

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA



RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS-SÉTIF-1-
FACULTÉ DE TECHNOLOGIE
DÉPARTEMENT DE GÉNIE DES PROCÉDÉS



Thèse

Présentée par

M^{elle} Rebiha DAMICHE

En vue de l'obtention du Diplôme de

DOCTORAT

Domaine : Sciences et Technologie

Option: **GENIE DES PROCEDES PHARMACEUTIQUES**

THEME

**SYNTHESE D'UNE NOUVELLE GENERATION
D'AMINOPHOSPHONTES A BASE DE PYRIDINE SUBSTITUEE
ET ETUDE DE LEUR ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET
ANTIMICROBIENNE**

Soutenue le: 10/ 05/ 2017

Devant le Jury Composé de :

Président	Mahmoud BOUNKHELL	Professeur	U. F. ABBAS. SETIF-1
Rapporteur	Salah CHAFAA	Professeur	U. F. ABBAS. SETIF-1
Examinatrice	Meriem MERBAH- EL KOLLI	Professeur	U. F. ABBAS. SETIF-1
Examinatrice	Salima SAIDI-BESBES	Professeur	U. ORAN 1
Examinatrice	Hassina HARKAT	Professeur	U. BATNA 1

Remerciements

Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à Mr. CHAFAA Salah, professeur à l'université Ferhat Abbas pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'a accordé m'ont permis de réaliser ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à monsieur Mahmoud BOUNEKHAL, professeur à l'université Ferhat Abbas pour avoir accepté de présider ce jury.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à Mme Meriem MERBAH-ELKOLLI, professeur à l'université Ferhat Abbas pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

J'exprime toute ma gratitude à Mme Salima. SAIDI-BESBES, Professeur à l'université Oran 1, qui m'a fait l'honneur de participer à ce jury et juger cette thèse.

J'exprime mes vifs remerciements à Mme Hassina HARKAT, Professeur à l'université Hadj Lakhdar Batna pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie du jury.

Aux ingénieurs du laboratoire de LEMMC, en particulier Mme RECHIDI Souad et BOUDJEMAA Fouzia pour leur aide.

À toute l'équipe de laboratoire LEMMC

À tous mes amis.

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

✚ Je dédie ce mémoire, tout d'abord, à mes parents

✚ qui m'ont beaucoup soutenue tout au long de mes études.

✚ Je dédie aussi ce mémoire à mes frères et à mes sœurs pour leurs aides

Et contributions à mon succès et ma réussite.

✚ Je dédie enfin ce mémoire à toute ma famille, tous mes amis et mes collègues et toutes les personnes qui se reconnaissent.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. 1. Généralités sur les phosphonates	3
I.1.1. Historique	3
I.1.2. Les α -aminophosphonates et les acides phosphoniques	11
I.1.3. Synthèse des α -aminophosphonates	12
I.1.4. Synthèse asymétrique des α -aminophosphonates	18
I.1.5. α -aminobisphosphonates	20
I.1.5.1. Procédures synthétiques	21
a) Condensation à trois composants d'amines avec l'orthoformiate de triéthyle et diéthyle phosphite	21
I.1.6. Activité pharmacologique des phosphonates	25
I.2. Définition des antioxydants, des antimicrobiennes et des anti-inflammatoires	29
I.2.1. Antioxydants	30
I.2.1.1. Utilisation des antioxydants	30
I.2.1.2. Classification des antioxydants	30
I.2.1.2.1. Antioxydants synthétiques	30
I.2.1.2.2. Substances synergiques	31
I.2.1.2.3. Antioxydant d'origine végétale	31
a. Tocophérols	31
b. Caroténoïdes	31
I.2.2. Infections bactériennes et antibiothérapie	32
I.2.2.1. Modes d'action des antibiotiques	32
I.2.3. Anti-inflammatoires	33
I.2.3.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS	33
I.2.3.2. Mode d'action et effets	33

I.2. 3.3. Anti-inflammatoires stéroïdiens	34
I.2. 3.4. Corticoïdes	34
I.2. 4.5. Mode d'action des corticoïdes	34

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel et méthodes appliqué	36
II.1.1. Méthodes de caractérisations physicochimiques	36
II.1.1.1. Chromatographie sur couche mince	36
II.1.1.2. La chromatographie sur colonne	36
II.1.1.3. Température de fusion	37
II.1.1.4. Spectroscopie d'absorption UV-vis	37
II.1.1.5. Spectroscopie infrarouge	37
II.1.1.6. Résonance magnétique nucléaire	38
II.1.1.7. Microanalyse	39
II.1.2. Méthodes d'évaluation des activités biologiques	40
II.1.2.1. Activité antioxydants	40
II.1.2.1.1. Tests de l'effet scavenger du radical libre DPPH [*]	40
II.1.2.1.2. Activité réductrice sur le ferricyanure de potassium	41
II.1.2.1.3. Méthode électrochimique	42
II.1.2.1.3.1. Techniques électrochimiques voltampérométriques	42
II.1.2.1.3.2. Composants et principes de la Voltampérométrie cyclique	43
a. Principe	43
b. Composants	43
b. 1. Les électrodes	44
b. 1. i. électrode de travail	44
b. 1. ii. L'électrode de référence	45

b. 1. iii. L'électrode auxiliaire (contre électrode)	45
b. 2. Echantillon de mesure	45
II.1.2.2. activité anti-inflammatoire	46
II.1.2.3. activité antibactérienne, infections bactériennes et antibiothérapie	46
II.1.2.4. recherche de la toxicité des molécules synthétisées	48

CHAPITRE III: SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION

III. Synthèse et caractérisations physicochimiques des molécules α -aminophosphonates	49
III.1. Produits chimiques	49
III.2. Appareillage	49
III.3. Synthèse des α -aminophosphonates	50
III.3.1. Protocole général de synthèse	51
III.3.2. Synthèse d' α -aminopyridine phosphonates dérivées de propylamine	52
III.3.2.1. Synthèse de la molécule diethyl ((propylazanediyl)bis(pyridin-3-ylmethylene))bis(hydrogen phosphonate) (1a)	52
III.3.2.2. Synthèse de la molécule ethyl hydrogen (diethoxyphosphoryl)(thiophen-3-yl) (diethoxyphosphoryl)methyl) (propyl)amino)(thiophen-3-yl) methyl) phosphonate (1b)	55
III.3.2.3. Synthèse de la molécule ethyl hydrogen (diethoxy phosphoryl)(1H-pyrrol-2-yl) methyl)(propyl)amino) (1H-pyrrol-2-yl)methyl)phosphonate (1c)	58
III.3.2.4. Synthèse de la molécule ethyl hydrogen(diethoxy phosphoryl) (pyridin-2-yl) methyl) (propyl)amino)(pyridin-2-yl)methyl)phosphonate (1d)	62
III.3.3. Synthèse d' α -aminopyridine phosphonates dérivées de p-aminopyridine	64
III.3.3.1. Synthèse de la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediyl) bis (pyridin-3-ylmethylene))bis (hydrogen phosphonate) (2a)	65
III.3.3.2. Synthèse de la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediyl) bis (thiophen-3-ylmethylene))bis (hydrogen phosphonate) (2b)	67

III.3.3.3. Synthèse de la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis ((1H-pyrrol-2-yl)methylene))bis (hydrogen phosphonate) (2c)	69
III.3.4. Mécanisme réactionnel général	71
III. 4. Discussion des résultats de synthèse	73
III.4.1.Chromatographie	73
III.4.2.Point de fusion	73
III.4.3.Analyse élémentaire centésimale	74
III.4.4. Discussion des résultats de la spectrophotométrie UV-vis	75
III.4.5. Discussion des résultats de la spectroscopie infrarouge FT-IR	78
III.4.6. Discussion des résultats de la spectroscopie RMN	82
III.5. Conclusion sur les α -aminophosphonates synthétisées	83

CHAPITRE IV: ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES

IV.1. Evaluation des activités biologiques des molécules synthétisées	86
IV.1.1. Activité antioxydants	86
IV.1.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH	86
IV.1.1.2. Pouvoir réducteur des molécules synthétisées	89
IV.1.1.3. Détermination l'activité antioxydants par la voltamétrie cyclique	92
a-1) Matériels utilisés	92
a-2) Le milieu utilisé	93
a-3) La méthode	93
a-3-1) Voltamètre cyclique sans oxygène	93
a-3-2) Voltamogramme cyclique d'oxygène système $O_2/O_2^{\bullet-}$	94
a-3-3) Voltamogramme cyclique d'oxygène en présence des molécules synthétisées	95
a-3-4) Interprétation des résultats de l'activité antioxydante par voie électrochimique	97
IV.1.1.4. Activité anti-inflammatoires	98

IV.1.1.5. Activité antibactérienne: test de diffusion sur l'agar	101
IV.1.1.5. Essai de toxicité érythrocytaire des produits synthétisé et l'évaluationde l'activité Hémolytique	104
1. Préparation de la solution de buffer phosphate saline	104
2. Préparation de la suspension érythrocytaire	105
3. Préparation des échantillons des molécules synthétisées	105
COCLUSION GENERALE	113
REFERENCES	116

Liste Des Figures

Fig. 1. Allotropies de phosphore	6
Fig. 2. Diverses réactions de phosphore blanc	7
Fig. 3. Certaines parties organophosphorées représentent une partie alkyle, H, halogénure, ou contre-cation	8
Fig. 4. Composés biologiques du phosphate	9
Fig. 5. Certains composés médicaux du phosphore	10
Fig. 6. Quelques exemples d'agents chimiques toxiques de phosphore	11
Fig. 7. Similitudes entre les acides α -aminophosphoniques et les acides α -aminés.	12
Fig. 8. Structures chimiques des anti-inflammatoires contenant le motif phosphonate	26
Fig. 9. Structures chimiques des cyclopropyl-phosphonates	27
Fig. 10. Structures chimiques de quelques arylphosphonates contenant du Fluor	27
Fig. 11. Structure chimique de pyrrole phosphonate	28
Fig. 12. Structures chimiques des aminophosphonates	28
Fig. 13. Mode d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens	34
Fig. 14. Mode d'action des anti-inflammatoires stéroïdiens	35
Fig. 15. Dispositif expérimental pour les mesures à potentiel contrôlé	44
Fig. 16. Courbes schématiques de dépolariation du solvant, O ₂ , H ⁺ et Na ⁺ sur électrode d'Hg	45
Fig. 17. Structure de la paroi bactérienne	47
Fig. 18. Spectre UV-vis caractéristique de la molécule diethyl ((propylazanediy)bis (pyridin-3-ylmethylene))bis(hydrogen phosphonate) (1a) enregistré en éthanol à température ambiante	53
Fig. 19. Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule diethyl((propylazanediy)bis (pyridin-3-ylmethylene))bis(hydrogen phosphonate) (1a)	54

- Fig. 20.** spectre RMN, ^1H du composé diethyl ((propylazanediy)bis (pyridin-3-ylmethylene)) bis(hydrogen phosphonate) (**1a**) enregistré dans CD_2Cl_2 54
- Fig. 21.** Spectre UV-vis caractéristique de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(thiophen-3-yl)methyl)(propyl)amino)(thiophen-3-yl) methyl)phosphonate (**1b**) enregistré en éthanol à température ambiante 56
- Fig. 22.** Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl) (thiophen-3-yl)methyl)(propyl)amino)(thiophen-3-yl) methyl)phosphonate (**1b**) 56
- Fig. 23.** spectre RMN, ^1H de composé ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl) (thiophen-3-yl)methyl)(propyl)amino)(thiophen-3-yl)methyl)phosphonate (**1b**) enregistré en CDCl_3 57
- Fig. 24.** Le spectre RMN, ^{13}C de composé ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(thiophen-3-yl)methyl)(propyl)amino)(thiophen-3-yl)methyl)phosphonate (**1b**) enregistré en CDCl_3 58
- Fig. 25.** Spectre UV-vis caractéristique de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)(propyl)amino)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)phosphonate (**1c**), enregistré en éthanol à température ambiante 60
- Fig. 26.** Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl) (1H-pyrrol-2-yl)methyl)(propyl)amino) (1H-pyrrol-2-yl) methyl) phosphonate (**1c**) 60
- Fig. 27.** Spectre RMN ^1H caractéristique de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)(propyl)amino) (1H-pyrrol-2-yl)methyl)phosphonate (**1c**) enregistré en CDCl_3 61
- Fig. 28.** Spectre RMN ^{13}C caractéristique de la molécule ethyl Hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)(propyl)amino)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)phosphonate (**1c**) enregistré en CDCl_3 62

- Fig. 29.** Spectre UV-vis caractéristique de la molécule tetraethyl ((propylazanediy)bis (pyridin-2-ylmethylene))bis (phosphonate) (**1d**) enregistré en éthanol à température ambiante 64
- Fig. 30.** Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule tetraethyl ((propylazanediy) bis (pyridin-2-ylmethylene)) bis (phosphonate) **1d** 64
- Fig. 31.** Spectre UV-vis caractéristique de la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis(pyridin-3-ylmethylene))bis (hydrogen phosphonate) (**2a**) en éthanol à température ambiante 66
- Fig. 32.** Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediy)bis(pyridin-3-ylmethylene))bis (hydrogen phosphonate)(**2a**) 66
- Fig. 33.** Spectre UV-vis caractéristique de la molécule diéthyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis(thiophen-3-ylmethylene))bis (hydrogen phosphonate) (**2b**) enregistré en éthanol à température ambiante 65
- Fig. 34.** Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis(thiophen-3-ylmethylene))bis (hydrogen phosphonate) (**2b**) 68
- Fig. 35.** Spectre UV-vis caractéristique de la molécule diéthyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis((1H-pyrrol-2-yl)methylene))bis (hydrogen phosphonate) (**2c**) enregistré en éthanol à température ambiante 70
- Fig. 36.** Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule diéthyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis ((1H-pyrrol-2-yl) methylene)) bis (hydrogen phosphonate) (**2c**) 71
- Fig. 37.** Spectres UV-vis caractéristiques des composés dérivés de propylamine 75
- Fig. 38.** Spectres UV-vis caractéristiques des composés dérivés de p-aminopyridine 76
- Fig. 39.** Spectres infrarouges caractéristiques des réactifs utilisés dans la synthèse des molécules α -aminophosphonates 78

Fig. 40. Spectres infrarouges caractéristiques des substituant aldéhydes utilisés dans la synthèse des molécules des deux catégories	79
Fig. 41. Spectres infrarouges des composés de la catégorie 1 , dérivés de propylamine	80
Fig. 42. Spectres infrarouge des composés de la catégorie 2 dérivés de 4-aminopyridine	81
Fig. 43(1-3). Spectres RMN du ^{31}P et ^{13}C enregistrés en CD_2Cl_2 : 1-Spectre RMN ^{31}P de la molécule 1a 2-Spectre RMN ^{31}P de la molécule 1b	83
Fig. 44. Représentation photographique de la réaction de nos Molécules avec le radical DPPH'	87
Fig. 45. Activité anti radicalaire des molécules synthétisés et des antioxydants standards (BHT et vitamine C) vis-à-vis du radical DPPH	87
Fig. 46. IC_{50} de l'activité anti-radicalaire DPPH de chaque molécule ainsi les antioxydants standards	88
Fig. 47. Présentation photographique de réduction de Fer en présence de nos molécules	90
Fig. 48. Représentation des résultats obtenus de l'activité réductrice des différent molécules synthétisées vis-à-vis la vitamine C	91
Fig. 49. Voltamogramme de l'électrolyte supporte dans le milieu DMF/TBuNPF ₆ à une concentration 0.1M Avec une vitesse de 100 mV/s	94
Fig. 50. Voltamogramme de l'oxygène dans le milieu DMF/TBuNPF ₆ a une concentration 0.1M Avec une vitesse de 100 mV/s	95
Fig. 51. Voltamogrammes de réduction d'O ₂ en présence des molécules de catégorie 1 en milieu DFM/TBuNPF ₆ avec une vitesse de balayage 100 mV/s	96
Fig. 52. Voltamogrammes de réduction d'O ₂ en présence des molécules de catégorie 2 dans le milieu DFM/TBuNPF ₆ avec une vitesse de balayage 100 Mv/s	97
Fig. 53. Les valeurs IC_{50} de l'activité anti-inflammatoires des molécules Synthétisées	99
Fig. 54. Présentation photographique de l'activité antibactérienne de nos molécules	102

Fig. 55. Présentation photographique des tubes d'hémolyse en présence de nos molécules ainsi les tubes de témoin négatif et positif	107
Fig. 56. Évolution des taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécules 1a incubé à 37 °C durant 120 min	108
Fig. 57. Évolution des taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécules 1b incubé à 37 °C durant 120 min	109
Fig. 58. Évolution des taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécules 1c incubé à 37 °C durant 120 min	109
Fig. 59. Évolution des taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécules 1d incubé à 37 °C durant 120 min	110
Fig. 60. Évolution des taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécules 2a incubé à 37 °C durant 120 min	110
Fig. 61. Évolution des taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécules 2b incubé à 37 °C durant 120 min	111
Fig. 62. Évolution des taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécules 2c incubé à 37 °C durant 120 min	111

Liste Des Schémas

Schéma. 1. Les acides α -Aminophosphoniques à partir de l' α -aminophosphonates	12
Schéma. 2. Hydrophosphonylation des imines	12
Schéma. 3. Formes tautomères de diéthylphosphite	13
Schéma. 4. Réaction de Pudovik par l'intermédiaire d'un état de transition cyclique à cinq chaînons	13
Schéma. 5. Le mécanisme de la réaction de Kabachnik-Fields	14
Schéma. 6. α -aminophosphonates à partir d'aldéhydes d'aryle	15
Schéma.7. α -aminophosphonates de ktimines	15
Schéma. 8. Synthèse d' α -aminophosphonates à l'aide d'iodure de cadmium	16
Schéma. 9. Réaction de Kabachnik-Fields en présence de perchlorate de lithium	16
Schéma.10. Réaction de Matveeva à présence d'un catalyseur à base d'aluminium.	17
Schéma.11. Réaction de Kabachnik-Fields en présence perchlorate de magnésium.	18
Schéma.12. Réaction de Kabachnik-Fields en présence $SbCl_3/Al_2O_3$	18
Schéma.13. Synthèse Asymétrique de l' α -aminophosphonates	19
Schéma.14. Synthèse Asymétrique de N-sulfinyl α -aminophosphonates.	20
Schéma.15. Rationnel pour le stéréocontrôle des N- sulfinyl α -aminophosphonates	20
Schéma.16. Condensation des amines avec triethyle orthoformiate et le diethylphosphite	22
Schéma.17. Produits secondaires représentatifs de la procédure à trois composants pour la synthèse d'acides aminométhylènebisphosphoniques23
Schéma.18. Mécanisme de la réaction à trois composants d'amines avec des orthoformates et des phosphites.	24
Schéma. 19. Représentants de bisphosphonates utiles obtenus par addition d'amines au vinylidène bisphosphonate	25

Schéma. 20. Formule structurale de 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazine (DPPH) en tant que le radical libre et la forme stable	41
Schéma. 21. Représentation de la réaction de synthèse d' α -aminophosphonates des deux catégories 1 et 2 respectivement	50
Schéma. 22. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule 1a	52
Schéma. 23. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule 1b	55
Schéma. 24. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule 1c	59
Schéma. 25. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule 1d	63
Schéma. 26. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule 2a	65
Schéma. 27. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule 2b	67
Schéma. 28. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule 2c	69
Schéma. 29. Mécanisme réactionnel général de formation d' α -aminophosphonates	72

Liste Des Tableaux

Tableau. 1: Pourcentage expérimental et théorique des éléments C, H, N et S dans les composés α -aminophosphonates synthétisés	74
Tableau. 2: Paramètres principaux caractéristiques des spectres UV-vis des produits de départ enregistrés en éthanol à température ambiante (TA)	76
Tableau. 3: Paramètres principaux caractéristiques des spectres UV-vis des produits synthétisés enregistrés en milieu éthanol à température ambiante (TA)	77
Tableau. 4: Tableaux récapitulatif des principaux pics caractéristiques des groupements fonctionnels des produits synthétisés en infrarouge	81
Tableau. 5: Principale paramètres caractéristiques des phosphonates dérivées de Propylamine $C_3H_7-NH_2$, catégorie 1	84
Tableau 6: Principale paramètres caractéristiques des phosphonates dérivées de 4-aminopyridine $C_5H_4N-NH_2$, catégorie 2	85
Tableau 7: Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des molécules synthétisées et diclofenac sodique, l'absorption moléculaire a été mesure a $\lambda = 660$ nm	100
Tableau 8: Diametres d'inhibition de l'activite antibacterienne des molécules synthetisees vis a vis les bacteries de Gram positif et Gram negatif	103

Liste des abréviations

UV-vis: Spectroscopie ultraviolet-visible

CCM: chromatographie sur couche mince

IR: Spectroscopie infra-rouge

RMN: Résonance magnétique nucléaire

DPPH* diphényl picryl hydrazyl

CV: carbone vitreux

DL₅₀: dose létale 50

TMS: tetraméthylsilane

IC₅₀: La concentration inhibitrice

BHT: Hydroxytoluène butylé

VC: voltammétrie cyclique

E_{ECS}: électrode de calomel saturé

DMSO: Diméthylsulfoxyde

ADN: Acide désoxyribonucléique

E. Coli: Escherichia coli

INTRODUCTION

GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les composés organophosphorés jouent un rôle primordial dans la chimie du vivant, et prépondérant dans de nombreux biomolécules et métabolites biologiques. Les analogues d'acides phosphoniques et leurs dérivés phosphonates font l'objet des études continues et intensives en biochimie et en médecine [1]. Jusqu'à maintenant, ils ont vu des applications en tant qu'agents antibactériens [2], inhibiteurs d'enzymes [3]; tels que synthase [4], protéase du VIH [5], rénine [6], l'activité phosphatase [7], des agents anti VIH [8], antifongiques [9], herbicides [10], antitumoraux [11], ils ont été aussi utilisés comme haptènes pour la génération d'anticorps catalytiques [12], et incorporés dans des analogues peptidiques [13-15].

Les aminophosphonates sont considérés comme une classe importante de ces composés, ils présentent plusieurs activités biologiques intéressantes. Leur structure rappelle en effet celle des α -aminoacides. Ils trouvent de nombreuses applications en tant qu'agents antibiotiques et pharmaceutiques [16,17] et en tant qu'inhibiteurs enzymatiques peptidiques ou non peptidiques [18-20].

Ces molécules se comportent en tant qu'agent chélateur efficace des métaux de transitions et lourds [21], leurs complexes de lanthanides occupent une importance particulière dans l'industrie de l'imagerie médicale [22], les phosphonates sont également exploités dans l'amélioration de la production agricole comme régulateur de croissance de plante.

La structure, la solubilité des acides phosphoniques en milieu aqueux, et leurs capacité à former des complexes métalliques stables notamment avec le fer, font de ces entités des inhibiteurs de corrosion très efficaces exploités pour prolonger la durée de vie des installations métalliques soit sanitaire ou industrielle

En plus de leurs propriétés multidisciplinaires, les phosphonates sont d'excellents intermédiaires en chimie organique qui permettent la création de liaisons carbone-carbone de manière efficace.

Dans ce travail nous avons visé la synthèse des séries de nouvelles molécules bioactives de la famille α -aminophosphonate et l'étude de leurs principales propriétés pharmaceutiques. Le manuscrit est subdivisé en 4 chapitres:

- Le premier chapitre présente une brève synthèse bibliographique des travaux antérieurs sur la synthèse et les applications des phosphonates et les acides phosphoniques ainsi que le mode d'action des antioxydants, les antibiotiques et les anti-inflammatoires.

- le deuxième chapitre résume d'une part les méthodes principales utilisées lors de la synthèse et la caractérisation des molécules synthétisés, et d'autre part les méthodes utilisées pour la mise en évidence des propriétés bioactives aspects et pharmaceutiques.

- Le troisième chapitre regroupe les résultats expérimentaux de synthèse chimique et de caractérisation physicochimique des molécules obtenues.

- Dans le quatrième chapitre nous avons exposé les résultats et la discussion de l'étude des propriétés bioactive principale des molécules synthétisées

Le manuscrit est encadré par une introduction générale sur la synthèse et l'intérêt pharmacologique des phosphonates et de leurs comportements multidisciplinaires. Il est couronné par une conclusion générale et des perspectives qui résument les résultats important mise en évidence et l'horizon des applications prometteuses attendues.

CHAPITRE I
ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

I. 1. Généralités sur les phosphonates

I.1.1. Historique

Tandis que la découverte du phosphore pourrait remonter au XII^e siècle et à la cour du roi Henri II, un verrier allemand nommé Hennig Brand est souvent crédité de la découverte en 1669 alors qu'il cherchait la célèbre pierre philosophale [23-27].

Après avoir abandonné sa profession pour l'alchimie, il devint convaincu que la pierre de fabrique pouvait être découverte par la distillation de l'urine putréfiée à une température très élevée, mais seulement obtenue une substance blanche, cireuse, incandescente maintenant connue pour être le phosphore [24, 25].

Avec la découverte de l'élément dans l'urine, la prochaine question logique est pourquoi et où a-t-il provient. Environ 70 ans plus tard, Andreas Sigismund Marggraf trouvé un matériau luminescent et combustible dans des graines de plantes et a conclu que les humains retirent le phosphore provenant de matières végétales comestibles et par la suite, il a été éliminé par l'organisme dans l'urine [25].

Les progrès de la science ne seraient plus tard valider cette conclusion, ainsi que prouver que le phosphore est un élément essentiel pour la vie et qu'il se trouve dans une multitude d'organes, les os, et processus biologiques [24-26].

Le 18^{ème} siècle a vu une augmentation importante de l'utilisation de phosphore. La variété des applications incluses, les allumettes, les poisons et traitements médicamenteux pour l'épilepsie, la mélancolie, et des crampes [23,26]. Il n'est pas avant des années 1770 que Scheele1 trouvé qu'il est essentiel pour les os et les dents. Le coût élevé de l'élément à ce moment était en partie en raison de l'absence d'une production à grande échelle. Même alors, il était encore en grande partie produit par la distillation de l'urine ou par l'intermédiaire de la solubilisation des os avec de l'acide sulfurique [24,26].

Des avancées majeures dans la production de phosphore élémentaire et d'élucidation structurale des composés du phosphore a commencé au 19^{ème} siècle lorsque des composés tels que les orthophosphates, pyrophosphate, métaphosphate, les alkylphosphonates, et la phosphine sont devenus connus [23], pour n'en nommer que quelques-uns. Dans les années

1850, la production d'engrais et l'extraction de minerais de phosphate brut (ont) a également commencé avec le développement de la chimie des procédés humides [23, 27,28]. Breveté en 1842, cette méthode a permis l'extraction de la matière brute à partir de phosphate de calcium des roches [23,24].

Bien que l'exploitation minière majeure se produit encore en Floride, l'ouest des États-Unis, la Chine, le Maroc et la Russie, cette technique est en grande partie seulement assez propres pour fournir du matériel pour l'engrais [23, 24, 27]. Cependant, La technique de l'arc électrique ou four électrique développée en 1888, a permis l'introduction de phosphore dans des schémas synthétiques plus complexes [23,24,28].

Les vapeurs de phosphore blanc sont formées, nettoyées, et recueillies à travers un précipitateur électrostatique pour créer de très hautes températures (1200-1450 °C) suivie d'une condensation de la P₄ en une poudre blanche [23, 24, 27,28].

Les besoins d'une plus grande production de l'industrie moderne ont également conduit à l'exposition des travailleurs d'usine de quantités nocives de phosphore vaporeux [23].

Les pires effets peuvent être une nécrose de la mâchoire ou "phossy jaw " [24]. Bien que la cause exacte de la nécrose est toujours discutable, il a été dit que c'était la seule maladie professionnelle défigurant du 19^{ème} et au début du 20^{ème} siècle [28].

D'autres affections courantes résultant de la surexposition au phosphore: faiblesse, malaise, céphalées, vertiges, une trachéo-bronchite, laryngite, et la tendresse ou l'élargissement du foie [28]. L'exposition orale et cutanée est également particulièrement néfaste, ce qui entraîne de graves brûlures et d'insuffisance rénale après l'intégration d'aussi peu que 15 mg par une personne de 150 livres [28].

Un autre sous-produit de l'augmentation de la production par l'exploitation minière et l'industrie est le relargage de phosphore dans l'environnement. L'eutrophisation ou la contamination des grands lacs, rivières et cours d'eau est problématique et elle découle de l'augmentation d'engrais et d'eaux usées [24, 26, 27].

Les méthodes modernes ont permis à la production de masse de phosphore élémentaire dans de multiples formes. Probablement né d'une nécessité, le phosphore est maintenant utilisé dans un certain nombre d'applications industrielles, y compris les détergents, insecticides, les feux d'artifice, comme un agent de séchage, et de raticides (poisons) [26,29].

Il est encore plus communément utilisé dans les produits intermédiaires pour additifs dans l'essence, allumettes, les tensioactifs, les pesticides, et l'industrie pharmaceutique [24]. En 1988 seulement, 11 717 tonnes d'acide phosphorique ont été produit en grande partie pour les engrais, mais aussi comme intermédiaire pour des sels de phosphate, la production de charbon actif, de la céramique, de l'alimentation animale, du ciment dentaire, des boissons gazeuses [24,28]. Sa nature hautement réactif à l'oxygène, le soufre, le chlore et l'eau font PCl_3 très utile, et c'était le deuxième composé de phosphore le plus produit signalés en 1988 [28].

Bien que le phosphore soit le 12^{ème} élément le plus abondant dans la nature, il se produit le plus généralement sous forme de phosphates dans les minéraux, les sols fertilisés, ou de petites quantités dans le graphite [23, 24, 28]. L'absence de comparution dans son état libre pourrait expliquer le fait qu'il n'est pas avant les années 1930 que les trois principales formes allotropiques du non métalliques, élément essentiel de phosphore ont été reconnus: blanc, rouge et noir (**Fig. 1**) [23, 26, 28]. Le phosphore blanc, qui souvent s'enflamme spontanément dans l'air, est le plus réactif, le plus utilisé industriellement sur le plan pharmaceutique et aussi le plus toxique [24,28]. Bien qu'il possède une géométrie tétraédrique, c'est presque toujours trouvé que le sel inorganique de l'acide phosphorique (**Fig. 1**) [28]. Presque tous les autres composés du phosphore blanc peuvent être fabriqués à partir du phosphore directement ou indirectement [23].

Le premier découvert par Von Schrotter en 1847, la variété rouge est moins réactive en raison de la structure de la chaîne polymérique des composés de P_4 , et elle peut être produite par chauffage du phosphore blanc dans une atmosphère inerte (**Fig. 1**) [23, 24]. Phosphore noir non reconnu jusqu'en 1914 par Bridgeman, est thermodynamiquement le plus stable, ressemble à du graphite, et est produit en soumettant du phosphore blanc à la pression [23, 28]. Il est trouvé naturellement dans 3 configurations géométriques, rhomboédriques, cubique et orthorhomboidal [23,28]. Un allotrope supplémentaires ou sous-allotrope de diphosphore, gazeux [23] a été découvert plus tard au moment de la soumission de phosphore blanc à une chaleur extrême d'au moins 1100 Kelvin, bien que la stabilisation des métaux de transition a permis des conditions d'isolement plus douces [30,31].

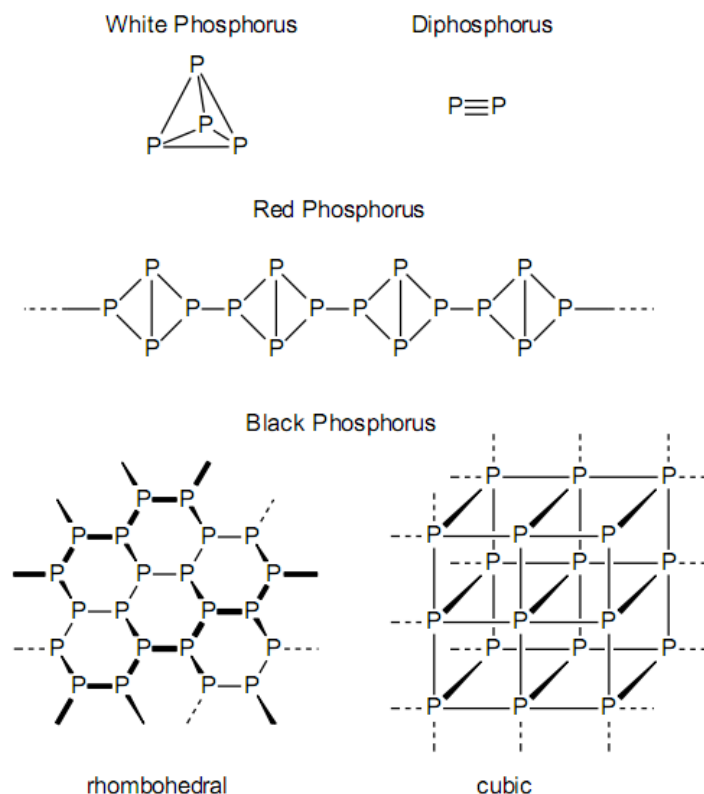


Fig. 1. Allotropes de phosphore [23, 24]

Le phosphore est un élément polyvalent. Il peut former une variété de liaisons covalentes et des composés subséquents, y compris les sels inorganiques (souvent des sels de sodium, d'ammonium, ou de calcium des phosphates), des complexes de métaux de transition, et peut-être le plus important des composés organophosphorés, qui font partie intégrante de la poursuite des processus biologiques importants (**Fig. 2**) [23, 24, 27]. En brisant la règle de l'octet et en élargissant sa coque d'électrons pour inclure les orbitales d, il peut aller dans l'état d'oxydation de 3 à 5, bien qu'il est presque toujours trouvé comme une espèce tri- ou pentavalent dans la nature (**Fig. 3**) [23, 27]. Le phosphore à haute affinité pour l'oxygène est particulièrement pertinent et s'observe dans la plupart des composés du phosphore naturel. Dans les composés oxygénés tels que les oxydes de phosphine, le don arrière des orbitales d vacants chevauche avec les paires solitaires d'oxygène pour une liaison $2p\pi-3d\pi$, qui peut être très exploités dans la chimie synthétique (**Fig. 3**) [23, 27, 32]. En outre, les composés phosphores peuvent avoir une nature diphile, agissant à la fois comme nucléophile et électrophile à différentes étapes dans le même mécanisme de réaction [23, 27, 33, 34]. Bien que communément par rapport à l'azote, sa chimie orbitale d lui permet d'avoir une plus

grande polarisabilité [32] et une diminution de l'électronégativité qui ressemblent plus à la chimie de l'arsenic [23].

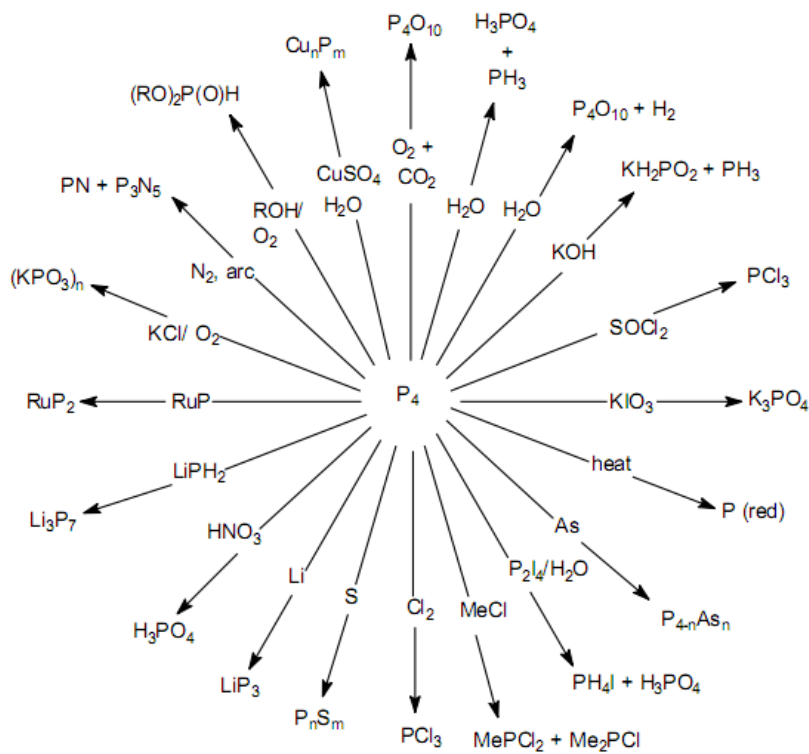


Fig. 2. Diverses réactions de phosphore blanc [2,3]

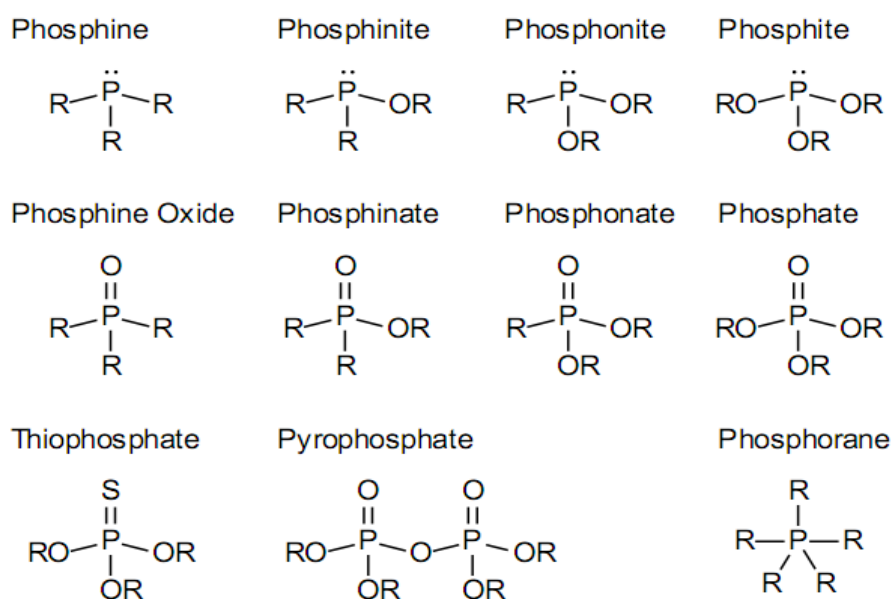


Fig. 3. Certaines parties organophosphorées représentent une partie alkyle, H, halogénure, ou contre-cation [1, 2, 5]

Avec les progrès de la science ont une meilleure compréhension des systèmes biologiques et la nécessité de phosphore dans ces systèmes. Il fait partie intégrante de la vie végétale, en particulier la photosynthèse et la production de composés emmagasinant de l'énergie tels que l'adénosine triphosphate (ATP, 1) [25] et le nicotinamide adénine dinucléotide (NADH, 2) (**Fig. 4**) [23,29]. Ces phosphates sont alors employés dans la deuxième lumière-étape indépendante de la photosynthèse, le cycle de Calvin, pour la production d'énergie qui alimente les fonctions biologiques [23, 25]. C'est à son tour utilisé dans un certain nombre de processus, y compris l'oxydation anaérobie du glucose (cycle Embden-Meyerhof) et l'oxydation aérobie du glucose (cycle de Krebs) [23,24].

Comme avec les plantes, ces processus biologiques impliquent la génération et le stockage de l'énergie à travers le clivage et la formation de liaisons phosphate de l'ATP ou les réactions d'oxydoréduction impliquant NAD [23, 24, 35]. Diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP, 4) et l'isopentényl pyrophosphate (IPP, 3) sont générés dans les voies mévalonates et non-mévalonates, qui sont responsables de fournir les éléments de base pour la biosynthèse

des complexes des terpénoïdes (**Fig. 4**) [23, 33, 36]. Les phosphates les plus importants dans le corps sont ceux qui forment les liens entre dans l'épine dorsale de nucléosides à la fois l'acide désoxyribonucléique (ADN, 5) et de l'acide ribonucléique (ARN) (**Fig. 4**) [24, 29]. En 1962, Watson et Crick même valu un prix Nobel pour leurs recherches sur la structure de l'ADN et l'ARN, qui contiennent le code génétique de tous les organismes vivants [24].

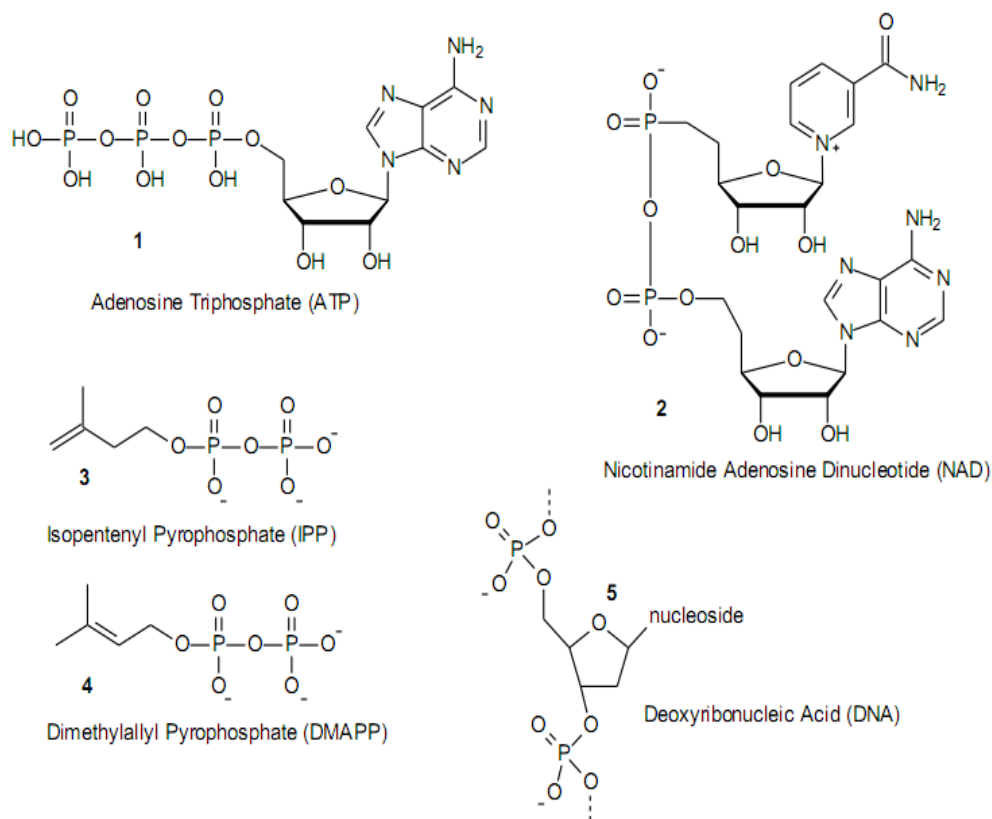


Fig. 4. Composés biologiques du phosphate

En plus de leur participation à des processus physiologiques, des composés contenant du phosphore ont été employés dans de nombreuses applications médicales à des fins variées et un large éventail de maux [23, 26]. Par exemple, les sels de phosphate organique peuvent être utilisés pour améliorer l'efficacité des médicaments, souvent par l'augmentation de la solubilité des drogues dans le corps et/ou de maintenir le pH naturel du corps (**Fig. 5**) [29]. La codéine (un analgésique bien connu), l'amphétamine (6, comme antidépresseur) et l'histamine (7, lorsqu'il est utilisé pour traiter les parasites) sont tous utilisés comme leurs sels de phosphate [23]. Bien qu'ils soient commercialisés sous forme d'alcool, les enzymes in vivo à convertir l'Acyclovir en forme de triphosphate actif (8) qui peut ensuite inhiber l'activité de l'ADN polymérase virale de l'herpès simplex [23, 37, 38]. Les dérivés du phosphate d'une

amine, echothiophate l'iodure (9), sont cliniquement utilisés dans le traitement du glaucome et agit comme un inhibiteur du cholinestérase [23]. Les sels inorganiques du phosphore ont également trouvé une large applicabilité (10-13). CrPO_4 radioactif (14) est utilisé dans les traitements du cancer, et les sels d'or-phosphore tels que Auranofin (15) peuvent réduire l'inflammation associée à l'arthrite rhumatoïde (**Fig. 5**) [23].

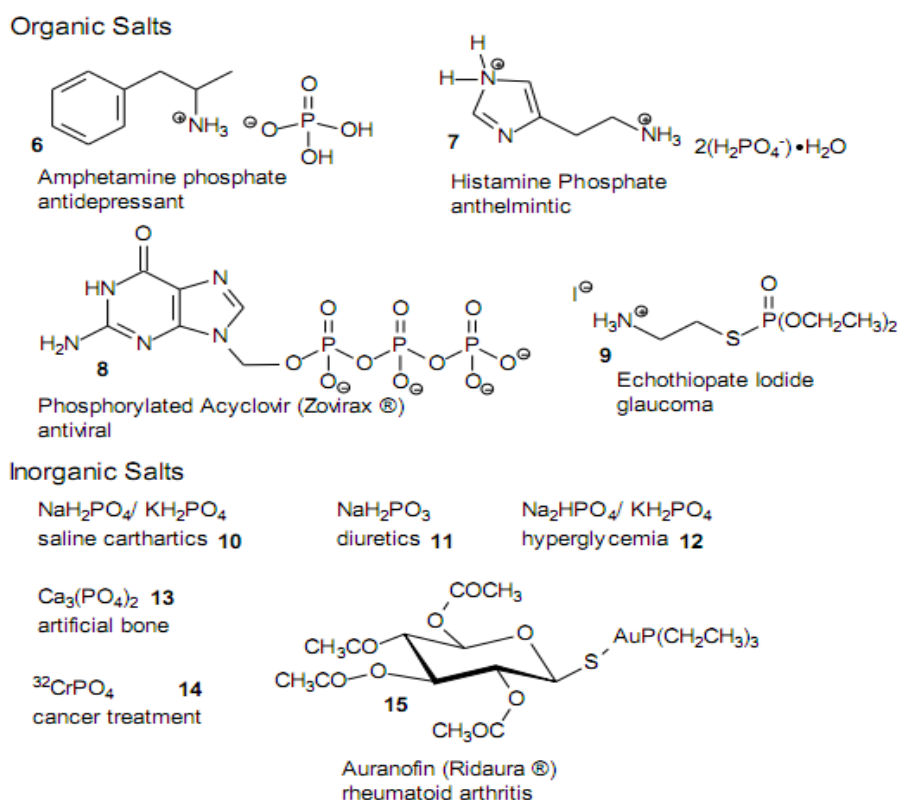


Fig. 5. Certains composés médicinaux du phosphore [23]

Bien qu'initialement utilisé comme insecticide, 2-phosphofluoridate (DFP, 16) [24] et le parathion (17) ont été retirés du marché après qu'ils sont particulièrement toxiques pour les mammifères (**Fig. 6**) [23, 25, 27]. La toxicité inhérente habituellement issue de la capacité des composés d'inhiber l'activité de l'acétylcholinestérase, ce qui perturbe la communication nerveuse conduisant à la paralysie et finalement la mort [24, 25, 27]. Petites modifications à la structure peuvent avoir un impact profond, cependant. Par exemple, l'ajout d'un groupe méthyle en Sumithion (19) conduit à un insecticide non toxique, en particulier par rapport à des produits toxiques le méthyle parathion (17) [23,24]. Utilisés à l'origine comme insecticides, Dipterex (20) [25], a même été appliqué à l'égard du traitement de la schistosomiase sous le nom métrifonate (20) [23, 39]. D'autres progrès médicaux y compris

les traitements du glaucome et de la fatigue de muscle ont évolué à partir de la recherche sur les insecticides, les pesticides, et même la guerre chimique [27].

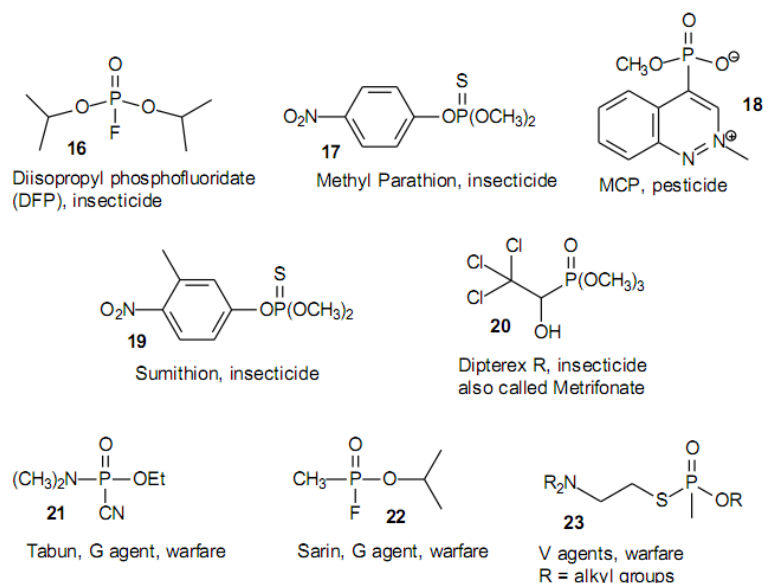


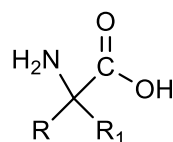
Fig. 6. Quelques exemples d'agents chimiques toxiques de phosphore [23, 24, 27]

I.1.2. Les α -aminophosphonates et les acides phosphoniques

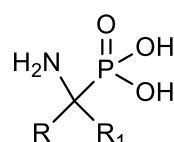
En raison de leurs similitudes structurales évidentes avec les α -acides aminés (24), les acides α -aminophosphoniques (25) constituent des motifs importants dans la chimie médicinale (**Fig. 7**) [40,41]. De nombreux acides aminophosphoniques naturels et non naturels et leurs dérivés ester et peptidiques présentent un large éventail d'activités biologiques [42].

Une part considérable de l'activité biologique de ces composés provient de la capacité du fragment phosphonique tétraédrique d'imiter l'intermédiaire tétraédrique de réactions impliquant une substitution nucléophile sur le carbonyle [43].

Par conséquent, ils servent comme d'inhibiteurs d'enzymes telles que les protéases et les peptides ligases. En tant que tels, on sait que les acides aminophosphoniques agissent comme mimiques peptidiques [44] Herbicides [45], inhibiteurs enzymatiques [46] et pharmacologiques [47], antibactériens [48], antiviraux [49] et antitumoraux [50].



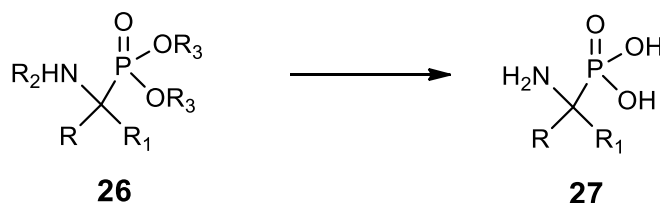
24

 α -amino acide

25

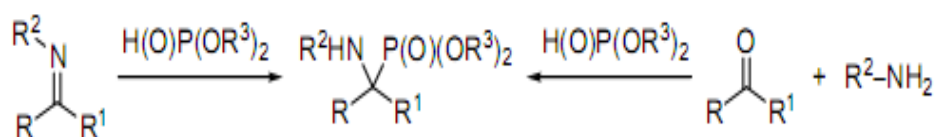
 α -aminophosphonique acide**Fig. 7.** Similitudes entre les acides α -aminophosphoniques et les acides α -aminés.

La principale voie d'acides α -aminophosphoniques (27) se fait par manipulation chimique de la α -aminophosphonates (26) (**Schéma 1**) [51]. En tant que tels, les α -aminophosphonates sont devenues des cibles clés dans la synthèse de cette classe de composés. La voie la plus courante vers les α -aminophosphonates c'est à partir de la réaction de Kabachnik-Fields [56].

**Schéma. 1.** Les acides α -Aminophosphonic à partir de l' α -aminophosphonates.

I.1.3. Synthèse des α -aminophosphonates

La principale voie de synthèse des α -aminophosphonates reste l'hydrophosphonylation d'imines (**Schéma. 2**) [53]. Celle-ci est réalisée par l'une des deux voies: avec la réaction de Pudovik [54, 55] ou par la réaction de Kabachnik-Fields [56], qui combine la formation d'imine in situ par condensation d'une amine avec un aldéhyde ou une cétone, avec l'étape d'hydrophosphonylation. Cette synthèse des α -aminophosphonates à trois composants a été découverte indépendamment par Kabachnik et Fields en 1952 [56].

**Schéma. 2.** Hydrophosphonylation des imines

Le mécanisme réactionnel pour la formation des α -aminophosphonates via le processus décrit ci-dessus est compliqué par le fait qu'une large gamme de catalyseurs et des activateurs ont été déployés. La première considération est l'état réactif du composant hydrophosphoryl.

On sait que les dialkylphosphites existent en équilibre entre deux formes, le phosphite (28) et le phosphonate (29) se forme avec l'équilibre se trouvant au côté du phosphonate dans des conditions neutres (**Schéma. 3**). Cependant, on sait que la forme phosphite et non phosphonate est l'espèce nucléophile [57].

Il a été démontré que la présence d'une base peut influencer l'équilibre de l'équilibre, ce qui permet à la forme de phosphite de devenir plus répandue [58].

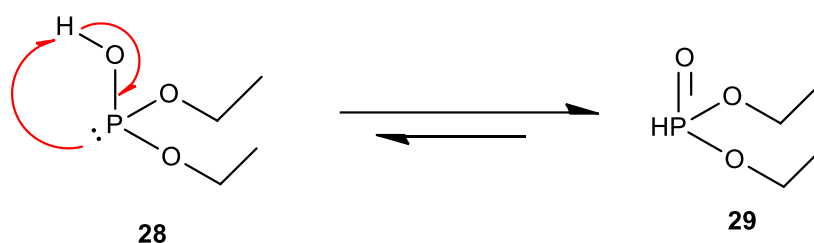


Schéma. 3. Formes tautomères de phosphite de diéthyle.

Dans la réaction de Pudovik, la réaction est considérée comme allant par insertion directe de phosphite dans l'imine à travers un état de transition cyclique à cinq chaînons (30) (**Schéma. 4**). Les activateurs Protic et l'acide de Lewis sont envisagés pour activer l'attaque nucléophile de l'imine.

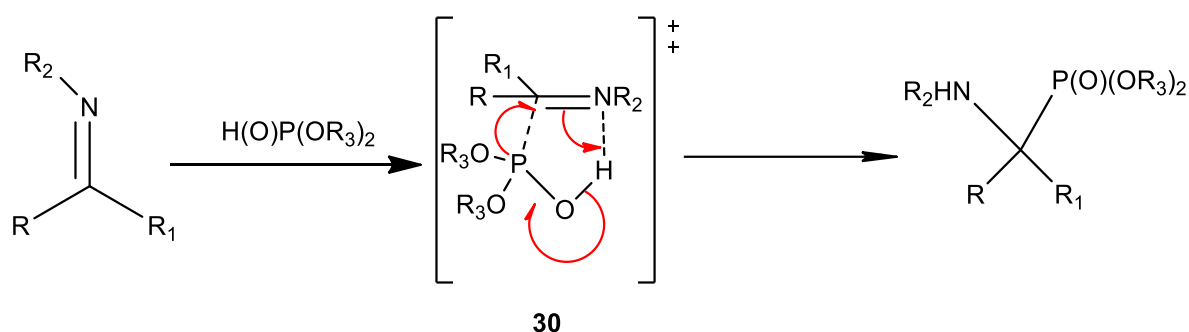


Schéma. 4. Pudovik par l'intermédiaire d'un état de transition cyclique à cinq chaînons

Le mécanisme de la réaction de Kabachnik-Fields à trois composants est cependant plus compliqué, d'autant plus que de nombreux différents types d'activateurs ont été montrés pour être bénéfiques. Comme un processus multi-composants, les espèces de carbonyle, amine et hydrophosphoryl pourraient réagir via de différents produits intermédiaires pour libérer l' α -aminophosphonate final.

Depuis sa découverte, il y a eu de nombreuses idées sur ce mécanisme réactionnel [52,59], et il a été montré que la nature de l'aldéhyde [60], l'activateur [61], le solvant [62] et le pK_b de l'amine [63] ont tous un effet. Cependant, il est le plus souvent considéré que la réaction se produit par génération in situ de l'imine à partir de la condensation du composé carbonyle avec l'amine, suivie d'une attaque nucléophile du composé hydrophosphoryl dans un processus de type Pudovik (**Schéma. 5**).

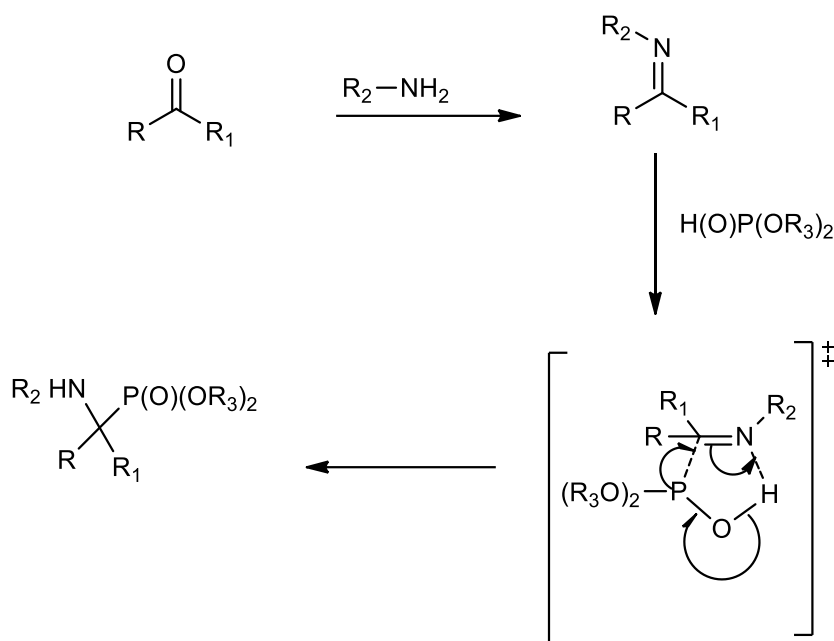


Schéma. 5. Le mécanisme de la réaction de Kabachnik-Fields.

Les premiers rapports publiés en 1952 sur les réactions de Pudovik [54] et Kabachnik-Fields [56] ont reçu plus de 500 citations, révélant un intérêt substantiel dans ces processus. Les développements récents relatifs à ces réactions sont examinés ci-dessous.

Beers et al, au cours de leurs recherches sur les inhibiteurs de la phosphatase, ont synthétisé une série d'acides benzylaminophosphoniques par l'intermédiaire des α -

aminophosphonates correspondants [64]. Les aldéhydes d'aryle (31) réagissent avec des amines primaires pour générer des intermédiaires aldimine (32). L'ajout de dialkyl phosphites à (32) à haute température a été trouvé pour produire les α -aminophosphonates (33) de faible à très bon rendement (Schéma 2.6). (33) a ensuite été déprotégés avec TMSBr dans l'oxyde de propylène pour donner l'acide phosphonique.

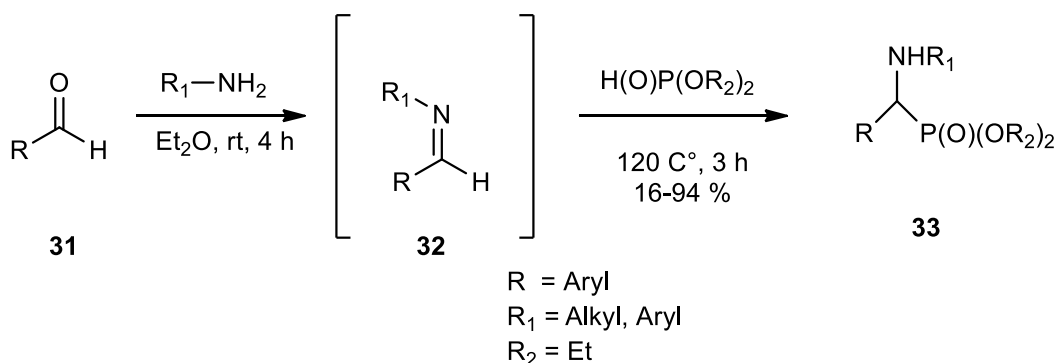


Schéma. 6. α -aminophosphonates à partir de l'aldéhyde d'aryle

Wieczorek et ses collaborateurs ont décrit la synthèse des α -aminophosphonates de ketimines dans des conditions sans solvant [65]. La réaction d'une imine (34) pré-formée avec un phosphite de dialcyle à 70°C a été montrée que l' α -aminophosphonate (35) correspondant était moyennement à très bons rendements (**Schéma.7**).

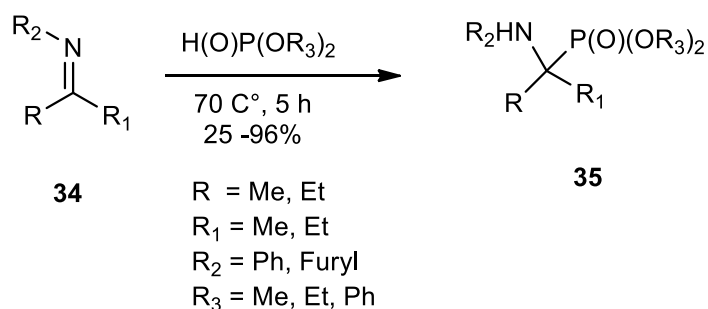


Schéma.7. α -aminophosphonates de kétimines [66]

Nombreux rapports ont décrit l'utilisation de catalyseurs acides de Lewis y compris AlCl_3 [67], TTC_3 [68], $(\text{OTf})_3$ [69], ZrCl_4 [70], Me_2AlCl [71], BF_3 [72], TiCl_4 [83] dans la synthèse des α -aminophosphonates. Quelques exemples sont donnés ci-après.

Kabachnik et al. ont rapporté l'utilisation d'iodure de cadmium comme catalyseur d'acide de Lewis dans leur synthèse d' α -aminophosphonates [73]. En sélectionnant une gamme d'halogénures métalliques, ils ont montré que CdI_2 (2% en moles) améliorerait considérablement la vitesse de réaction entre l'imines (aldimines et kétimines) (36) et le diéthyle phosphite (**Schéma. 8**).

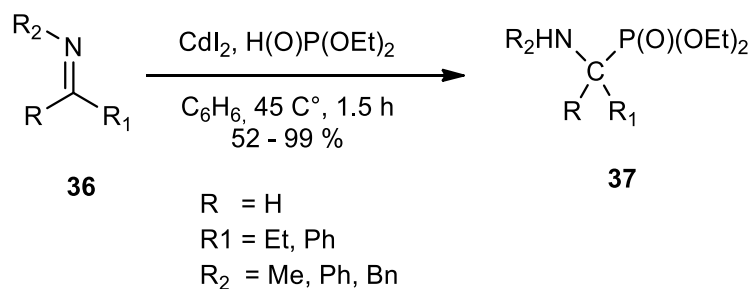


Schéma. 8. Synthèse des α -aminophosphonates à l'aide d'iodure de cadmium.

Perchlorate de lithium était un acide de Lewis, été très efficace pour la production des α -aminophosphonates [74]. A titre d'exemple, l' α -aminophosphonate (38) a été engendré avec un rendement de 98% de la réaction du benzaldéhyde avec l'aniline et le triméthyle phosphite en présence de TMSCl Dans une solution étherée 5 M de LiClO_4 (**Schéma. 9**).

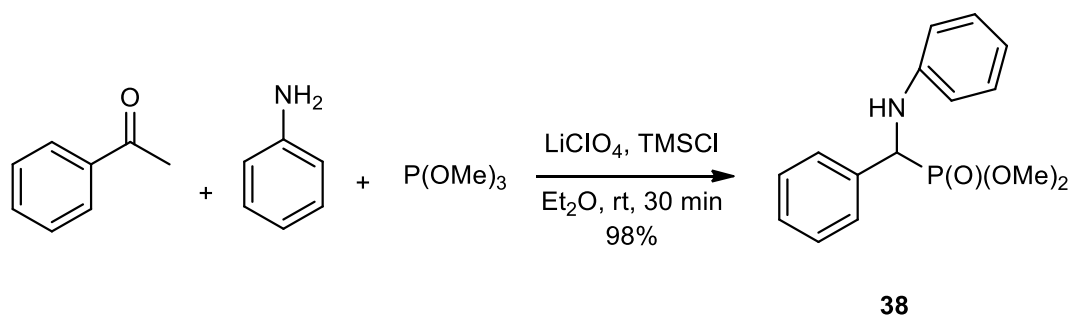


Schéma. 9. Réaction de Kabachnik-Fields à l'aide de perchlorate de lithium.

Matveeva et al, ont développé un acide de Lewis de phtalocyanine (39) tétrabutyl-substitué à base d'aluminium pour la production des α -aminophosphonates à partir de cétones [75]. Par exemple, la réaction de la 3-méthylcyclohexanone avec la benzylamine et le phosphite de diéthyle en présence de (39) a été trouvée pour donner l' α -aminophosphonate (40) avec un rendement de 98% (**Schéma.10**). Notamment, cette réaction semble tolérée des

cétones stériquement volumineuses telles que le camphre et la norbonanone, bien que les rendements rapportés soient faibles dans ces cas (20-30%).

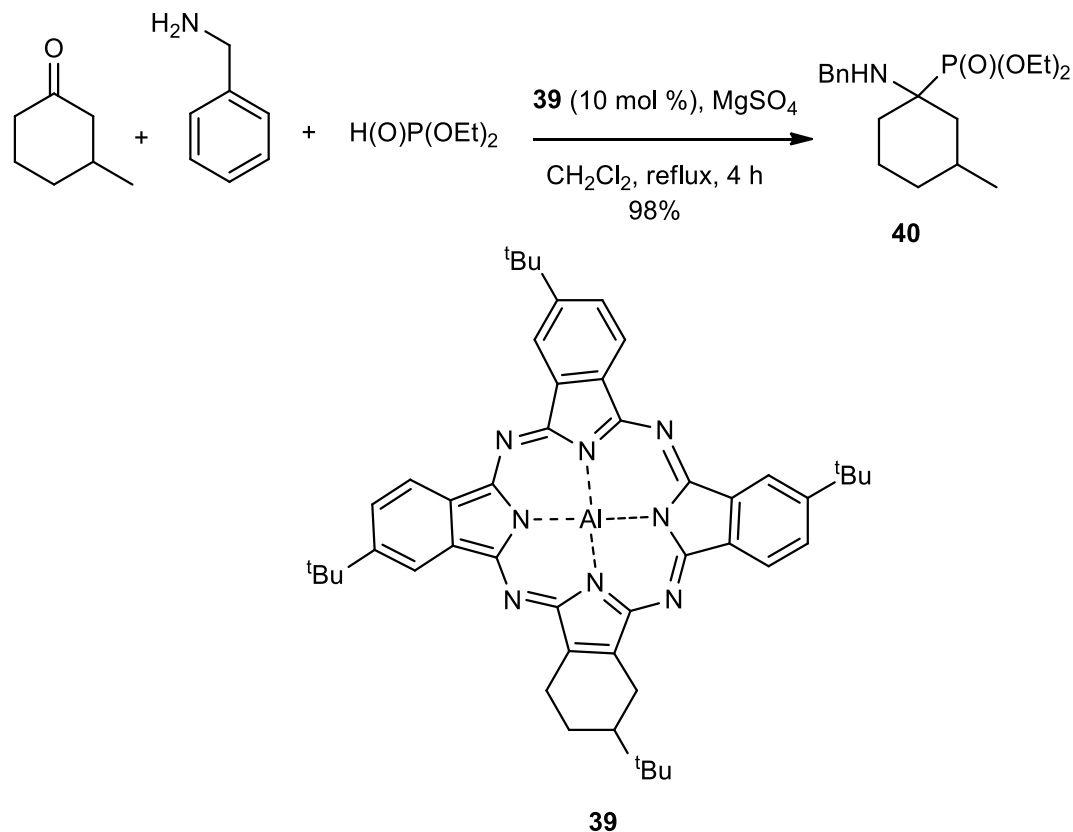


Schéma.10. Kabachnik-Fields utilisant un catalyseur à base d'aluminium

Bhagat et al ont rapporté que le perchlorate de magnésium était un catalyseur très efficace dans la réaction de Kabachnik-Fields dans des conditions exemptes de solvant [76]. Après avoir examiné une large gamme de perchlorates métalliques dans diverses conditions de réaction, ils ont trouvé que la réaction entre aldéhydes ou cétones, Les amines primaires ou secondaires et le dialkyle phosphite en présence Mg(ClO₄)₂ dans des conditions exemptes de solvant donnent les α -aminophosphonates (41) correspondants avec de bons rendements (Schéma.11).

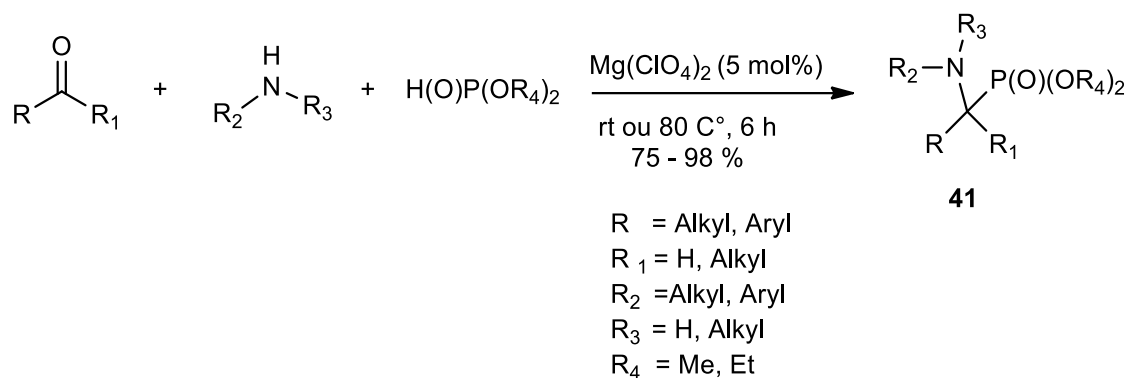


Schéma.11. Réaction de Kabachnik-Fields utilisant le perchlorate de magnésium.

Récemment, Ambica et al, ont rapporté l'utilisation du trichlorure d'antimoine adsorbé sur l'alumine comme catalyseur efficace et recyclable dans une réaction de Kabachnik-Fields [77]. Ils ont indiqué que la réaction entre les aldéhydes, les amines et les dialkyle phosphites conduit aux α -aminophosphonates correspondants (42) avec des rendements élevés en présence de $\text{SbCl}_3 / \text{Al}_2\text{O}_3$ (**Schéma.12**).

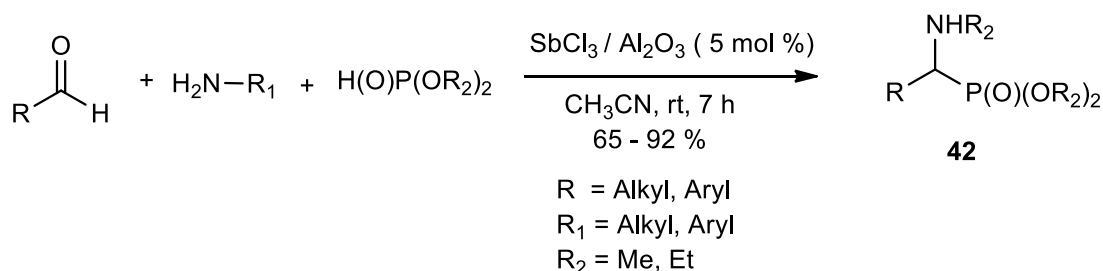


Schéma.12. Réaction de Kabachnik-Fields utilisant $\text{SbCl}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$

I.1.4. Synthèse asymétrique des α -aminophosphonates

Comme les α -aminophosphonates contiennent un centre de carbone asymétrique, il existe de nombreux rapports sur le développement de voies asymétriques à ces systèmes. À ce titre, le développement de voies énantiométriques vers les α -aminophosphonates a reçu beaucoup d'attention. Plusieurs revues sur ce sujet ont été publiées récemment [78], et certains faits saillants sont décrits ici.

Yager et al ont utilisé des amines avec un groupe dirigeant chiral pour induire la stéréochimie dans des α -aminophosphonates dans un processus en deux étapes [79]. La réaction d'une amine énantiopure avec une imine chirale générée par un aldéhyde.

Le traitement de l'aldéhyde avec le diéthylphosphite de lithium a donné α -aminophosphonate correspondant dans des rendements modérés à bons avec des niveaux élevés d'excès diastéréomère. L'hydrogénolyse du groupe directeur chiral a donné l'ester amino correspondant avec de bons rendements et des niveaux très élevés de pureté énantiomère (**Schéma. 13**).

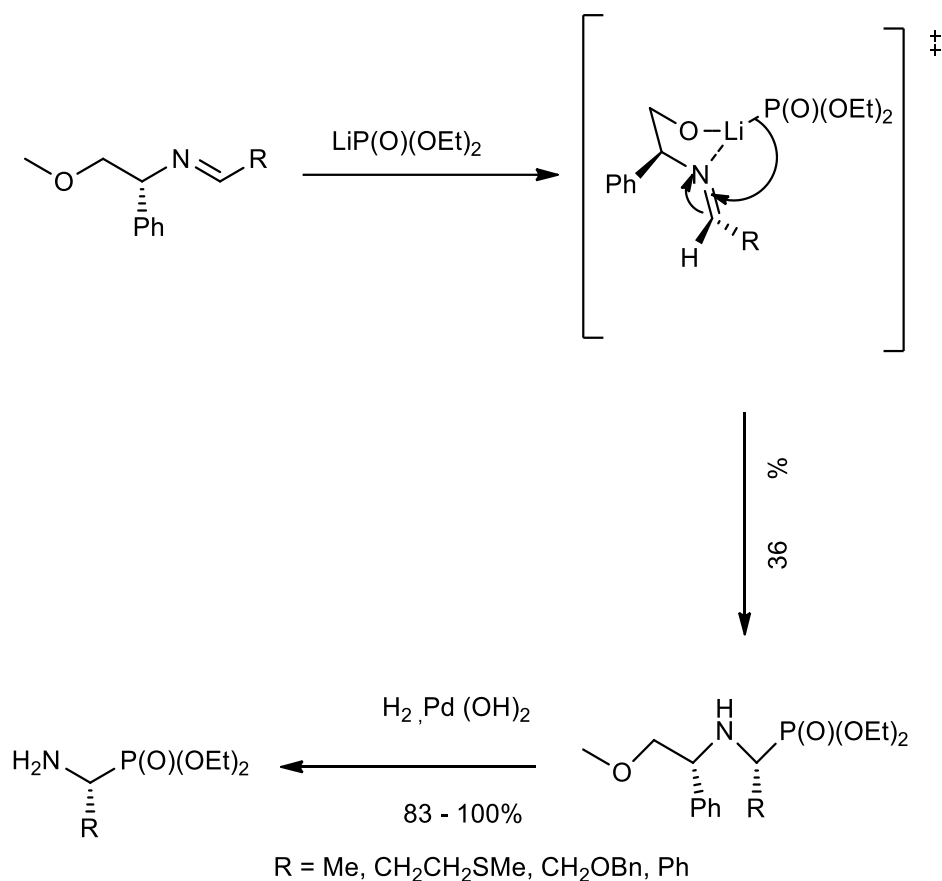


Schéma.13. Synthèse Asymétrique des α -aminophosphonates.

Davis et ses collègues ont utilisé des sulfinimines dans leur synthèse asymétrique des α -aminophosphonates quaternaires [80]. Ils ont démontré que la réaction des kétazulfinimines d'énantio pure avec le phosphite de diéthyle de lithium donnait les α -aminophosphonates de N-sulfinyle correspondants avec de bons rendements et avec des taux élevés d'excès diastéréomère (**Schéma. 14**).

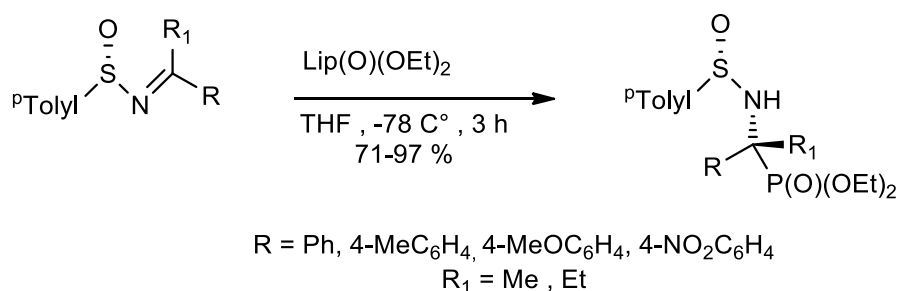


Schéma.14. Synthèse Asymétrique de N-sulfinyl α -aminophosphonates.

Comme dans l'exemple de Yager, ci-dessus, l'induction asymétrique provient de la chélation du cation lithium. Dans ce cas, le cation a été chélaté sur les oxygènes de sulfinyle et de phosphite dans un état de transition en forme de chaise en forme de torsion à sept chaînons. Pour le diastéréomère principal (SS, R) représenté, les groupes aryle et p-tolyle volumineux ont adopté des positions équatoriales énergétiquement favorables conduisant au résultat stéréochimique observé (**Schéma. 15**).

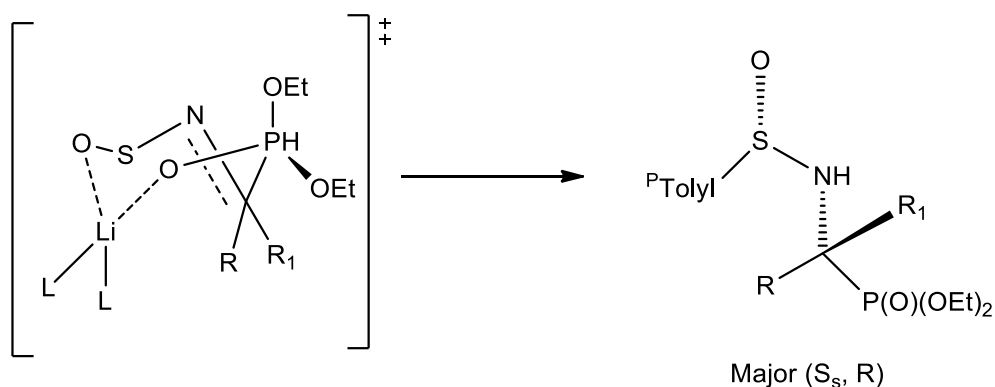


Schéma.15. Rationnel pour le stéréocontrôle des N- sulfinyle α -aminophosphonates.

I.1.5. α -aminobisphosphonates

Les bisphosphonates sont une classe de composés qui reçoivent actuellement beaucoup d'attention. Plus de 17 000 différentes structures des bisphosphonates ont été synthétisés et décrits dans la littérature [81]. La plupart des documents concernent l'importance de leur sous-classe, à savoir les aminobisphosphonates.

Ce fort intérêt résulte de ces composés agissant comme de puissants inhibiteurs de la résorption osseuse, avec plusieurs représentants de cette classe déjà commercialisés comme des médicaments de choix pour le traitement de l'ostéoporose, complications

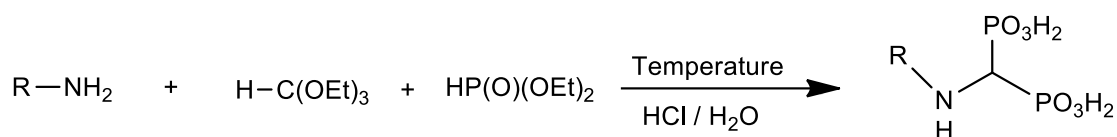
squelettiques de tumeur maligne, la maladie de Paget, le myélome multiple, l'hypercalcémie et dysplasie fibreuse [82] Par conséquent, la plupart des documents sont consacrés à divers aspects cliniques des effets anti-resorptive que les bisphosphonates exercent vers les tissus osseux; cependant, il y a aussi un intérêt croissant pour leurs applications comme agents antibactériens et anticancéreux [83]. En outre, aminobisphosphonique ont trouvé d'importantes applications industrielles, principalement en tant qu'inhibiteurs de la formation de tartre et comme inhibiteurs de corrosion, des actions résultant de leur capacité à former des ions métalliques [84].

Ainsi, des procédures simples et efficaces pour leur synthèse sont de plus en plus importantes. Cependant, seulement quelques réactions générales menant à ces composés ont été décrites à ce jour et ne sont que partiellement examinés dans la littérature [85]. De nouveaux rapports sont surtout concentrés sur les modifications et de l'amélioration de ces procédures, et il n'y a que quelques articles visant à de nouvelles réactions, qui résulte de la procédure appliquée couramment être simple, économique et efficace.

I.1.5.1. Procédures synthétiques

a) Condensation à trois composants d'amines avec l'orthoformiate de triéthyle et diéthyle phosphite

La condensation simple à trois composants des rapports stoechiométriques des amines, du phosphite de diéthyle et l'orthoformiate de triéthyle, signalée pour la première fois dans la littérature des brevets par Suzuki [86] et prolongée par Maier [87], est peut-être la procédure la plus courante pour la préparation d'une grande variété d'Acides aminométhylènebisphosphoniques (**schéma. 16**). Depuis cette réaction donne généralement un mélange complexe de produits [88] qui sont difficiles à séparer, les esters qui en résultent ne sont pas isolés mais plutôt les mélanges réactionnels bruts sont hydrolysés, ce qui donne des acides bisphosphoniques qui sont isolés après l'étape d'hydrolyse. Certaines modifications de cette procédure classique ont également été rapportées. Ils comprennent l'utilisation d'une réaction sans solvant, assistée par micro-ondes [89] et des réactions catalysées par le dioxyde de titane [90] et par les éthers couronne (augmentation de la sélectivité du procédé de 10 % à 20 %) [91]. En outre, une réaction effectuée dans un milieu micellaire a été décrite [92].



R: plus que 300 substituants de structure variable

Schéma.16. Condensation des amines avec triethyle orthoformiate
et le diethylphosphite

La réaction à trois composants a été appliquée à la synthèse d'une large série de composés physiologiquement actifs, dans certains cas, des structures chimiques très complexes, y compris des médicaments antirésorptif osseux [93] ; L'imagerie osseuse [94], les agents antiprotozoaires [95], les agents antibactériens [96], les agents anti-VIH [97] et les agents anti-inflammatoires [98]; Herbicides [99]; Et complexes pour divers métaux [100].

Dans certains cas, cette réaction semble être tout à fait arbitraire et offre-produits secondaire inattendus avec les aminométhylènebisphosphonates (voir exemples dans le **schéma 17**), dont les compositions dépendent des conditions appliquées (rapport molaire de substrats, température et temps de réaction). Le plus souvent, l'alkylation (par exemple, les composés (a) et (b)) ou (composé de formylation (c)) des fractions d'amine est observé [99], alors que dans certains cas, la formation d'acide aminométhylène bisphosphonique (composé (d)) est observée. Parce que ce composé a été préparé préalablement par l'hydrolyse acide de l'acide N-benzhydrylaminométhylènebisphosphonique [101], il se peut qu'il soit formé lors de l'hydrolyse des dérivés de N-aryle.

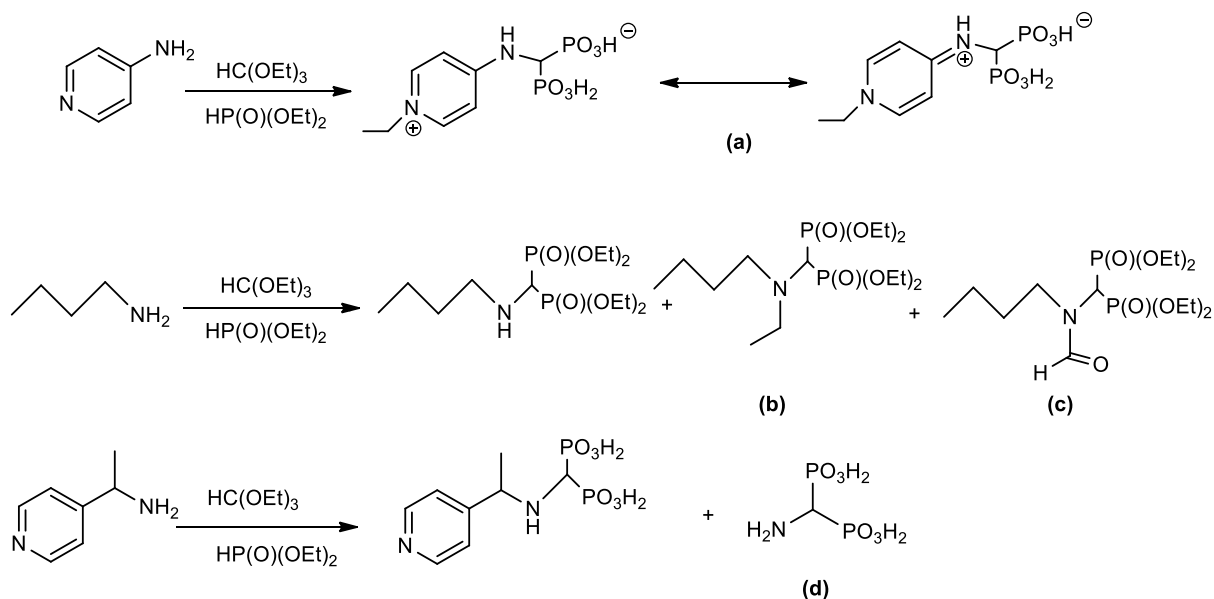


Schéma.17. Produits secondaires représentatifs de la procédure à trois composants pour la synthèse d'acides aminométhylènebisphosphoniques

Le mécanisme de cette réaction utile a été étudié en profondeur en utilisant la RMN ^{31}P et par l'isolement de tous les intermédiaires [102] et l'identification des interrelations entre eux (**schéma 18**) [102]. Le mécanisme semble être assez complexe parce que les intermédiaires existent en équilibre thermodynamique. Ainsi, son cours dépend fortement des propriétés de l'aminé usée et des conditions de réaction appliquées.

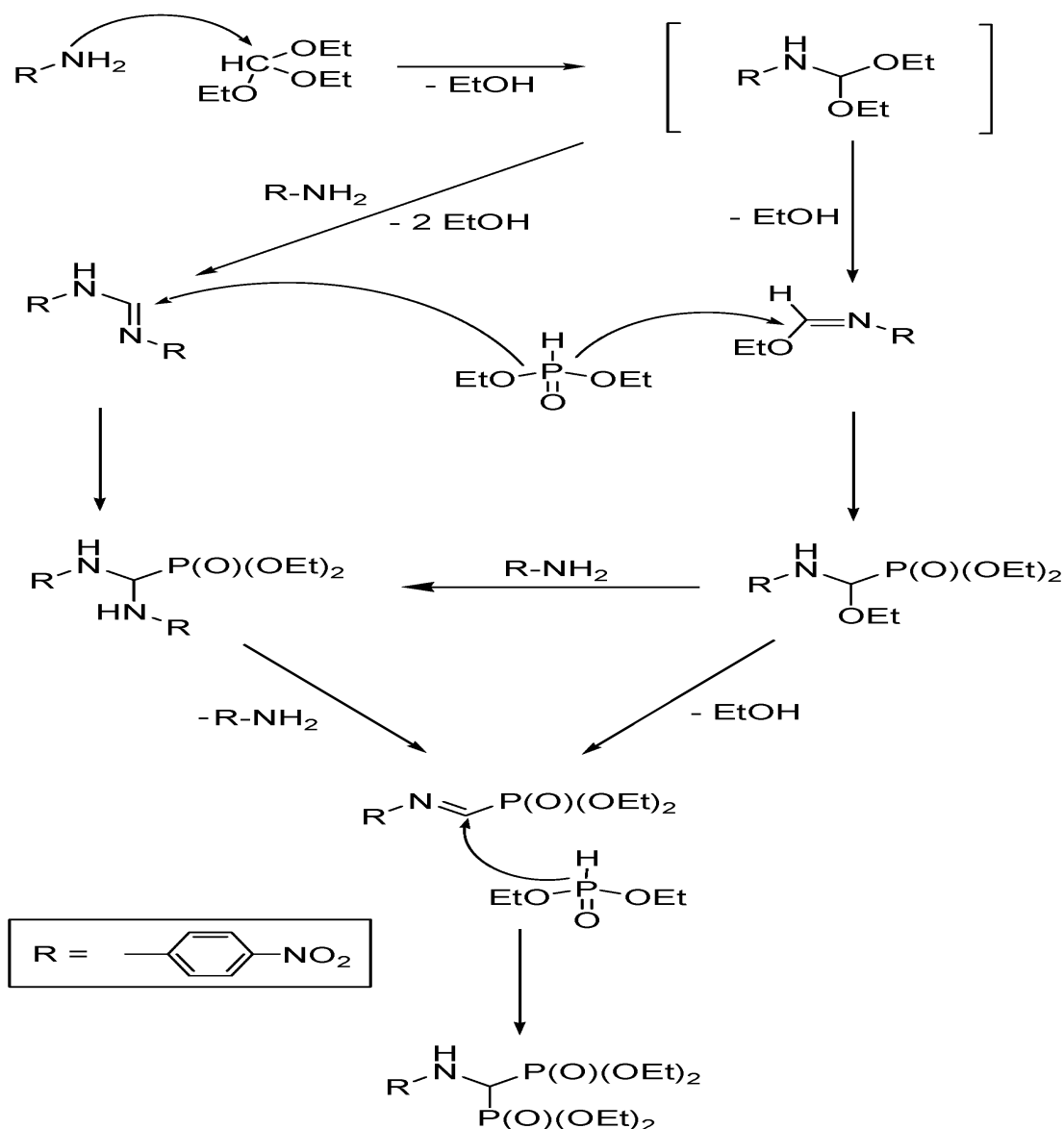
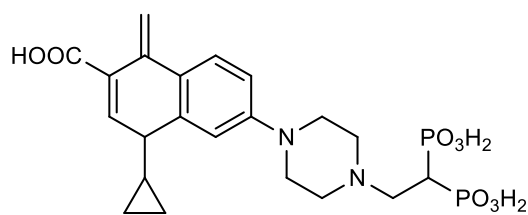
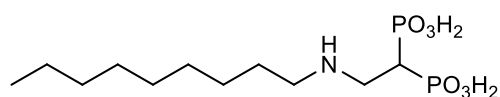


Schéma.18. Mécanisme de la réaction à trois composants d'amines avec des orthoformates et des phosphites.

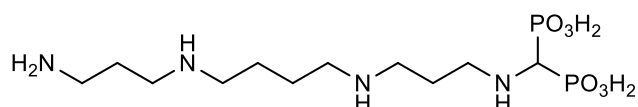
La réactivité des vinylidenebisphosphonates a été utilisée pour la synthèse de dérivés de différents analogues d'agents antibactériens de fluoroquinolone [103], des hétéroaromatiques avec des applications pharmaceutiques [104], des agents antiplasmodiques simples [105], les inhibiteurs de la transcriptase inverse du VIH [97], les agents anti-fractures ostéoporotiques [105], et le N-alkylés pyridines antitumorale [106]. Certains représentants de ces composés (a-e) sont représentés dans le **schéma 19**.



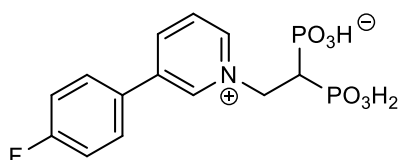
(a) Analogique de ciprofloxacine



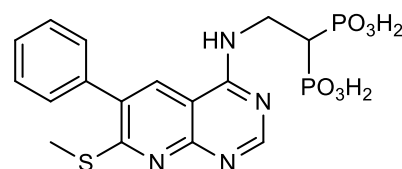
(b) Agent antiprotozoaire



(c) Agent antiostéoprotique



(d) Agent anticancéreux



(e) Inhibiteur de la transcriptase inverse du VIH

Schéma. 19. Représentants de bisphosphonates utiles obtenus par addition d'amines au vinylidène bisphosphonate

I.1.6. Activité pharmacologique des phosphonates

Bien qu'ayant un profit pharmacologique particulièrement intéressant, les phosphonates ont suscité l'intérêt de la communauté scientifique et le nombre d'études concernant leur synthèse ou leur activité biologique ne cesse de croître [107, 108]. La raison d'un tel engouement provient principalement de la différence de stabilité relative des groupements phosphate et phosphonate. Les phosphates ont tendance à s'hydrolyser notamment au contact des phosphatases digestives et par conséquent cela en fait de mauvais candidats en tant que médicaments. La faible stabilité métabolique de cette fonctionnalité diminue fortement la biodisponibilité de drogues potentielles et, par conséquent, leur efficacité.

La substitution d'un atome d'oxygène par un atome de carbone permet généralement d'accéder à des composés aussi actifs, mais plus stables et plus lipophiles, ce qui empêche leur hydrolyse par les phosphatases.

Beaucoup de phosphonates ont des applications en médecine, par exemple les époxyphosphonates sont utilisés comme antibactériens, les analogues nucléosidiques phosphonates comme des antiviraux et les bisphosphonates en tant que médicaments pour le traitement des maladies osseuses multiples [109].

Des composés phosphorés contenant des hétérocycles tel que; les Oxaphospholes (43), l'oxaphosphinine (44) et le vinyloxaphosphinine phosphonate (45) ont été décrits comme des anti-inflammatoires [110] (**Fig. 8**).

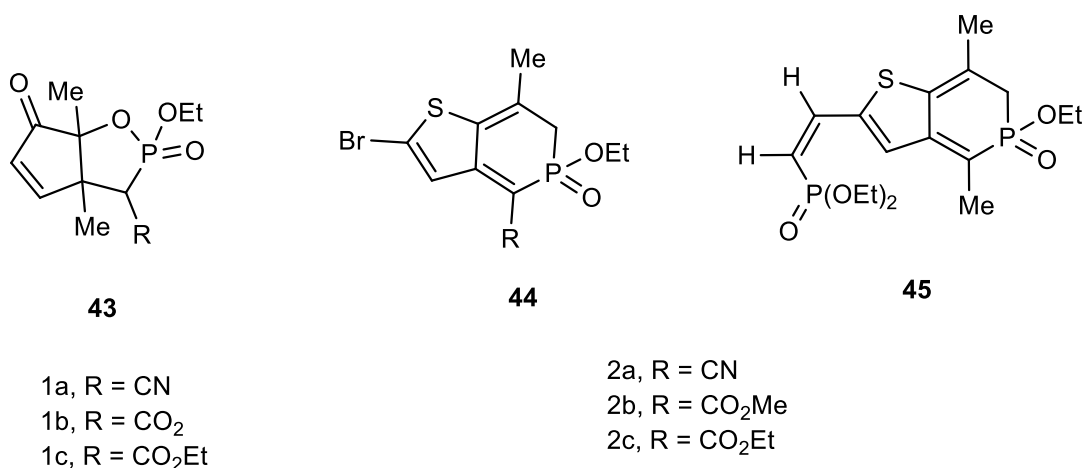


Fig. 8. Structures chimiques des anti-inflammatoires contenant le motif phosphonate.

Des études récentes ont montré une excellente activité antidépresseur et antibiotique de 2-aminométhyl cyclopropyl-phosphonate (46) et d'acide 2-[(N-Hydroxy) carbamoylméthyl-cyclopropyl] phosphonique (47) respectivement [111], et le diéthyl 1-amino-2-vinylcyclopropane-1-phosphonate comme inhibiteur de protéase du VHC (48) [112] (**Fig. 9**)

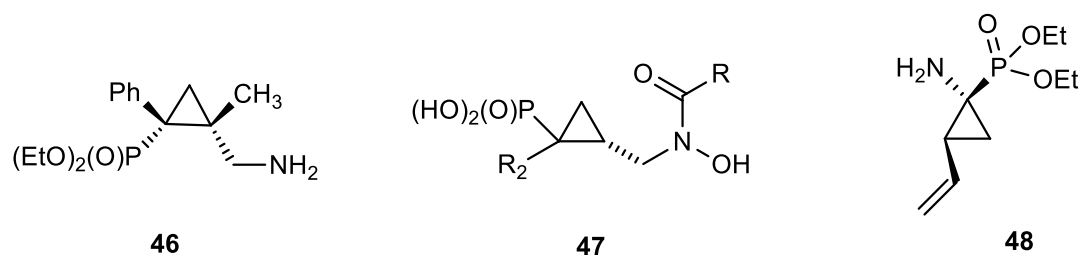


Fig. 9. Structures chimiques des cyclopropyl-phosphonates.

Il y a eu un intérêt croissant dans la synthèse des arylphosphonates contenant du fluor. Certains de ces composés ont été utilisés comme des additifs efficaces dans la composition élastomère acrylique (49), comme photo stabilisant des polymères (50), comme la construction blocs dans la synthèse des catalyseurs pour la polymérisation d'éthylène (51). Par ailleurs, leurs dérivés benzimidazole montrent une bonne activité biologique vers la protéine kinase AMP, utile pour la prévention de diabète (52) (**Fig. 10**) [113].

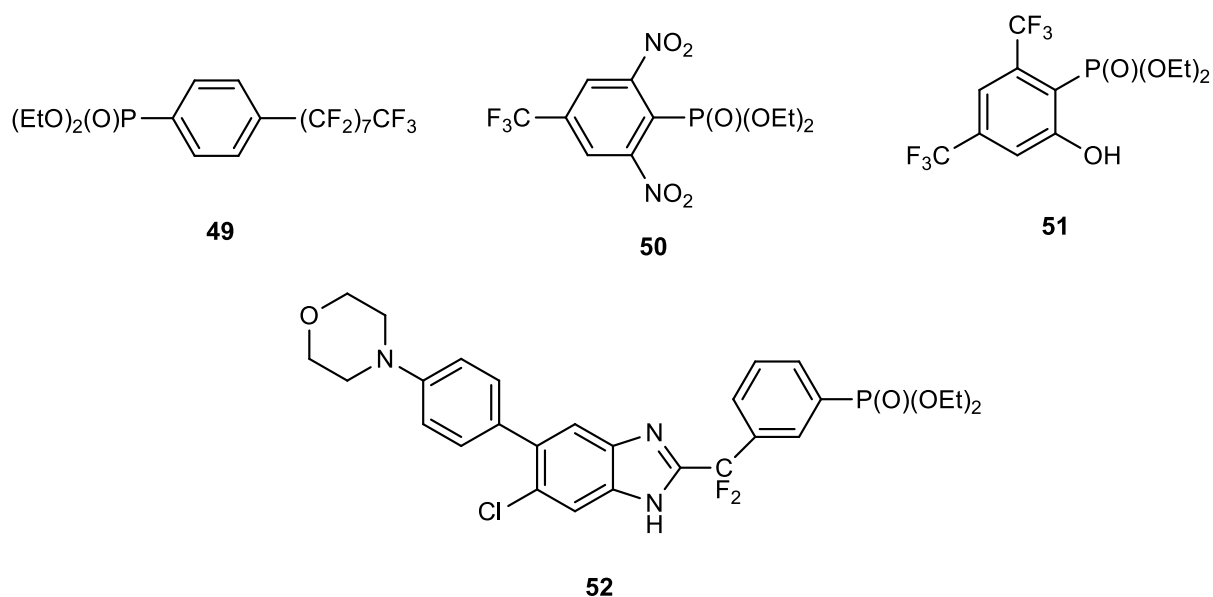
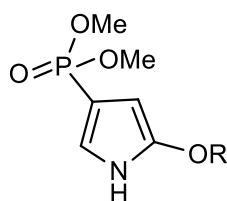


Fig. 10. Structures chimiques de quelques arylphosphonates contenant du Fluor.

Les phosphonates liés à un hétérocycle azoté sont décrits comme des classes importantes de composés ayant un potentiel biologique autant que bioisostères. Par exemple le pyrrole phosphonate est décrit en tant que modulateur pour l'excitabilité du système nerveux central, et cela par leur capacité d'action sur les sites liant les canaux fermés du récepteurs GABA (Arho) (**Fig. 11**) [114].

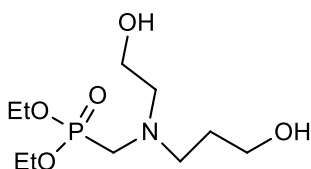


53

Fig. 11. Structure chimique de pyrrole phosphonate

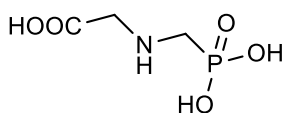
De nos jours, les phosphonates et particulièrement les aminophosphonates sont utilisés quotidiennement dans plusieurs secteurs d'activités [115-117].

Par exemple, le Buminafos, est utilisé comme régulateur de la croissance des plantes dans l'industrie agrochimique, le glyphosate (Round up©) est un pesticide le plus utilisés au monde, le Fyrol 6 © est utilisé comme ignifuge dans différents matériaux (**Fig. 12**).



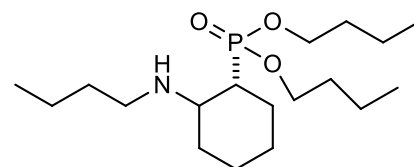
Fyrol 6

54



Glyphosate (Round up)

55



Buminafos

56

Fig. 12. Structures chimiques des aminophosphonates.

La détérioration des denrées alimentaires constitue une préoccupation de santé publique.

En effet, lors du traitement de la matière première et du stockage du produit fini; une peroxydation lipidiques peut survenir sous l'action des radicaux libres oxygénée (EOR).

Dans l'organisme, ces EOR en faibles concentrations jouent un rôle dans de multiples mécanismes physiologiques, elles peuvent être considérées comme des messagers secondaires importants impliqués dans l'activation de diverses voies de signalisation intracellulaires. Cependant, une surproduction des EOR provoque une toxicité à l'origine de diverses pathologies [118].

Les espèces oxygénées réactives (EOR) englobent les radicaux libres de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote, etc...) mais également certains dérivés réactifs non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène et le peroxydinitrite [119,120]. Les EOR sont des espèces chimiques, possédant un ou plusieurs électron(s) libre(s) non apparié(s) sur leurs couches externes [121].

I.2. Définition des antioxydants, des antimicrobiens et des anti-inflammatoires

Les espèces réactives oxygénées (ERO) sont impliquées dans des processus physiologiques à des faibles quantités. Cependant, l'excès de la production des ERO peut devenir toxique pour les composants majeurs de la cellule, les lipides, les protéines et les acides nucléiques, donne lieu au stress oxydatif qui sera impliqué dans diverses pathologies à savoir les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), le diabète, les cancers, les maladies inflammatoires, le vieillissement, etc. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes pour éliminer ou minimiser le dommage oxydatif. Selon le type, les antioxydants peuvent agir en réduisant ou en dismutant les ERO, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant les métaux de transition libres ou en générant des molécules biologiques antioxydantes d'importance. Sous certaines conditions, ces systèmes antioxydants ne peuvent pas fonctionner efficacement. Cependant, la dysfonction antioxydante qui en résulte peut être manipulée par la supplémentation en antioxydants exogènes alimentaires, soit naturels ou de synthèse. L'utilisation de ces derniers est restreinte en raison des effets indésirables sur la santé humaine.

L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées qui sont le siège d'un phénomène appelé explosion oxydative consistant en l'activation du complexe de la NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes au niveau de la membrane cellulaire.

Par ailleurs, la maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale.

Afin d'inhiber la production des EOR et les neutraliser, on a recours aux antioxydants.

Les antioxydants synthétiques sont couramment utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs pour retarder l'oxydation lipidique.

I. 2.1. Antioxydants

Les antioxydants sont des composés chimiques capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit [122].

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol.

En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire [122].

I.2.1.1. Utilisation des antioxydants

Dans l'industrie chimique: pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation. Dans l'industrie agro-alimentaire: pour éviter le rancissement des corps gras. Dans l'industrie teinturerie : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture [123].

I.2.1.2. Classification des antioxydants

Les antioxygènes sont classés dans trois catégories différentes:

- Les antioxydants synthétiques.
- Les substances synergiques.
- Les antioxydants d'origine végétale [123].

I.2.1.2.1. Antioxydants synthétiques

Parmi les antioxydants phénoliques de synthèse qui sont autorisés dans certains aliments: le BHT 321 (3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène), BHA 320 (3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole), sont l'un et l'autre soluble dans les lipides et résistent bien à la chaleur. Ils

ont une action synergique, ils présentent l'inconvénient d'avoir une odeur désagréable et s'évapore rapidement. Le TBHQ (tertiobutyl-hydroxyquinone) est moins soluble dans les graisses et le PG (gallate de propyle) à l'avantage d'être relativement soluble dans l'eau, mais l'inconvénient d'être peu soluble dans les lipides, peu résistant à la chaleur et de donner avec le fer des sels de couleur foncée. Le nitrite présente des propriétés anti oxydantes, il peut aussi former des nitrosamines cancérigènes. Les chélateurs de métaux utilisés et plus efficaces sont les polyphosphates et les dérivés d'acide citrique. [122]

I.2.1.2.2. Substances synergiques

Ce sont des molécules qui améliorent l'action de certains antioxydants. Ce qui se traduit souvent par un accroissement de la période de protection, parmi eux se trouvent: Les acides lactiques, tartriques et ortho phosphoriques et leurs sels de sodium, potassium ou calcium. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer ou le cuivre, dont on connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose. Cependant, ce n'est peut-être pas la seule explication, car plusieurs de ces produits sont d'assez mauvais chélatants [123].

I.2.1.2.3. Antioxydant d'origine végétale

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont: les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols [123].

a- Tocophérols

La grande stabilité des huiles végétales, dans les conditions d'oxydation, est due à la présence d'un taux élevé d'antioxydants naturels dont les plus importants sont les tocophérols qui se présentent sous quatre formes isométriques: α , β , δ et γ . Les tocophérols protègent contre l'oxydation naturelle des acides gras, en particulier les acides gras polyinsaturés (AGPI). On a signalé qu'une molécule de tocophérol peut protéger 103 à 106 molécules d'AGPI comme la vitamine E [123].

b- Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont, avec la chlorophylle et les anthocyanes, les pigments les plus répandus dans la nature. A ce jour, plus de 600 caroténoïdes ont été identifiés, mais seule une quarantaine est retrouvée régulièrement dans l'alimentation humaine. Une

trentaine de caroténoïdes et de leurs métabolites a été identifiée dans le plasma et les tissus humains, mais 6 caroténoïdes sont majoritaires: le β -carotène, le lycopène, la lutéine, la β -cryptoxanthine, l' α -Carotène, et la zéaxanthine [123].

I.2.2. Infections bactériennes et antibiothérapie

Les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. De nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter, cependant leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de la multi résistance bactérienne.

Un antibiotique est une substance antibactérienne produite par des micro-organismes (champignons et bactéries) ou de synthèse chimique capable d'inhiber la multiplication ou détruire les micro-organismes [124]. Les antibiotiques peuvent être classés selon l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action [124].

La classification des antibiotiques selon leurs mécanismes d'action est cependant la plus répandue.

I.2.2.1. Modes d'action des antibiotiques

Les agents antimicrobiens détruisent les bactéries en s'attaquant directement à leurs structures essentielles (paroi cellulaire, ribosomes, membrane plasmique et ADN) et/ou en perturbant leurs métabolismes et par conséquent leurs fonctions [125].

Les modes d'action majeurs des antibiotiques incluent l'interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire (β -lactames), l'inhibition de la synthèse protéique (macrolides et aminoglycosides), l'interférence avec la synthèse de l'acide nucléique (fluoroquinolones) et l'inhibition d'une voie métabolique [126]. L'action sur la membrane est aussi un mécanisme antibactérien très répandu. Les polymixines induisent l'augmentation de la perméabilité membranaire causant la perte du contenu de la cellule bactérienne [127], tandis que le lipopeptide cyclique daptomycine agit, apparemment, par l'insertion de sa queue lipidique à l'intérieur de la membrane, causant sa dépolarisation et éventuellement la mort bactérienne [128, 129].

I.2.3. Anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui luttent contre les inflammations. Il existe deux grands types d'anti-inflammatoires. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (dérivés du cortisol et de la cortisone) peuvent avoir un effet à effet court: parmi lesquels prednisone, prednisolone, méthylprednisolone, un effet intermédiaire ou un effet prolongé :bêtaméthasone, dexaméthasone entre autres; Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens, parmi lesquels les plus connus sont, l'aspirine ou l'ibuprofène.

I.2.3.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Cette classe est très vaste, elle contient l'aspirine, l'ibuprofène et beaucoup d'autres molécules. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont utilisés par voie générale (orale, rectale ou injectable) ou par voie locale (crème, pommade, etc.). Les principales caractéristiques énumérées ici concernent les médicaments utilisés par voie générale [130].

I.2.3.2. Mode d'action et effets

Toutes les molécules de cette classe ont, à peu de choses près, le même mode d'action. Ce sont des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase (COX) c'est-à-dire qu'ils bloquent son action.

La COX est une protéine, une enzyme qui intervient au sommet d'une cascade de réactions aboutissant à la formation de substances impliquées dans:

- L'inflammation (rougeur, douleur, etc.);
- La fièvre;
- L'agrégation des plaquettes sanguines (à faible dose seulement);
- La protection de la muqueuse de l'estomac.

Cette COX existe sous plusieurs formes dont chacune à ses spécificités:

- COX-1 est plutôt impliquée dans les phénomènes plaquettaires et stomacaux;
- COX-2 est spécifique de l'inflammation et de la fièvre.

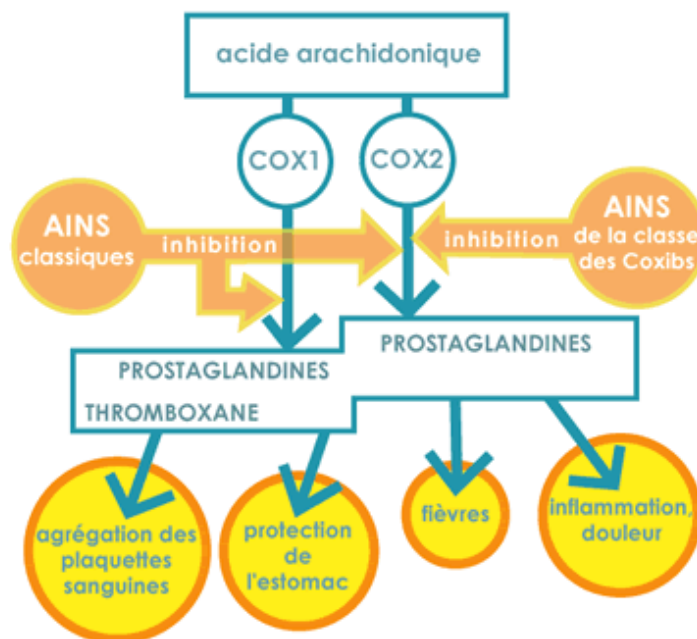


Fig. 13. Mode d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens [130]

I.2.3.3. Anti-inflammatoires stéroïdiens

I.2.3.4. Corticoïdes

Les corticoïdes sont proches des hormones naturelles mais plus puissantes et plus spécifiques. Isolés à la fin des années 1930, les corticoïdes ont été utilisés pour la première fois avec succès pour traiter une femme atteinte d'une maladie rhumatismale grave, à la fin des années 1940. Depuis, la recherche a fait de gros progrès et les laboratoires ont développé, à partir d'une version de synthèse, une multitude de produits, à action générale ou locale : comprimés, injectables, infiltrations articulaires, crèmes, pommades, aérosols (asthme), collyres, etc.

I.2.3.5. Mode d'action des corticoïdes

Le mode d'action de ces médicaments est assez complexe. Leurs effets sont perceptibles au niveau de presque tous les organes. Pour simplifier, après avoir pénétré dans les cellules, les corticoïdes vont entrer dans le noyau pour se fixer directement sur l'ADN. Au niveau de cette molécule géante contenant notre patrimoine génétique, leurs actions sont très diverses. Globalement, ils réduisent la production des facteurs inflammatoires et immunitaires

Fig. 14.

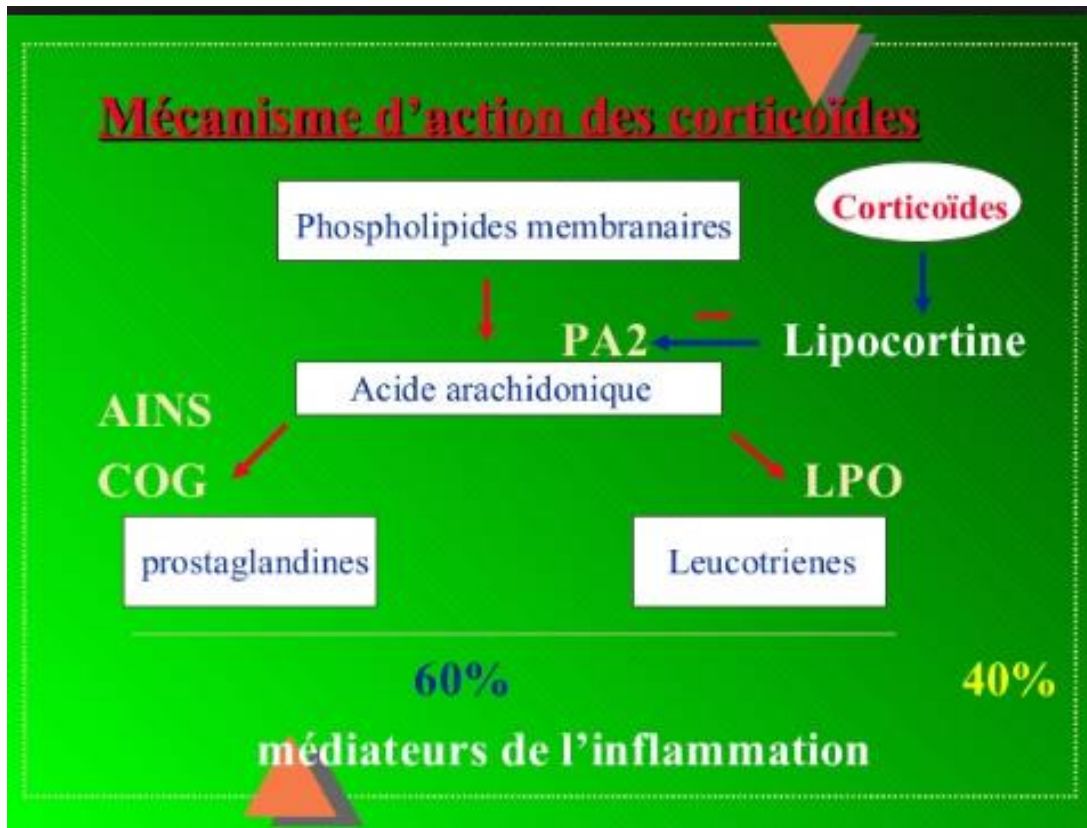


Fig. 14. Mode d'action des anti-inflammatoires stéroïdiens [130]

Dans notre corps, la production de corticoïdes est régulée par d'autres hormones d'origine cérébrale: l'ACTH (adénocorticotrophine) et la CRH (la corticoréline hormone de libération de la corticotrophine). Ces dernières stimulent sa production face à une baisse de la concentration. En retour, les corticoïdes freinent la sécrétion d'ACTH et de CRH pour ne pas excéder certains seuils [130].

CHAPITRE II
MATERIEL ET
METHODES

CHAPITRE II

II. Matériel et méthodes appliqué

II.1.1. Méthodes de caractérisations physicochimiques

II.1.1.1. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode physique de séparation basée principalement sur les phénomènes d'affinité chimique à l'égard de deux phases l'une stationnaire l'autre mobile: la phase stationnaire c'est un solide fixé sur une plaque en aluminium, en plastique ou en verre. La phase mobile c'est un solvant ou mélange de solvant, qui progresse le long d'une phase stationnaire. Après dépôt du soluté sur la phase stationnaire, les substances migrent essentiellement de bas en haut par capillarité à une vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la phase stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile, caractérisée par un rapport frontal (R_f) défini par l'expression:

$R_f = d_{\text{substance}} / d_{\text{solvant}}$ où d_{sub} : Distance parcourue par le composé d_{sol} : Distance parcourue par le solvant respectivement.

II. 1. 2. La chromatographie sur colonne

La chromatographie sur colonne est une technique fondée principalement sur des phénomènes d'adsorption; elle s'apparente étroitement à la CCM au niveau des phases impliquées et du mécanisme mis en œuvre pour séparer les composés. La phase solide, le plus souvent la silice ou l'alumine, remplit une colonne de longueur et section variables; l'échantillon, en solution concentrée, est déposé au sommet de la colonne et la séparation des composés résulte de l'écoulement continu d'un éluant, traversant la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression.

Le principe de cette technique est le même que celui de la CCM; d'une part, les substances plus polaires sont fortement retenues par l'adsorbant dans la colonne, d'autre part les solvants polaires entraînent plus facilement les composants polaires. Pour toute substance adsorbée, il s'établit donc un équilibre de distribution entre les deux phases.

Lorsque l'échantillon est déposé au sommet de la colonne, il est aussitôt adsorbé en une zone cylindrique de faible épaisseur. L'écoulement continu d'éluant dans la colonne

provoque alternativement la désorption et l'adsorption des molécules de l'échantillon. Les molécules sont entraînées vers le bas à des vitesses variables selon leur affinité pour l'adsorbant et leur solubilité dans l'éluant. Le chromatogramme se développe en formant une succession de zones cylindriques qui se séparent en migrant vers le bas. A mesure que chaque zone s'écoule de la colonne, on la recueille.

II.1.1.3. Température de fusion

Les points de fusion des molécules synthétisées sont déterminés en capillaire à l'aide d'un fusiomètre Stuart Scientifique, un appareil de mesure permettant d'estimer la température de fusion d'une matière, présentant un gradient de température, varie de 40°C à 500 °C. La détermination du point de fusion est une donnée physique importante d'une substance.

II. 1. 4. Spectroscopie d'absorption UV-vis

La spectroscopie d'absorption ultra-violette et visible est à la fois une méthode d'analyse quantitative et qualitative. Elle repose essentiellement sur le phénomène d'absorption d'énergie lumineuse par une substance. Lorsqu'une molécule absorbe une partie d'énergie de la radiation électromagnétique, elle est automatiquement accompagnée d'une transition électronique d'un niveau fondamental à un niveau d'énergie supérieur.

Ces transitions électroniques, se produisant à l'échelle moléculaire, concernent les électrons de valences. Les absorptions énergétiques sont exprimées par la loi de BEER-LAMBERT. Cette loi permet de mesurer l'absorbance A, ou la transmission T%:

$$I = I_0 e^{-\epsilon IC}, T = I/I_0 (\%), A = \epsilon IC = \log I_0/I$$

I: Intensité de la lumière transmise

I_0 : Intensité de la lumière incidente

ϵ : Coefficient molaire d'absorption

C: Concentration de la solution en mol/l

T: Pourcentage de transmission

A: Absorbance

l: Epaisseur de la cuve

Les spectres UV-vis ont été enregistrés dans la région 400 nm-900nm avec un appareil JASCO V-650. Les cellules sont en deux, avec un trajet optique de 1 cm.

II.1.1.5. Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique analytique permettant de déterminer la présence ou l'absence des groupes fonctionnels. Elle exprime l'interaction des radiations électromagnétiques avec les différentes parties de la molécule. Les radiations IR provoquent la vibration des liaisons entre deux atomes dans une structure organique, étant donné que les atomes des molécules organiques sont liés entre eux dans un arrangement particulier caractérisant les groupes fonctionnels. Le spectre IR d'une substance organique affiche plusieurs raies exprimant chacune l'absorption d'énergie. La position d'une bande d'absorption dans le spectre IR est exprimée en unité de longueur d'onde (μm) ou en nombre d'onde (cm^{-1}) présentant l'avantage d'être proportionnel à l'énergie absorbée ΔE . Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la région $4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ avec un spectromètre type JASCO FT/IR-4200 en mode réflexion totale atténuée (ATR).

II.1.1.6. Résonance magnétique nucléaire

La résonance magnétique nucléaire a donné son nom à une méthode exceptionnelle pour résoudre les problèmes de détermination de structure des composés moléculaires organiques et de certains types de matériaux inorganiques.

La RMN tire des informations de l'interaction qui peut apparaître entre les noyaux des atomes présents dans l'échantillon quand on le soumet à un champ magnétique intense et constant, produit par un aimant. Le spectre de RMN résulte de l'absorption par l'échantillon de certaines des fréquences envoyées par cette source électromagnétique.

L'interprétation des signaux (position, aspect, intensité), conduit à un ensemble de renseignements sur l'échantillon, d'autant plus facilement interprétables s'il s'agit d'un composé pur. Pour comprendre l'origine de ces spectres, très différents des spectres optiques classiques, il faut faire appel au spin des noyaux.

Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport à la référence interne le tétraméthylsilane (TMS). La multiplicité des signaux est rapportée à l'aide des abréviations: singlet (s), doublet (d), triplet (t), quadruplet (q), multiplet (m).

II.1.1.7. Microanalyse

Le très grand nombre de composés moléculaires comportant à la fois l'élément carbone (C) et quelques autres éléments légers tels que l'hydrogène (H), l'azote (N) et l'oxygène (O), est à l'origine d'une demande spécifique et importante de dosage de ces éléments. Quand on synthétise des molécules au moyen de réactions, ou bien qu'on isole de nouveaux composés par extraction de sources d'origine naturelle on doit s'assurer de la structure et de la pureté de ces composés. Pour cela on doit effectuer leur analyse pondérale. Il s'agit dans ce cas d'un type particulier d'analyse (microanalyse élémentaire organique) qui consiste à trouver la composition élémentaire centésimale de la molécule étudiée, prise à l'état pur. Le dosage d'un seul élément voire de deux (C et H le plus souvent) permet de vérifier le bien fondé de la formule brute proposée pour une molécule non encore décrite dont la structure a pu être déduite de son étude spectrale. Par ailleurs, en comparant les % théoriques de chaque élément à ceux trouvés à partir d'un échantillon d'un composé dont on connaît la formule brute, on détermine sa pureté.

Le principe retenu pour doser ces éléments consiste à trouver la composition du composé organique à partir des gaz formés au cours de sa combustion. Dans un premier temps, on réalise la combustion rapide et à température élevée de quelques milligrammes du composé en présence d'un excès de dioxygène. Il se forme, si les éléments C, H et N sont présents, du dioxyde de carbone, de l'eau et un mélange de diazote et d'oxydes d'azote.

L'élément oxygène est déterminé dans un autre essai par combustion en présence de carbone pour former du monoxyde de carbone. Les différentes quantités de gaz formés conduisent par calcul aux % des éléments présents.

Les prises d'essai sont à l'échelle micro-analytique (1 à 3 mg). La minéralisation du composé organique est plus rapide et les conditions opératoires (tels que chauffage à température élevée, emploi des réactifs agressifs, explosion etc.) sont moins dangereuses. Actuellement, divers types d'appareils peuvent effectuer, sur une même prise d'essai de composé organique, le dosage du carbone, de l'hydrogène et de l'azote. Ceci permet un dosage

en série dont la durée est souvent inférieure à 15 minutes. Les pourcentages de carbone, d'hydrogène et de l'azote ont été déterminés en utilisant l'analyseur Perkin Elmer 2400 CHN.

II.1.2. Méthodes d'évaluation des activités biologiques

II.1.2.1. Activité antioxydants

II.1.2.1.1. Tests de l'effet Scavenger du radical libre DPPH[•]

La majorité des auteurs admis aujourd'hui, en l'absence de preuves absolues, l'hypothèse selon laquelle les radicaux libres ont une part de responsabilité dans la genèse des lésions athéromateuses, dans l'apparition de certains cancers ou dans les dégénérescences nerveuses [131]. Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe. La présence d'un électron célibataire leur confère une grande réactivité [132]. D'après Dacosta [133], les principaux radicaux libres qu'on rencontre dans le corps humain sont : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$); le radical hydroxyle OH^{\bullet} ; le radical alcoyle (RO^{\bullet}) ; l'oxyde nitrique (NO^{\bullet}) et le radical hydroperoxyde HOO^{\bullet} . Il existe des mécanismes de défense cellulaires qui détruisent les radicaux oxygénés (peroxydases cellulaires) ou qui piègent les radicaux libres (molécules antioxydants). Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substances biologiques. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs [134]. Ces dernières années, les épidémiologistes ont attiré notre attention sur le rôle des antioxydants présents dans notre alimentation est leur implication dans la prévention de certaines maladies telles que les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives ou encore certains types de cancer [135]. Des études récentes ont montré que les phosphonates sont capables de piéger de nombreuses espèces oxydatives comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), le radical peroxy (ROO^{\bullet}) ou encore l'oxygène singulet (1O_2) [136].

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire des différents produits synthétisés, nous avons utilisé la méthode du DPPH (diphényl picryl hydrazyl) qui est radical relativement stable [137,138]. Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphényl picryl hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picryl hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons ou des électrons [139].

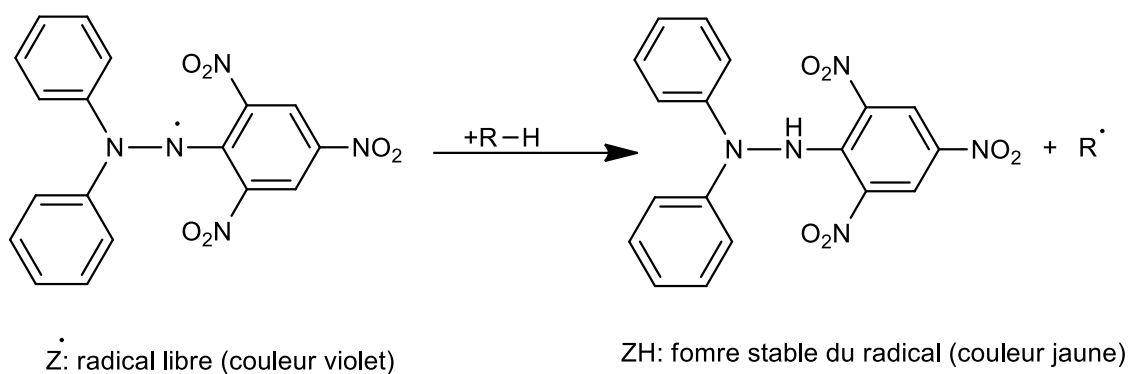
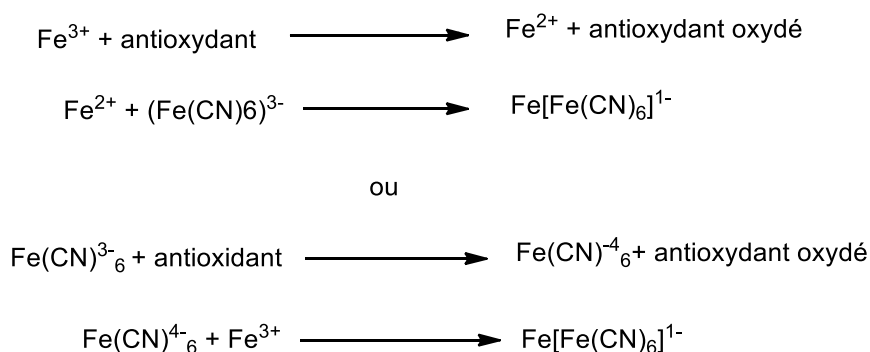


Schéma. 20. Formule structurale de 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazine (DPPH) en tant que le radical libre et la forme stable

II.1.2.1.2. Activité réductrice sur le ferricyanure de potassium

Ce test est découvert par Oyaizu 1986 [140]. Est considéré comme un test direct et rapide qui est utilisé pour mesurer le pouvoir des antioxydants non enzymatiques, et utilisé pour déterminer l'activité antioxydante des produits étudiés dans un milieu neutre. Ce test basée sur la réaction chimique de réduction du Fer (III) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fer (II). L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des composés testés. La chimie des analyses fer-iron peut être résumée avec l'équation suivante de réaction:



II. 2. 1. 3. Méthode électrochimique

L'électrochimie est une bonne méthode pour étudier des réactions comportant des transferts d'électrons car elle permet d'obtenir les espèces oxydées ou réduites sans ajout d'agent oxydant ou réducteur. Cependant, les méthodes électrochimiques seules (voltampérométrie cyclique, chronoampérométrie...etc.), si elles renseignent sur les transferts électroniques, ne permettent pas d'obtenir des informations structurales sur les espèces intermédiaires.

C'est au cours du XIX^{ème} siècle que naît et se développe l'électrochimie. En effet après la réalisation d'une pile capable de produire une tension et de délivrer un courant électrique, des expériences portant sur des dépôts métalliques vont être réalisées. Au cours du XIX^{ème} siècle l'électrochimie apporte une véritable révolution chimique ouvrant l'ère de la chimie moderne. Au cours de ce siècle, cette science a permis de mettre en place des procédés électrolytiques dans l'industrie. Les connaissances théoriques ont évolué principalement à la cours de la deuxième moitié du XIX^{ème} siècle. Puis au début du XX^{ème} siècle la théorie de la cinétique électrochimique va être développée. Après la seconde guerre mondiale de nombreux travaux ont été réalisés conduisant à la connaissance actuelle des processus électrochimiques.

L'électrochimie permet d'analyser les liens qui existent entre la chimie et l'électricité. Elle traite des réactions où interviennent un/ou plusieurs électron(s), en particulier les réactions d'oxydoréduction.

La connaissance des caractéristiques fondamentales d'une réaction électrochimique se fait au moyen de la mesure des variations du courant en fonction du potentiel appliqué aux bornes d'une cellule d'électrolyse (system. hors équilibre). La détermination expérimentale de la relation entre le courant et le potentiel d'électrode se traduit par l'obtention de figures appelées voltampérogrammes.

II.1.2.1.3.1. Techniques électrochimiques voltampérométriques

La voltampérométrie hydrodynamique et la voltampérométrie cyclique sont deux méthodes électroanalytiques basées sur des mesures dans des conditions de microélectrolyse dynamiques (hors équilibre), et utilisées à des fins d'analyse pour déterminer la nature et la concentration des espèces oxydables ou réductibles présentes, mettent en jeu des

perturbations de l'électrode indicatrice constituant en des brusques variations de leurs potentiels ($C \leq 10^{-3} \text{ mol/l}$).

II.1.2.1.3.2. Composants et principes de la Voltampérométrie cyclique

a. Principe

La voltampérométrie cyclique, plus communément appelée voltamétrie cyclique (CV), est une des méthodes électrochimiques les plus efficaces pour caractériser les réactions de transfert de charges. Elle consiste à imposer une rampe linéaire en potentiel avec une vitesse de balayage positive ou négative, et à enregistrer l'intensité du courant. Le montage généralement utilisé est un montage à trois électrodes.

Le balayage des potentiel s'effectué de façon cyclique à vitesse Cte (répétitif avec une vitesse (0.1v à plusieurs volts), après avoir balayé vers les potentiels anodique et réaliser une oxydation, on inverse le sens de variation du potentiel pour effectuer une exploitation vers les potentiel cathodiques.

Si le balayage est suffisamment rapide le produit aussi formé à l'aller et encore présent au balayage retour et peut se réduire on enregistre donc sur le voltamogramme les courbes de polarisations anodiques et cathodiques (dites Voltamogrammes cycliques). La rapidité de vitesse de balayage donne une bonne résolution et reproductibilité des résultats car l'aller et le retour nettoient la surface de l'électrode de travail. Cette méthode permet d'identifier les espèces adsorbées et les produits intermédiaires.

b. Composants

Les unités de base d'un analyseur voltamétrique sont:

- Une cellule basée sur un système à trois électrodes immergées dans la solution à analyser.

- Les trois électrodes sont:

- * Une électrode de travail (parfois aussi appelée électrode indicatrice).

- * Une électrode de référence.

- * Une électrode auxiliaire (parfois aussi appelée contre-électrode).

-Un circuit électronique, appelé potentiostat, permettant de modifier le potentiel et d'enregistrer le courant. (Voire Schéma du dispositif expérimental) [141]

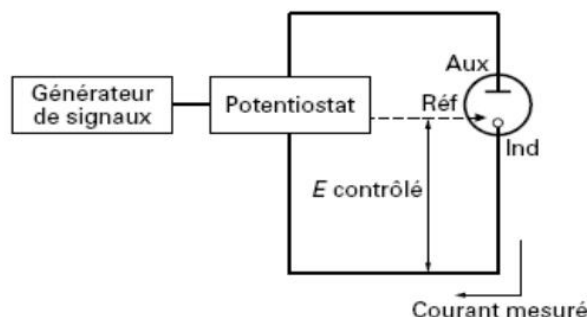


Fig. 15. Dispositif expérimental pour les mesures à potentiel contrôlé

b. 1. Les électrodes [142]

b. 1. i. électrode de travail

Est une microélectrode de petite surface d'ordre de mm^2 dont la surface sert de site pour la réaction de transfert d'électrons et est donc le cœur de tous systèmes voltammétrique. Les électrodes de travail les plus utilisées en voltampérométrie sont:

- Les électrodes de Hg sous deux géométries différentes: électrode à goutte de Hg pendue; électrode à film de Hg
- Les électrodes solides (fixe ou tournante), formées pour la plupart de métaux nobles tels que Au, Pt, Ir et CV (carbone vitreux).
- L'électrode tournante: animée d'un mouvement de rotation, dans le but de se placer dans les conditions expérimentales d'un régime de diffusion.

La nature de l'électrode de travail sera choisie principalement en fonction de son domaine de polarisation (**Fig. 16**), la fenêtre de potentiel dans laquelle l'oxydo-réduction d'un composé est mesurable. Dans le cas des électrodes de travail d'Hg, la fenêtre de potentiel dans laquelle l'oxydoréduction d'un élément est mesurable est limitée:

- du côté des potentiels négatifs par le courant de réduction du cation de l'électrolyte (Na^+) ou du proton de l'eau (H^+).
- du côté des potentiels positifs par le courant d'oxydation de l'Hg.

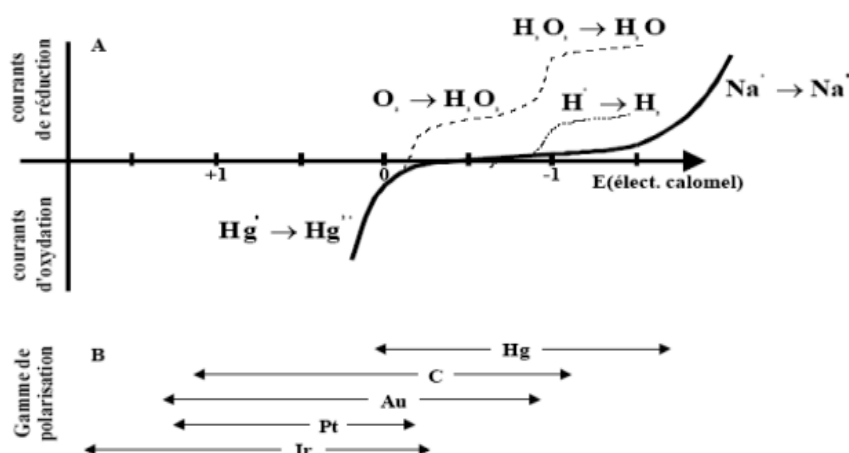


Fig. 16. Courbes schématiques de dépolarisation du solvant, O_2 , H^+ et Na^+ sur électrode d'Hg.

b. 1. ii. L'électrode de référence

C'est le deuxième composant-clé de toute cellule voltammétrique. Cette électrode possède un potentiel spécifique et constant, ce qui permet d'imposer un potentiel précisément défini à l'électrode de travail. Ceci est important, étant donné que le potentiostat ne permet de contrôler que la différence de potentiel imposé entre deux électrodes. Notons également que de ce fait il est indispensable de mentionner la nature de l'électrode de référence utilisée pour toutes mesures voltammétriques. Les électrodes de référence les plus utilisées, et leurs potentiels standards par rapport à l'électrode standard à hydrogène ($E=0$ choisi arbitrairement) sont:

- l'électrode au calomel saturée (ECS): $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{KCl}_{\text{sat}}$, $E_{\text{ECS}} = 241\text{mV}$.
- l'électrode au chlorure d'argent saturée: $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat}}$, $E_{\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat}}} = 199\text{mV}$.

b. 1. iii. L'électrode auxiliaire (contre électrode)

Assure le passage du courant dans la solution (la pile) et sa mesure. Elle est usuellement en platine ou en carbone (graphite) et possède une large surface par rapport à l'électrode de travail.

b. 2. Echantillon de mesure

La solution contient le solvant (eau), un électrolyte inerte en grande concentration (par ex: 0.1M NaNO_3) pour assurer le flux de courant dans la solution par transport de ses ions, et

le/les composé(s) à analyser (aussi appelé dépolariiser) qui subit la réaction redox à la surface de l'électrode de travail.

L'électrolyte est un système renfermant des ions. Il est obtenu par dissolution d'un soluté ionique dans un solvant. Le pouvoir dissociant des solvants varie selon la valeur de leur constant diélectrique ϵ . Les solvants dont tels que $\epsilon > 40$ sont dissociant (eau) et entraînant une dissociation totale des solutés ioniques. Les solvants dont tels que $\epsilon < 10$ sont peu dissociant (benzène, toluène, chloroforme, dioxane), la fraction des ions provenant du composé dissous est faible.

II.1.2.2. activité anti-inflammatoire

De nombreux travaux semblent indiquer que les phosphonates possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire [143-145]. Les phosphonates sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T [Mookerjee et al, 1986; Namgoong et al, 1994]. Leur effet sur les lymphocytes B ou T peut être variable. L'effet antiprolifératif des phosphonates pourraient s'expliquer par leur capacité à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (protéine Kinase C ou protéine tyrosine kinase). Par ailleurs, les phosphonates sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes [146].

Les phosphonates sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes. Par ailleurs, l'acide arachidonique peut être métabolisé par la voie de la lipooxygénase pour aboutir à la formation de leucotriènes et par la voie de la cyclooxygénase pour produire des thromboxanes et des prostaglandines, molécules fortement impliquées dans le processus inflammatoire [136].

II.1.2.3. activité antibactérienne, infections bactériennes et antibiothérapie

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes, caractérisées par une absence de noyau et d'organites. La plupart des bactéries possèdent une paroi glucidique, le peptidoglycane. Il existe cependant de nombreuses espèces pathogènes à l'origine de beaucoup de maladies infectieuses comme le choléra, la syphilis, la tuberculose [147].

Les bactéries peuvent être divisées en deux groupes (gram positif et gram négatif) basées sur la différence de la structure de la composition chimique de la paroi cellulaire (**Fig. 17**). Parmi les grams positifs, une espèce *Staphylococcus aureus* tient une place très

importante dans les infections communautaires et nosocomiales. Alors que pour les Gram négatifs, on rencontre les espèces *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires, elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers. - *Pseudomonas aeruginosa* se caractérise par la pigmentation bleu verte de ses colonies et possède une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques [147].

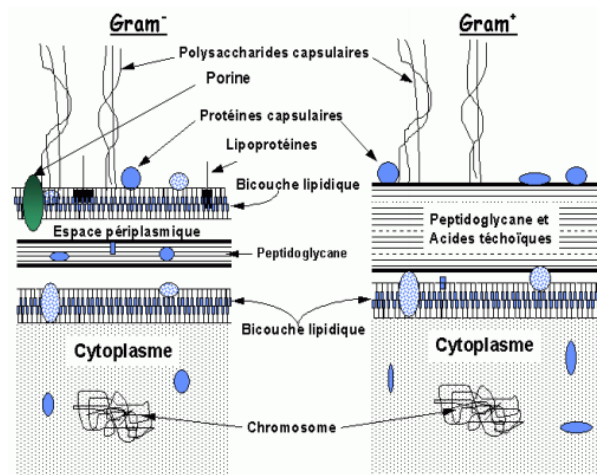


Fig. 17. Structure de la paroi bactérienne.

Les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. De nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter, cependant leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de la multi-résistance bactérienne.

Un antibiotique est une substance antibactérienne produite par des micro-organismes (champignons et bactéries) ou de synthèse chimique capable d'inhiber la multiplication ou détruire les micro organismes (Yala et al., 2001). Les antibiotiques peuvent être classés selon l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action [148].

La classification des antibiotiques selon leurs mécanismes d'action est cependant la plus répandue. Les agents antimicrobiens détruisent les bactéries en s'attaquant directement à leurs structures essentielles (paroi cellulaire, ribosomes, membrane plasmique et ADN) et/ou en perturbant leurs métabolismes et par conséquent leurs fonctions [149]

Les modes d'action majeurs des antibiotiques incluent l'interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire (β -lactames), l'inhibition de la synthèse protéique (macrolides et

aminoglycosides), l'interférence avec la synthèse de l'acide nucléique (fluoroquinolones) et l'inhibition d'une voie métabolique. L'action sur la membrane est aussi un mécanisme antibactérien très répandu. Les polymixines induisent l'augmentation de la perméabilité membranaire causant la perte du contenu de la cellule bactérienne [150], tandis que le lipopeptide cyclique daptomycine agit, apparemment, par l'insertion de sa queue lipidique à l'intérieur de la membrane, causant sa dépolarisation et éventuellement la mort bactérienne [151].

II.1.2.4. Recherche de la toxicité des molécules synthétisées

Les produits de synthèses sont des substances chimiques. Ce qui augmente le risque de réactions indésirables par leurs effets additifs ou synergiques des interactions chimiques [152]. Classiquement, en présence d'une substance inconnue la première étape dans la recherche d'une activité pharmacologique débute par l'étude de la toxicité et en particulier par l'évaluation de la dose létale 50 (DL₅₀) [153].

Cette technique, apporte néanmoins des renseignements de qualité:

- Elle détermine en premier lieu la toxicité de la substance ainsi que la marge thérapeutique, c'est-à-dire le rapport entre la dose active et la dose toxique pour l'espèce animale testée; c'est une étape indispensable à l'utilisation de toutes substances à des fins thérapeutiques.
- L'observation des premiers symptômes de la toxicité des organes cibles, c'est-à-dire ceux qui sont préférentiellement atteints par la toxine; la toxicité est d'ailleurs un excellent critère d'orientation de la recherche d'activité pharmacologique [153].

Dans ce cas là nous avons utilisé le teste d'hémolyse pour évaluer in-vitro la toxicité des produit synthétisés à l'aide des globules rouge.

CHAPITRE III
SYNTHESE ET
CHARACTERISATION

CHAPITRE III**III. Synthèse et caractérisations physicochimiques des molécules α -aminophosphonates****III.1. Produits chimiques**

Tous les produits chimiques utilisés ont été achetés auprès de Sigma-Aldrich, ils sont utilisés sans aucun traitement au préalable, tous les réactifs et les produits chimiques étaient de qualité analytique. Nous avons utilisé les réactifs suivants:

Propylamine $\geq 99\%$,

4-aminopyridine 98%,

2-pyridinecarboxaldehyde 99%,

3-pyridinecarboxaldehyde 98%,

2-pyrolcarxaldehyde 98%,

3-thiophencarboxaldehyde 98%,

Diethylphosphite $\geq 99\%$,

Toluene anhydrous 99.8%.

III. 2. Appareillage

Le progrès des réactions a été suivi par chromatographie sur couche mince CCM, on utilisant des plaques de silice GF254 Merck.

Une colonne chromatographique remplie par le gel de silice (63-200 nm) Merck est utilisée pour la purification des composés synthétisés et la pureté des composés synthétisés a été contrôlée par chromatographie sur couche mince.

Les points de fusion des molécules synthétisées ont été déterminés en capillaire à l'aide d'un Fusiomètre BÜCHI Melting point B-540, cet appareil de mesure permet d'estimer la température de fusion d'une matière, présentant un gradient de température, varie de 40 °C à 999 °C.

Les spectres d'absorption moléculaire caractéristiques des molécules synthétisées ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-vis, (double faisceau type V-650 Jasco, les mesures $A = f(\lambda)$ ont été effectuées sur des échantillons préparés par la solubilisation d'une masse de 3 mg dans 25 ml d'éthanol. Les propriétés vibrationnelles des molécules obtenues ont été misent en évidence à l'aide d'un spectromètre infrarouge de type: FT / IR-

4200, Jasco on appliquant la technique ATR-FTIR, les spectres infrarouge ont été enregistrés entre 4000 cm^{-1} et 600 cm^{-1} .

L'étude de déplacement chimique de protons des molécules synthétisées a été réalisée à l'aide d'un spectromètre RMN type Bruker 300 MHz. Au laboratoire de chimie organique appliquée à Oran. Les spectres RMN ont été enregistrés en milieu approprié et par rapport à la référence interne le tetraméthylsilane TMS, les déplacements chimiques δ ont été exprimés en ppm.

III. 3. Synthèse des α -aminophosphonates

Nous avons illustré dans le chapitre I, plusieurs méthodes qui peuvent être appliquées pour la synthèse des composés aminophosphonates, dans notre travail on a choisi celle qui nous apparue plus simple et plus pratique, il s'agit de la réaction de Kabachnik-Fields représenté dans notre travail par le **Schéma. 21**.

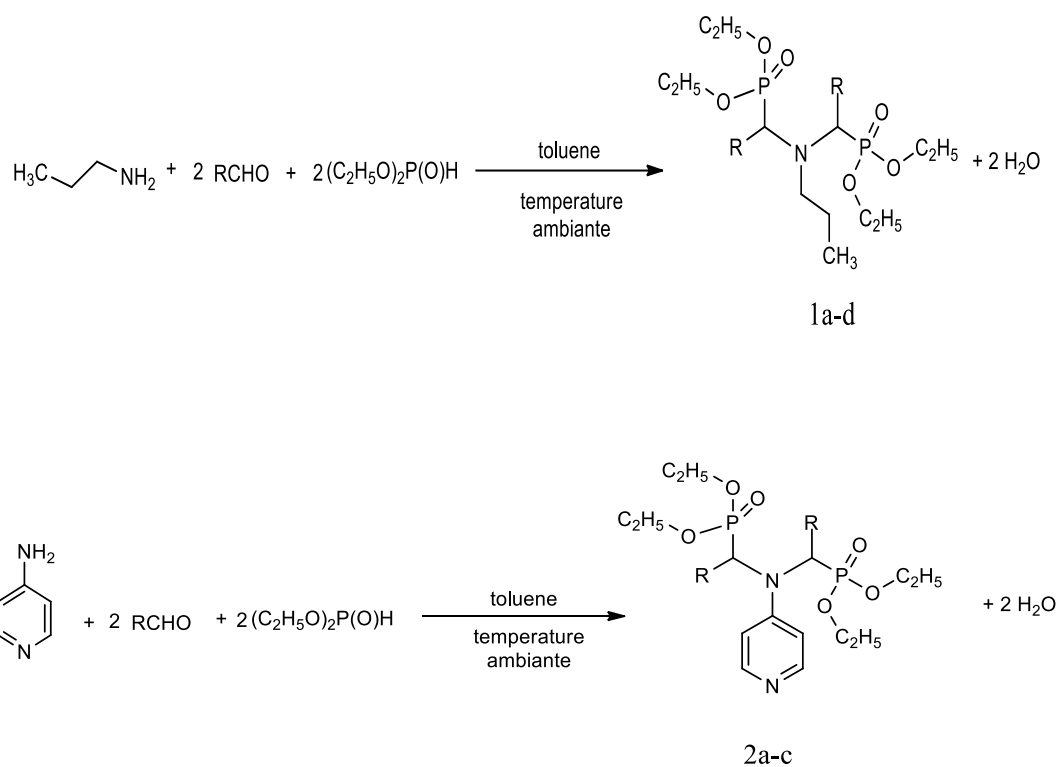


Schéma. 21. Représentation de la réaction de synthèse d' α -aminophosphonates des deux catégories **1** et **2** respectivement

C'est une réaction à trois composants entre un composé carbonyle (aldéhyde) qui a un caractère électrophile et une amine et diéthylphosphite qui ont un caractère nucléophile. Les produits synthétisés ont été préparé dans la proportion molaire 1/2/2 d'amine, aldéhyde et diéthylphosphite respectivement.

Nous avons synthétisé deux catégories d' α -aminophosphonates dérivées de pyridine par phosphorylation de propylamine (catégorie **1**) ou de 4-aminopyridine (catégorie **2**).

III.3.1. Protocole général de synthèse

Dans un ballon bicol, on mélange (1mmol) soit de propylamine soit de 4-aminopyridine avec (2mmol) de différents aldéhydes dans (20 ml) du toluène anhydre, le mélange obtenu est agité pendant une heure à température ambiante puis on ajoute goutte à goutte la solution de diéthylphosphite (2 mmol) préparé dans (20 ml) du toluène sec, l'agitation est poursuivie à température ambiante pendant 1 heure, puis le mélange est chauffé à doux pendant(5-6 heures).

L'avancement des réactions a été suivi par chromatographie CCM (gel de silice), le mélange hexane / acétate d'éthyle en rapport (3 / 1) a été utilisé comme phase mobile dans le cas de synthèse des α -aminophosphonates dérivées de propylamine (catégorie **1**). Alors que dans le cas des réactions de formation des α -aminophosphonates dérivées de 4-aminopyridine (catégorie **2**), on a utilisé le mélange acétate d'éthyle / éthanol de rapport (4 /1) comme phase mobile.

A la fin de la réaction on a éliminé les solvants du milieu réactionnel à l'aide d'un évaporateur rotatif permettant la régulation de la pression pour éviter de chauffer à des températures élevées, ensuite et après les tests de solubilité, on a lavé soigneusement les produits obtenus par l'acétone.

Après l'obtention des molécules nous avons calculé le rendement de la réaction selon l'équation suivante:

$$R\% = \frac{\text{masse expérimentale}}{\text{masse théorique}} \times 100$$

III.3.2. Synthèse d' α -aminopyridines phosphonates dérivées de propylamine

La propylamine, également appelée Mono-propylamine (MPA), est une amine primaire aliphatique, de formule semi-développée $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, il fait partie de la famille des Alkylamines. C'est un intermédiaire polyvalent avec une variété d'applications. Les principales applications peuvent être trouvées dans la production de produits chimiques et des constituants actifs en chimie pharmaceutiques.

III.3.2.1. Synthèse de la molécule diethyl ((propylazanediy)bis(pyridin-3-ylmethylene))bis(hydrogen phosphonate) (1a)

Selon le protocole général présenté au paragraphe (III.1.3) et afin de phosphorylé la fonction amine, nous avons fait réagissent les trois réactifs suivants: Propylamine/**3-Pyridinecarboxaldehyde** / diéthylphosphite de rapport molaire: 1/2/2 respectivement, la réaction est présentée par le **schéma. 22**.

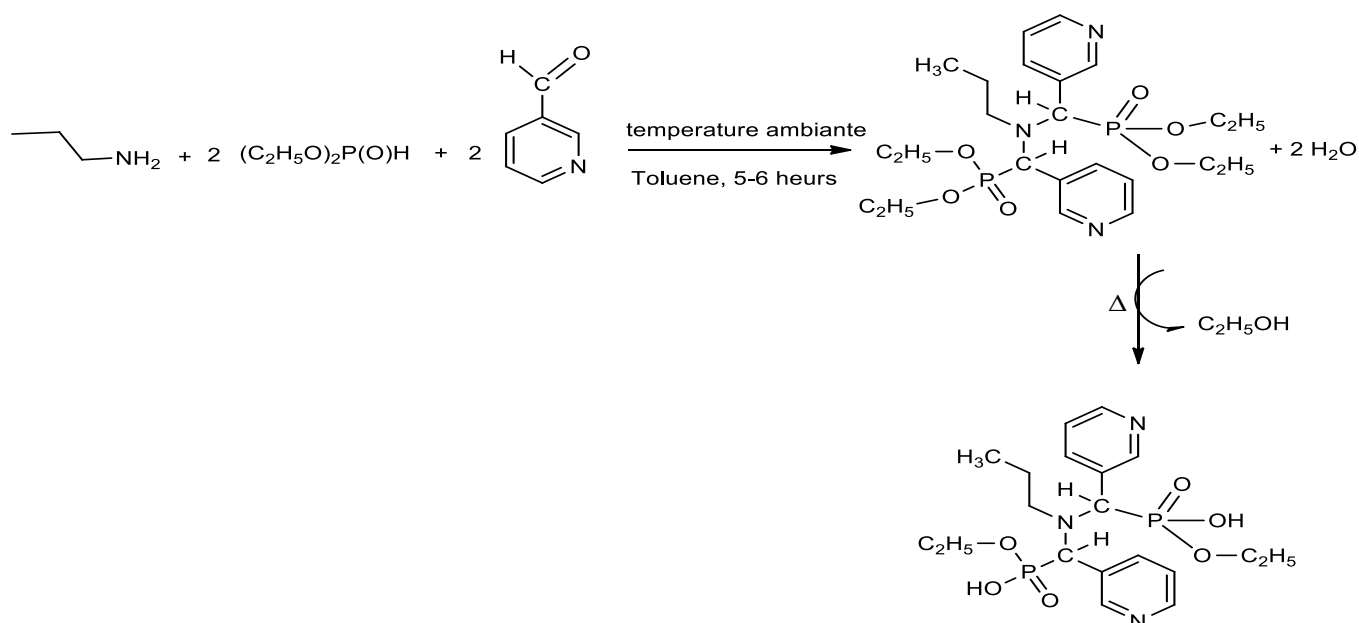


Schéma. 22. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule **1a**

A la fin de la réaction et après évaporation, le mélange a été chauffé dans un bain marie pendant quelque temps ensuite on a ajouté 2 ml d'acétone ce qu'à conduit à la précipitation d'un solide blanc, le précipité a été isolé par filtration et rincer plusieurs fois par l'acétone.

Les testes de solubilité ont démontré que le produit est soluble dans la plupart des solvants organiques et dans l'eau ce qui a facilité sa purification sur colonne chromatographique.

Ce produit final est un solide caractérisé par un point de fusion de 240°C. C'est le composé **1a** premier membre de la catégorie **1**, obtenu avec un rendement de **73%**.

Les propriétés spectrales et la structure de la molécule **1a** ont été déterminé par l'analyse spectroscopique: UV-vis (**Fig. 18**), ATR-FTIR (**Fig. 19**), RMN (**Fig. 20**) et par la microanalyse centésimale de CHNS.

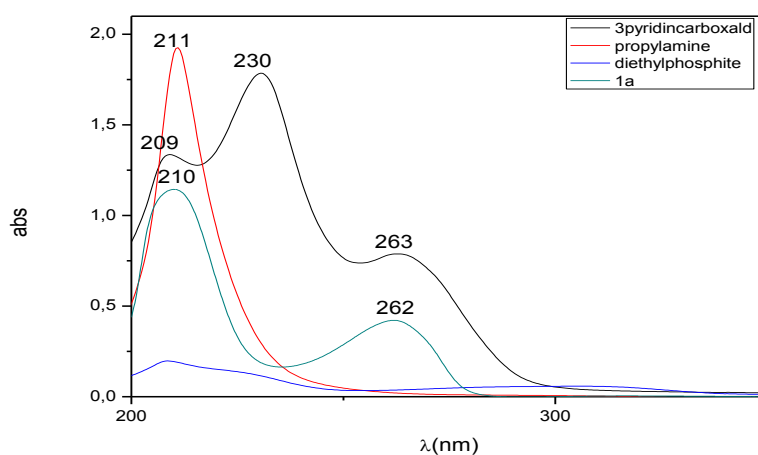


Fig. 18. Spectre UV-vis caractéristique de la molécule diethyl ((propylazanediy)bis(pyridin-3-ylmethylene))bis(hydrogen phosphonate) (**1a**) enregistré en éthanol à température ambiante

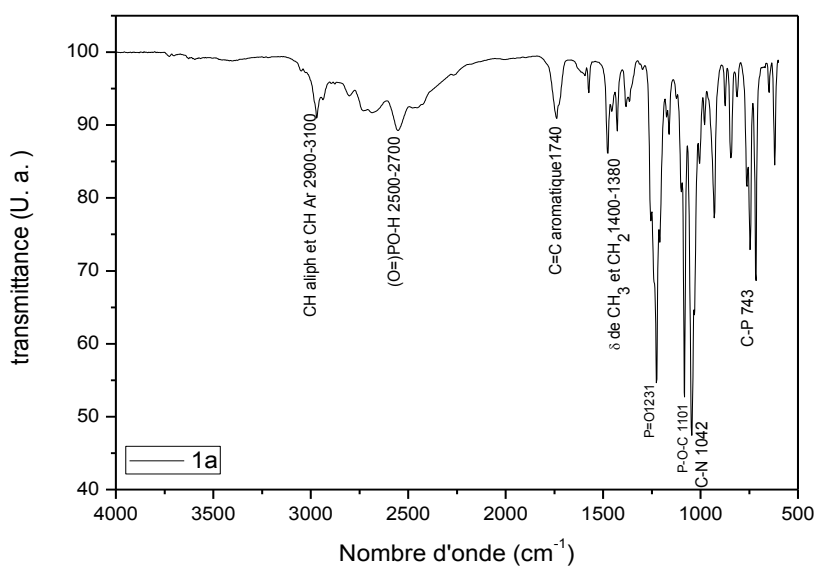


Fig. 19. Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule diethyl ((propylazanediy)bis(pyridin-3-ylmethylene))bis(hydrogen phosphonate) (**1a**)

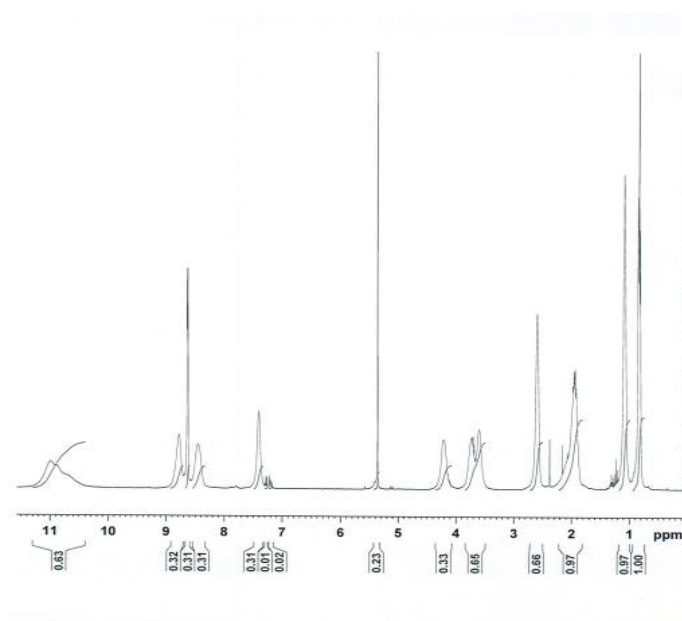


Fig. 20. Le spectre RMN, ^1H de composé diethyl ((propylazanediy)bis(pyridin-3-ylmethylene))bis(hydrogen phosphonate) (**1a**) enregistré dans CD_2Cl_2

III.3.2.2. Synthèse de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(thiophen-3-yl)methyl)(propyl)amino)(thiophen-3-yl)methyl)phosphonate (**1b**)

Pour synthétiser la molécule ethylhydrogen (((diethoxyphosphoryl)(thiophen-3-yl)methyl)(propyl)amino)(thiophen-3-yl)methyl)phosphonate, nous avons utilisé le rapport molaire: 1/2/2 entre Propylamine/ **3-thiophencarboxaldehyde**/ diéthylephosphite respectivement, la réaction est présentée dans le **schéma. 23**.

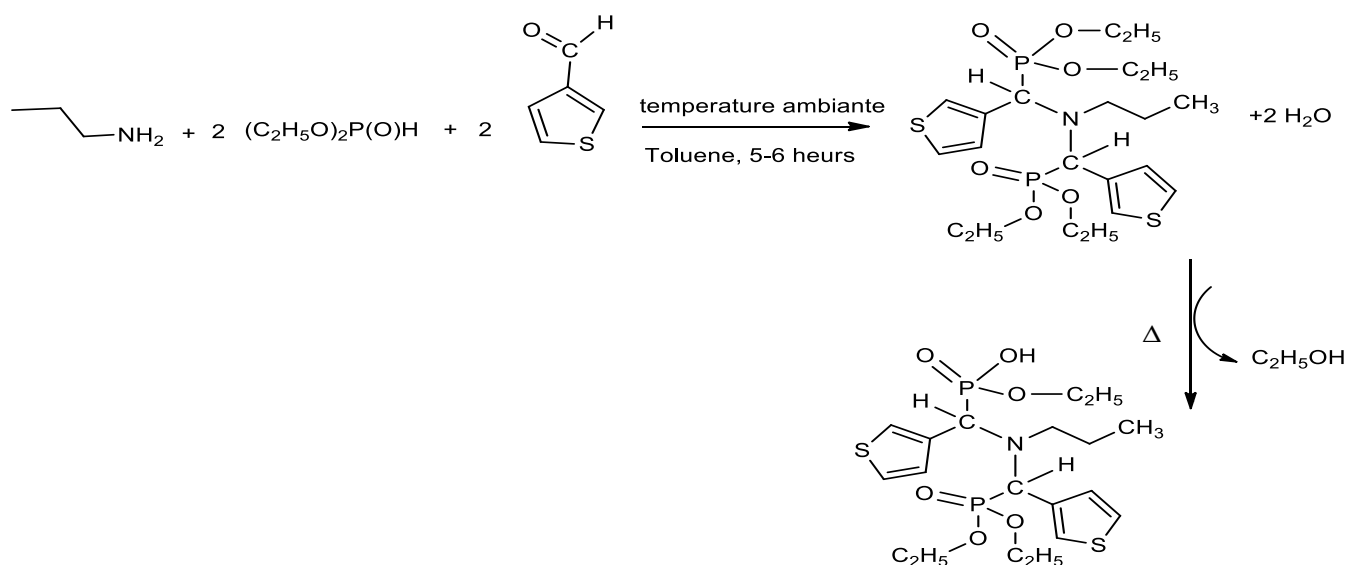


Schéma. 23. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule **1b**

Pour la synthèse de cette molécule on a appliqué la même méthode que celle de la synthèse de la molécule **1a**, un solide blanc a été isoler par filtration et rincer par l'acétone, il est soluble dans l'éthanol, méthanol, DMSO et DMF, sa température de fusion est 244°C. Ce produit est obtenu avec un rendement de 90 %, c'est le composé **1b**, deuxième membre de la catégorie **1**.

Les propriétés spectrales et la structure de la molécule **1b** ont été déterminées par les méthodes spectroscopiques: UV-vis (**Fig. 21**), ATR-FTIR (**Fig. 22.**), RMN ¹H (**Fig. 23**), RMN ³¹P (**Fig. 24**) et par la microanalyse centésimale de CHNS.

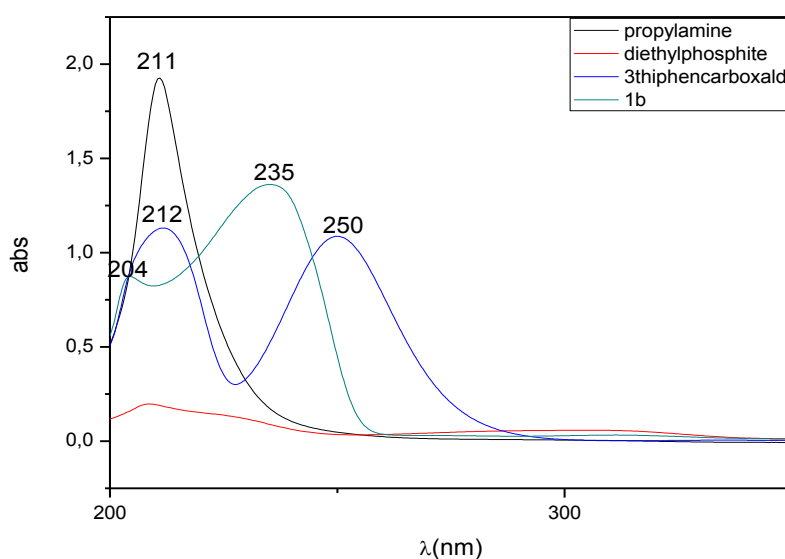


Fig. 21. Spectre UV-vis caractéristique de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(thiophen-3-yl)methyl)(propyl)amino)(thiophen-3-yl)methyl)phosphonate (**1b**) enregistré en éthanol à température ambiante

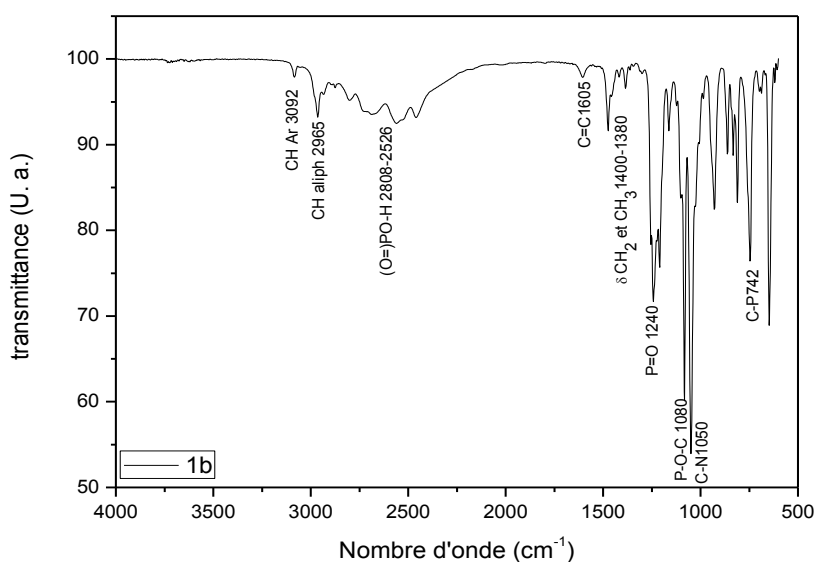


Fig. 22. Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(thiophen-3-yl)methyl)(propyl)amino)(thiophen-3-yl)methyl)phosphonate (**1b**)

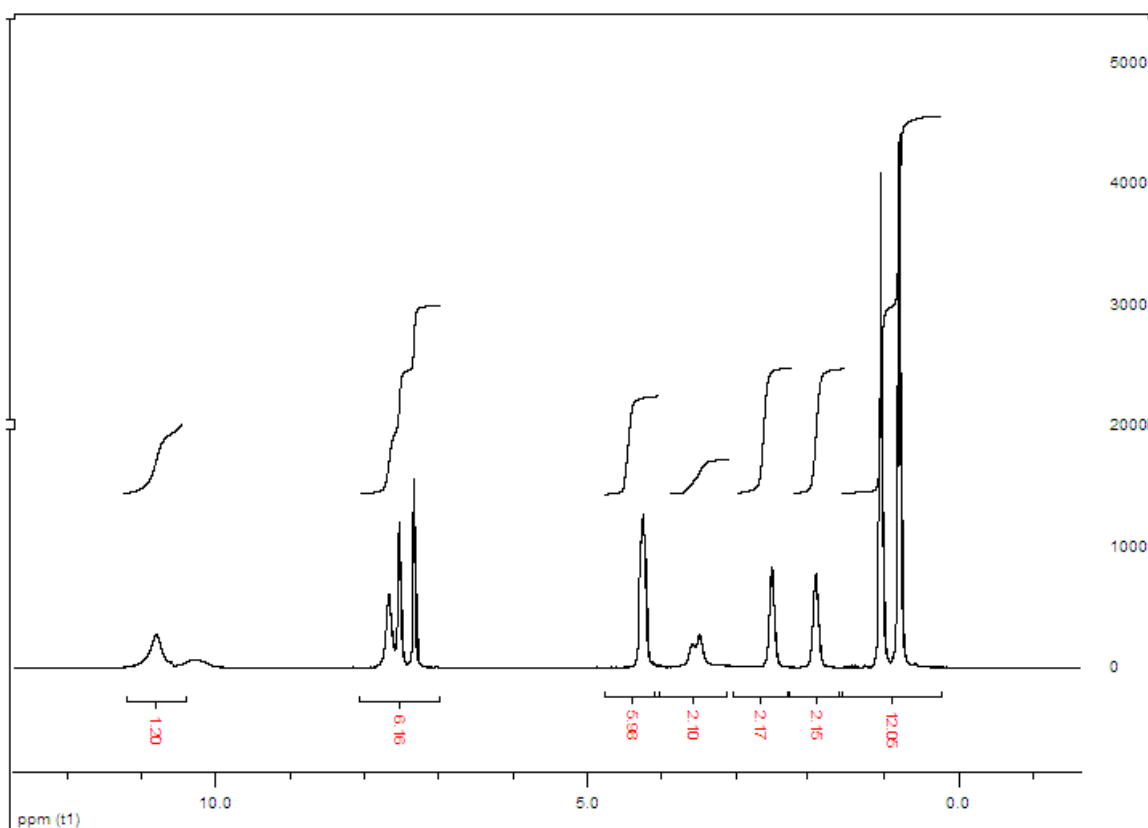
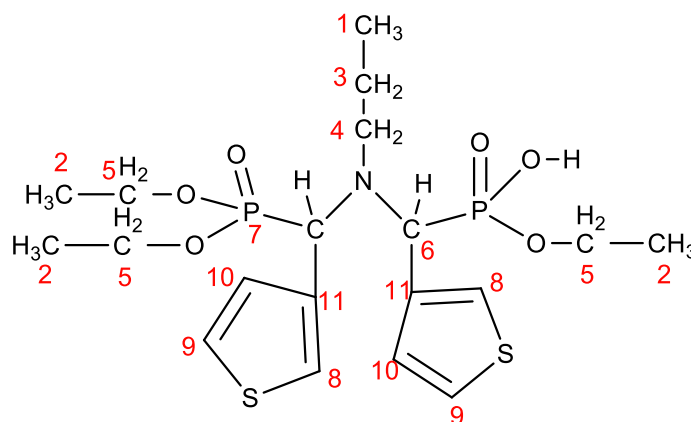


Fig. 23. Le spectre RMN, ^1H de composé ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(thiophen-3-yl)methyl)(propyl)amino)(thiophen-3-yl)methyl)phosphonate (**1b**) enregistré en CDCl_3



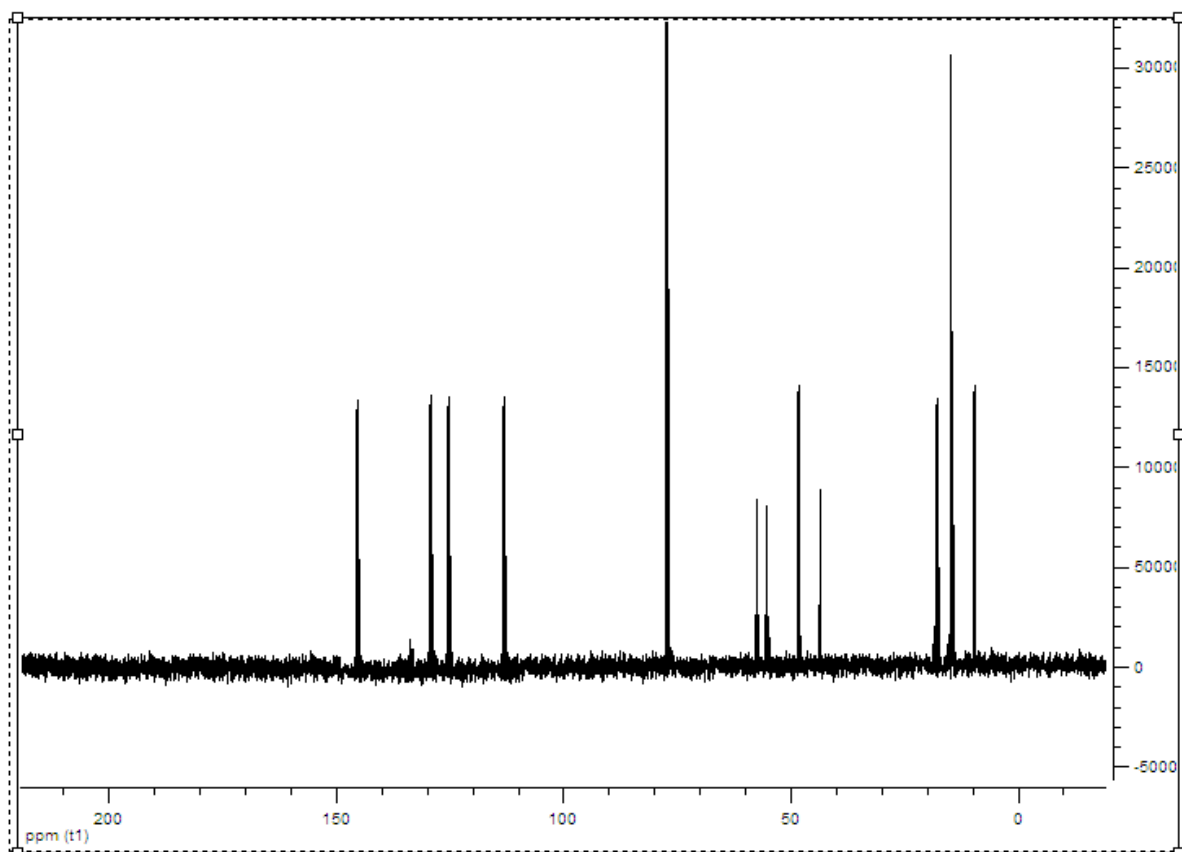


Fig. 24. Le spectre RMN, ^{13}C de composé ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(thiophen-3-yl)methyl)(propyl)amino)(thiophen-3-yl)methyl)phosphonate (**1b**) enregistré en CDCl_3

III.3.2.3. Synthèse de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)(propyl)amino)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)phosphonate (**1c**)

Le protocole utilisé pour la synthèse de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl) (1H-pyrrol-2-yl) methyl) (propyl) amino) (1H-pyrrol-2-yl) methyl) phosphonate est le même que celui appliqué précédemment, dans ce cas on a utilisé comme produit carbonyle le Pyrrole-2-carboxaldehyde, le rapport molaire: 1/2/2 entre Propylamine/ **Pyrrole-2-carboxaldehyde**/ diéthylephosphite respectivement, le **schéma. 24**, présente la séquence réactionnelle de la molécule **1c**.

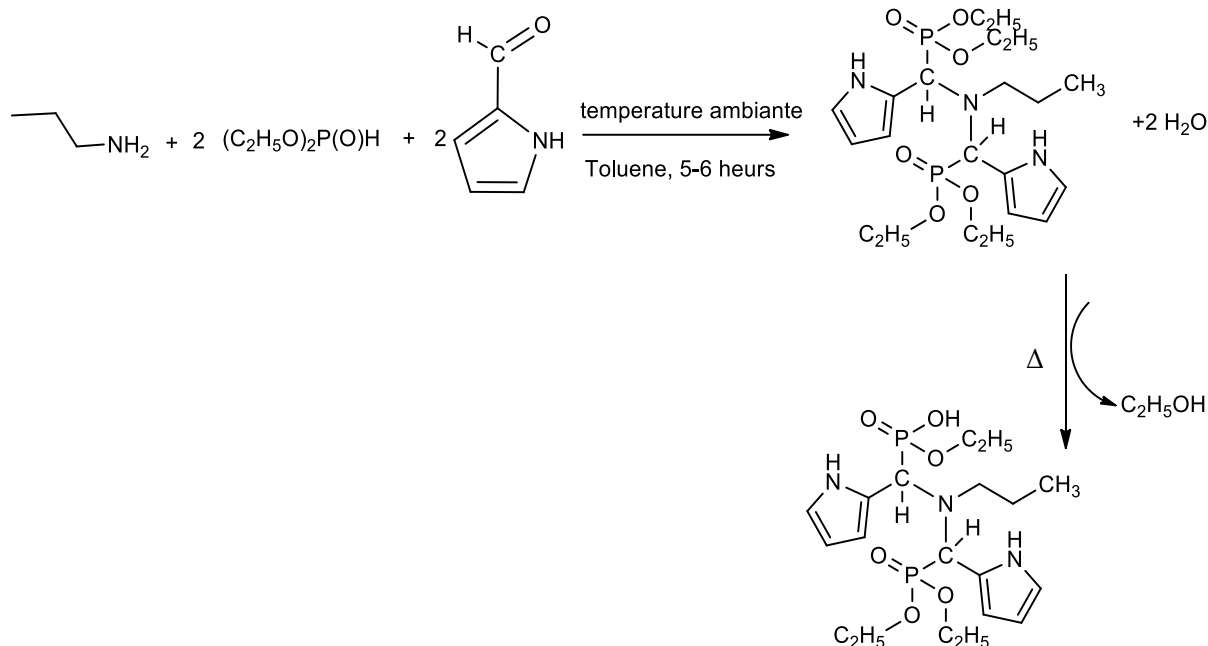


Schéma. 24. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule **1c**

Le composé **1c** a été isolé par filtration sous forme d'une poudre blanche et rincé par l'acétone après 30 min de chauffage dans un bain-marie, la quantité récupérée présente un rendement de **91%**, ce produit est soluble dans la plupart des solvants organiques et il a une température de fusion de 222 °C, c'est le produit **1c**, troisième membre de la catégorie **1**.

Les propriétés spectrales et la structure de **1c** ont été déterminées par les méthodes spectroscopiques: UV-vis (**Fig. 25**), ATR-FTIR (**Fig. 26**), RMN ^1H (**Fig. 27**), RMN ^{31}P (**Fig. 28**) et par la microanalyse centésimale de CHNS.

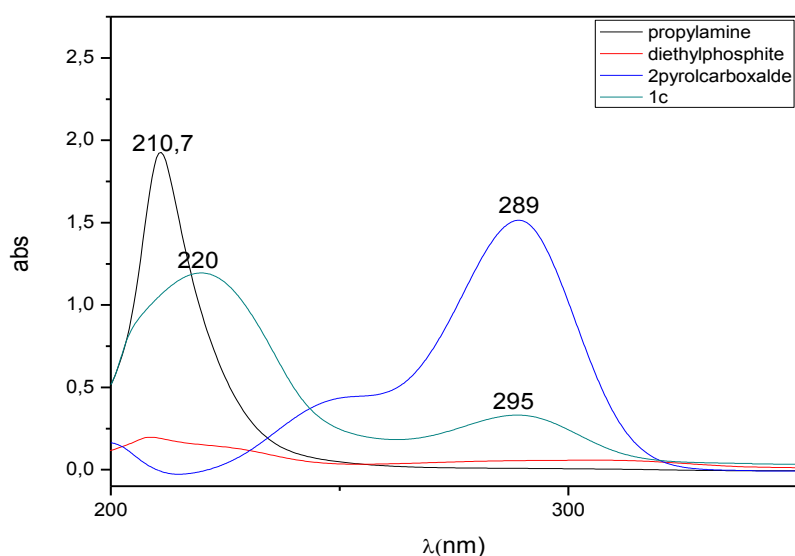


Fig. 25. Spectre UV-vis caractéristique de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)(propyl)amino)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)phosphonate (**1c**), enregistré en éthanol à température ambiante

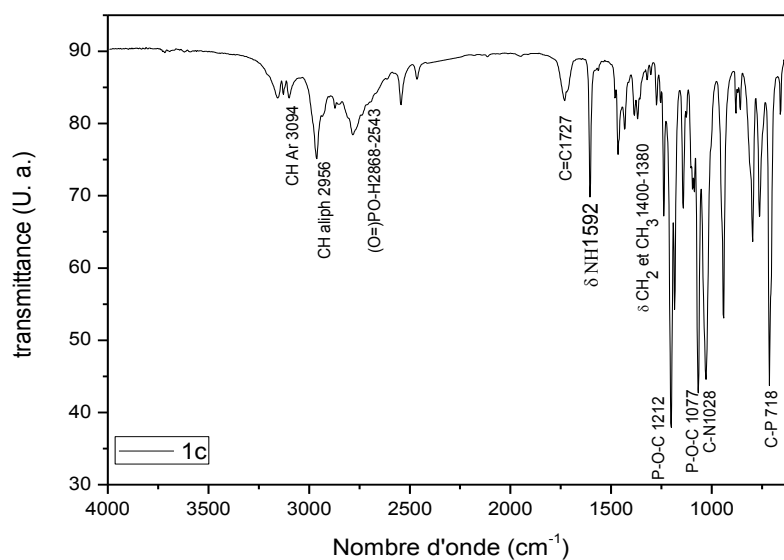


Fig. 26. Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)(propyl)amino)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)phosphonate (**1c**)

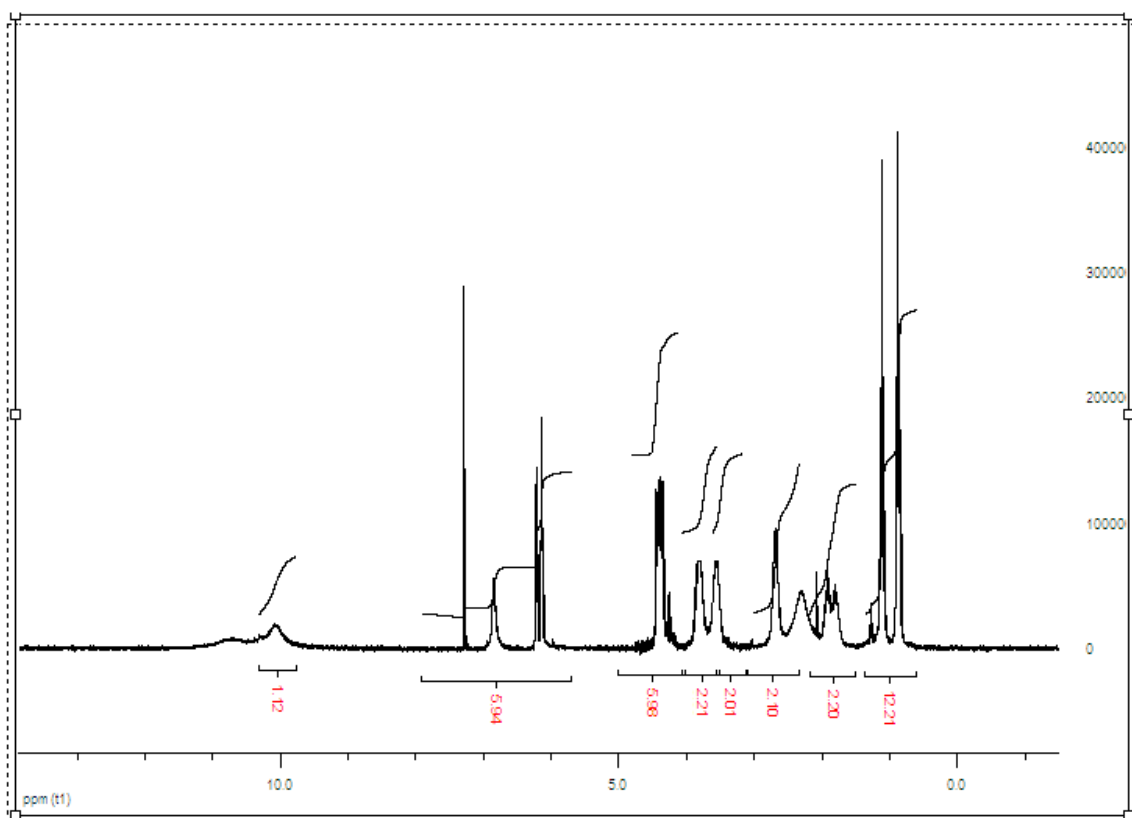
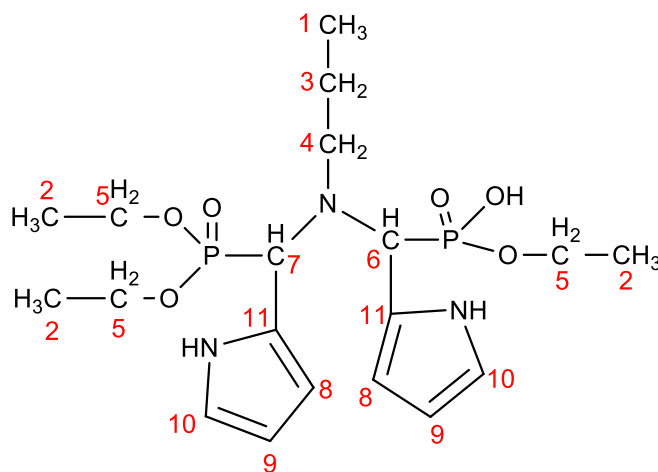


Fig. 27. Spectre RMN ^1H caractéristique de la molécule ethyl hydrogen
 (((diethoxyphosphoryl)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)(propyl)amino)(1H-pyrrol-2-yl)
 methyl)phosphonate (**1c**) enregistré en CDCl_3



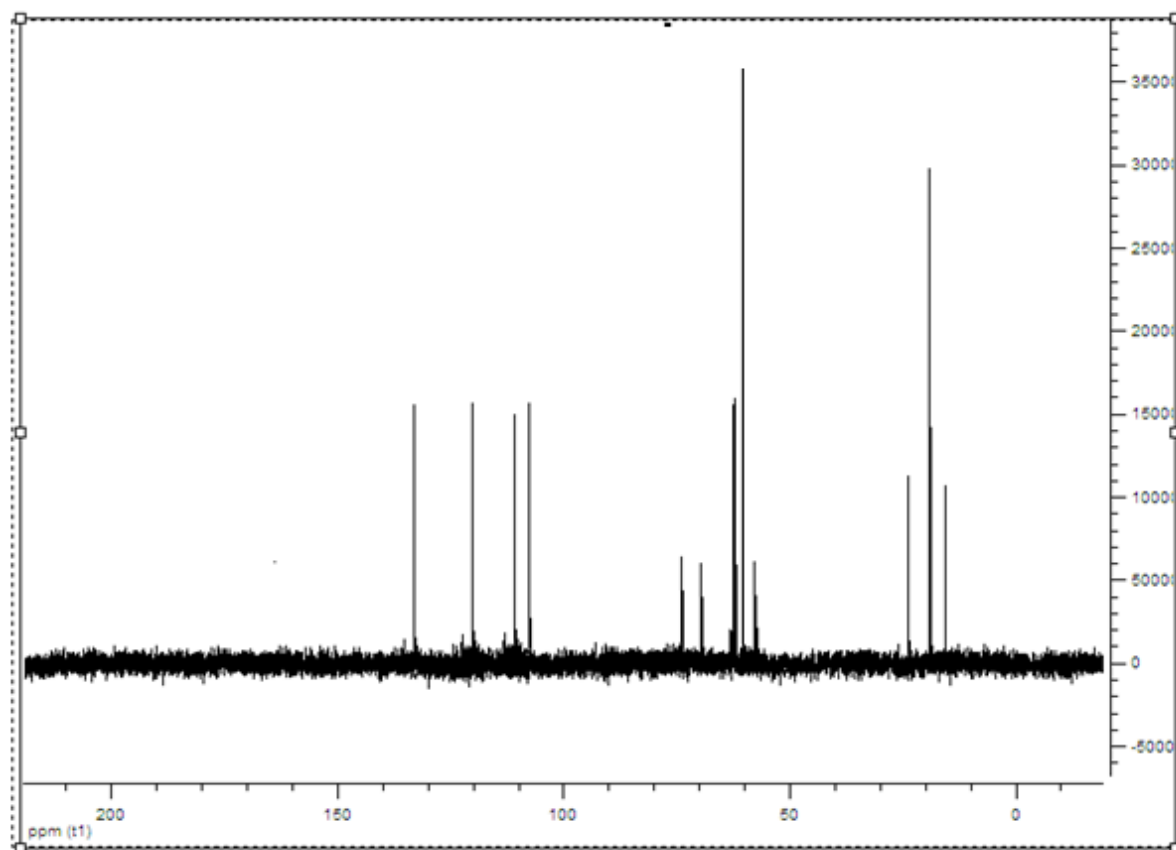


Fig. 28. Spectre RMN ^{13}C caractéristique de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)(propyl)amino)(1H-pyrrol-2-yl)methyl)phosphonate (**1c**) enregistré en CDCl_3

III.3.2.4. Synthèse de la molécule ethyl hydrogen (((diethoxyphosphoryl)(pyridin-2-yl)methyl)(propyl)amino)(pyridin-2-yl)methyl)phosphonate (**1d**)

Le protocole de synthèse de la molécule tetraethyl ((propylazanediy) bis (pyridin-2-ylmethylene)) bis (phosphonate) (**1d**) est le même que celui appliqué pour la synthèse de la molécule **1a**, en remplaçant le m-pyridinecarboxaldehyde par o-pyridinecarboxaldehyde, avec un rapport molaire 1/2/2 entre Propylamine/ 2-Pyridinecarboxaldehyde/ diéthylephosphite respectivement, le schéma. 25, présente la séquence réactionnelle de la molécule **1d**.

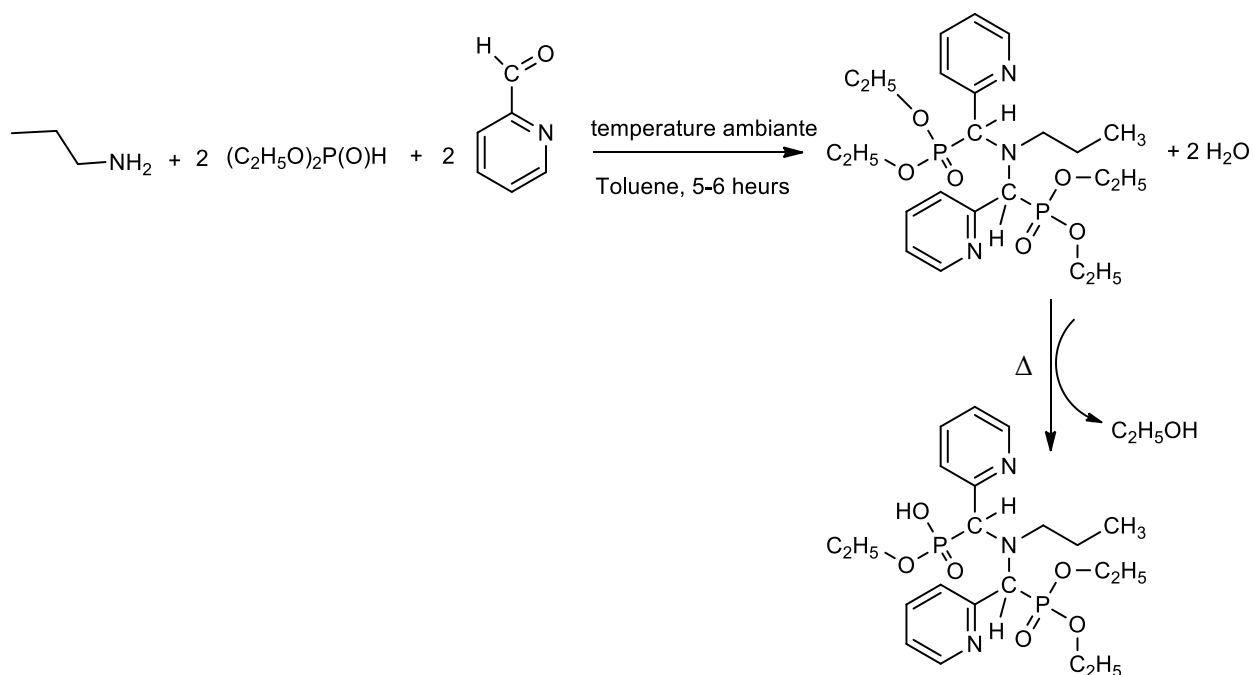


Schéma. 25. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule **1d**

Après l'évaporation on obtient un liquide très visqueux qu'a subi un traitement par l'éthanol pour donner une poudre de couleur jaune pâle. Le solide obtenu est soluble dans l'éthanol a chaud, sa température de fusion a été 212°C, c'est le produit **1d** obtenu avec un rendement de **85%**.

Les propriétés spectrales et la structure de la molécule **1d** ont été déterminées par les méthodes spectroscopiques: UV-vis, (**Fig. 29**), ATR-FTIR (**Fig. 30**) et par la microanalyse centésimale de CHNS.

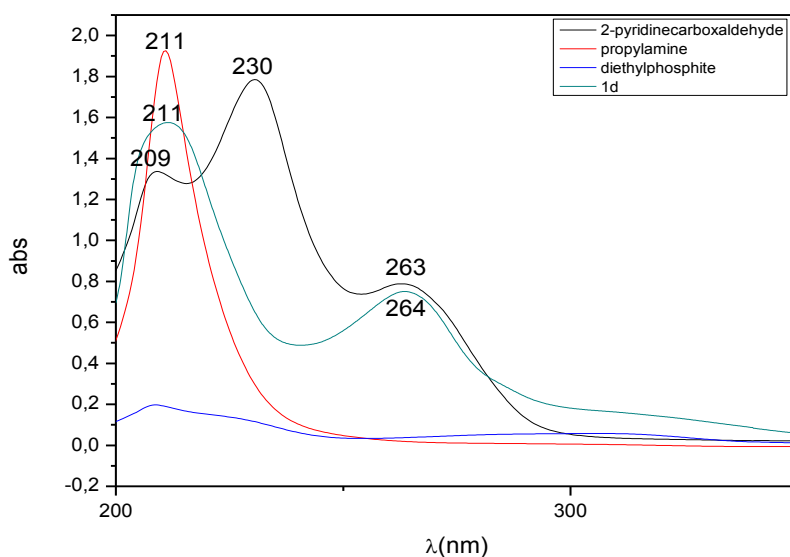


Fig. 29. Spectre UV-vis caractéristique de la molécule tétraéthyl ((propylazanediyl) bis (pyridin-2-ylméthylène)) bis (phosphonate) (**1d**) enregistré en éthanol à température ambiante

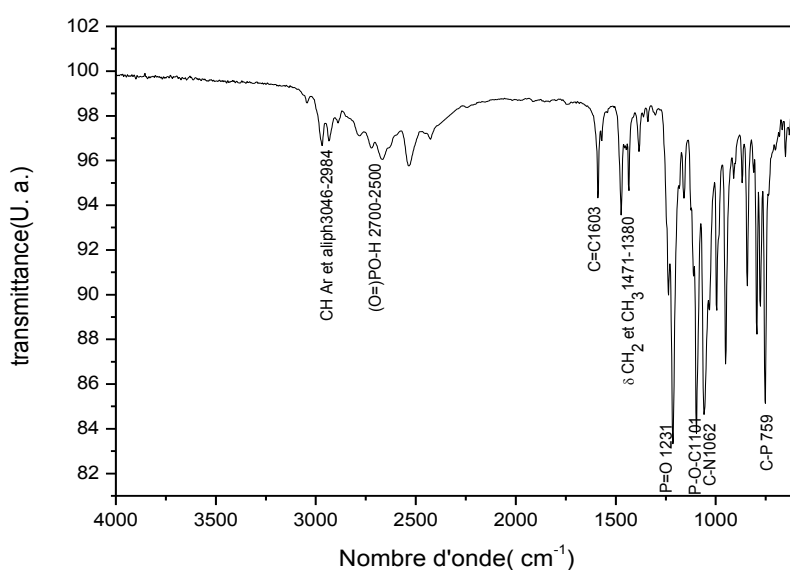


Fig. 30. Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule tétraéthyl ((propylazanediyl) bis (pyridin-2-ylméthylène)) bis (phosphonate) **1d**

III.3.3. Synthèse d' α -aminopyridines phosphonates dérivées de p-aminopyridine

Nous avons choisi comme deuxième curseur, le 4-aminopyridine pour la synthèse d'une deuxième série de trois α -aminopyridine phosphonates, le 4-aminopyridine est un composé

organique de formule chimique $C_5H_4N-NH_2$, il est utilisé en recherche pour caractériser les sous-types de canaux potassiques et comme médicament pour gérer certains des symptômes de la sclérose en plaques et est indiqué également pour l'amélioration des symptômes de la marche chez les adultes avec plusieurs variantes de la maladie.

III.3.3.1. Synthèse de la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis (pyridin-3-ylmethylene)) bis (hydrogen phosphonate) (**2a**)

Pour synthétiser la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis (pyridin-3-ylmethylene)) bis (hydrogen phosphonate) (**2a**), nous avons utilisé le rapport molaire: 1/2/2 entre 4-Aminopyridine / 3-Pyridinecarboxaldehyde/ diéthylephosphite respectivement, la réaction est représentée par le schéma **26**.

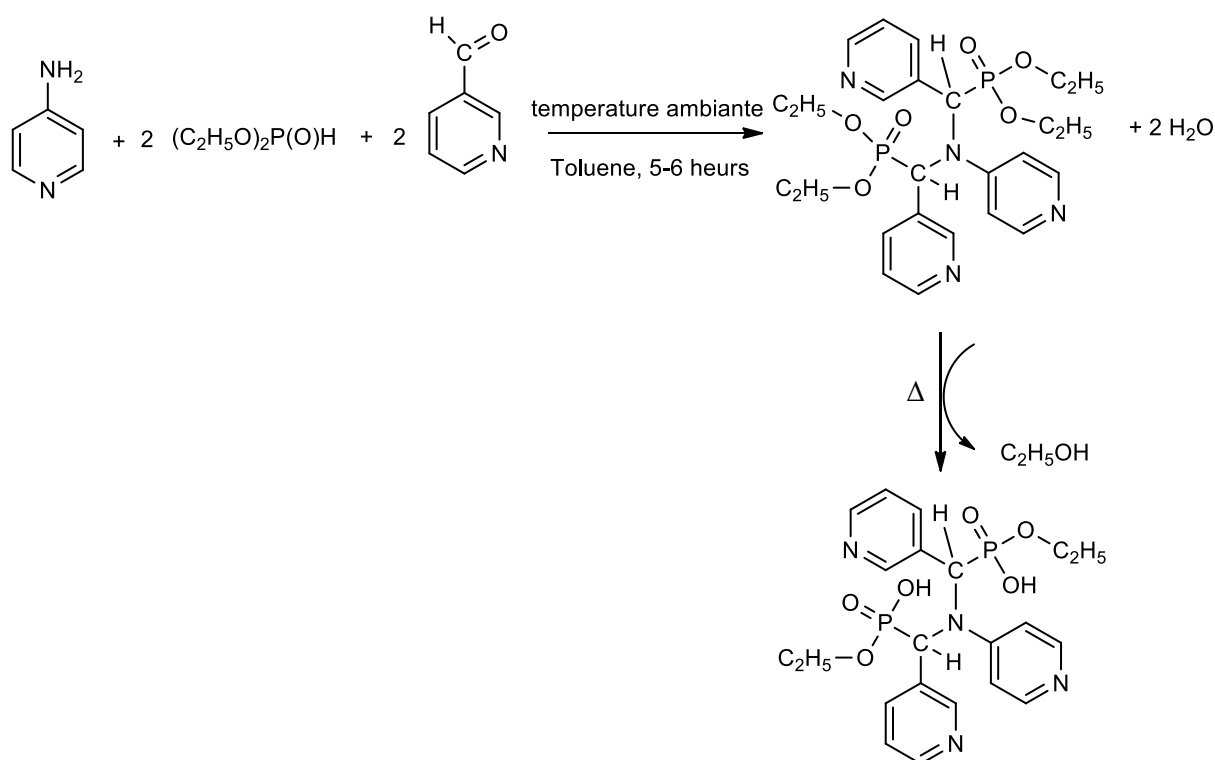


Schéma. 26. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule **2a**

Le mélange du milieu réactionnel final a été mis en repos pendant 3 jours, un liquide visqueux de couleur marron a été observé, l'addition de l'éthanol / éther (V/V) 30 ml a permis de solidifier le liquide visqueux, le solide obtenu a été séparé par filtration et soigneusement lavé avec dichlorométhane pour donner une poudre jaune pâle de point de fusion de 200 °C, c'est le composé **2a**, premier membre de la catégorie **2** obtenu avec un rendement de **73%**

Les propriétés spectrales et la structure de la molécule **2a** ont été déterminées par les méthodes spectroscopiques: UV-vis (**Fig. 31**), ATR-FTIR (**Fig. 32**) et par la microanalyse centésimale de CHNS.

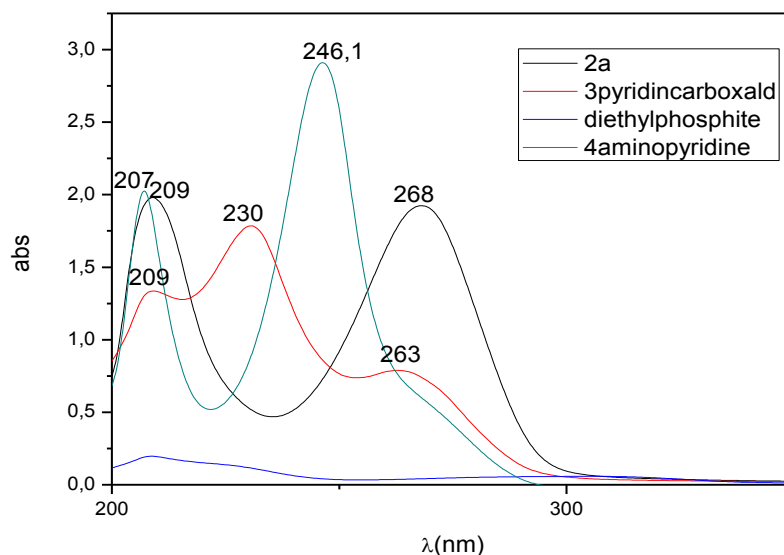


Fig. 31. Spectre UV-vis caractéristique de la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis (pyridin-3-ylmethylene))bis (hydrogen phosphonate) (**2a**) en éthanol à température ambiante

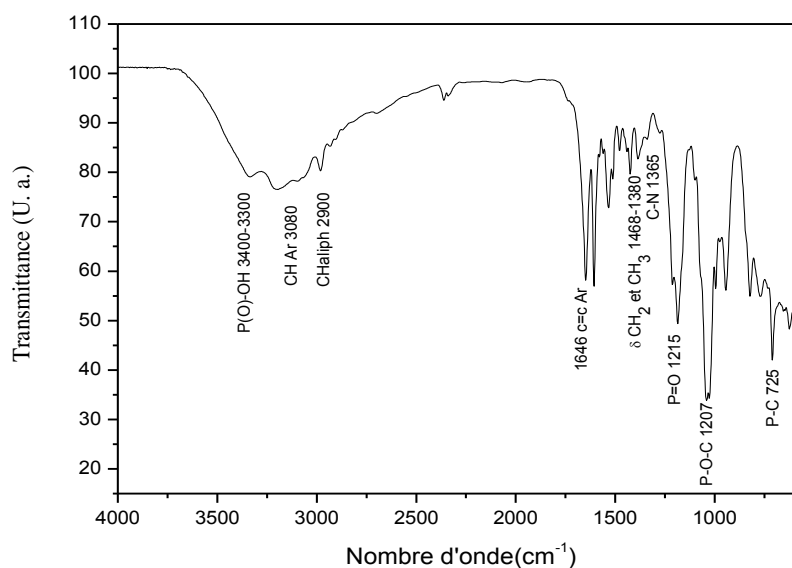


Fig. 32. Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediy)bis(pyridin-3-ylmethylene))bis (hydrogen phosphonate)(**2a**)

III.3.3.2. Synthèse de la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis (thiophen-3-ylmethylene))bis (hydrogen phosphonate) (**2b**)

La synthèse de la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis (thiophen-3-ylmethylene))bis (hydrogen phosphonate) (**2b**), est effectuée entre les réactifs 4-Aminopyridine/ 3-thiophencarboxaldehyde/ diéthylephosphite de rapport molaire: 1/2/2 respectivement, la est présenté par le schéma. 27.

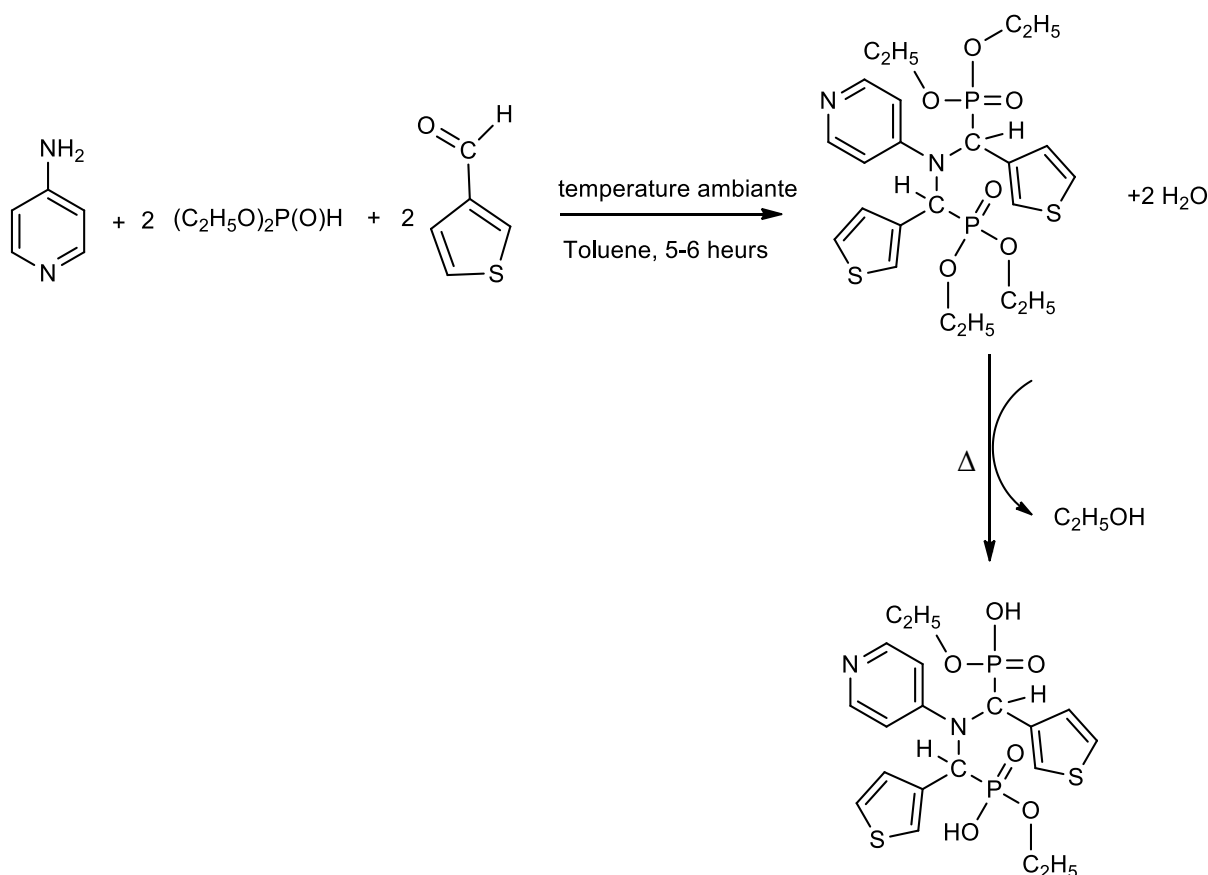


Schéma. 27. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule **2b**

Pour isoler et purifier les constituants du mélange réactionnel final, on utilise la chromatographie sur colonne dont la phase stationnaire (remplissage) est un gel de silice alors que la phase mobile est assurée par l'ajout de l'acétate d'éthyle et de l'éthanol, un liquide visqueux est obtenu. Après l'évaporation et le lavage avec l'Hexane, on récupère un produit colloïde de couleur jaune foncé et de point de fusion de 180°C. C'est le composé **2b**, deuxième membre de la catégorie **2** obtenu avec un rendement de **95%**. On note que le produit **2b** est bien soluble dans la plupart des solvants habituels et comprend l'eau.

Les propriétés spectrales et la structure de la molécule **2b** ont été déterminées par les méthodes spectroscopiques: UV-vis (**Fig. 33**), ATR-FTIR (**Fig. 34**), et par la microanalyse centésimale de CHNS.

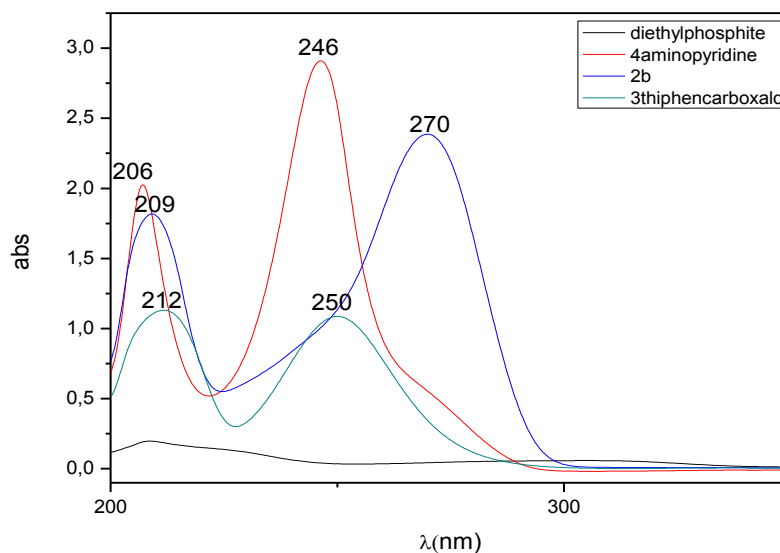


Fig. 33. Spectre UV-vis caractéristique de la molécule diéthyl ((pyridin-4-ylazanediy)bis(thiophen-3-ylmethylene))bis (hydrogen phosphonate) (**2b**) enregistré en éthanol à température ambiante

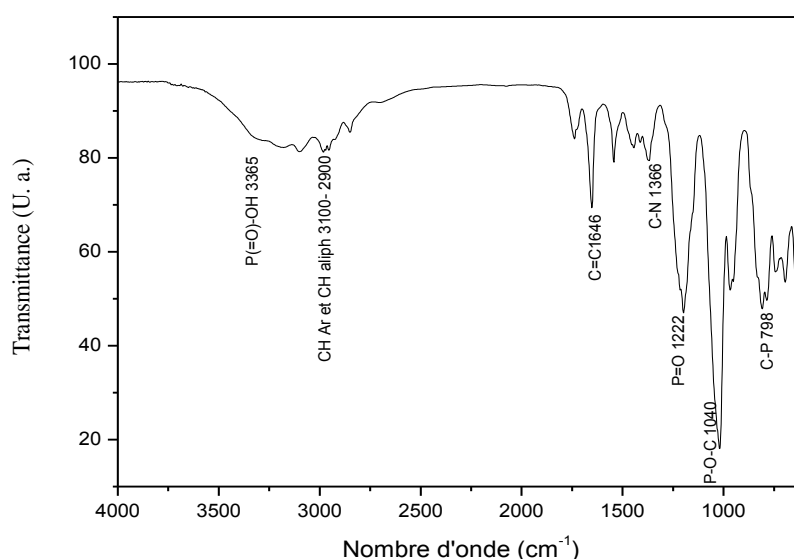


Fig. 34. Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule diéthyl ((pyridin-4-ylazanediy)bis(thiophen-3-ylmethylene))bis (hydrogen phosphonate) (**2b**)

III.3.3.3. Synthèse de la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis ((1H-pyrrol-2-yl)methylene))bis (hydrogen phosphonate) (**2c**)

Dans la synthétiser la molécule diethyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis ((1H-pyrrol-2-yl)methylene))bis (hydrogen phosphonate) (**2c**), nous avons fait réagissent les trois réactifs suivant: 4-Aminopyridine/ **Pyrrole-2-carboxaldehyde**/ diéthylephosphite de rapport molaire: 1/2/2 respectivement, la réaction est représentée par le **schéma. 28**.

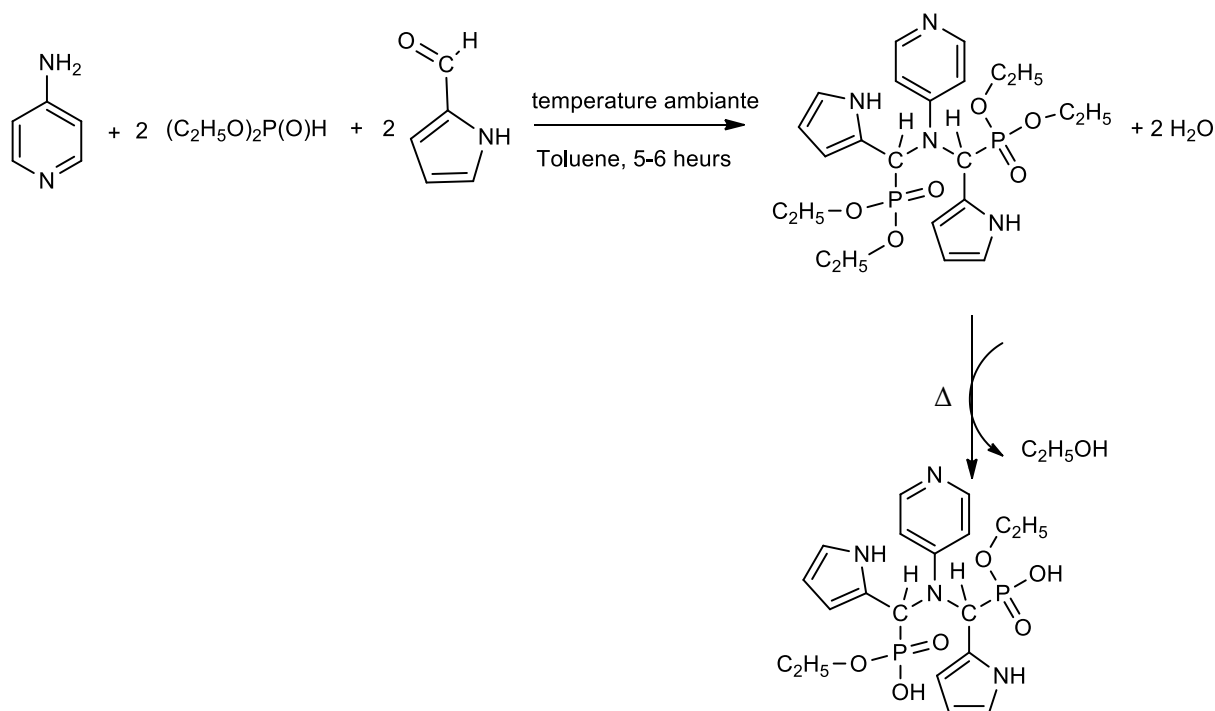


Schéma. 28. Séquence réactionnelle de synthèse de la molécule **2c**

Pour purifier et isoler les constituants du milieu réactionnel final, on a utilisé la chromatographie sur colonne rempli par gel de silice (phase stationnaire), alors que la phase mobile est assurée par l'ajout de l'éther diéthylique et de l'éthanol. Après l'évaporation et le lavage on obtient une poudre de couleur noire ça point de fusion est 347°C. C'est le composé **2c**, troisième membre de la catégorie **2**, obtenu avec un rendement de **90%**. Le produit **2c** frais (préparé récemment), présente une solubilité assez suffisante dans l'eau, méthanol, éthanol, ...etc.

Nous signalons que la solution du produit **2c** dans le méthanol a subi des transformations au cours du temps pour donner un matériau brillant insoluble dans tous les solvants et résiste fortement à la chaleur, il appartenant à la famille des matériaux vitreux qui possèdent des

applications optiques larges, notamment en biomédical et dans la fabrication d'imagerie médicale, ...etc.

Les propriétés spectrales et la structure de la molécule **2c** ont été déterminées par les méthodes spectroscopiques: UV-vis (**Fig. 35**), ATR-FTIR (**Fig. 36**), et par la microanalyse centésimale de CHNS.

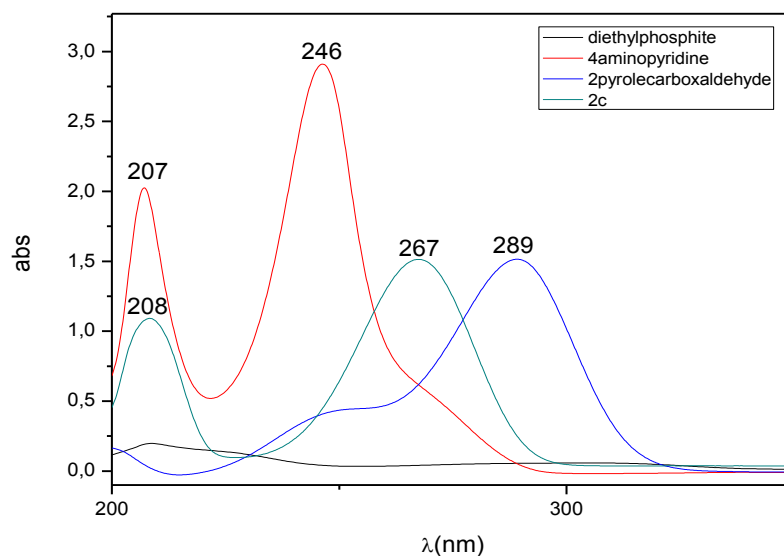


Fig. 35. Spectre UV-vis caractéristique de la molécule diéthyl ((pyridin-4-ylazanediy)bis((1H-pyrrol-2-yl)méthylène))bis (hydrogène phosphonate) (**2c**) enregistré en éthanol à température ambiante

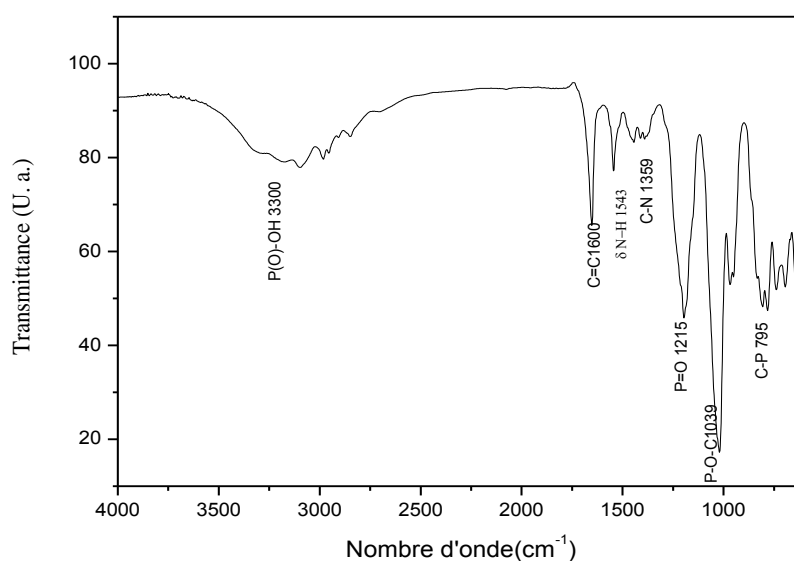


Fig. 36. Spectre ATR-FTIR caractéristique de la molécule diéthyl ((pyridin-4-ylazanediy) bis ((1H-pyrrol-2-yl) methylene)) bis (hydrogen phosphonate) (**2c**)

III.3.4. Mécanisme réactionnel général

Comme tous les composés à liaisons multiples, les composés carbonyles peuvent subir des réactions d'addition. Les aldéhydes peuvent subir des additions nucléophiles, grâce à la forte polarisation de la double liaison qui rend l'atome de carbone très réactif vis-à-vis des nucléophiles.

À cause de la différence d'électronégativité entre le carbone et l'oxygène, la liaison C-O est fortement polarisée et le carbone présente un caractère fortement électrophile

L'addition nucléophile sur le groupe carbonyle (C=O) conduit à un changement de l'état d'hybridation du carbone et de l'oxygène de sp² (trigonal plan) à sp³ (tétraédrique).

La réaction d'amine primaire propylamine ou 4-aminopyridine subissent à l'addition nucléophile avec les aldéhydes pour donner les carbinolamines qui déshydratent alors pour donner les imines substituées. Puis diéthylphosphite effectuer une attaque nucléophile sur l'imine formé afin de former l' α -aminophosphonate correspondant.

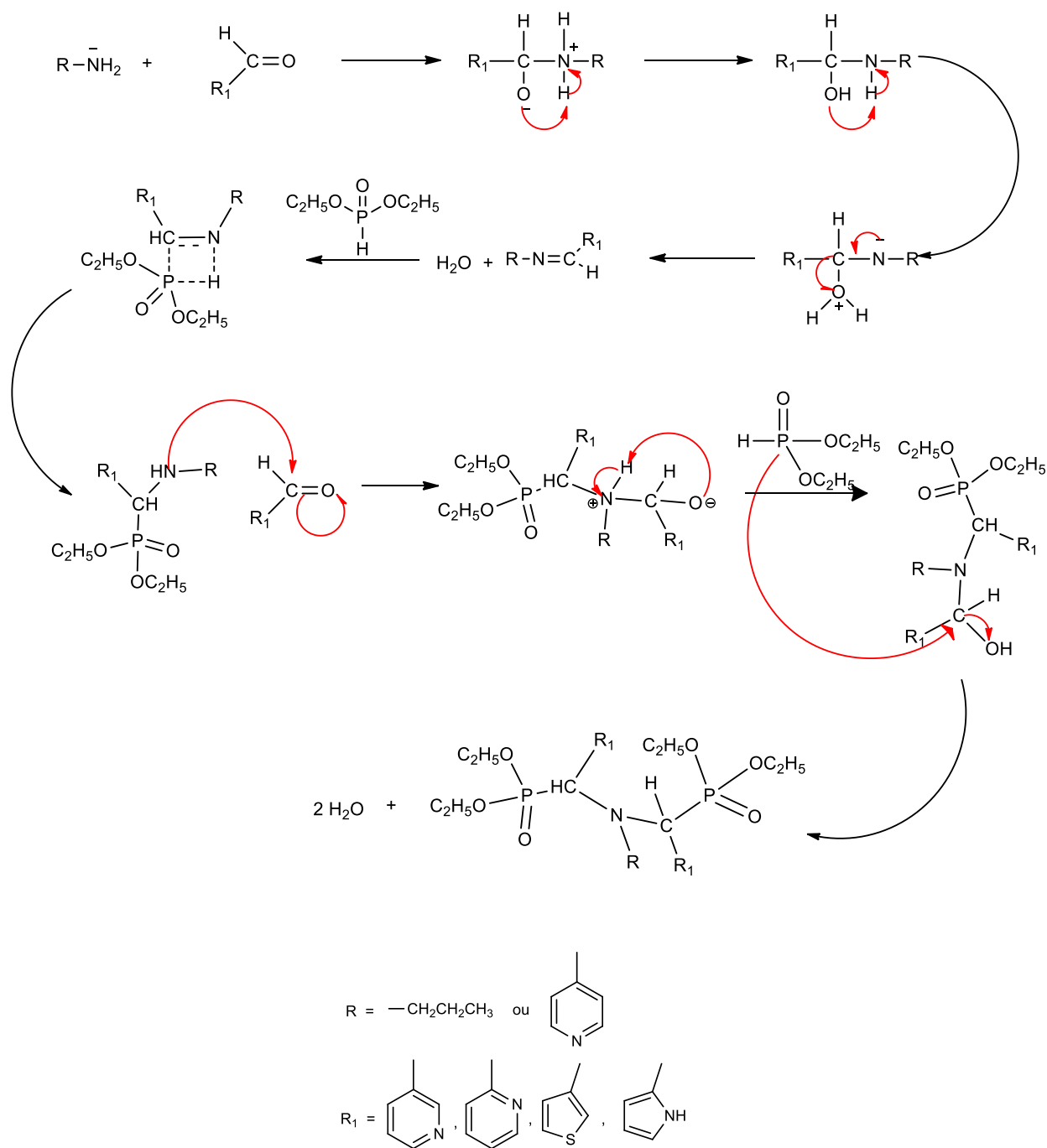


Schéma. 25. Mécanisme réactionnel général de formation d'α-aminophosphonates

III. 4. Discussion des résultats de synthèse

III.4.1.Chromatographie

Les testes de choix d'éluant effectués ont démontré que le meilleur éluant pour l'élution des composés de la catégorie **1** est un mélange d'Hexane/ Acétate d'éthyle de rapport (3/1), (v/v) alors que les composés de la catégorie **2** ont été élué par un mélange d'acétate d'éthyle / éthanol de rapport (4/1), (v/v). Ceci indique que les composés de la catégorie **2** sont plus polaires que ceux de la catégorie **1**.

Selon les rapports frontaux $R_f = d_s / d_e$ (d_s : distance parcourue par le soluté et d_e : distance parcourue par l'éluant), les molécules de la catégorie **1** sont classées dans l'ordre de leur polarité croissante suivant:

$$R_f(1b= 0.85) < R_f(1c= 0.61) < R_f(1d= 0.55) < R_f(1a= 0.35)$$

Tandis que les molécules de la catégorie **2** sont classées dans l'ordre de leur polarité croissante suivante:

$$R_f(2b= 0.61) < R_f(2c= 0.35) < R_f(2a= 0.21)$$

Ses résultats sont en bon accord avec les structures proposées aux molécules synthétisées.

III.4.2.Point de fusion

Les points de fusion des molécules synthétisées nous ont fourni des informations préliminaires importantes et en très bon accord avec les résultats de la caractérisation structurale obtenue par autres méthodes. À l'exception de la molécule **1d**, le point de fusion des molécules synthétisées est proportionnel à la masse moléculaire, il suit la séquence suivante:

$$P_f\mathbf{1c} (222) < P_f \mathbf{1a} (240) < P_f\mathbf{1b} (244) < P_f\mathbf{1d} (250)$$

On trouve que les points de fusion des composés **1a** et **1d** de même masse moléculaire sont bien différents, ceci due probablement a l'effet de la position de la fonction carbonyle sur le noyau aromatique pyridinique. Il paraît que le carbonyle en position «meta» (composé **1a**) a favorisé la formation d'une structure moins rigide que celle du carbonyle en position «ortho» (composé **1d**), et par conséquent on trouve que le point de fusion de la molécule **1a** est inférieur à celui de la molécule **1d**, ceci s'accorde bien avec la solubilité de la molécule **1a** bien supérieure à celle de la molécule **1d**.

III.4.3. Analyse élémentaire centésimale

L'analyse élémentaire consiste à déterminer les proportions d'atomes de chaque élément chimique dans la composition d'une substance. Est un instrument qui détermine le pourcentage de carbone, d'hydrogène, d'azote, de soufre et d'oxygène contenu dans les matériaux organiques homogènes. Pour la détermination du carbone, de l'hydrogène, de l'azote et du soufre, l'échantillon tombe dans un four à 1100 °C rempli d'oxygène pour une combustion très rapide et complète. La détection du carbone, de l'hydrogène et du soufre se fait par cellules infrarouges et par conductivité thermique pour l'azote. La plage de quantification pour le carbone se situe entre 0.02 % jusqu'à 100 %, pour l'hydrogène, de 0.02 % jusqu'à 50 %, pour l'azote, de 0.02 % jusqu'à 50 % et pour le soufre de 0.04% jusqu'à 65 % pour un échantillon de 2 mg. Cette plage de quantification peut être modifiée en variant le poids de l'échantillon. Le pourcentage de C, H, N et S, est donné dans le **tableau. 1**

Tableau. 1: Pourcentage expérimental et théorique des éléments C, H, N et S dans les composés α -aminophosphonates synthétisés

compose	Formule brute	C%	H%	N%	S%
1a	$C_{19}H_{29}O_6N_3P_2$	Cal: 49.89 Exp: 49,95	Cal: 6.39 Exp: 6,45	Cal: 9.19 Exp: 9,30	
1b	$C_{19}H_{31}O_6NS_2P_2$	Cal: 46.05 Exp: 46,46	Cal: 6.31 Exp: 6,79	Cal: 2.83 Exp: 2,89	Cal: 12.94 Exp: 12,80
1c	$C_{19}H_{33}O_6N_3P_2$	Cal: 49.46 Exp: 49,50	Cal: 7.67 Exp: 7,67	Cal: 9.11 Exp: 9,63	-
1d	$C_{21}H_{33}O_6N_3P_2$	Cal: 51.96 Exp: 51,49	Cal: 6.85 Exp: 6,96	Cal: 8.66 Exp: 8,75	-
2a	$C_{21}H_{26}N_4O_6P_2$	Cal: 51.22 Exp: 51,75	Cal: 5.23 Exp: 5,54	Cal: 11.38 Exp: 11,56	-
2b	$C_{19}H_{24}N_2O_6P_2S_2$	Cal: 45.42 Exp: 45,49	Cal: 4.81 Exp: 4,61	Cal: 5.58 Exp: 5,45	Cal: 12.76 Exp: 12,63
2c	$C_{19}H_{26}N_4O_6P_2$	Cal: 48.72 Exp: 48,62	Cal: 5.60 Exp: 5,27	Cal: 11.99 Exp: 12,04	-

On constate que les résultats expérimentaux sont en bon accord avec ceux de calculs théoriques.

III.4.4. Discussion des résultats de la spectrophotométrie UV-vis

La spectrophotométrie UV-vis nous a permis la mise en évidence des bandes d'absorption caractéristiques des différents produits impliqués dans ce travail, tous les spectres ont été enregistrés en milieu éthanol dans le domaine d'ultraviolet visible allant de 200 à 800 nm, ce qu'a facilité leur comparaison et l'observation des modifications notables entre les réactifs et les molécules synthétisées d'une part et entre les produits synthétisés eux-mêmes d'autre part.

Les spectres UV-vis d'aminophosphonates synthétisés (**Fig. 37**, **Fig. 38**) présentent des bandes d'absorption intenses situées entre 203-220 nm identiques aux bandes caractéristiques des réactifs utilisés dans la synthèse. Ces bandes dépendent de la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ et due à une conjugaison dans un système insaturé.

Les produits synthétisés présentent des bandes d'absorption caractéristiques et bien définie, différentes ou significativement déplacées par rapport à ceux des réactifs, autour de 230-295 nm, correspondent aux transitions $n \rightarrow \pi^*$ et due à une conjugaison avec un système contenant une seule paire d'électrons.

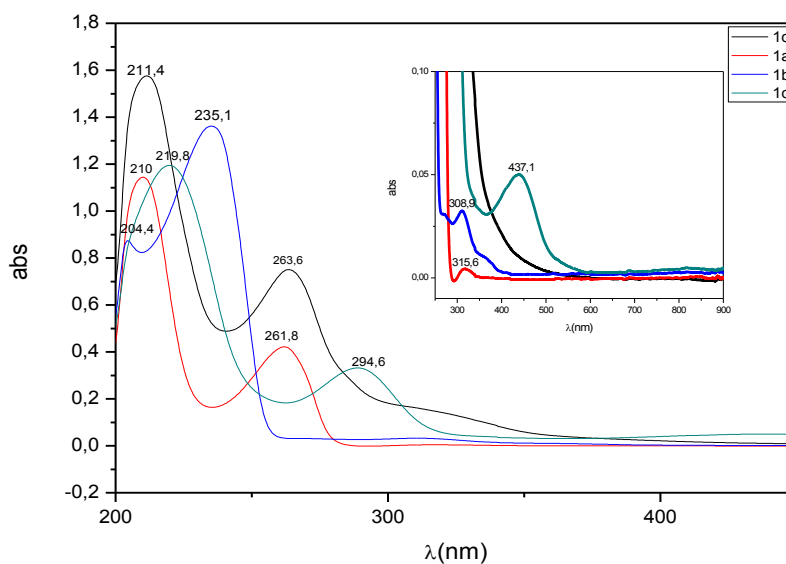


Fig. 37. Spectres UV-vis caractéristiques des composés dérivés de propylamine

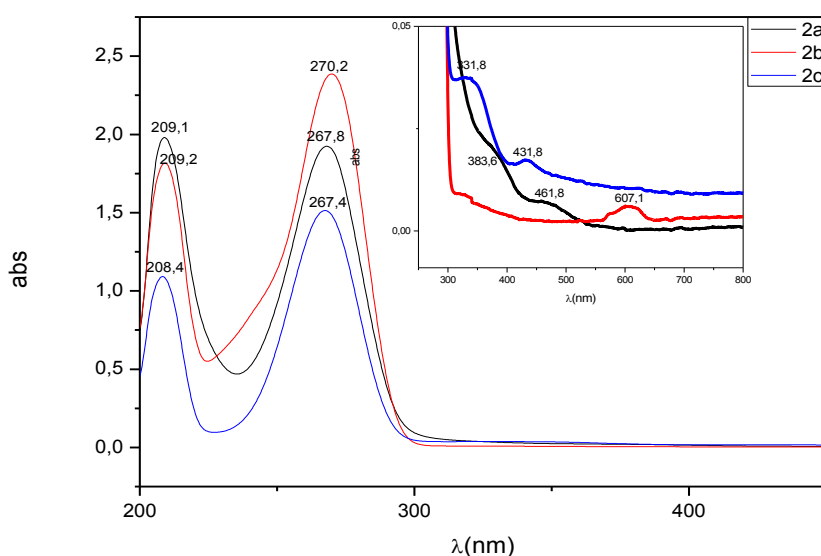


Fig. 38. Spectres UV-vis caractéristiques des composés dérivés de p-aminopyridine

Afin de refléter plus clairement les différences spectrales dans le domaine d'ultraviolet- visible entre les différents produits, on a regroupé les paramètres caractéristiques de produits de départ dans le **tableau 2** et ceux caractérisant les produits synthétisés dans le **tableau 3**.

Tableau. 2: Paramètres principaux caractéristiques des spectres UV-vis des produits de départ enregistrés en éthanol à température ambiante: M (masses moléculaires en g /mole), C (mole/l) $\times 10^{-3}$ et A (absorption)

produit	M (g/mole)	C $\times 10^{-3}$ (mole/l)	$\lambda_{\max 1}(\text{nm})(A)$	$\lambda_{\max 2}(\text{nm})(A)$	$\lambda_{\max 3}(\text{nm})(A)$
Propylamine	59	2.03	211(1.916)	-	-
4-aminopyridine	94	1.27	207(2.04)	247 (2.92)	-
3- pyridincarboxaldéhyde	107.11	1.12	209 (1.35)	230 (1.788)	263 (0.79)
2- pyridincarboxaldéhyde	107.11	1.12	209 (1.33)	230 (1.795)	263(0.79)
2-pyrolcarboxaldéhyde	95.10	1.26	250 (0.44) ép.	289 (1.51)	-
3-thiophèncarboxaldéhyde	112	1.07	212(1.13)	250 (1.1)	-

Tableau. 3: Paramètres principaux caractéristiques des spectres UV-vis des produits synthétisés enregistrés en milieu éthanol à température ambiante (TA): M (masses moléculaires en g/mole), C (mole/l) $\times 10^{-4}$ et A (absorption)

product	1a	1b	1c	1d	2a	2b	2c
M(g/mole)	457	495	461	485	492	502	468
C(mole/l)	2.34	2.29	2.45	2.34	2.19	2.15	2.29
$\lambda_{\max 1}(\text{nm})(A)$	210(1.14)	204(0.87)	220(1.2)	211(1.576)	209(1.97)	209(1.81)	209(1.08)
$\lambda_{\max 2}(\text{nm})(A)$	262(0.42)	235(1.36)	289(0.35)	264(0.752)	268(1.91)	270(2.38)	267(1.51)
$\lambda_{\max 3}(\text{nm})(A)$	321*(0.025)	311*(0.035)	437*(0.05)	-	460*(0.055)	609*(0.045)	345*(0.036)
$\lambda_{\max 4}(\text{nm})(A)$	-	-	-	-	-	-	431*(0.017)

* Absorption très faible à la concentration ($2 \cdot 10^{-4} \text{M}$)

- La faible valeur d'absorbance correspondant aux longueurs d'onde $\lambda_{\max 3}$ et $\lambda_{\max 4}$ peut être multiplié plusieurs fois selon la loi de Beer- Lambert: $A = \epsilon C \ell$, rappelons que cette loi reste valide jusqu'à $C = 10^{-2} \text{M}$ et que l'absorbance est proportionnelle à la concentration et au trajet optique ℓ de la cuve utilisée.

La comparaison entre les paramètres caractéristiques des produits de départ et ceux des composés synthétisés permet de tirer les conclusions suivantes:

- la disparition de la bande d'absorption située à $\lambda_{\max 2} = 230 \text{ nm}$ caractéristique desaldéhyde 3-pyridincarboxaldéhyde et 2-pyridincarboxaldéhyde dans les composés synthétisés **1a**, **1d** et **2a** et l'apparition d'une nouvelle bande de $\lambda_{\max} = 321 \text{ nm}$, $\lambda_{\max 2} = 324 \text{ nm}$ et $\lambda_{\max} = 460 \text{ nm}$ respectivement.

- la disparition des bandes d'absorption caractéristiques de l'aldéhyde 3-thiophèncarboxaldéhyde situées à $\lambda_{\max 2} = 250 \text{ nm}$ sur les spectres des composés synthétisés **1b** et **2b** et l'apparition de deux nouvelles bandes de $\lambda_{\max} = 235 \text{ nm}$ et $\lambda_{\max 2} = 311 \text{ nm}$ sur le spectre du composé **1b** et à $\lambda_{\max} = 270 \text{ nm}$ et $\lambda_{\max 2} = 609 \text{ nm}$ sur le spectre du composé **2b**.

- la disparition de l'épaule situé à $\lambda \approx 250 \text{ nm}$ caractéristique de l'aldéhyde 2-pyrolcarboxaldéhyde et l'apparition de deux nouvelles bandes de $\lambda_{\max} = 289 \text{ nm}$ et $\lambda_{\max} = 437 \text{ nm}$ sur le spectre du composé **1c** et à $\lambda_{\max} = 267 \text{ nm}$, $\lambda_{\max 2} = 345 \text{ nm}$ et $\lambda_{\max} = 431 \text{ nm}$ sur le spectre du composé **2c**.

- Pour la catégorie **2** on observe la disparition de la bande d'absorption caractéristique du composé de départ, le 4-aminopyridine, située à $\lambda_{\max} = 247$ nm sur les spectres des molécules synthétisées.

Ses résultats montrent sans doute l'obtention des composés bien différents par rapport aux produits de départ.

III.4.5. Discussion des résultats de la spectroscopie infrarouge FT-IR

Les spectres caractéristiques des propriétés vibrationnelles des produits synthétisés enregistrés en mode réflexion totale atténuée (ATR) entre 4000 cm^{-1} et 590 cm^{-1} , révèlent des modifications notables entre les produits synthétisés et les produits de départ, figures (39-42).

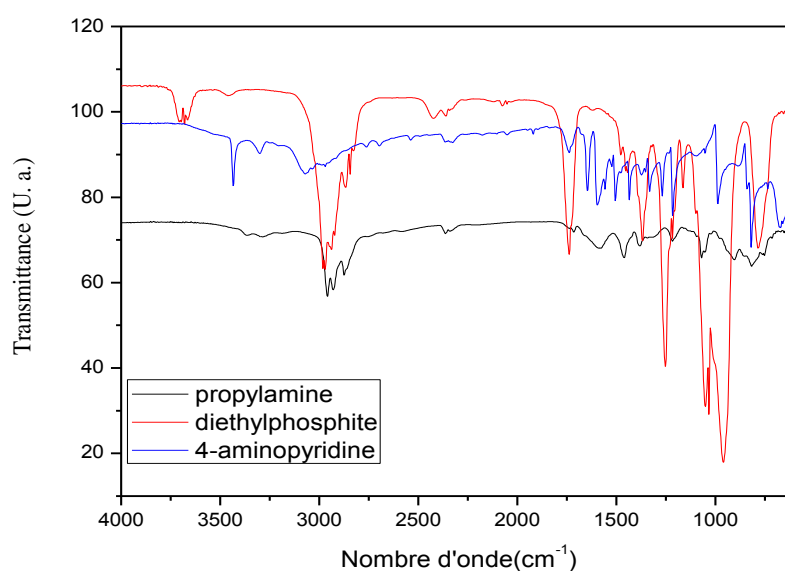


Fig. 39. Spectres infrarouges caractéristiques des réactifs utilisés dans la synthèse des molécules α -aminophosphonates.

Le propylamine et le 4-aminopyridine utilisés comme molécules de base ou curseurs de synthèse sont essentiellement caractérisés par deux bandes parallèles d'intensité moyenne situées en général entre 3400 et 3260 cm^{-1} attribuées à la fonction amine primaire $-\text{NH}_2$, alors que les substituants utilisés sont des aldéhydes aromatiques caractérisés par un pic d'élongation forte situé entre 1715 - 1690 cm^{-1} attribué au groupement carbonyle $\text{C}=\text{O}$.

Pour obtenir les phosphonates visées par la synthèse, on a utilisé le diéthylphosphite caractérisé par les groupements $\text{P}=\text{O}$, $\text{P}-\text{H}$, $\text{P}-\text{O}-\text{C}$, $-\text{CH}_3$ et $-\text{CH}_2$, les pics caractéristiques de

ce phosphite sont observés aux nombre d'ondes: 1740, 1365, 1259, 1066, 1050, 962 et 783 cm^{-1} .

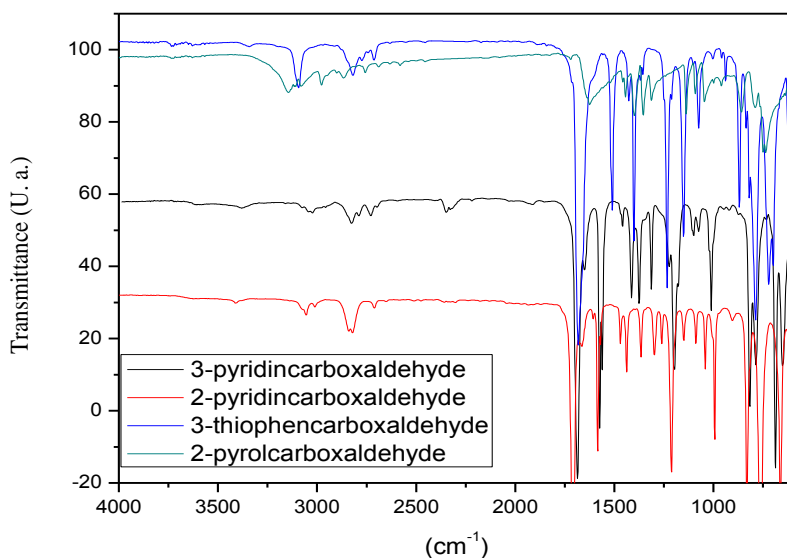


Fig. 40. Spectres infrarouges caractéristiques des substituants aldéhydes utilisés dans la synthèse des molécules des deux catégories

L'obtention des composés α -aminophosphonates est confirmée par la comparaison entre les spectres de vibration en IR des produits synthétisés et ceux des produits de départ correspondants présentés par les figures **37**, **38**, **39** et **40**. La comparaison effectuée a permis de déceler aisément la disparition des pics caractéristiques des fonctions amine primaire $-\text{NH}_2$ et de carbonyle aldéhyde $\text{C}=\text{O}$ des produits de départ sur les spectres des produits synthétisés d'une part et d'autre part l'apparition des bandes d'absorption attribuables aux groupements $\text{P}-\text{O}-\text{C}$, $\text{P}-\text{C}$, $\text{P}=\text{O}$, $\text{P}-\text{OH}$ et $\text{C}-\text{N}$.

Tous les composés synthétisés présentent des pics de vibration du carbone (sp^3) dans la région de $3000\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$ attribués aux groupements aliphatiques $-\text{CH}_3$ et $-\text{CH}_2$ et des pics de vibrations vers 1410 cm^{-1} et 1600 cm^{-1} attribués aux doubles liaisons $\text{C}=\text{C}$ des cycles aromatiques.

Les spectres des composés **1a**, **1b**, **1c** et **1d** appartenant a la catégorie **1** présentent des pics de fréquence 2547 cm^{-1} , 2560 cm^{-1} , 2539 cm^{-1} et 2533 cm^{-1} caractéristiques des fonctions phosphonates $-\text{P}(\text{OR})-\text{OH}$ où ($\text{R} = \text{OH}$ ou OC_2H_5) qui occupe le domaine allant de 2700 cm^{-1} à 2250 cm^{-1}

Les spectres des trois composés de **2a**, **2b**, **2c** de la catégorie **2** catégorie **2**, présentent des bandes de formes patates larges, empreintes de la fonction -OH acide dans la zone 3300 cm^{-1} à 2500 cm^{-1} attribués à la fonction -P-OH.

Les spectres des produits synthétisés présentent tous des pics vers 1733 cm^{-1} , 1256 cm^{-1} et 1240 cm^{-1} attribués aux groupements P=O et des pics d'intensité forte entre 1058 cm^{-1} et 900 cm^{-1} correspondant aux vibrations de déformation des esters des phosphonates P-O-C.

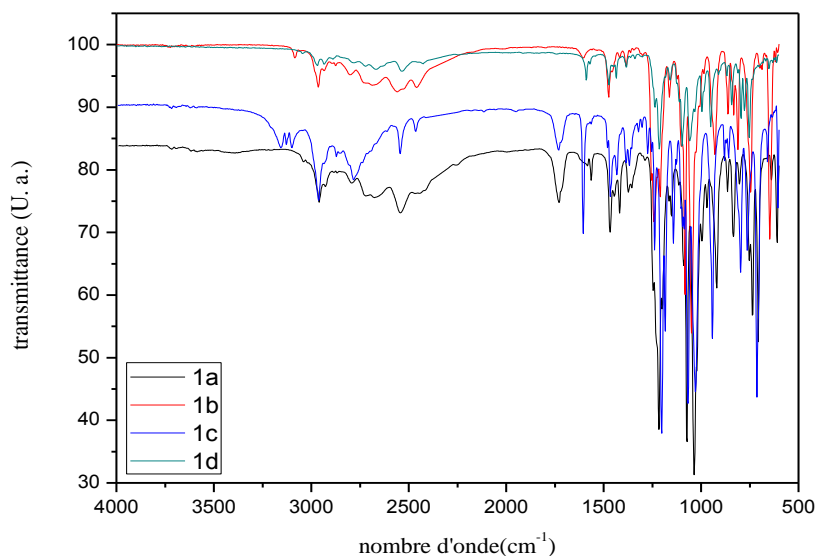


Fig. 41. Spectres infrarouges des composés de la catégorie **1**, dérivés de propylamine

Tous les spectres IR enregistrés pour les produits synthétisés sont caractérisés par un pic situé vers, $1042\text{-}1062\text{ cm}^{-1}$ et $1360\text{-}1372\text{ cm}^{-1}$ attribué à la fonction C-N de l'amine tertiaire aliphatique et aromatique respectivement, indiquant ainsi le remplacement total des deux hydrogènes de l'amine.

Les spectres des molécules synthétisées en présence du substituant 2-pyrolcarboxaldéhyde présentent des pics caractéristiques de la fonction amine secondaire -NH dans la zone allant de 1580 cm^{-1} à 1490 cm^{-1} , la plupart des pics caractéristiques de cette fonction situés entre 3500 cm^{-1} et 3100 cm^{-1} sont recouverts par l'élongation patate de la fonction acide.

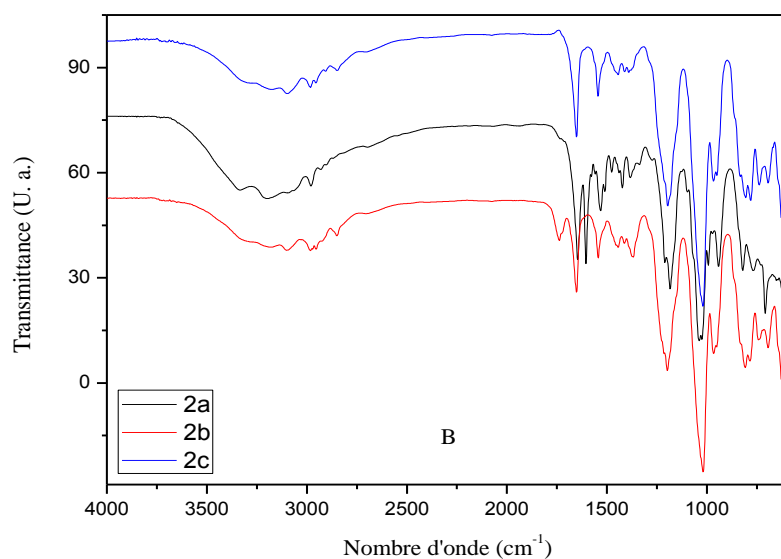


Fig. 42. Spectres infrarouge des composés de la catégorie **2** dérivés de 4-aminopyridine

Les fréquences principales (nombre d'onde) exprimées en cm^{-1} caractéristiques des groupements fonctionnels révélés par l'étude infra-rouge mode ATR-FTIR sont regroupées dans le tableau 4.

Tableau. 4: Tableau récapitulatif des principaux pics caractéristiques des groupements fonctionnels des produits synthétisés en infrarouge.

FT-IR $\bar{\nu}$ nombre d'onde (cm^{-1})								
composé	CH aliph	CH Ar	(P=O)-OH	P=O	P-O-C	P-C	N-C	C=C
1a	2929	3058	2547	1231	1101	743	1042	1740
1b	2965	3092	2560	1240	1080	742	1050	1605
1c	2956	3094	2539	1212	1077	718	1028	1627
1d	2984	3064	2533	1231	1101	759	1062	1603
2a	2900	3080	3400-3200	1215	1058	725	1365	1646
2b	2993	3100	3365	1222	1044	798	1366	1646
2c	2900	3097	3500-3300	1200	1039	795	1372	1600

En conclusion, la disparition totale de la fonction amine primaire $-NH_2$ et le groupement carbonyle $C=O$ sur les spectres des molécules synthétisées et l'apparition des groupements $P=O$, $P-O-C$, $P-OH$ et notamment l'apparition de la liaison tertiaire $C-N$ confirme sans doute la formation des molécules α - aminophosphonates comprennent deux groupements phosphonates, ces résultats sont en très bon accord avec les résultats de l'analyse centésimale de C, H, N et S et ils sont également confirmés par les résultats de la spectroscopie de la résonance magnétique RMN de 1H , ^{13}C et de ^{31}P illustrés dans le paragraphe (III. 4.6.)

III.4.6. Discussion des résultats de la spectroscopie RMN

L'analyse des produits obtenus par RMN de 1H , ^{13}C et ^{31}P a permis de confirmer les structures attendues.

Les déplacements chimiques δ (ppm) et le couplage des protons observés sur les spectres RMN 1H , Figure (20, 23 et 27) montrent clairement la présence des protons: $-CH_3$ (t) ($-CH_2CH_2-CH_3$), CH_2 (m) ($-CH_2-CH_2-CH_3$), $-CH_2$ (t) ($-N-CH_2-CH_2CH_3$), CH (s) ($-N-CH-R$), (R: pyridine, thiophène ou pyrrole), CH aromatiques (pyridine, thiophène ou pyrrole), NH (s) de pyrrole et $-OH$ (s) acide dans toutes les structures des molécules synthétisées.

les déplacements chimiques du composé **1a**, δ (ppm): 0.9 (t, 3H, $N-CH_2-CH_2-CH_3$), 1.1 (t, 6H, $2^*-O-CH_2-CH_3$), 1.9 (s, 2H, $N-CH_2-CH_2-CH_3$), 2.6 (t, 2H, $N-CH_2-CH_2-CH_3$), 3.5-4.2 (q, 4H, $2^*-O-CH_2-CH_3$), 3.9 (s, 2H, 2^*Ar-CH), 7.4-8.8 (m, 8H, $Ar-H$), 11 (s, 2H, $P(=O)OH$)

les déplacements chimiques du composé **1b**, δ (ppm): 0.8 (t, 3H, $N-CH_2-CH_2-CH_3$), 1.05 (t, 9H, $2^*-O-CH_2-CH_3$), 1.93 (s, 2H, $N-CH_2-CH_2-CH_3$), 2.65 (t, 2H, $N-CH_2-CH_2-CH_3$), 4.35 (q, 6H, $2^*-O-CH_2-CH_3$), 3.6 (d, 2H, 2^*Ar-CH), 7.66-7.53-7.33 (m, 6H, $Ar-H$), 10.8 (s, 1H, $P(=O)OH$)

les déplacements chimiques du composé **1c**, δ (ppm): 0.87 (t, 3H, $N-CH_2-CH_2-CH_3$), 1.11 (t, 9H, $2^*-O-CH_2-CH_3$), 1.9 (s, 2H, $N-CH_2-CH_2-CH_3$), 2.4 (t, 2H, $N-CH_2-CH_2-CH_3$), 4.3 (q, 6H, $2^*-O-CH_2-CH_3$), 3.7 (d, 2H, 2^*Ar-CH), 3.4 (s, 1H, NH), 6.8-6.22-6.14 (m, 6H, $Ar-H$), 10 (s, 1H, $P(=O)OH$) peuvent être généralisés sur les autres molécules.

Les spectres RMN ^{31}P des produits synthétisés présentent soit un seul signal (Figure 43-1), attribué à deux atomes de phosphore identiques et symétriques de deux groupements $-PO(OH)(OC_2H_5)$ vers $\delta = 6,7$ ppm comme dans le cas du composé **1a**, soit par deux signaux

vers $\delta = 6.33$ ppm et 8.04 ppm attribués aux atomes de phosphore d'environnement asymétrique des groupements $\text{PO}(\text{OH})(\text{OC}_2\text{H}_5)$ et $-\text{PO}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$ comme dans les cas des composés **1b** et **1c**, Figure 43-2.

L'analyse RMN ^{13}C a démontré que le nombre de carbones révélés par les spectres des composés **1b** et **1c**, figures 24 et 28 respectivement est identique à celui des structures proposées.

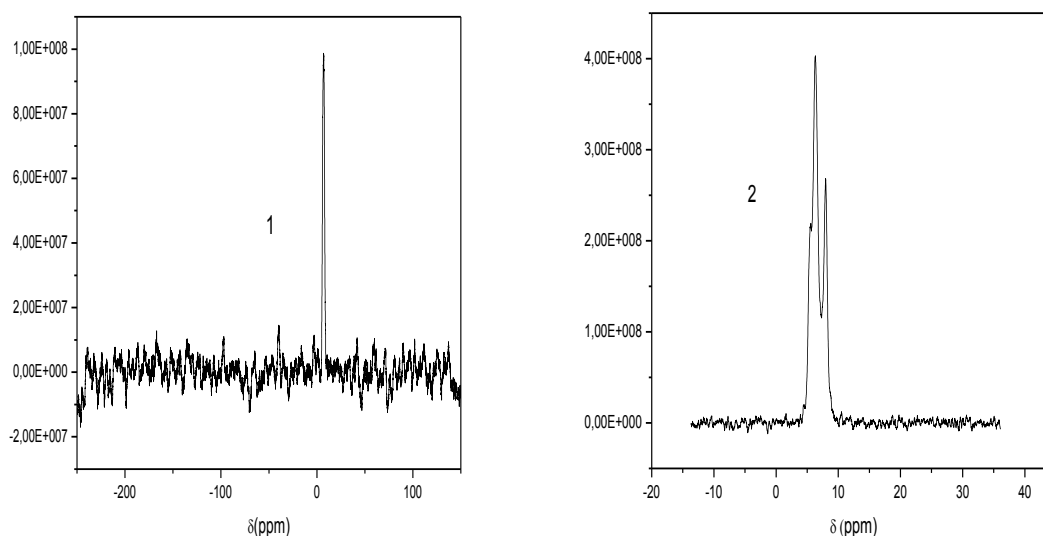


Fig. 43(1-2). Spectres RMN du ^{31}P et ^{13}C enregistrés en CDCl_3

1-Spectre RMN ^{31}P de la molécule **1a**

2-Spectre RMN ^{31}P de la molécule **1b**

III.5. Conclusion sur la synthèse des composés -aminophosphonates

Pour la synthèse des molécules α -aminophosphonates visées par ce travail, nous avons appliqué la réaction à trois composants de Kabachnik-Fields, les produits synthétisés présentent des rapports frontaux R_f de polarité différente, les points de diffusions sont en bonne concordance avec les structures des molécules déterminées par les méthodes spectroscopiques UV-vis, IR et RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P , les structures expérimentales convergent sensiblement avec celles obtenues par le calcul théorique, le rendement de la synthèse est très rentable, il atteint 95 % dans le cas du composé **2b**.

Les principaux paramètres caractéristiques et les structures des sept molécules synthétisées sont regroupés dans les tableaux 5 et 6.

Tableau. 5: Principaux paramètres caractéristiques des phosphonates de la catégorie **1**, dérivées de propylamine, C₃H₇NH₂,

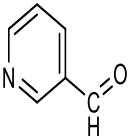
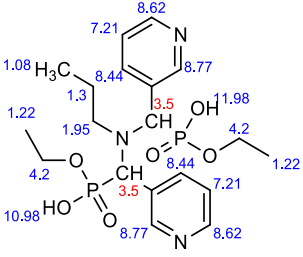
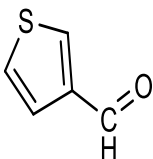
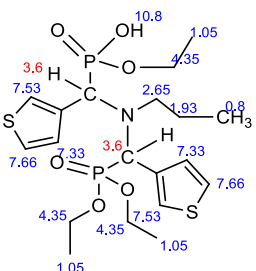
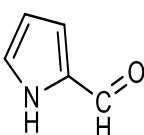
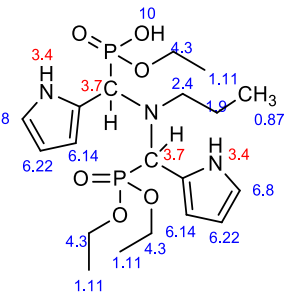
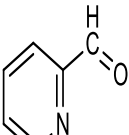
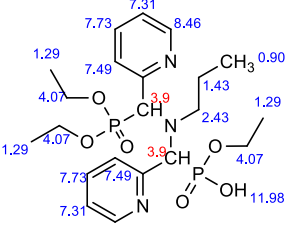
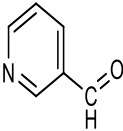
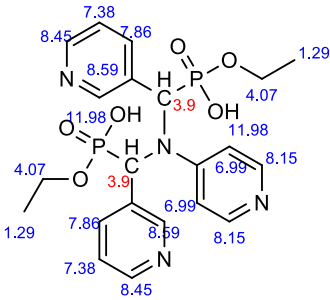
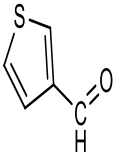
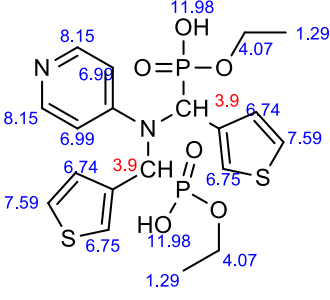
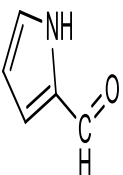
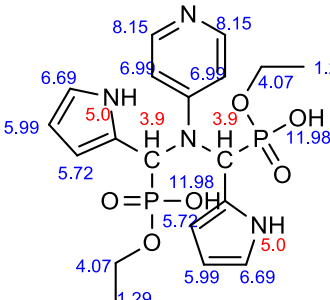
Aldehyde	Composé	Etat physique	Point de fusion	Formule chimique	Rendement %
 <p>a</p>	 <p>1a</p>	Poudre blanche	240°C	C ₁₉ H ₂₉ O ₆ N ₃ P ₂ 457g/mol	84%
 <p>b</p>	 <p>1b</p>	Poudre blanche	244°C	C ₁₉ H ₃₁ O ₆ NS ₂ P ₂ 495g/mol	90%
 <p>c</p>	 <p>1c</p>	Poudre blanche	222°C	C ₁₉ H ₃₃ O ₆ N ₃ P ₂ 461g/mol	91%
 <p>d</p>	 <p>1d</p>	Poudre Jaune pâle	255°C	C ₂₁ H ₃₃ O ₆ N ₃ P ₂ 485g/mol	85%

Table 6: Principaux paramètres caractéristiques des phosphonates de la catégorie **2**, dérivées de propylamine, dérivées de 4-aminopyridine, C₅H₄N-NH₂.

Aldehyde	Composé	Etat physique	Point de fusion	Formule chimique	Rendement %
 <p>a</p>	 <p>2a</p>	Poudre Jaune pâle	200°C	C ₂₁ H ₂₆ O ₆ N ₄ P ₂ 492g/mol	73%
 <p>b</p>	 <p>2b</p>	État gélatin eux	180°C	C ₁₉ H ₂₄ O ₆ N ₂ S ₂ P ₂ 502g/mol	95%
 <p>c</p>	 <p>2c</p>	Poudre noire	347°C	C ₁₉ H ₂₆ O ₆ N ₄ P ₂ 468g/mol	90%

CHAPITRE IV
ETUDE DES
ACTIVITES

CHAPITRE IV**IV. 1. Evaluation des activités biologiques des molécules synthétisées****IV.1.1.Activité antioxydants**

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydoréduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Cette réaction peut produire des radicaux qui entraînent des réactions en chaîne destructrices. Les antioxydants sont capables d'arrêter ces réactions en chaîne en se réduisant avec les radicaux et annihilant ainsi leur action.

Nous avons évalué l'effet antioxydants de nos molécules par trois méthodes:

- Test de réduction du radical stable DPPH.
- Test de la réduction du fer par la méthode de FRAP
- La méthode électrochimique par la voltamétrie cyclique.

IV.1.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

Le test antioxydant a été réalisé avec la méthode au DPPH [139]. 50µl de chaque solution méthanolique des molécules à différentes concentrations sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). En Parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH avec 50µl de méthanol. La lecture de l'absorbance est faite pour chaque concentration contre un blanc préparé à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique et le BHT dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test est répété 3fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) (**Fig. 45**).

$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100$$

Sachant que I%, abs contrôle et abs test sont respectivement le pourcentage de l'activité antioxydant des molécules, l'absorption moléculaire de contrôle et l'absorption moléculaire de l'échantillon.

La concentration inhibitrice (IC₅₀) définie comme la concentration de l'échantillon qui produit 50% d'effet piègeur du radical DPPH. Les valeurs de l'IC₅₀ ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire. Et nous avons obtenue les résultats suivants:



Fig. 44. Représentation photographique de la réaction de nos molécules avec le radical DPPH'

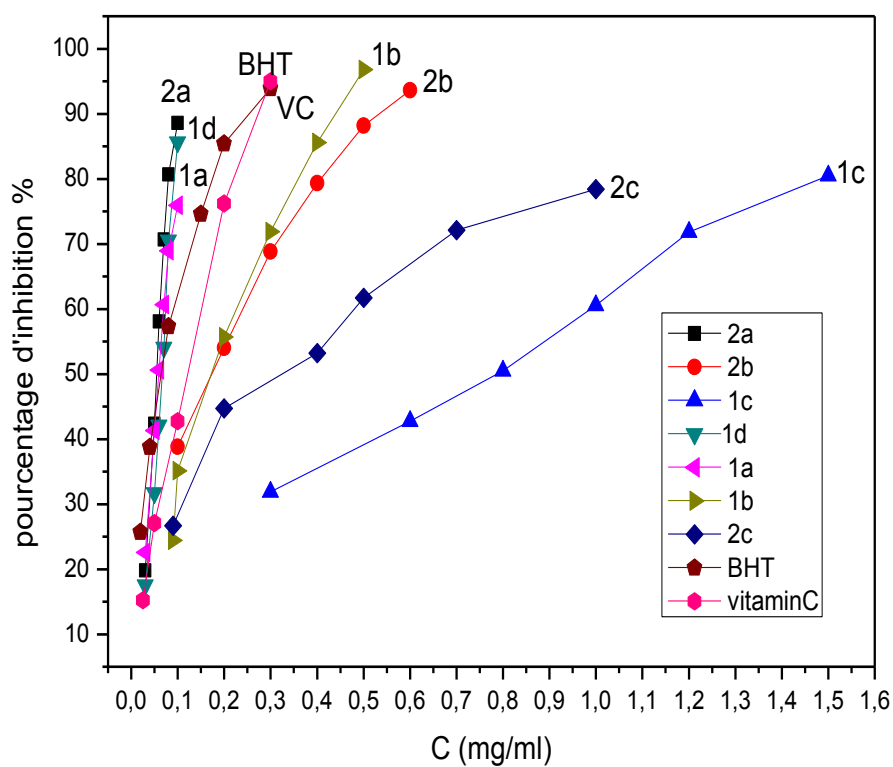


Fig. 45. Activité anti radicalaire des molécules synthétisés et des antioxydants standards (BHT et vitamine C) vis-à-vis du radical DPPH.

- **Interprétation les résultats de DPPH**

L'activité anti-radicalaire est très importante du au rôle délétère des radicaux libres dans le domaine alimentaire et dans les systèmes biologiques (Gulçin et al., 2010). La méthode du radical de DPPH, utilisée dans la présente étude, est une procédure commune dans laquelle l'activité antioxydants de l'échantillon étudié est estimée par le degré de décoloration de la solution de DPPH. Ce chromogène violet est facile à utiliser, à une grande sensibilité, permet l'analyse rapide de l'activité antioxydants d'un grand nombre d'échantillons et donne des résultats reproductibles [154]

L'activité antioxydants des α -aminophosphonates synthétisés et de l'antioxydant standard (acide ascorbique, BHT) vis-à-vis du radical DPPH à été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires [155].

L'activité anti radicalaire de nos produits est exprimée en CI_{50} (**Fig. 46**). Pour chaque molécule la CI_{50} est déduite de la droite d'étalonnage correspondante. Comme figurant dans la figure ci-dessus. Les résultats du pouvoir antioxydant des notre produits testés montrent une activité antioxydants très élevée et comparable avec les antioxydants standard.

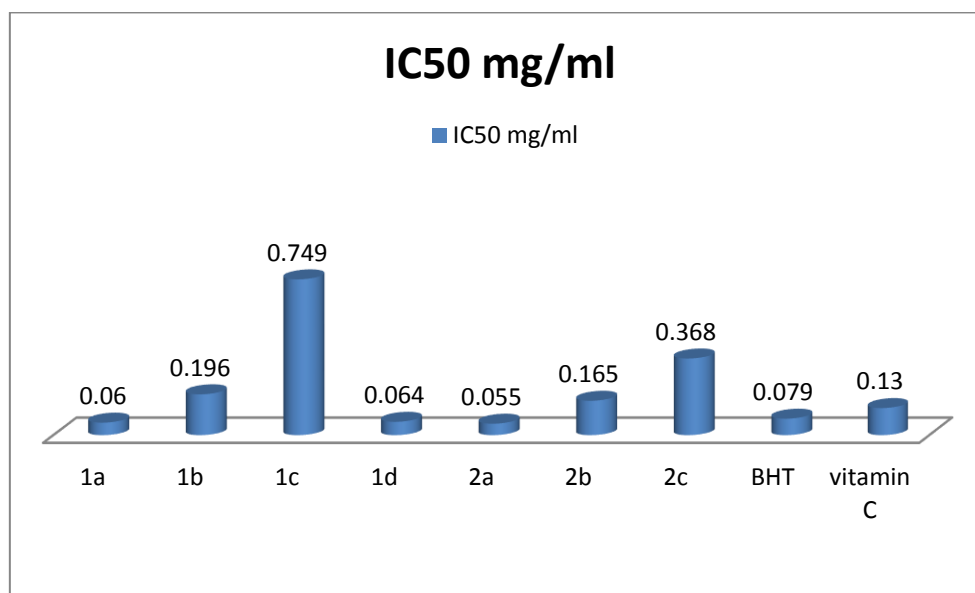


Fig. 46. CI_{50} de l'activité anti-radicalaire DPPH de chaque molécules ainsi les Les antioxydants standards

Parmi les sept molécules 2a, 1a et 1d représente les molécules les plus actives avec une CI_{50} de l'ordre de 0.055, 0.06 et 0.064 mg/ml respectivement qui ont un effet anti radicalaire maximal et supérieure que les antioxydants standard BHT et la vitamine C qui montre un effet inférieur avec une CI_{50} de 0.079 et 0.13 mg/ml respectivement, par contre les quatre autres molécules 1b, 1c, 2b et 2c montrés une activité anti-radicalaire puissante avec des IC_{50} de l'ordre de 0.196, 0.749, 0.165, et 0.368 mg/ml. En comparaison avec les antioxydants standards, l'activité anti radicalaire des molécules 1b, 1c, 2b, 2c reste inférieur à celle de BHT et la vitamine C.

Ces résultats suggèrent que les molécules α -aminophosphonates synthétisés sont des agents piègeurs de radicaux libres agissant comme antioxydants. L'action de ces antioxydants est supposée être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons. La figure 42 présente les profils de l'activité anti radicalaire.

IV.1.1.2. Pouvoir réducteur des molécules synthétisées

Le test sur le pouvoir réducteur met en avant la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron [156].

Ce test est découvert par Oyaizu 1896, est considéré comme un test direct et rapide dont est utilisé pour mesurer le pouvoir des antioxydants non enzymatiques, et utilisé pour déterminer l'activité antioxydant des molécules étudiées dans un milieu neutre. Ce test est basé sur la réduction des ions $[Fe(CN)_6]^{3-}$ à des ions de $[Fe(CN)_6]^{4-}$, qui peut être mesurer leur absorbance à une longueur d'onde $\lambda = 700$ nm. L'évolution de l'activité antioxydants de nos molécules est comparée par rapport à l'acide ascorbique (vitamine C) qui est utilisé comme un standard.

On prépare des solutions d'acide ascorbique (vitamine C) de concentration de 0.01 jusqu'à 0.1 g/l. 1 ml de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une pipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 2.5 ml d'une solution $K_3Fe(CN)_6$ (1%), 2.5 ml de solution tampon phosphaté (PH=6.6 C=0.2M). Les solutions ont été secouées immédiatement et bien mélangées, puis ils sont maintenus dans un bain marie pendant 30 minutes à une température de 50 °C. Ensuite, on ajoute 2.5 ml de l'acide trichloracétique (TCA 10%). On prend de chaque tube 2.5 ml et on introduit dans un autre tube à essai et on ajoute 2.5 ml de l'eau distillé, 0.5 ml de solution de $FeCl_3$ (0.1 %). L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 700 nm contre un blanc. Les lectures de la densité optique à 700 nm, des

solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Vitamine C) [157].

Pour évaluer l'activité réductrice de nos molécules nous avons procédé la même méthode que celui de la vitamine C, Différents concentrations des composés synthétisés (1 ml) sont mélangés avec 2.5 ml de d'un tampon phosphate (pH 6.6) et 2.5 ml de 1% de ferricyanure de potassium. Le mélange est incubé à 50 °C pendant 30 min. Après refroidissement, on ajoute 2.5 ml de l'acide trichloracétique (TCA 10%). On prend de chaque tube 2.5 ml et on introduit dans un tube à essai et on ajoute 2.5 ml d'eau distillé, 0.5 ml de solution de FeCl_3 (0,1% dans H_2O). apres centrifugation les absorbances sont mesurées à 700 nm.



Fig. 47. Présentation photographique de réduction de Fer en présence de nos molécules

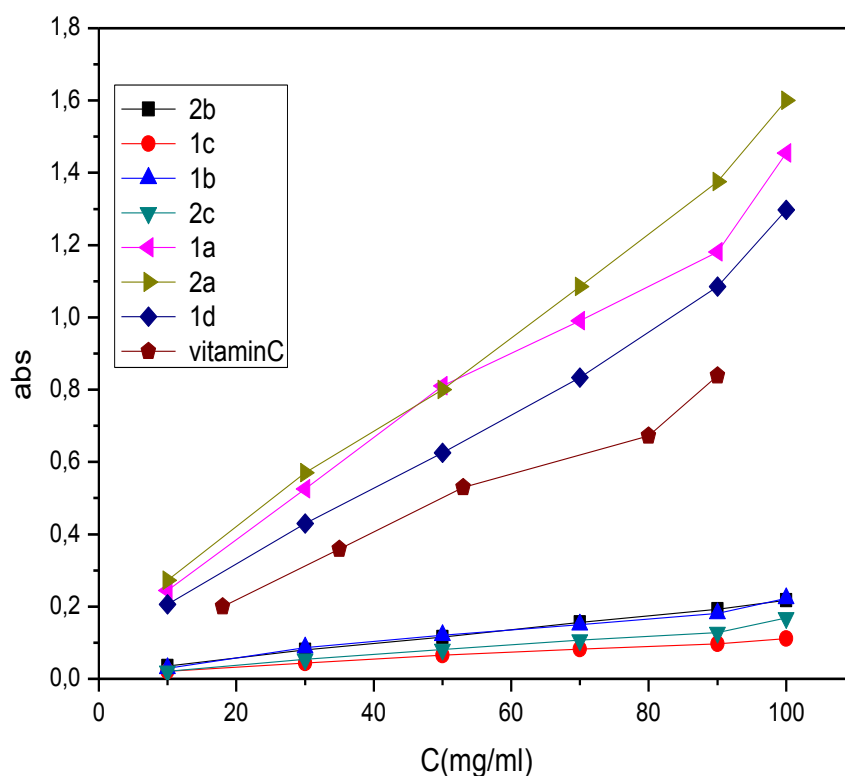


Fig. 48. Représentation des résultats obtenus de l'activité réductrice des différent molécules synthétisés vis-à-vis la vitamine C

- **Interprétation les résultats d'activité réductrice**

Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu [140]. La capacité de donation d'électrons dans une réaction d'oxydoréduction peut être aussi utilisée dans la mesure de l'activité antioxydants d'un composé. Cette capacité de donation d'électrons est appelée pouvoir réducteur. Le pouvoir réducteur des composés d' α -aminophosphonates sont mesurés dans cette étude par la réduction directe de $\text{Fe}^{3+}(\text{CN}^-)_6$ en une forme ferreuse $\text{Fe}^{2+}(\text{CN}^-)_6$ qui est déterminée par la détection spectrophotométrique du complexe $(\text{Fe}^{3+})_4[\text{Fe}^{2+}(\text{CN}^-)_6]_3$ ayant une forte absorption à 700 nm [158]. La couleur jaune du milieu réactionnel change en vert dont l'intensité est en fonction du pouvoir réducteur de l'échantillon étudié [159]. Les valeurs obtenus dans ce test montrent que les composés testés possèdent de très fortes capacités réductrices bien qu'elles sont supérieures à celle de vitamine C pour les molécules 1a, 2a et 1d. Cela démontre leur propriété de donation d'électrons et par conséquent leur capacité de neutraliser les radicaux libres. L'effet antioxydants des molécules

synthétisés sont statistiquement similaires dans les deux tests, la méthode de DPPH ainsi que dans le test du pouvoir réducteur.

La Figure 48 nous donne une idée sur l'efficacité de nos produit a des différents substitutions pour réduire les ions Ferriques (Fe^{3+}) en Ferreux (Fe^{2+}). Cette réduction est fortement liée aux concentrations de ces molécules.

Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydants potentielle. [160, 161]

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des α -aminophosphonates testés [162].

1.3. Détermination l'activité antioxydants par la voltamétrie cyclique

La voltammétrie cyclique (VC) consiste faire varier linéairement le potentiel de l'électrode de travail au cours du temps en effectuant des allers-retours entre deux valeurs limites. Pendant ce balayage, le potentiostat mesure le courant résultant des réactions électrochimiques qui se produisent à la surface de l'électrode de travail. On obtient alors un voltammogramme cyclique, qui représente la réponse en courant en fonction du potentiel appliqué.

Nous appliquerons, dans un premier temps, cette méthode à l'étude du comportement électrochimique de radicale $O_2^{\cdot-}$ et étude le comportement électrochimique des composés synthétisés avec ce radicale.

a) L'équipement

a-1) Matériels utilisés

Potionstat-galvano-stat PGZ301 modèle voltalab 40 piloté par un logiciel de travail volta-master 4 de l'analytique radiomètre, une cellule électrochimique de volume 10 ml qui contient les électrodes:

1-électrode de travail ou s'effectué la réaction (red-ox), est une microélectrode de carbone vitreux de diamètre de 3 mm attaché à une tige, lavé par l'acétone et nettoyé par papier abrasif avant chaque enregistrement.

2-électrode auxiliaire est une électrode de platine.

3-électrode de référence c'est une électrode de calomel saturé de KCl (E_{ECS}).

a-2) Le milieu utilisé

DMF est utilisé pour trois raisons principales:

- a- Pour leur constant diélectrique élevé qui permette de dissoudre plusieurs électrolytes supports.
- b- stabilité du radical d' $O_2^{\cdot-}$ dans le milieu DMF.
- c- Une très bonne réponse électrochimique avec les molécules synthétisées.

TBuNPF₆ (C₁₆H₃₆F₆NP) utilisé comme électrolyte support a une concentration de 0.1M.

Le barbotage d'azote assure la désoxygénation.

Avant de commencer nous avons adapté les conditions opératoires (le domaine de potentiel et la vitesse de balayage).

La voltamogramme de l'électrolyte support TBuNPF₆ (0.1M) dans le DMF déshydraté sur le carbone vitreux, après un traitement de la surface de l'électrode suivant le protocole définit (polissage, nettoyage chimique) ne présente pas de réduction dans le domaine de potentiel accessible [163].

a-3) La méthode

a-3-1) Voltamètre cyclique sans oxygène

Avant de commencer l'étude sur nos molécules et après le barbotage avec l'azote pendant 10 min dans un système fermé. Nous avons précisé le domaine d'électro activité d'électrolyte support [1400, -1400mv] avec une vitesse de balayage 100 mv/s et nous avons obtenu le voltamogramme suivant:

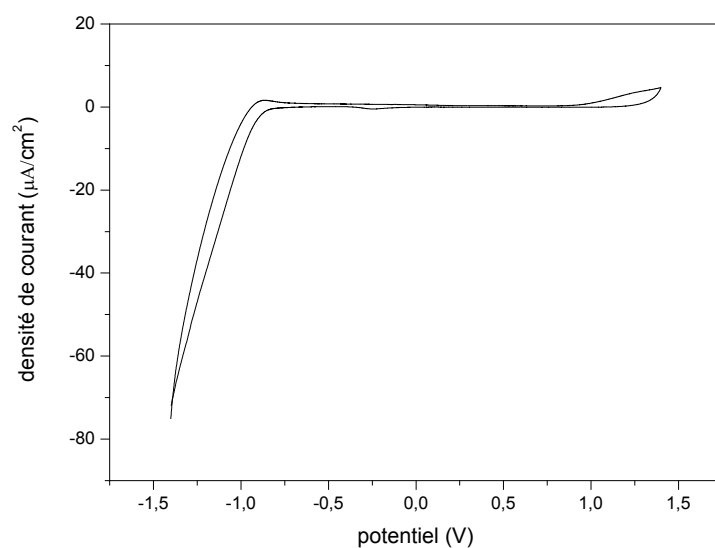


Fig. 49. Voltamogramme de l'électrolyte supporte dans le milieu

DMF/TBuNPF₆ à une concentration 0.1M Avec une vitesse de 100 mV/s

a-3-2) Voltamogramme cyclique d'oxygène Système O₂/O₂⁻

On fait dissoudre une quantité d'électrolyte support TBuNPF₆ pour l'obtention de concentration 0,1 M dans un 10 ml de DMF sec. Puis la solution préparé a été soumis au barbotage par l'oxygène pendant 15 min [164]. La voltamogramme cyclique de réduction d'oxygène est enregistrée dans le domaine de balayage [0, -1400mv] à une vitesse de 100mv/s et nous avons obtenu le voltamogramme présenté dans la figure **50**.

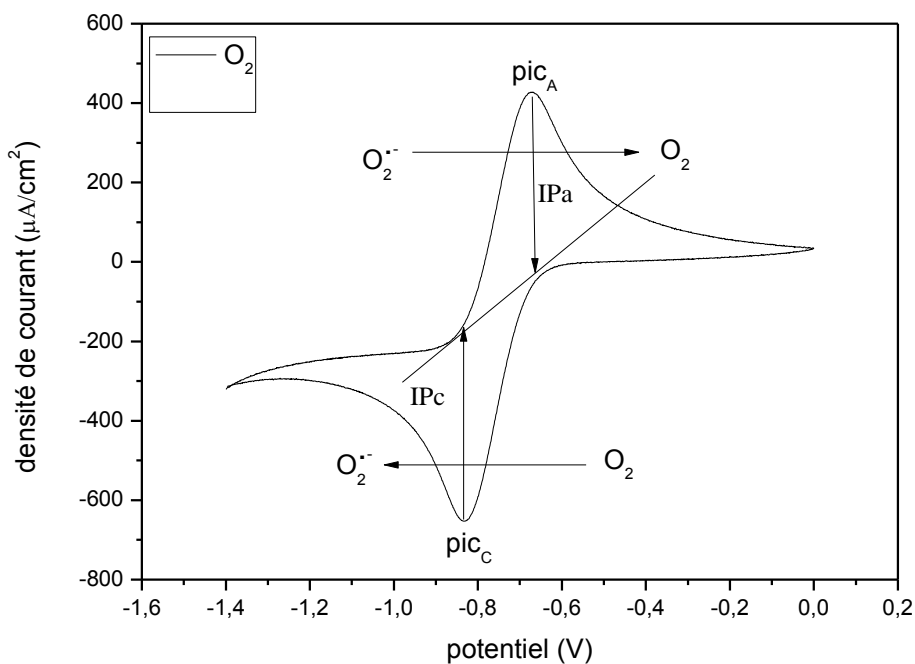


Fig. 50. Voltamogramme de l'oxygène dans le milieu DMF/TBuNPF6 à une concentration 0.1M Avec une vitesse de 100 mV/s

a-3-3) Voltamogramme cyclique d'oxygène en présence des molécules synthétisées

Après l'enregistrement de voltamogramme de l'oxygène, on ajoute une quantité de 2 mg de chaque molécule synthétisée à 10 ml de solution (DMF+électrolyte support), puis on enregistre le voltamogramme cyclique à une vitesse de balayage 100mV/s. et nous avons obtenue les voltamogrammes cyclique suivants:

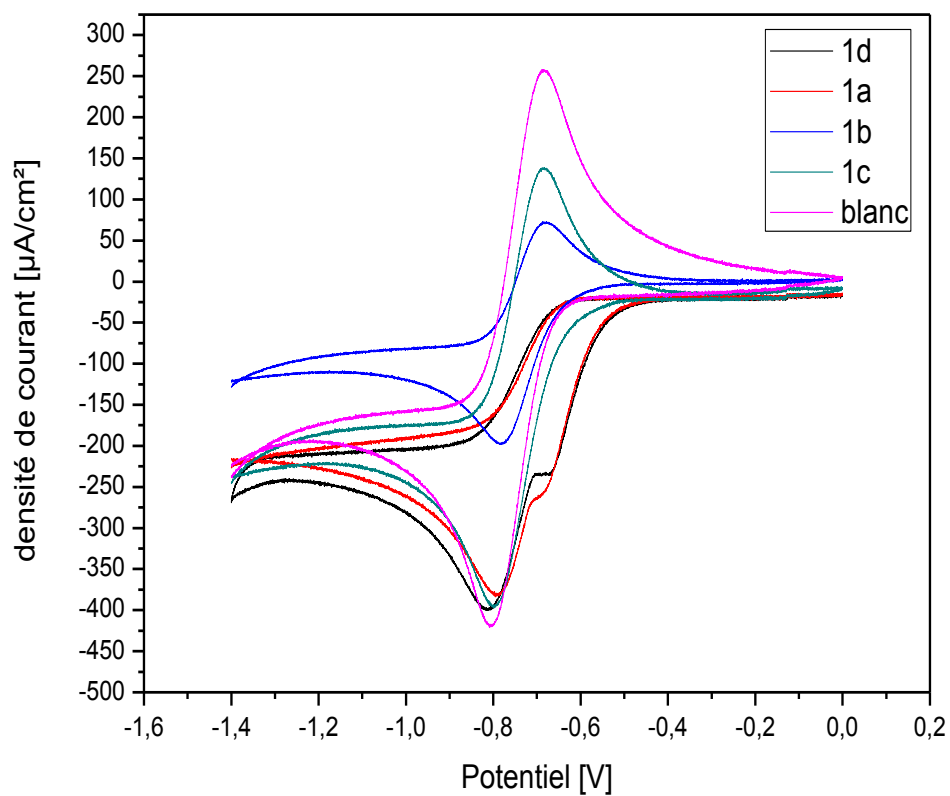


Fig. 51. Voltammogrammes de réduction d' O_2 en présence des molécules de catégorie **1**

dans le milieu DFM/ TBuNPF_6 avec une vitesse de balayage 100 mV/s

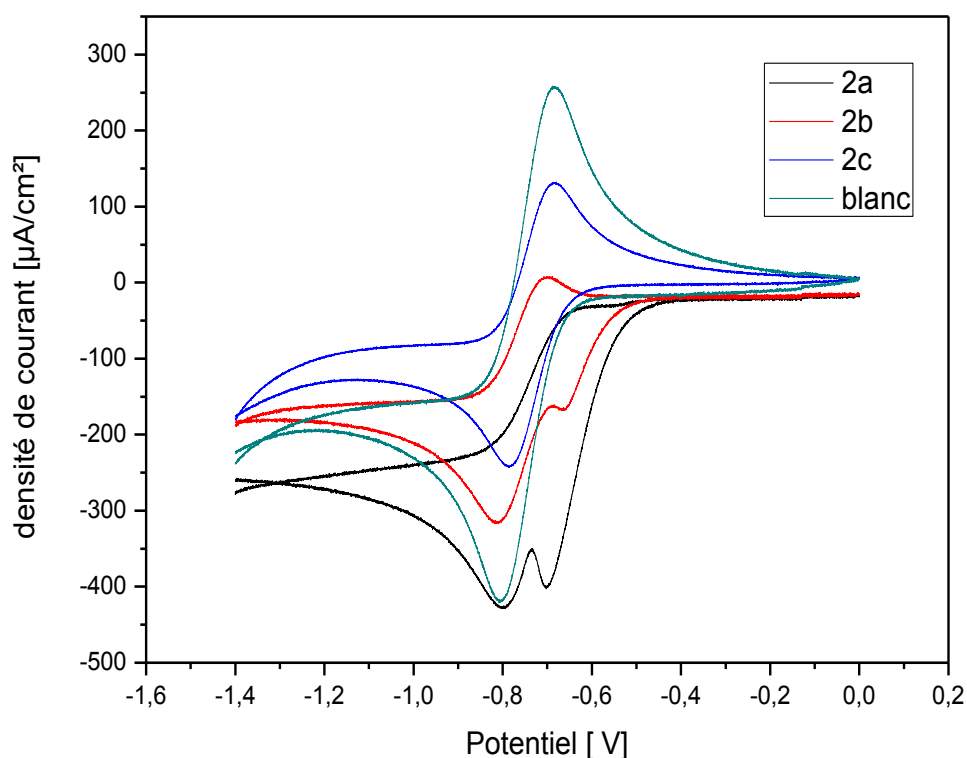


Fig. 52. Voltammogrammes de réduction d' O_2 en présence des molécules de catégorie 2

Dans le milieu DMF/TBuNPF₆ avec une vitesse de balayage 100 Mv/s

- **Interprétation des résultats de l'activité antioxydants par voie électrochimique**

La technique de voltampérométrie cyclique [165] est utilisée pour générer le radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$ dans la couche de diffusion de l'électrode de carbone vitreux par la réduction à un électron de l'oxygène dans le DMF (**Fig. 50** pic C). La présence de $O_2^{\cdot-}$ est facilement détectée par son oxydation anodique actuelle mesurée à l'électrode au cours du même revers scan (pic **Fig. 50** pic a). La réduction d' O_2 est une réaction réversible et il est connu que le radical $O_2^{\cdot-}$ est stable en milieu aprotique comme le DMF sec [166,167].

Dans le développement de la procédure, le CV a été tout d'abord en l'absence de substrat pour déterminer la valeur actuelle I_{pa0} que le pic de courant anodique de l'oxydation de $O_2^{\cdot-}$ (**Fig 50**)

I_{pa0} est directement liée à concentration à $O_2^{\cdot-}$ dans la surface de l'électrode et dépend de la solubilité de O_2 dans le DMF et le paramètre expérimental choisi d'enregistrer le CV.

Le voltamogramme cyclique de la réduction de O_2 a été enregistrée en présence des produits synthétisés en vue d'évaluer la capacité antioxydant de la molécule à la recherche lors de sa réactivité envers $O_2^{\cdot-}$. L'ajout des substances antioxydants conduit à une diminution $O_2^{\cdot-}$ anodique (Ipa), tandis que l'intensité du courant cathodique O_2 n'est pas significativement modifiée comme indiqué dans la (Fig. 51, 52).

La diminution du pic de courant anodique de $O_2^{\cdot-}$ suggère que les molécules réagissent de manière réversible avec $O_2^{\cdot-}$. Tous les substrats antioxydants ont démontré un effet similaire sur la réduction d' O_2 . Les composés α -aminophosphonates étudiés ont des grandes activités antioxydantes (inhibition de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$) cela est dû à leur pouvoir de libérer un ou deux électrons.

IV.1.1.4. Activité anti-inflammatoires

Les composés synthétisés sont criblés pour l'activité anti-inflammatoire en utilisant la technique d'inhibition de la dénaturation de l'albumine qui a été étudiée selon Muzushima et Kabayashi [168] avec une légère modification. Le médicament standard et les composés synthétisés ont été dissous dans une quantité minimale de DMF et dilués avec une solution saline tampon phosphate (pH 7,4) de telle manière que la concentration de DMF dans toutes les solutions était inférieure à 2,5%. La solution des molécules (1 ml, 100, 200 et 500 mg / ml) a été mélangée avec 1 ml d'une solution d'albumine à 1% dans une solution saline tampon phosphate et incubée à 27 °C dans un incubateur pendant 15 minutes.

La dénaturation a été induite en maintenant le mélange réactionnel à 60 ± 1 °C dans un bain d'eau pendant 10 min. Après refroidissement, la turbidité a été mesurée à 660 nm avec un spectrophotomètre UV-vis. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation a été calculé à partir du témoin où aucun médicament n'a été ajouté. Chaque expérience a été faite en triple et la moyenne est prise. Le diclofénac a été utilisé comme médicament standard [169].

Le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant la formule:

$$\%d' inhibition de la denaturation = [(Vt/Vc) - 1] * 100$$

Sachant que, V_t présente l'absorption des composés synthétisés, V_c l'absorption de contrôle teste. Les résultats expérimentaux sont présentés dans la figure comme IC_{50} .

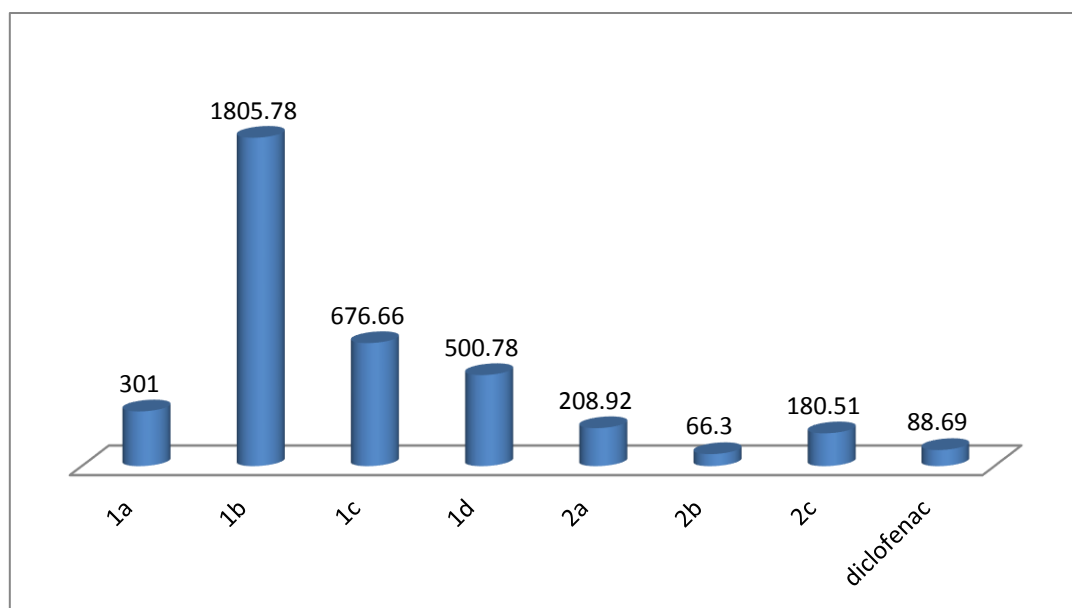


Fig. 53. Les valeurs IC₅₀ de l'activité anti-inflammatoires des molécules Synthétisées

- **Interprétation les résultats de l'activité anti-inflammatoires**

L'inflammation est un symptôme très fréquent de nombreuses maladies chroniques. Il s'agit d'une réponse protectrice normale à des lésions causées par les traumatismes physiques, les agents chimiques ou microbiens. L'inflammation est une tentative de protection par l'organisme d'éliminer les stimuli préjudiciables et de lancer le processus de guérison pour le tissu [170].

Une méthode de bio-essai de dénaturation de protéines simple et viable a été choisie pour évaluer son potentiel comme un anti-inflammatoire. Il est un fait bien connu que la dénaturation des protéines tissulaires conduit à des maladies inflammatoires et arthritiques [171]. Un Produit synthétisé qui peut empêcher une dénaturation des protéines, par conséquent, serait utile pour le développement de médicaments anti-inflammatoires.

L'activité anti-inflammatoire in vitro a été réalisée sur tous les composés synthétisés. L'absorption moléculaire du composé testé est mesurée à $\lambda = 660$ nm, les valeurs utilisées pour calculer le pourcentage d'inhibition de la dénaturation sont présentées dans **le tableau 7**.

Comparés à la norme, le diclofénac sodique et les composés testés ont montré une activité anti-inflammatoire acceptable. L'activité anti-inflammatoire in vitro des composés est résumée dans **le tableau 7**.

Tableau. 7.

Évaluation de l'activité anti-inflammatoire (in-vitro) des molécules synthétisées et diclofenac sodique, l'absorption moléculaire a été mesurée à $\lambda = 660$ nm

compounds	% inhibition of denaturation					
	100 μ g/ml	abs	200 μ g/ml	abs	500 μ g/ml	abs
1a	48.10	0.281	51.13	0.287	55.21	0.295
2a	42.10	0.269	50.73	0.286	68.94	0.320
1b	17.31	0.222	20.10	0.228	25.42	0.240
2b	52.11	0.289	62.35	0.308	86.41	0.354
1d	18.42	0.225	28.72	0.237	49.67	0.251
1c	29.84	0.246	35.93	0.260	44	0.273
2c	48.35	0.281	58.81	0.301	81.55	0.344
Diclofenac	51.31	0.290	63.09	0.309	97.71	0.375

Abs: absorbance

Les résultats ont révélé que l'activité anti-inflammatoire des dérivés phosphonates de la para-aminopyridine, catégorie 2, était significativement plus élevée que celle de la propylamine de catégorie 1, ce qui conduit à la conclusion que la présence de doubles liaisons conjuguées à cycle aromatique supplémentaires dans la structure moléculaire améliore significativement l'efficacité anti-inflammatoire des produits synthétisés.

La meilleure inhibition est illustrée par le composé 2b, alors que l'inhibition des molécules 1a, 2a et 2c est très proche de celle du diclofénac. Les valeurs IC_{50} de l'activité

anti-inflammatoire des molécules synthétisés et du diclofénac sont représentées dans la **Fig. 53**.

IV.1.1.5. Activité antibactérienne: test de diffusion sur l'agar

L'activité antibactérienne des molécules est évaluée par la technique de diffusion sur l'agar (méthode des disques) vis-à-vis de quatre souches bactériennes (à Gram-: *Escherichia coli* (ATCC-10239), *Pseudomonas marginalis* (MTCC-2758) et Gram +: *Staphylococcus aureus* (ATCC-11949), *Bacillus subtilis* (ATCC-10110)). Les souches bactériennes provenant du laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Saïd Ouamri, nous avons employées les milieux de cultures gélose Muller Hinton et gélose nutritive pour l'isolement et la conservation des bactéries. Les souches bactériennes ont été conservées dans des tubes stériles contenant 10 ml de la gélose nutritif à 5 °C.

Le principe de l'activité antibactérienne est comme de faire l'antibiogramme, il consiste à tester la sensibilité des souches bactériennes par la diffusion des molécules synthétisés sur le milieu gélosé (gélose Muller Hinton en surfusion a été coulé à raison de 75 ml dans une boîte à Pétri).

Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique à une turbidité équivalente à 0,5 McFarland. Un prélèvement à partir de cet inoculum sert àensemencer de nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu Muller Hinton par technique d'écouvillonnage. Des disques vierges de 6 mm de diamètre, stériles, sont chargés de 100, 200, 500µg/ml des solutions de DMSO de chaque molécule synthétisé et placés à la surface de ces boîtes. Les disques des contrôles négatifs sont imprégnés d'eau distillée et de DMSO. Des disques standards contenant l'antibiotique de référence (gentamycine, amoxiciline, ciprofloxacine) servent de contrôles positifs. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37 °C pendant 24h. Les résultats sont exprimés en diamètres des zones d'inhibition produites autour des disques (**tableau. 8**).

- **Interprétation les résultats de l'activité antibactérienne**

Les agents antimicrobiens détruisent les bactéries en s'attaquant directement à leurs structures essentielles (paroi cellulaire, ribosomes, membrane plasmique et ADN) et/ou en perturbant leurs métabolismes et par conséquent leurs fonctions [172].

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un composé à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des composés explique les variations de leurs structures chimiques.

Toutes les molécules ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées ce qui confirme que les molécules synthétisés sont douées de propriétés antimicrobiennes (**Fig. 54**).

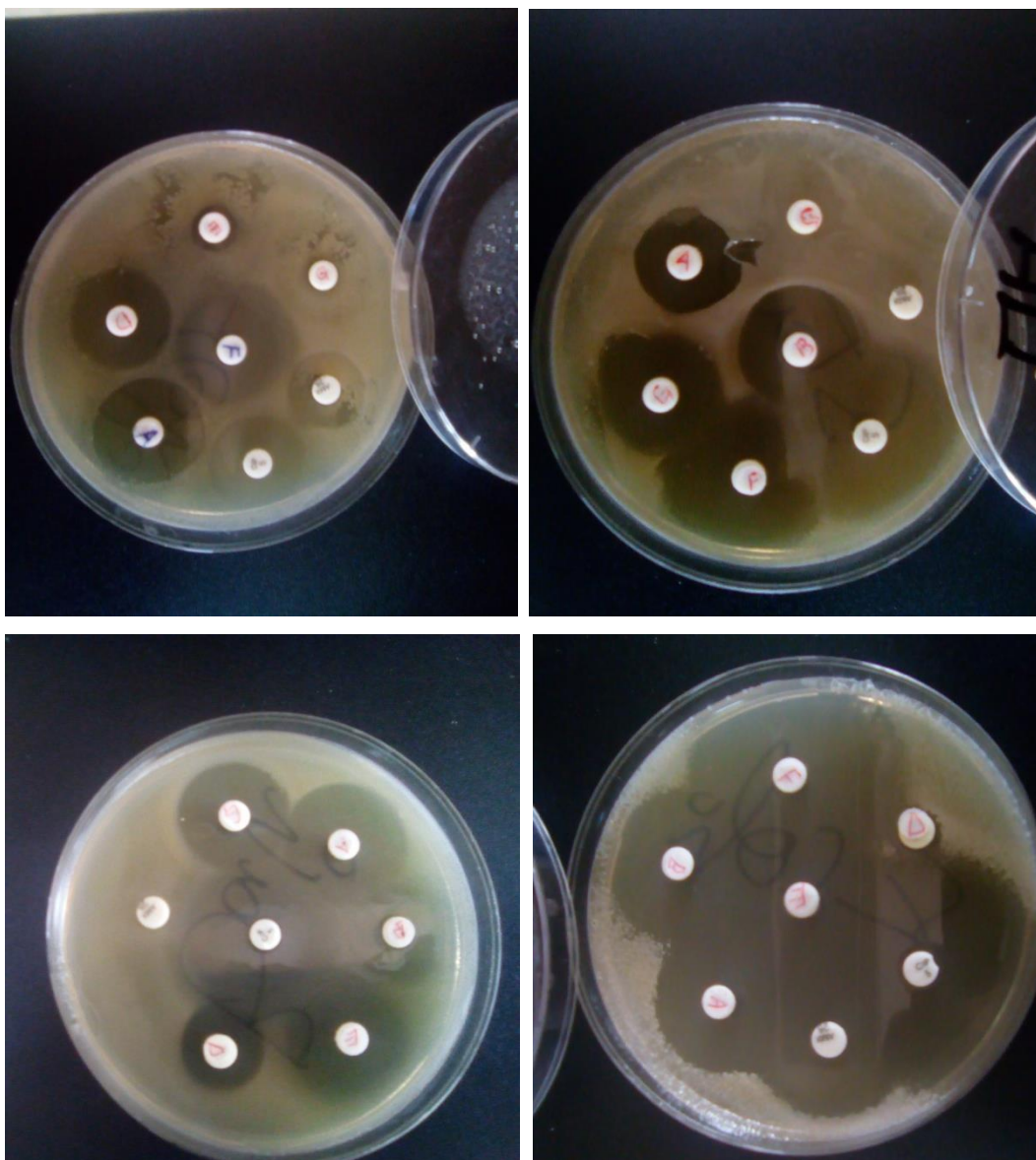


Fig. 54. Présentation photographique de l'activité antibactérienne de nos molécules

L'activité antibactérienne des composés synthétisés est testée vis-à-vis de quatre souches bactériennes via la méthode de diffusion sur l'agar. Les résultats révèlent que les molécules synthétisées exercent un effet antibactérien considérable sur tout genre des bactéries de gram positif et gram négatif, les résultats obtenus de l'activité biologique (zone d'inhibition (mm)) sont présentés dans le **Tableau 8**.

Tableau. 8. Diametres d'inhibition de l'activite antibacterienne des molecules synthetisees vis a vis les bacteries de Gram positif et Gram negatif

compound	Zone of inhibition (mm)											
	Escherichia coli (G ⁻)			Pseudomonas aeruginosa (G ⁻)			Bacillus subtilis (G ⁺)			Staphylococcus aureus (G ⁺)		
	μg/ml			μg/ml			μg/ml			μg/ml		
	100	200	500	100	200	500	100	200	500	100	200	500
1a	-	6	11	6	8	10	-	9	12	-	-	-
1b	10	12	13	10	12	16	9	12	15	-	-	-
1c	7	10	15	9	15	20	8	17	21	6	14	20
1d	-	7	10	-	9	11	6	11	14	-	10	12
2a	-	6	10	9	11	14	11	20	25	8	10	13
2b	8	10	12	-	-	-	9	13	18	10	15	18
2c	9	13	15	8	10	13	6	15	18	9	11	15
Gentamicine	25			20			33			-		
Ciprofloxacin	35			26			35			35		
amoxiciline	-			13			15			-		

(-) resistance

La molécule **1a** possède un effet inhibiteur de la croissance bactérienne contre les bactéries testées. Mais reste inactive contre staphylocoques, E. Coli et bacillus a une concentration de 100 µg/ml. De même, pour les molécules **1d** et **2a** montre une activité puissante contre toutes les souches bactérienne, mais cette activité disparaît avec la concentration de 100 µg/ml dans le cas de E. Coli, pseudomonas et staphylocoques. **1c** et **2c** sont actif sur toutes les souches bactériennes même avec les concentrations minimales.

Le compose **1b** s'est révélé inactif sur les souches de staphylocoques et de même pour le compose **2b** est sans action sur les souches P. aeruginosa quelque soit la dose.

Le non activité de quelques molécules contre les souches bactériennes due aux bactéries qui devenir résistantes aux antibiotiques via différents mécanismes. Elles peuvent acquérir des gènes codant des enzymes, telles que les β -lactamases, qui détruisent l'agent antibactérien avant qu'il produit un effet. En plus, elles peuvent acquérir des pompes d'efflux qui extrudent l'agent antibactérien de la cellule avant qu'il n'atteigne le site de sa cible. Par ailleurs, les bactéries peuvent acquérir plusieurs gènes pour une voie métabolique qui aboutit à la production de parois cellulaires altérées ne contenant plus de sites de fixation des agents antimicrobiens, ou encore acquérir des mutations qui limitent l'accès des agents antimicrobiens aux sites intracellulaires des cibles via la régulation négative des gènes codant les porines. Finalement, la résistance peut être acquise via l'échange génétique entre les bactéries, voire, la transformation (incorporation de segments d'ADN libérés dans le milieu extérieur par une autre bactérie après la lyse cellulaire), la conjugaison (échange des gènes de résistance entre deux bactéries via le contact physique) ou la transduction (transfert des gènes de résistance entre les bactéries via les bactériophages) [173].

IV.1.1.5. Essai de toxicité érythrocytaire des produits synthétisé ainsi l'évaluation de l'activité hémolytique

L'analyse d'activités hémolytique des produits synthétisés a été conduite comme décrit par le protocole expérimental rencontré dans les travaux de Lee, powers, et Baney (2004) [174]. A été faite dans des expériences relatives à la membrane des globules rouges humains.

1. Préparation de la solution de buffer phosphate saline

Nous avons préparé une solution tampon phosphate saline (PBS) à pH = 7,4 par l'utilisation des composés suivants avec les concentrations qui correspondent: NaCl (8.311

g), KCl (10 ml 0.0027M), Na₂HPO₄ (100 ml Na₂HPO₄ 0,05 M), KH₂PO₄ (20 ml de KH₂PO₄ 0,05 M pour 1000 mL) [175].

2. Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang est prélevé dans un tube héparine à partir d'un donneur sain. Puis il est centrifugé à 2800 tr / min durant 15 min.

Le plasma (surnageant) est éliminé et le culot a été lavé par le PBS (solution buffer phosphate saline) et centrifugé, la solution a été éliminé et lavé pour la 2^{ème} fois.

Le culot, ainsi obtenu, est resolubilisé à nouveau par le même volume de plasma éliminé.

La suspension des globules rouge ainsi obtenue est diluée 20 fois par la solution de buffer phosphate saline.

3. Préparation des échantillons des molécules synthétisées

Des différentes concentrations des composés synthétisés sont préparées dans du PBS. Les concentrations initiales préparées sont (50mg/ml, 100mg/ml, 150mg/ml et 200mg/ml)

- ✓ Mettre dans des tubes à hémolyse 2970µl de la suspension des globules rouge préparé avec 30µl de l'extrait à différentes concentrations initiales (50mg/ml, 100mg/ml, 150mg/ml et 200mg/ml). Les concentrations finales après ajout du PBS seraient (0,5mg/ml, 1mg/ml, 1,5mg/ml et 2mg/ml).
- ✓ Incuber les tubes dans l'incubateur agitateur à 37 °C durant 60 min.
- ✓ Prélever 500 µl chaque 15 min durant 120 min (0, 30,60 et 120 min)
- ✓ Ajouter 1,5 ml de solution de buffer phosphate saline.
- ✓ Mélanger les tubes délicatement.
- ✓ Mettre le tube dans un bain glaçon pour Arrêter la réaction.
- ✓ On Centrifuger les tubes pendant 15min à 2800 tr / min.
- ✓ Mesure de l'absorbance (la fuite d'hémoglobine) de chaque tube se fait par spectrophotomètre UV-Visible double faisceau contre un blanc contenant le buffer phosphate saline à une longueur d'onde $\lambda = 545\text{nm}$.

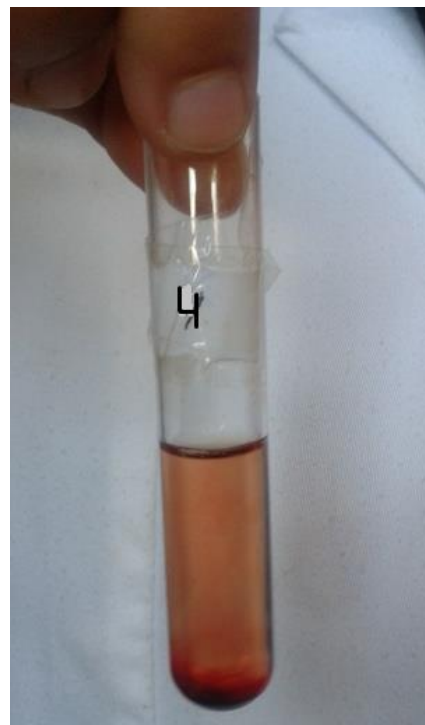
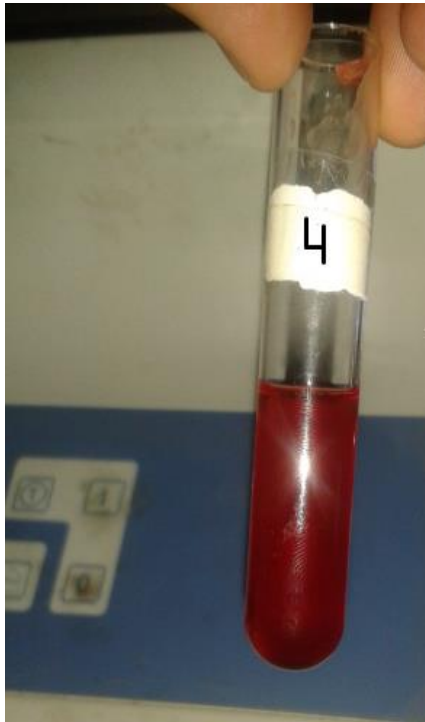
D'autre tube teste négatif est préparé dans les mêmes conditions expérimentales qui contient 500 µl de suspension de globule rouge et 1500 µl de solution tampon de buffer phosphate saline en absence des molécules synthétisées.

Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, nous avons préparé un tube totalement hémolysé qui contient 250 μ l de la suspension érythrocytaire et 4750 μ l d'eau distillé, en absence des molécules synthétisées.

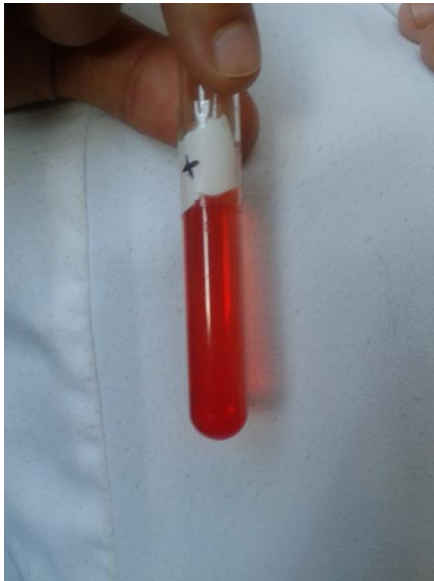
Le taux d'hémolyse de différentes molécules est calculé en pourcentage (%) par rapport à l'hémolyse totale, après 120 min d'incubation, selon la formule suivante:

$$\% \text{ d'hemolyse} = (At - Acn) / (Acp - Acn) * 100 \quad (2)$$

Où At, Anc et Apc sont l'absorbance de l'échantillon, le contrôle négatif et le contrôle positif, respectivement. Les expériences ont été répétées deux fois.



(A) Avant centrifugation (phosphonate)



(B) après centrifugation (phosphonate)



(C) teste positif avant centrifugation



(D) teste positif après centrifugation



(E) teste négatif avant centrifugation

(F) teste négatif après centrifugation

Fig. 55. Présentation photographique des tubes d'hémolyse en présence de nos molécules
Ainsi les tubes de témoin négatif et positif

- **Interprétation les résultats d'hémolyse**

L'hémolyse du sang est un problème important associé à la biocompatibilité des matériaux. Les globules rouges (RBC) sont hémolysés lors de leur contact avec l'eau. Dans érythrocytes in vitro l'hémolyse induite est considérée comme une mesure simple et fiable pour l'estimation de la compatibilité sanguine des matériaux. Dans ce travail, hémolyse a été utilisé pour évaluer la biocompatibilité des aminophosphonates synthétisées et aussi on peut utilise ce teste pour déterminer en premier lieu la toxicité de la substance ainsi que la marge thérapeutique, c'est-à-dire le rapport entre la dose active et la dose toxique, c'est une étape indispensable à l'utilisation de toutes substances à des fins thérapeutiques.

Les figures ci-dessous présentent l'évolution de l'effet hémolytique, en pourcentage durant 120 min, dans un milieu tampon buffer phosphate saline (pH 7.4) contenant une suspension érythrocytaire, incubée à 37 °C, et en présence des différentes concentrations des molécules synthétisées (0,5mg/ml, 1mg/ml, 1,5mg/ml et 2mg/ml), comparée à un tube teste négatif (tube contenant que de buffer phosphate saline et la suspension érythrocytaire), et un tube d'hémolyse total provoqué par l'eau distillée.

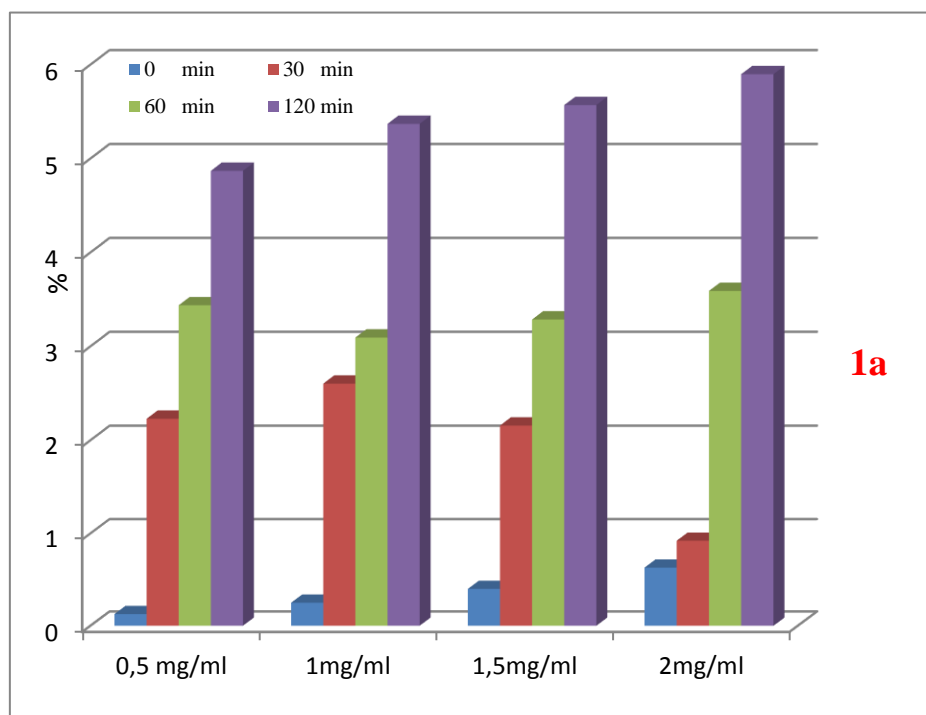


Fig. 56. Évolution de taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécule **1a** incubé à 37 °C durant 120 min

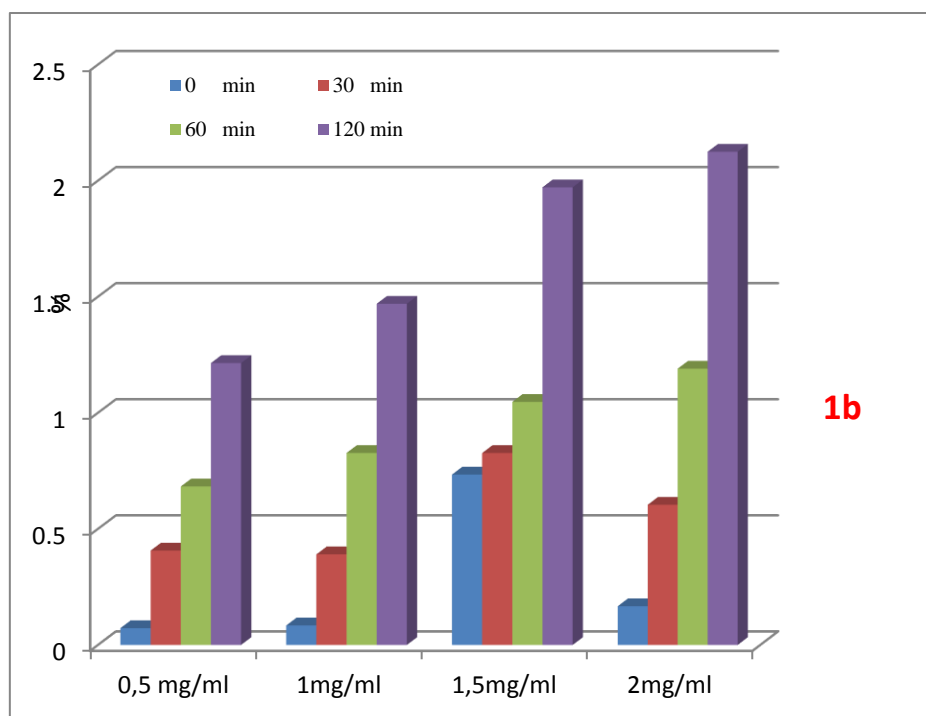


Fig. 57. Évolution de taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécule **1b** incubé à 37 °C durant 120 min

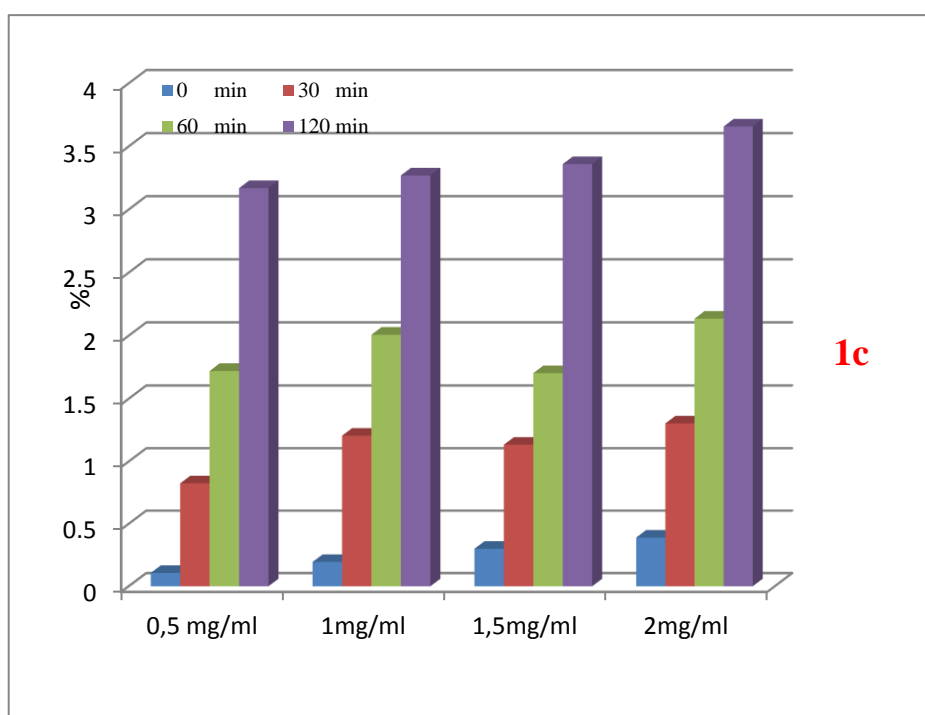


Fig. 58. Évolution de taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécule **1c** incubé à 37 °C durant 120 min

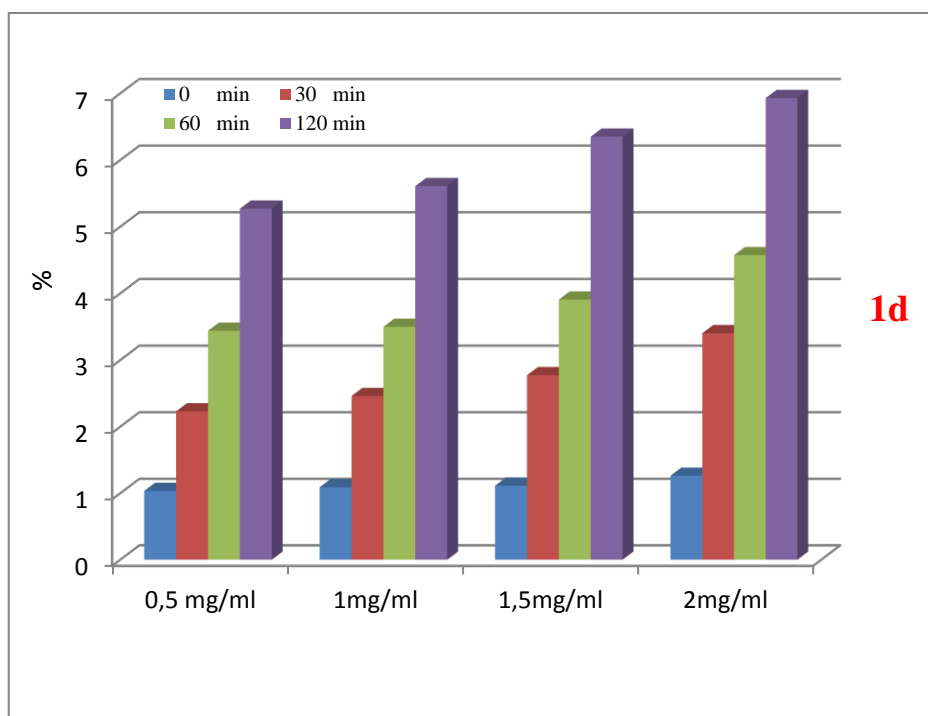


Fig. 59. Évolution de taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécule **1d** incubé à 37 °C durant 120 min

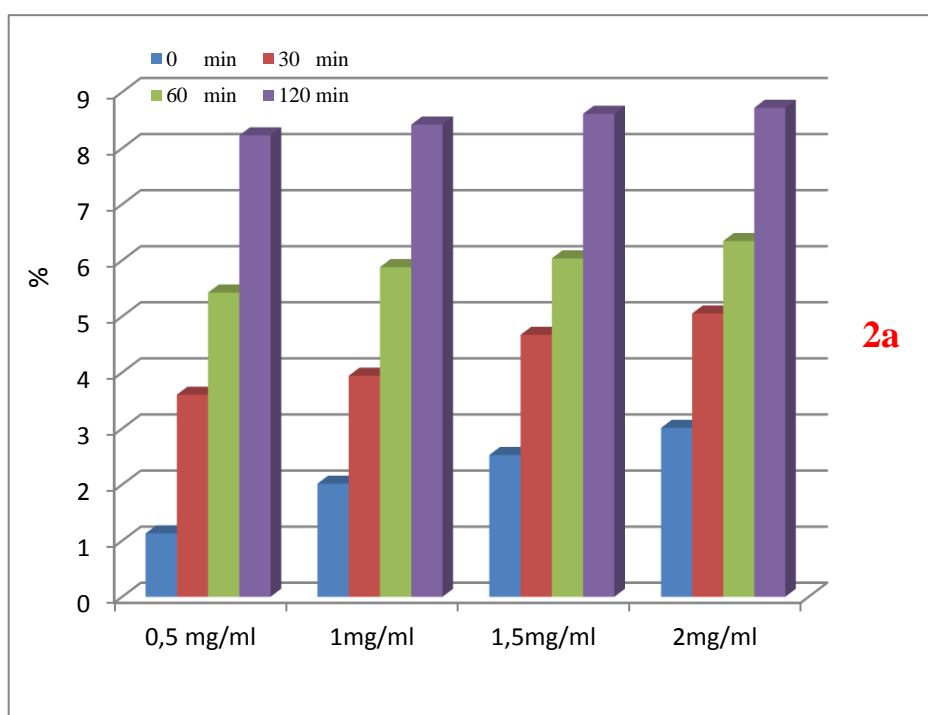


Fig. 60. Évolution de taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécule **2a** incubé à 37 °C durant 120 min

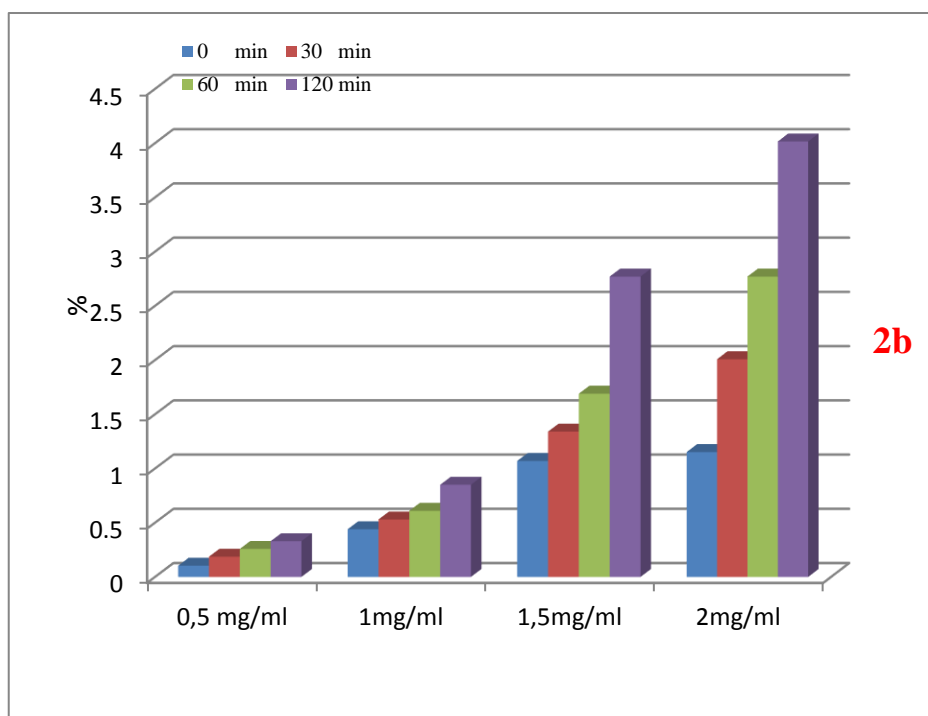


Fig. 61. Évolution de taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécule **1b** incubé à 37 °C durant 120 min

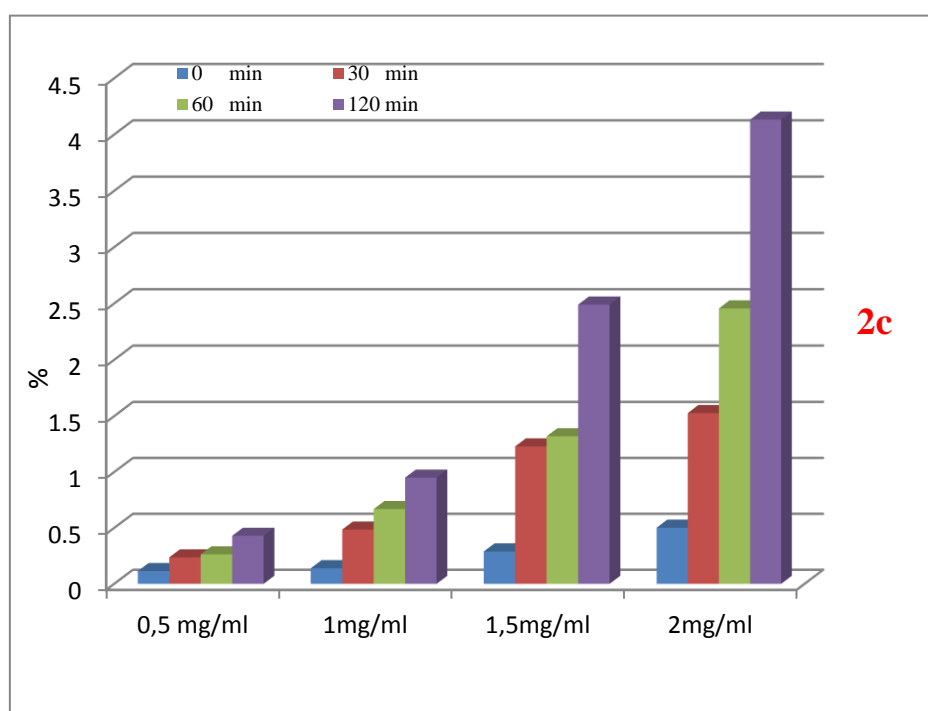


Fig. 62. Évolution de taux d'hémolyse dans les tubes contient une suspension érythrocytaire en présence de molécules **2c** incubé à 37 °C durant 120 min

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré des augmentations des absorbances (taux d'hémolyse) des molécules synthétisées avec différentes concentrations durant les 120 min d'incubation des érythrocytes isolés dans le buffer phosphate saline (pH 7,4).

De même, nous avons noté que les absorbances augmentent aussi en fonction des concentrations, mais elles ne dépassent pas une valeur de 0,90 pour une concentration finale de 2mg/ml à 120 min d'incubation. Cette valeur est largement inférieure par rapport à l'absorbance de tube d'hémolyse total, qui dépasse 1,46 à 120 min dans les mêmes conditions.

D'après les résultats présentés dans la figure ci-dessus, nous avons noté des taux d'hémolyses très bas pour les composés 1b, 1c, 2b, et 2c qui présente un taux d'hémolyse d'ordre 2.12%, 3.6%, 4.01 % et 4.13%, par rapport à l'hémolyse total pour une concentration de 2 mg/ml, respectivement. Ce taux est moyennement élevé est dépassé 5% dans le cas des composés 1a,1d et 2a: 5.8%, 6.9% et 8.7% respectivement à une concentration de 2mg/ml, mais reste toujours inférieur au témoin positif (hémolyse totale). Les globules rouges ont été choisis comme modèle en biologie cellulaire et moléculaire pour l'étude de la cytotoxicité in vitro à cause de leurs facilités d'isolement et leurs simplicités. Ils sont un outil précieux pour l'étude des transports ioniques transmembranaire via la membrane érythrocytaire [176].

Les résultats de l'effet hémolytique des α -aminophosphonates synthétisés, ont montré que ces molécules présentent un effet toxique très faible face aux érythrocytes isolés, avec un taux d'hémolyse qui ne dépasse pas le 9% à une concentration de 2 mg/ml pendant 120 min par rapport à l'hémolyse totale.

D'après les tests biologiques, réalisés in vitro, sur des érythrocytes isolés du sang humain, incubés dans un milieu tampon buffer phosphate saline (pH 7,4), à la présence des différentes concentrations des molécules synthétisés, nous avons constaté que ces molécules sont très faiblement toxique. Ils peuvent être une source très importante dans les domaines thérapeutiques et pharmacologiques pour soulager les différentes maladies.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche et la valorisation des nouvelles substances d'intérêt bio-pharmacologique à base des phosphonates. L'objectif principal est atteint, une série des molécules a été synthétisée, et soumis à l'évaluation d'aspect bioactives pharmaceutique.

- Les α -aminophosphonates de type phosphonates et acides phosphoniques ont été synthétisés en appliquant la réaction à trois composants: une amine, un aldéhyde et un phosphite:

- ✚ Les produits bruts ont été purifiés sur colonne chromatographique en obtenant des solides de couleur et de points de fusion différents.
- ✚ La spectrophotométrie UV-VIS a permis de différencier et de confirmer l'obtention de nouveaux produits par la disparition des bandes d'absorption caractéristiques des spectres des produits de départ et l'apparition de nouvelles bandes sur les spectres des produits synthétisés.
- ✚ La spectrométrie infra rouge FT-IR a démontré d'une part la disparition des pics amines et aldéhydes caractérisant les spectres de vibration des réactifs et d'autre part l'apparition de nouveaux pics caractérisant les groupements fonctionnels (P=O, P-OH, P-C, N-C,...etc.).
- ✚ La spectrométrie de résonance magnétique nucléaire, RMN de ^1H , ^{13}C et ^{31}P a confirmé Les structure proposées pour les molécules synthétisées. Les résultats d'analyse élémentaire : C, N, H et S sont en très bon accords avec ceux de la spectroscopie.

- La bioactivité des molécules synthétisées a été démontré via l'étude in vitro des activités antioxydants, antibactérienne, anti-inflammatoire et hémolytique:

Trois méthodes ont été appliquées pour la mise en évidence de l'activité antioxydante: la capacité de piégeage de radical DPPH \bullet , le pouvoir réducteur de fer et la voltamétrie cyclique.

- ↪ Le piégeage du radical libre DPPH \bullet montre que les molécules synthétisées sont des antioxydants puissants et que l'activité antioxydante des molécules **1a**, **1d**, et **2a** est supérieure à celle de la vitamine C et le BHT. Cela a été démontré par comparaison des **IC₅₀** des différentes molécules testées.

- ↪ L'étude du pouvoir réducteur du fer indique que la capacité des molécules synthétisées à réduire Fe est supérieure à celle de la vitamine C et de la BHT confirmant ainsi les résultats de DPPH•.
- ↪ La méthode électrochimique menée par la voltamétrie cyclique montre que l'activité antioxydante des molécules synthétisées est plus forte que celle de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$.

.Les résultats de trois méthodes se convergent et se confirment l'une par l'autre

- l'évaluation de l'activité antimicrobienne est effectuée sur quatre souches bactériennes: *Escherichia coli* (ATCC-10239), *Pseudomonas marginalis* (MTCC-2758), *Staphylococcus aureus* (ATCC-11949) et *Bacillus subtilis* (ATCC-10110), montre que les molécules synthétisées possèdent des propriétés inhibitrices contre la majorité des souches bactériennes testées meilleures que celles des précurseurs choisis et que l'inhibition de la croissance dépend de l'espèce bactérienne, de la nature et de la concentration des molécules testées.
- l'activité anti-inflammatoire des acides phosphoniques dérivés du p-aminopyridine, **catégorie 2**, est significativement plus élevée que celle des phosphonates dérivés de propylamine, **catégorie 1**, ceci indique que la présence de doubles liaisons conjuguées du cycle aromatique supplémentaire dans la structure moléculaire, améliore significativement l'efficacité anti-inflammatoire.
- Pour clôturer ce travail nous avons évalué la toxicité de nos molécules sur la membrane des globules rouges.

Les tests biologiques, réalisés in vitro, sur des érythrocytes isolés du sang humain, incubés dans un milieu tampon PBS (pH 7,4), en présence des différentes concentrations des molécules synthétisées, montrent que le taux de toxicité de la plupart de ces molécules est inférieure à 4 %, et le taux le plus élevé est inférieur à 8% , ceci signifie que ce sont des produits non toxiques et qu'ils peuvent être une source très importante dans les domaines thérapeutiques et pharmacologiques pour soulager les différentes maladies.

PERSPECTIVES

Les orientations des futures recherches pour approfondir les aspects entrevus dans ce travail et l'exploration d'autres facettes des propriétés bioactives et pharmaceutiques de ces molécules sont larges et très prometteuses. Parmi les perspectives envisagées:

➤ Evaluation de l'activité antioxydants et antidiabétique in vivo sur un modèle biologique, après leur métabolisation par la cellule.

➤ Etude de l'activité anticytotoxique sur des cellules cancéreuses.

➤ Etude de la toxicité aigüe et chronique, in vivo, sur un modèle animal, afin de pouvoir cerner tout effet indésirable et de mieux identifier les sites d'action des substances actives.

➤ Valorisation multidisciplinaire des ces molécules dans d'autres domaines, notamment dans le domaine de l'imagerie médical et la protection de l'environnement via leurs pouvoirs chélateurs et leur efficacité inhibitrice de corrosion.

Références bibliographique

Bibliographie

1. **Allen, J. G., et al.** 1978, *Nature*, Vol. 272, pp. 56–58.
2. **Allen, J. G., et al.** 1978, *Nature*, Vol. 272, pp. 56–58.
3. **Smith, W. W. et Bartlett, P. A.** 1998, *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 120, pp. 4622–4628.
4. **Sikorski, J. A, et al.** 1993, *Phosphorous, Sulfur Silicon Relat. Elem.* , Vol. 76, p. 3.
5. **Stowasser, B., et al.** 1992, *Tetrahedron Lett*, Vol. 33, pp. 6625–6628.
6. **Patel, D. V., Rielly-Gauvin, K. et Ryono, D. E.** 1990, *Tetrahedron Lett*, Vol. 31, pp. 5587–5590.
7. **Beers, S. A., et al.** 1996, , *Jordan, J. Bioorg. Med. Chem*, Vol. 4, pp. 1693–1701.
8. **Huang, J. et Chen, R.** 2000, *Heteroat. Chem*, Vol. 11, pp. 480–492.
9. **Maier, L. et Diel, P. J.** 1994, *Phosphorous, Sulfur Silicon Relat. Elem*, Vol. 90, pp. 259–279.
10. **Yager, K. M., Taylor, C. M. et Smith III, A. B.** 1994, *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 116, pp. 9377–9378.
11. **Lavielle, G., et al.** 1991, *J. Med. Chem*, Vol. 34, pp. 1998–2003.
12. **Lerner, R. A., Benkovic, S. J. et Schultz, P. G.** 1991, *Science*, Vol. 252, pp. 659-667.
13. **Kalarski, P. et Leczak, B.** 1991, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*, Vol. 63, pp. 193-215.
14. **Pajengraa, P. D.** 1993, *Phosphorous, Sulfur Silicon Relat. Elem*, Vol. 76, pp. 375–378.
15. **Kafarski, P. et Lejczak, B.** 1991, *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem*, Vol. 63, p. 193.
16. **Jacobsen, N. E. et Bartlett, P. A.** 1981, *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 103, p. 654 .
17. **Atherton, F. R., Hassal, C. H. et Lambert, R. W.** 1986, *J. Med. Chem*, Vol. 29, p. 29.
18. **Allen, M. C., et al.** 1989, *J. Med. Chem*, Vol. 32, p. 1652.
19. **Drag, M., et al.** 2005, *Eur. J. Med. Chem*, Vol. 40, pp. 764–771.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

20. **Moore, J. D., Sprott, K. T. et Hanson, P. R.** 2002, *J. Org. Chem*, Vol. 67, pp. 8123–8129.
21. **Aliouane, N., et al.** 2011, *Sulfur and Silicon and the Related Elements*, Vol. 186, pp. 354-364.
22. **Faulkner, S. et Pope, S. J. A.** 2003, *J. Am. Chem. Soc*, Vol. 125, pp. 10 526 – 10 527.
23. **Corbridge, D. E. C.** *Phosphorus: an outline of its chemistry, biochemistry, and technology* . 4th Ed. New York : Elsevier, 1990. p. 560.
24. **Toy, A. D. F.** *Phosphorus chemistry in everyday living*. [éd.] American Chemical Society. Washington, DC : s.n., 1976. p. 238.
25. **Farber, E.** *History of Phosphorus*. s.l. : Washington D.C. , 1995. p. 22.
26. **Ashley, K., Cordell, D. et Mavinic, D.** 2011, *Chemosphere*, Vol. 84, pp. 737-746.
27. **Emsley, J. et Hall, D.** *The chemistry of phosphorus: environmental, organic, inorganic, biochemical, and spectroscopic aspects*. New York : John Wiley & Sons, 1976.
28. **Opresko, D.** *Summary review of health effects associated with monochloroethane: health issue assessment*. 1988.
29. **Westheimer, F. H., et al.** *In Phosphorus Chemistry*. [éd.] DC Washington. s.l. : American Chemical Society, 1992. pp. 1-17.
30. **Nicholas, A. P., et al.** 2006, *Science*, Vol. 313, pp. 1276-1279.
31. **Russell, C. A.** 2010, *A Journal of the Gesellschaft Deutscher chemiker*, Vol. 49, pp. 9572–9573.
32. **Izod, K.** 2002, *Coord. Chem. Rev*, Vol. 227, pp. 153-173.
33. **Evans, D. A., Johnson, J. S. et Olhava, E. J.** 2000, *J. Am. Chem. Soc*, Vol. 122, pp. 11635- 1649.
34. **Evans, D. A., et al.** 1999, *Tetrahedron Lett*, Vol. 40, pp. 2879-2882.
35. **Isaacs, N. S.** *Physical organic chemistry*. 2nd ed. New York : Longman, 1995.
36. **Skorupinska-Tudek, K., Wojcik, J. et Swiezewska, E.** 2008, *The Chemical Record*, Vol. 8, pp. 33-45.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

37. **DeClercq, E.** 2009, *Med. Res. Rev.* , Vol. 29, pp. 611-645.
38. **Piret, J. et Boivin, G.** 2011, *Antimicrob. Agents Chemother*, Vol. 55, pp. 459-472.
39. **Danso-Appiah, A., et al.** 2009, *Parasitology* , Vol. 136, pp. 1837-1849.
40. **Kukhar, V. P. et Hudson, H. R.** *Aminophosphonic and Aminophosphinic Acids: Chemistry and Biological Activity*. New York : John Wiley & Sons, 2000.
41. **Huang, J. et Chen, R.** 2000, *Heteroat. Chem*, Vol. 11, p. 480.
42. **D., QuinL. et Chemistry.** *Chemistry, in A Guide to Organophosphorus*. New York : Wiley-Interscience, 2000. pp. 351-386.
43. **Hiratake, J. et Oda, J.** 1997, *Biosci., Biotechnol., Biochem*, Vol. 61, p. 211.
44. **Xiao, L. X., Li, K. et Shi, D. Q.** 2008, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem*, Vol. 183, p. 3156 .
45. **Allen, M. C., et al.** 1989, *J. Med. Chem*, Vol. 32, p. 1652.
46. **Atherton, F. R., Hassal, C. H. et Lambert, R. W.** 1986, *J. Med. Chem*, Vol. 29, p. 29.
47. **Pratt, R. F.** 1989, *Science*, Vol. 246, p. 917.
48. **Huang, J. et Chen, R.** 2000, *Heteroat. Chem*, Vol. 11, p. 480.
49. **Lavielle, G., et al.** 1991, *J. Med. Chem*, Vol. 34, p. 1998.
50. **Kuliszewska, E., Hanbauer, M. et Hammerschmidt, F.** 2008, *Chem. Eur. J*, Vol. 14, p. 8603.
51. **Cherkasov, R. A. et Galkin, V. I.** 1998, *Russ. Chem. Rev*, Vol. 67, p. 857.
52. **Jacquier, R., et al.** 1993, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem*, Vol. 81, p. 83.
53. **Jommi, G., et al.** 1992, *Tetrahedron*, Vol. 48, p. 7275.
54. **Pudovik, A. N. et Konovalova, Zh.** 1979, *Synthesis*, Vol. 81, p. 3342.
55. **Kabachnik, M. I. et Medved, T. Y.** 1952, *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, Vol. 83, p. 689.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

56. **Fields, E. K.** 1952, *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 74, p. 1528.
57. **Weimer, D. F.** 1997, *Tetrahedron*, Vol. 53, p. 16609.
58. **Springs, B. et Haake, P.** 1977, *J. Org. Chem.*, Vol. 42, p. 472.
59. **Galkina, I. V., et al.** 1998, *Russ. J. Gen. Chem.*, Vol. 68, p. 1465.
60. **Gancarz, R. et Gansarz, I.** 1993, *Tetrahedron Lett.*, Vol. 34, p. 145.
61. **Krutikov, V. I., Sukhanovskaya, E. V. et Tsarkova, I. A.** 1992, *Russ. J. Gen. Chem.*, Vol. 62, p. 2708.
62. **Cherkasov, R. A., et al.** 2005, *Russ. J. Gen. Chem.*, Vol. 41, p. 1481.
63. **Krutikov, V. I., Lavrent'ev, A. N. et Sukhanovskaya, E. V.** 1991, *Russ. J. Gen. Chem.*, Vol. 61, p. 1321.
64. **Beers, S. A., et al.** 1996, *J. Jordan. Bioorg. Med. Chem.*, Vol. 4, p. 1693.
65. **Wieczorek, J. S., et al.** 2000, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, Vol. 166, p. 111.
66. **Reddy, Y. T., et al.** 2007, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, Vol. 182, p. 161.
67. **A. Manjula, V. Rao, P. Neelakanthan,** 2003, *Synth. Commun.*, Vol. 33, p. 2963.
68. **Ranu, B. C., Hajra, A. et Jana, U.** 1999, *Org. Lett.*, Vol. 1, p. 1141.
69. **Gosh, R., et al.** 2004, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, Vol. 210, p. 53.
70. **Doye, S.** 2004, *Synlett*, Vol. 10, pp. 1653–16720.
71. **Yadav, J. S., et al.** 2001, *Synthesis*, Vol. 16, p. 2277.
72. **Schlemminger, I., et al.** 2001, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, Vol. 1, p. 2804.
73. **M. M. Kabachnik, T. N. Ternovskaya, E. V. Zobina, I. P. Beletskaya,** 2002, *Russ. J. Gen. Chem.*, Vol. 38, p. 504.
74. **Saidi, M. R. et Azizi, N.** 2002, *Synlett*, Vol. 9, p. 1347.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

75. **Mateeva, E. D., et al.** 2003, Synlett, Vol. 46, p. 2321.
76. **Bhagat, S. et Chakraborti, A. K.** 2007, J. Org. Chem, Vol. 72, p. 1263.
77. **Ambica, Kumar, S., et al.** 2008, Tetrahedron Lett, Vol. 49, p. 2208.
78. **Gröger, H. et Hammer, B.** 2000, Chem. Eur. J, Vol. 6, p. 943.
79. **Yager, K. M., Taylor, C. M. et Smith III, A. B.** 1994, J. Am. Chem. Soc, Vol. 116, p. 9377.
80. **Davis, F. A., et al.** 2001, Org. Lett, Vol. 3, p. 1757.
81. **Turhanen, P.A.** 2014, J. Org. Chem, Vol. 79, pp. 6330–6335.
82. **Russell, R.G.** Bone : s.n., 2011. pp. 2–19. Vol. 49.
83. **Shi, C.G., Zhang, Y. et Yuan, W.** 2016, Am. J. Ther, Vol. 3, pp. e894–e904.
84. **Studnik, H., et al.** 2015, New Biotechnol, Vol. 32, pp. 1–6.
85. **Abdou, W.M. et Shaddy, A.A.** 2008, Arch. Org. Chem, Vol. 2009, pp. 143–182.
86. **Suzuki, F., et al.** 1979.
87. **Maier, L.** 1981, Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem, Vol. 11, pp. 311–332.
88. **Yanvarev, D.V., et al.** 2016, Data Brief , Vol. 8, pp. 1157–1167.
89. **Kaboudin, B. et Kalipour, S.** 2009, Tetrahedron Lett, Vol. 50, pp. 4243–4245.
90. **Reddy, N.B., et al.** 2014, J. Org. Chem, Vol. 6, pp. 1227–1234.
91. **Krutikov, V.I., et al.** 2003 : s.n., Russ. J. Gen. Chem, Vol. 73, pp. 187–191.
92. **Siva Prasad, S., et al.** 2015, Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem, Vol. 190, pp. 2040–2050.
93. **Mimura, M., et al.** 1993, Chem. Pharm. Bull, Vol. 41, pp. 1973–1986.
94. **Kubiček, V., et al.** 2005, J. Am. Chem. Soc, Vol. 127, pp. 16477–16485.
95. **Martin, M.B., et al.** 2002, J. Med. Chem, Vol. 45, pp. 2904–2914.

96. **Forlani, G., et al.** 2012, Vol. 42, pp. 2283–2291.
97. **Lacbay, C.M., et al.** 2014, J. Med. Chem, Vol. 57, pp. 7435–7449.
98. **Shaddy, A.A., Kamel, A.A. et Abdou, W.M.** 2013, Chem. Commun, Vol. 43, pp. 236–252.
99. **Kafarski, P., Lejczak, B. et Forlani, G.** 2000, Heteroat. Chem, Vol. 11, pp. 449–453.
100. **Dobosz, A., et al.** 2016, Coord. Chem. Rev, p. in press.
101. **Dąbrowska, E., et al.** 2009, J. Organomet. Chem, Vol. 6943, pp. 3806–3813.
102. **Lejczak, B., et al.** 1996, J. Plant Growth Regul, Vol. 15, pp. 109–113.
103. **Rosso, V.S., et al.** 2011, Bioorg. Med. Chem, Vol. 19, pp. 2211–2217.
104. **Herczegh, P., et al.** 2002, J. Med. Chem, Vol. 45, pp. 2338–2341.
105. **Dzięgielewski, M., Hejmanowska, J. et Albrecht, Ł.** 2014, Synthesis, Vol. 46, pp. 3233–3239.
106. **Sankala, E., et al.** 2012, Arch. Org. Chem, Vol. 2012, pp. 233–241.
107. **Zhang, Y., et al.** 2006, J. Med. Chem, Vol. 49, pp. 5804–5814.
108. **Wiemer, D. F.** 1997, Tetrahedron, Vol. 53, p. 16609.
109. **Engel, R.** 1977, Chem. Rev, Vol. 77, p. 349.
110. **Teresa, B. M. et Faísca, P. A. M.** 2010, Tetrahedron Asymmetry, Vol. 21, pp. 2746–2752.
111. **Abdou, W. M., Kamel, A. A. et Shaddy, A. A.** 2010, European Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 45, pp. 5217-5224.
112. **El-Gokha, A. et Maas, G.** 2011, Tetrahedron, Vol. 67, pp. 2849-2857.
113. **Pyun, H-J., et al.** 2009, Tetrahedron Lett, Vol. 50, pp. 3833–3835.
114. **Tverdomeđ, S. N., et al.** 2011, Tetrahedron, Vol. 67, pp. 3887- 3903.
115. **Ayhan, S. D. et Servet, T.** 2007, Tetrahedron, Vol. 63, pp. 4156-4161.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

116. **Atherton, F. R., Hassall, C. H. et Lambert, R. W.** 1986, *J. Med. Chem*, Vol. 29, p. 29.
117. **De Lombaert, S., Blanchard, L. et Tan, T.** 1995, *Bioorg. Med. Chem. Lett*, Vol. 5, p. 145.
118. **Kafarski, P. et Lejczak, B.** 2001, *Current Med. Chem*, Vol. 1, p. 301.
119. **Susan, J. B. et S., Peter J.** 2005, *Bioinorganic Chemistry*, Vol. 70, pp. 27-102.
120. **Meziti, A.** Université EL-HAJ LAKHDAR, Batna : s.n., 2009, Mémoire de magister en biochimie appliquée option: Molécules Bioactives, p. 18.
121. **Haton, C.** Paris VI, France : s.n., 2005, Thèse de doctorat, p. 43.
122. **Bartosz, G.** 2003, *Comments on Toxicology* , Vol. 9, pp. 5-21.
123. **Gueye, P. M.** Strosbourg : s.n., 2007, Thèse de Doctorat de l'Université Louis Pasteur , p. 247.
124. **Z., Hellal.** De Tizi-Ouzou : s.n., 2011, Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri, p. 80.
125. **Bouhadjra, K.** Tizi-Ouzou : s.n., 2011, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, p. 95.
126. **Yala, D., et al.** 2001, *Médecine du Maghreb*, Vol. 91, pp. 12-13.
127. **J., Tortora. G., .R., Funke. B et Case, C. L.** 2003, *Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, Vol. 16, pp. 269 – 283.
128. **C., Tenover F.** 2006, *The American Journal of Medicine*, Vol. 119, pp. 3-10.
129. **Storm, D. R., Rosenthal, K. S. et Swanson, P. E.** 1994, *Annual Review of Biochemistry*, Vol. 46, pp. 723-763.
130. [En ligne] http://www.doctissimo.fr/html/medicaments/articles/sa_4093_ains.htm.
131. **Carpenter, C. F. et Chambers, H. F.** 2004, *clinical infectious diseases*, Vol. 38, pp. 994-1000.
132. **Rescott, L. M., Harley, J. P. et Klein, D. A.** *Microbiologie*. 2ème édition. Bruxelles : s.n., 2003 . pp. 806-811.
133. **Brunneton, J.** *Technique et Documentation* . 3ème édition. Paris : s.n., 1999 . pp. 310-353.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

134. **Halliwell, B. et Whiteman, M.** 2004, British journal of pharmacology, Vol. 142, pp. 31-2.
135. *Les phytonutriments bioactifs.* **Dacosta, Y.** Paris : s.n., 2003, p. 317.
136. **Mohammedi, Z.** Telemcen : s.n., 2005, Thèse de magistère, Université-Abou Bakr Belkaid, p. 112.
137. **Carine Soulet, Sandra Gendreau, Karine Missy, Valérie Benard, Monique Plantavid, .** 2001, FEBS Letters, Vol. 507, pp. 253–258.
138. **C., Girotti-channu.** Lyon : s.n., 2006, Thèse de Doctorat .Institut national des sciences appliquées , p. 127.
139. **Mighri, H., et al.** 2010, Comptes Rendus Chimie, Vol. 13, pp. 380–386.
140. **A., Braca, et al.** 2002, J. Ethnopharmacol, Vol. 79, pp. 379-381.
141. **Sanchez, M. C.** 2002, Int. J. of Foods Sci. Tech, Vol. 8 , pp. 121-137.
142. **Oyaizu, M.** 1986, Jpn. J. Nutr, Vol. 44, pp. 307-315.
143. **Saha, N. C., et al.** 1963, J. Chem. Eng. Data, Vol. 8, pp. 405, 408.
144. **Matsuda, H. et Ayabe, Y.** 1955, Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie, Vol. 95, pp. 494–503.
145. **E.J.A., Da Silva, A.B., Oliveira et A.J., Lapa.** 1994 , J. Pharm. Pharmacol, Vol. 46, pp. 118-22.
146. **Galati, E. M., et al.** 1994, Farmaco, Vol. 40, pp. 709-12.
147. **E.J., Middleton.** 1996, Int. J. Pharmacol, Vol. 34, pp. 344-348.
148. **Winter, C. A., Risley, E.A. et Nuss, G.W.** 1962, Biol. Med, Vol. 111, pp. 544-547.
149. **Nauciel, C.** 1994, La Revue de Médecine Interne, Vol. 23, pp. 372-377.
150. **Yala, D., et al.** 2001, Médecine du Maghreb.
151. **Tortora, G. J., Funke, B. R. et Case, C. L.** 2003.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

152. **Storm, D. R., Rosenthal, K. S. et Swanson, P. E.** 1977, *Biochemistry*, Vol. 46, pp. 723-763.
153. **Christopher, F. C. et Henry, F. C.** 2004, *clinical infectious diseases*, Vol. 38, pp. 994-1000.
154. **Trevoux, R., Arnal-Schnebelen, B. et Schnebelen, J.** 2000 , *Phytotherapie*, Vol. 17, pp. 28- 32.
155. **Rolland, A.** 1988, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 29, p. 441.
156. **Gulcin, I., et al.** 2010, *Arabian Journal of Chemistry*, Vol. 3, pp. 43-53.
157. **Majhenic, L., kerget, M. S. et Knez, Z.** 2007, *Food Chemistry*, Vol. 104, pp. 1258–1268.
158. **Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P. et Sakariah, K.K.** 2001, *Food Chemistry*, Vol. 73, pp. 285–290.
159. **jrah harz allah, H.** 2010, *journal of medicinal plants research*, Vol. 4 , pp. 2048-2053.
160. **Le, K., Chiu, F. et Ng, K.** 2007, *Food Chemistry*, Vol. 105, pp. 353-363.
161. **Zou, Y. P., Lu, Y. H. et Wei, D. Z.** 2004, *Phytother. Res*, Vol. 52, pp. 5032-5039.
162. **Jeong, S.M., et al.** 2004, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Vol. 52, pp. 3389–3393.
163. **Kumaran, A. et Karunakaran, R.J.** 2007, *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 40, pp. 344-352.
164. **Singleton, V.L. et Rossi, J.A.** 1965, *American Journal of Technology and Viticulture*, Vol. 16, pp. 144-153.
165. **Matsuda, H. et Ayabe, Y.** 1955, *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*, Vol. 59, pp. 494–503.
166. **Middleton, J.R.E., Chithan, K. et Theoharis, C.T.** 2000, *Pharmacol*, Vol. 52, pp. 673-751.
167. **Haliwell, B.** 1990 , *J. free rad Res . comm*, Vol. 9, pp. 1-32.
168. **Mesrouk, H., Bouafia, I. et Bahaz, C.** 2015, *Journal of Medicinal Plants Research* , Vol. 9, p. 820.
169. **BESSAS, A., BENMOUSSA, L. et kerama, M.** 2008, *mémoire de fin d'étude*, p. 15.
170. **Muzushima, Y. et Kobayashi, M.** 1968, *J. Pharm. Pharmacol*, Vol. 20, pp. 169-173.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

171. **Padmanabhan, P. et Jangle, SN.** 2012, Int. J. App. Basic. Med. Sci, Vol. 2, pp. 109-116.
172. **Ashley, N. T., Weil, Z. M. et Nelson, R. J.** 2012, Annu Rev Ecol Evol Syst , Vol. 43, pp. 385-406.
173. **Williams, LAD., et al.** 2008, West Indian Med J , Vol. 57, pp. 327-331.
174. **Lee, D. W., Powers, K. et Baney, R.** 2004,, Carbohydrate Polymers, Vol. 58, pp. 371–377.
175. **Mohan, C.** 2006, Calbiochem, Vol. 9, p. 22.
176. **WAJEMAN H. LANTZ B., GIROT R.,.** *les maladies du globule rouge.* 2eme édition. Paris : INSERM, 1992.

ملخص

خصص هذا العمل لتحضير نوعين جديدين من المركبات العضو فوسفورية المشتقة من البيريدين وقد تم التعرف على بنية هذه الجزيئات و خواصها بالطرق الفيزيوكيميائية: الأشعة فوق البنفسجية و المرئية، الأشعة تحت الحمراء، الرنين المغناطيسي النووي والتحليل العنصري.

قيمت فعالية الجزيئات المحضرة كمضادات للأكسدة خارج الجسم باستخدام ثلاثة طرق: طريقة الجذور الحرة DPPH, طريقة إرجاع الحديد FeIII والطريقة الفولتامترية الحلقية. تبين أن فعالية هذه الجزيئات تفوق فعالية المواد القياسية المضادة للأكسدة مثل الفيتامين C و BHT .

كما تم تقييم فعالية هذه المواد كمضادات للالتهابات خارج الجسم وتبين أن لها تأثير كايح لتدهور البروتينات في درجات الحرارة العالية. أما دراسة خواصها المضادة للجراثيم فقد بينت أن فعاليتها ضد جميع السلالات البكتيرية التي تم اختبارها كانت أفضل من فعالية المواد القياسية المعتمدة.

إن الجزيئات المحضرة غير سامة عمليا، إذ أن سمية أغلبها على الكريات الحمراء في الدم البشري اقل من 5% وبالتالي يمكن أن تكون مصدرا مهما جدا في المجالات العلاجية والدوائية للتخفيف من الأمراض المختلفة.

الكلمات المفتاحية: امينوفوسفونات، الجزيئات النشطة بيولوجيا،الخاصية المضادة للأكسدة، سمية الخلايا.

Abstract

This work has been devoted to the synthesis of two new categories of α -aminophosphonate to basis of pyridine. The physicochemical characterization of these molecules has been carried out by the different methods (UV-Vis, IR, NMR, and elemental analysis)

The antioxidant effect of our molecules has been evaluated in-vitro using three methods: Method of scavenger of DPPH radical, the reduction of iron and the cyclic voltametry) and we found that the most of our molecules have high activity antioxidants than of standard antioxidants used in this work.

The activity anti-inflammatory has been performs in-vitro on the synthesized molecules which give an inhibitory effect of denaturation of proteins at a high temperature. The antibacterial effect of our molecules show a better activity against all bacterial strains tested.

The study of the hemolytic activity shows that the molecules have a very low toxicity on the human erythrocytes. They can be a very important source in the therapeutic areas and pharmacological to relieve the different diseases.

Key words: α -aminophosphonates, bioactif molecules, antioxidants activity, cytotoxicity.

Résumé

Ce travail a été consacré à la synthèse de deux nouvelles catégories d' α -aminophosphonate à base de pyridine. La caractérisation physicochimique de ces molécules a été effectuée par les différentes méthodes (UV-Vis, IR, RMN et l'analyse élémentaire). L'effet antioxydant de nos molécules a été évalué invitro en utilisant trois méthodes: la méthode de scavenger du radicale DPPH, la réduction de Fer et la voltamétrie cyclique, nous avons constaté que la plus part de nos molécules présentent une activité antioxydants supérieur a celle des antioxydants standard.

L'activité anti inflammatoire effectuée invitro sur les molécules synthétisées montre un effet inhibiteur important sur la dénaturation des protéines à haute température. L'étude de l'effet antibactérienne des nos molécules a montré une meilleur activité contre toutes les souches bactériennes testées.

Les testes de l'activité hémolytique montrent que les molécules présentent une très faible toxicité sur les érythrocytes humain. Elles peuvent être une source très importante dans les domaines thérapeutiques et pharmacologiques pour soulager les différentes maladies.

Mot clés: α -aminophosphonates, molécules bioactives, activité antioxydants, cytotoxicité.