. P.f.: 129 ° C. RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz): 8,95 (s, 1H, NOH); 7,75 (s, 1H, CH = N); 7,6 (d, 1H, H_5 , $^3J = 4,99$ Hz); 7,43 (d, 1H, H_5 , $^3J = 2,94$ Hz); 7,13 (t, 1H, H_4 , $^3J_1 = 4,93$ Hz, $^3J_2 = 3,83$ Hz). IR (cm^{-1}): 3157 ($\nu_{\text{C-H}\alpha}$), 3058 ($\nu_{\text{NO-H}}$), 3050–2746 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1630 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1428 ($\delta_{\text{C-H}\alpha}$), 1412 ($\delta_{\text{C-C}}$), 1228 ($\nu_{\text{N-O}}$), 1047 ($\nu_{\text{C-S}}$), and 935 ($\delta_{\text{C=C}}$).

Identification de 2-salicylaldehyde oxime (OX4)



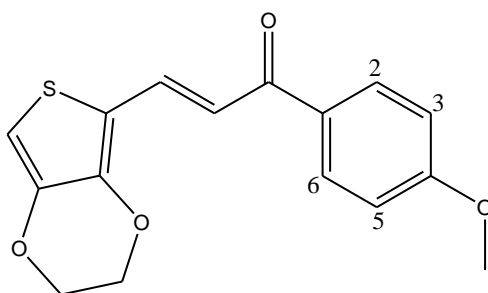
Poudre brun pâle, rendement: 69%. P.f.: 52-56 ° C. RMN ^1H (DMSO-d_6 , 250 MHz): 11,42 (s, 1H, NOH); 10,2 (s, 1H, OH); 8,4 (s, 1H, CH = N); 7,5 (d, 1H, H_6 , $^3J = 7,63$ Hz); 7,25 (t, 1H, H_4 , $^3J = 8,36$ Hz); 6,9 (t, 1H, H_5 , $^3J = 7,98$ Hz); 6,86 (d, 1H, H_3 , $^3J = 7,39$ Hz). IR (cm^{-1}): 3379 ($\nu_{\text{O-H}}$), 3076 ($\nu_{\text{NO-H}}$), 3020–2800 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1620 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1587 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1496 ($\nu_{\text{N-O}}$), 1257 ($\nu_{\text{C-O}}$), 991 ($\delta_{\text{C=C}}$).

Identification de la (E) -3- (3,4-éthylènedioxythiényl) -1- (4-méthoxyphényl) prop-2-èn-2-one oxime (OX5)



Poudre jaune, rendement: 34%. P.f.: 126-127 ° C. RMN ¹H (CDC13, 250 MHz): 9,12 (s, 1H, -NOH); 8,07 (d, 2H, H₂, H₆) 7,98 (d, 1H, CH = C, *J* = 15,3 Hz); 7,33 (d, 1H, CH = C, *J* = 15,19 Hz); 6,97 (d, 2H, H₃, H₅); 6,7 (s, 1H, H_{EDOT}); 3,93 (m, 4H, CH₂); 3,87 (s, 3H, CH₃). IR (cm⁻¹): 3167 (ν_{C-Hα}), 3051 (ν_{NO-H}), 3025–2736 (ν_{C-Harom.}), 2660–2646 (ν_{C-Halcanes}), 1576 (ν_{C=N}), 1468 (ν_{N-O}), 1187 (ν_{C-O}), 991 (δ_{C=C}), and 705 (ν_{C-S}).

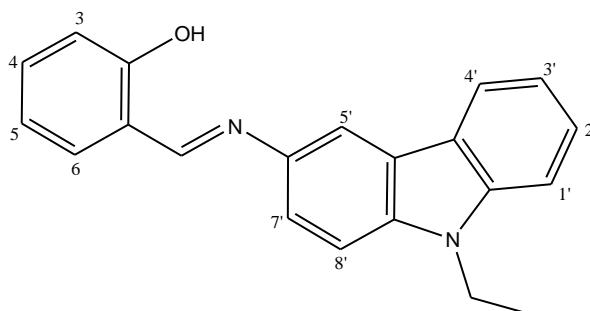
Identification de la chalcone précurseuse (la (E) -3- (3,4-éthylènedoxythiényl) -1- (4-méthoxyphényl) prop-2-èn-2-one)



Poudre jaune, rendement: 75%, P.f.: 130 ° C. RMN ¹H (CDC13, 250 MHz): RMN 1H (CDC13, 250 MHz): 8,03 (d, 2H, H₂, H₆); 7,85 (d, 1H, CH = C, *J* = 15,31 Hz); 7,26 (d, 1H, CH = C, *J* = 15,33 Hz); 6,99 (d, 2H, H₃, H₅); 6,49 (s, 1H, H_{EDOT}); 4,3 (m, 4H, CH₂); 3,91 (s, 3H, CH₃).

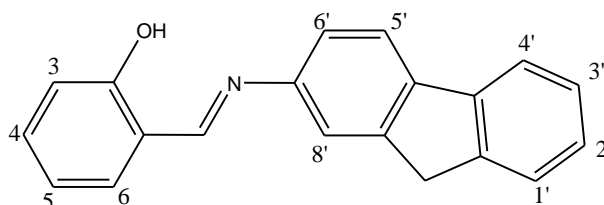
A. 2. Les azométhines

Identification du 2-((E)-(9-ethyl-9H-carbazol-7-ylimino)methyl)phenol (SIC)



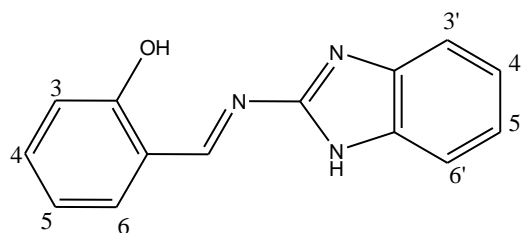
Poudre jaune, rendement: 65 %. P.f.: 114°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz): 11,75 (s, 1H, -OH); 8,8 (s, 1H, -CH=N-); 8,22 (d, 1H, $\text{H}_{8'}$, $^3J=7,77$ Hz); 8,09 (d, 1H, $\text{H}_{5'}$, $^4J=1,93$ Hz); 7,56-7,43 (m, 5H, $\text{H}_{1'}$, $\text{H}_{2'}$, $\text{H}_{3'}$, $\text{H}_{4'}$, $\text{H}_{7'}$); 7,37 (d; 1H, $\text{H}_{6'}$, $^3J = 8,5$ Hz); 7,28 (t, 1H, $\text{H}_{4'}$, $^3J_1 = 8,11$ Hz, $^3J_2 = 6,57$ Hz); 7,09 (d, 1H, $\text{H}_{3'}$, $^3J = 7,97$ Hz); 6,98 (t, 1H, $\text{H}_{5'}$, $^3J_1 = 7,36$ Hz, $^3J_2 = 7,46$ Hz); 4,42 (q, 2H, CH_2 , $^3J = 7,22$ Hz); 1,47 (t, 3H, CH_3 , $^3J = 7,22$ Hz). IR (cm^{-1}): 3077 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1615 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1576 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1454 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1234 ($\nu_{\text{C-N}}$), 1024 ($\nu_{\text{C=C}}$).

Identification of 2-((E)-(9H-fluoren-7-ylimino)methyl)phenol (SIF)



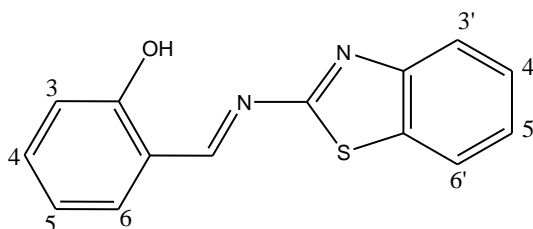
Poudre jaune, rendement: 70%. P.f.: 160°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz): 13,50 (s, 1H, -OH); 8,8 (s, 1H, -CH=N-); 7,86 (d, 1H, $\text{H}_{5'}$, $^3J = 7,87$ Hz); 7,82 (s, 1H, $\text{H}_{8'}$); 7,60-7,34 (m, 7H); 7,08 (d, 1H, $\text{H}_{3'}$, $^3J = 8,13$ Hz); 7,00 (t, 1H, $\text{H}_{5'}$, $^3J_1 = 7,04$ Hz; $^3J_2 = 7,47$ Hz); 3,90 (s, 2H, CH_2). IR (cm^{-1}): 3282 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1600 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1567 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1446 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1275 ($\nu_{\text{C-N}}$), 1030 ($\nu_{\text{C=C}}$).

Identification du 2-((E)-(1H-benzoimidazol-2-ylimino)methyl)phenol (SIM)



Poudre jaune, rendement: 94 %. P.f.: 205°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz): 12,4 (s, 1H, -OH); 9,6 (s, 1H, -CH=N-); 7,8 (s, 1H, NH); 7,55-7,46 (m, 4H); 7,34 (d, 1H, $\text{H}_{6'}$, $^3J = 6,02$ Hz); 7,31 (d, 1H, H_3 , $^3J = 5,98$ Hz); 6,95-7,1 (m, 2H). IR (cm^{-1}): 3389 ($\nu_{\text{N-H}}$), 3295 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1603 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1562 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1429 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1275 ($\nu_{\text{C-N}}$), 1146 ($\nu_{\text{C=C}}$).

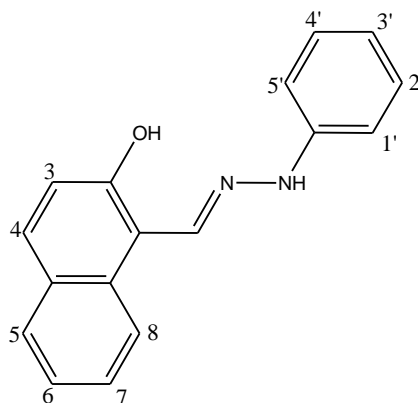
Identification du 2-((E)-(benzothiazol-2-ylimino)methyl)phenol (SIT)



Poudre jaune, rendement: 34 %. P.f.: 108-110°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz): 12,3 (s, 1H, -OH); 9,33 (s, 1H, -CH=N-); 8,02 (d, 1H, H_3 , $^3J = 8,02$ Hz); 7,89 (d, 1H, $\text{H}_{6'}$, $^3J = 7,33$ Hz); 7,37-7,55 (m, 2H); 7,01-7,15 (m, 4H). IR (cm^{-1}): 3311 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1635 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1526 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1442 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1281 ($\nu_{\text{C-N}}$), 1117 ($\nu_{\text{C=C}}$).

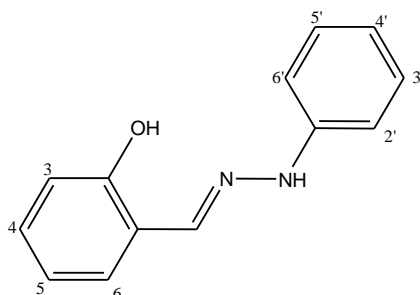
A. 3. Les phénylhydrazones

Identification du 2-hydroxy-1-naphthaldehyde phenylhydrazone (NIP)



Poudre jaune, rendement: 75 %. P.f.: 205-208°C. RMN ^1H (DMSO, 250 MHz): 12,25 (s, 1H, OH); 8,88 (s, 1H, CH=N); 7,97 (d, 1H, H_4 , $^3J = 8,6\text{Hz}$); 7,69 (d, 1H, H_5 , $^3J = 8\text{Hz}$); 7,63 (d, 1H, H_8 , $^3J = 8\text{Hz}$); 7,41 (t, 1H, H_7 , $^3J = 8,31\text{ Hz}$); 7,1-7,28 (m, 4H); 6,94 (d, 2H, $H_{1'}$, $H_{5'}$, $^3J = 7,6\text{ Hz}$); 6,78 (t, 2H, $H_{2'}$, $H_{4'}$, $^3J = 7,31\text{ Hz}$). IR (cm^{-1}): 3322 ($\nu_{\text{O-H}}$), 3025 ($\nu_{\text{NO-H}}$), 1631 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1589 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1465 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1238 ($\nu_{\text{C-N}}$), and 937 ($\delta_{\text{C=C}}$).

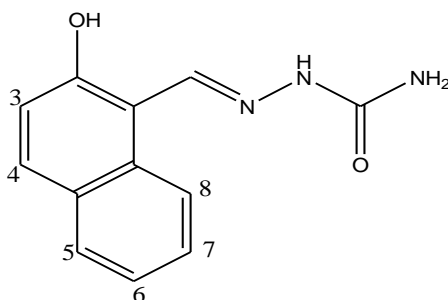
Identification du salicylaldehyde phenylhydrazone (SIP)



Poudre jaune, rendement: 81 %. P.f.: 141-142°C. NMR ^1H (CDCl_3 , 250 MHz): 10,92 (s, 1H, OH); 7,98 (s, 1H, CH=N); 7,25-7,5 (m, 5H); 7,2 (d, 1H, $J=6,8\text{Hz}$); 6,9-7,15 (m, 4H). IR (cm^{-1}): 3404 ($\nu_{\text{N-H}}$), 3289 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1603 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1562 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1449 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1271 ($\nu_{\text{C-N}}$), 1146 ($\delta_{\text{C=C}}$).

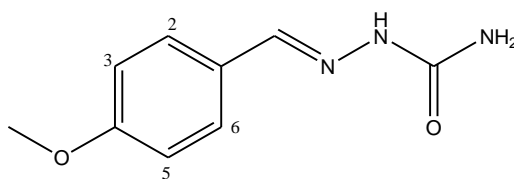
A. 4. Les semicarbazones

Identification of (E)-1-((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene)semicarbazide (SEM1)



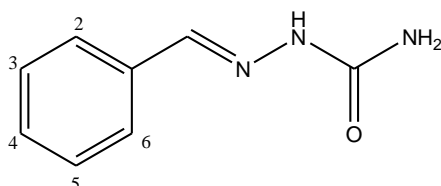
Poudre jaune claire, rendement: 75 %. P.f.: 236 °C. RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz): 11,31(s, 1H, OH) ; 10,3 (s, 1H, NH) ; 8,89 (s, 1H, CH=N); 8,42 (d, 1H, H_4); 7,84 (d, 2H, H_5 , H_8) ; 7,58 (t, 1H, H_7); 7,36 (t, 1H, H_6) ; 7,21 (d, 1H, H_3) ; 6,47 (s, 2H, NH_2). IR (cm^{-1}): 3446 ($\nu_{\text{N-H}}$), 3343 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1666 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1616 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1596 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1238 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1188 ($\nu_{\text{C-N}}$), 934 ($\delta_{\text{C=C}}$).

Identification of (E)-1-(4-methoxybenzylidene)semicarbazide (SEM2)



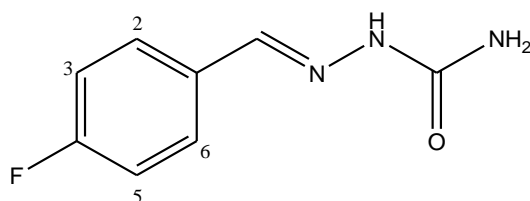
Poudre blanche, rendement: 60 %. P.f.: 201 °C. RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz): 10,28 (s, 1H, NH) ; 7,97 (s, 1H, CH=N); 7,67 (d, 2H, H₂, H₆); 6,93 (d, 2H, H₃, H₅) ; 6,25 (s, 2H, NH₂). IR (cm⁻¹): 3478 (ν_{N-H}), 3343 (ν_{C-H}), 1695 (ν_{C=O}), 1616 (ν_{C=N}), 1596 (ν_{C=C}), 1249 (ν_{C-O}), 1185 (ν_{C-N}), 1111 (ν_{C-O-C}), 1023 (δ_{C=C}).

Identification of (E)-1-benzylidene semicarbazide (SEM3)



Poudre blanche, rendement: 53 %. P.f.: 237 °C. RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz): 10,25 (s, 1H, NH) 8,31 (s, 1H, NH) ; 7,74 (s, 1H, CH=N); 7,65 (d, 2H, H₂, H₆); 7,41 (m, 3H, H₃, H₄, H₅) ; 6,2 (s, 2H, NH₂). IR (cm⁻¹): 3456 (ν_{N-H}), 1677 (ν_{C=O}), 1644 (ν_{C=N}), 1594 (ν_{C=C}), 1233 (ν_{C-O}), 1140 (ν_{C-N}), 947 (δ_{C=C}).

Identification of (E)-1-(4-fluorobenzylidene)semicarbazide (SEM4)



Poudre blanche, rendement: 75 %. P.f.: 247 °C. RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz): 10,2 (s, 1H, NH) ; 7,88 (s, 1H, CH=N); 7,67 (d, 2H, H₂, H₆); 7,1 (d, 2H, H₃, H₅) ; 6,15 (s, 2H, NH₂). IR (cm⁻¹): 3462 (ν_{N-H}), 1664 (ν_{C=O}), 1614 (ν_{C=N}), 1584 (ν_{C=C}), 1233 (ν_{C-O}), 1095 (ν_{C-N}), 998 (δ_{C=C}).

Publications

Ce travail a fait l'objet de deux publications internationales :

1) **Bensegueni R**, Guergouri M, Bensouici C, Bencharif M. Synthesis, experimental and theoretical antiradical activity assessment of some azomethines and phenylhydrazones. Springer Nature Applied Sciences (2019) 1:78.

2) **Bensegueni R**, Guergouri M, Bensouici C, Bencharif M. Synthesis, antioxidant and anti-tyrosinase activity of some aromatic oximes: an experimental and theoretical study. Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences XX;XX:XX-XX (DOI: 10.4103/jrptps.JRPTPS_46_18).

Il a fait également l'objet de deux communications internationales :

1) "Antioxidant activity of four nitrogen organic compounds: correlation between theoretical and experimental data.", MESMAP 5 and ISPBS 5, Cappadocia, Turkey (April 24th – 28th, 2019).

2) "Activité antioxydante de certaines azomethines et phenylhydrazones: étude théorique et expérimentale.", ATBVBR VII, Tabarka, Tunisie (20 - 23 mars 2019).

Summary

The search for compounds of therapeutic interest more and more effective with the minimum of possible adverse effects remains a challenge for scientists and pharmaceutical players. In this thesis, we first synthesized a series of nitrogenous organic compounds classified into four families which are oximes, azomethines, phenylhydrazones and semicarbazones. We subjected them to antioxidant activity tests (DPPH, CUPRAC and iron reducing power). Moreover, molecular modeling calculations with density functional theory (DFT) have been carried out on our molecules in order to determine certain molecular descriptors (BDE, IP, PDE, PA and ETE) which allow us to analyze and to explain the experimental results. All calculations were performed using the Gaussian 09 software. Finally, we tested their anti-enzymatic activity and performed in parallel, it's *in silico* simulation through a molecular docking calculation. The antioxidant activity tests were very satisfactory and showed a well-established antioxidant power for the tested compounds, especially for the DPPH scavenging test and the CUPRAC test. Indeed, for these two tests some molecules had a much better activity than the standard antioxidants used: butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT). On the other hand, the values of the molecular descriptors obtained are in good agreement with the experimental results. The analysis of these descriptors allowed us to propose mechanisms for the radical activity of our molecules. On the other hand, the tests of the anti-enzymatic activity revealed a moderate activity for the tested compounds and the enzyme-ligand interactions thus engaged, are listed after the analysis of the results of the molecular docking carried out. The results obtained showed a good correlation between the theoretical and experimental studies, confirming the antioxidant power of our compounds, which could allow them to be used in the pharmaceutical and food industries, while noting their obedience to Lipinski's rules. Finally, further tests are recommended to ratify these results.

ملخص

لا يزال البحث عن مركبات ذات أهمية علاجية تكون أكثر فاعلية مع الحد الأدنى من الآثار الضارة المحتملة، يمثل تحديًا للعلماء و الباحثين الصيدلانيين. في هذه الأطروحة، قمنا أولاً بإعداد سلسلة من المركبات العضوية ال نيتروجينية المصنفة إلى أربع عائلات هي الأكسيمات و الأزوميثين والفينيلهيدرازون و السيميكاربازون. لقد أخضعناها لاختبارات نشاط مضادات الأكسدة (إختبار ال DPPH، إختبار CUPRAC و إختبار القدرة على اختزال الحديد). علاوة على ذلك، تم إجراء حسابات النمذجة الجزيئية باستعمال نظرية ال (DFT) على جزيئاتنا من أجل تحديد بعض الواصفات الجزيئية (BDE، IP، PDE، PA و ETE) التي تسمح لنا بتحليل وشرح النتائج التجريبية. تم إجراء جميع العمليات الحسابية باستخدام برنامج Gaussian 09. وأخيراً، قمنا باختبار نشاطهم المضاد للإنزيمات و أجرينا في نفس الوقت، محاكاة in silico من خلال حساب الالتحام الجزيئي. كانت اختبارات نشاط مضادات الأكسدة لمركباتنا مرضية للغاية، وخاصة لاختبار ال DPPH و اختبار CUPRAC. في الواقع، بالنسبة إلى هذين الاختبارين، كان لبعض الجزيئات نشاط أفضل بكثير من مضادات الأكسدة المعيارية المستخدمة: هيدروكسانيزولالبتوتيلات (BHA) و هيدروكسيتولوينبوتيل (BHT) من ناحية أخرى، فإن قيم الواصفات الجزيئية التي تم الحصول عليها تتفق بشكل جيد مع النتائج التجريبية. سمح لنا تحليل هذه الواصفات باقتراح آليات للنشاط الجذري لجزيئاتنا. من ناحية أخرى، كشفت اختبارات النشاط المضاد للإنزيمات عن نشاط معتد للمركبات التي تم اختبارها. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود علاقة جيدة بين الدراسات النظرية و التجريبية، مما يؤكد قوة مضادات الأكسدة لمركباتنا والتي يمكن أن تسمح باستخدامها في الصناعات الدوائية و الغذائية ، مع الإشارة إلى استجابتها لقواعد Lipinski. أخيراً ، يوصى بإجراء مزيد من الاختبارات للتصديق على هذه النتائج.

Résumé

La recherche de composés à intérêt thérapeutique de plus en plus efficace avec le minimum d'effets indésirables possible, demeure toujours un challenge pour les scientifiques et les acteurs pharmaceutiques. Dans la présente thèse, nous avons d'abord synthétisé une série de composés organiques azotés que nous avons classés en quatre familles à savoir, les oximes, les azométhines, les phénylhydrazones et les semicarbazones. Ensuite, nous les avons soumis à des tests d'activité antioxydante (DPPH, CUPRAC et FRAP). Par ailleurs, des calculs de modélisation moléculaire avec la théorie de la fonctionnelle de densité (DFT), ont été réalisés sur nos molécules afin de déterminer certains descripteurs moléculaires (BDE, IP, PDE, PA et ETE) qui permettent d'analyser et d'expliquer les résultats expérimentaux. Tous les calculs ont été effectués en utilisant le logiciel Gaussian 09. Dans une dernière étape, nous avons testé leur activité anti-enzymatique et réalisé, en parallèle, sa simulation *in silico* à travers un calcul d'amarrage moléculaire. Les tests d'activité antioxydante étaient très satisfaisants et montraient un pouvoir antioxydant bien établi pour les composés étudiés. En particulier pour le test du piégeage du DPPH et le test CUPRAC où certaines molécules présentaient une activité bien meilleure que celles des antioxydants standards utilisés: hydroxyanisole butylé (BHA) et hydroxytoluène butylé (BHT). D'autre part, les valeurs des descripteurs moléculaires obtenues sont en bon accord avec les résultats expérimentaux. L'analyse de ces descripteurs nous a permis de proposer des mécanismes pour l'activité radicalaire de nos molécules. En outre, les tests de l'activité anti-enzymatique ont révélé une activité modérée pour les composés testés et les interactions enzyme-ligand ainsi engagées sont énumérées après l'analyse des résultats d'amarrage moléculaire réalisé. Les résultats obtenus ont montré une bonne corrélation entre les études théoriques et expérimentales, confirmant ainsi le pouvoir antioxydants de nos composés, ce qui pourrait leur permettre d'être utilisés dans les industries pharmaceutiques et alimentaires, tout en notant leur obéissance aux règles de Lipinski. Enfin, des tests plus poussés sont préconisés afin de ratifier ces résultats.

Mots clés : Activité antioxydante, activité anti-tyrosinase, DFT, Docking moléculaire, oximes, azométhines, phénylhydrazones, semicarbazones.