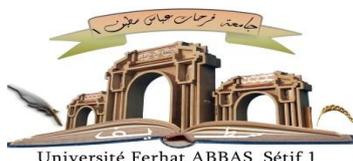


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS - SETIF1

FACULTÉ DE TECHNOLOGIE

THÈSE

Présentée au Département de Génie des Procédés

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT

Domaine : Sciences et Technologie

Filière: Génie des Procédés

Option: Génie des Procédés Pharmaceutiques

Par

M^{me} : DOUADI Khaoula

THÈME

**Synthèse, étude structurale et mise au point du comportement pharmaceutique
d'une nouvelle série de molécules bioactives**

Soutenue le/...../2020 devant le Jury:

MERBAH Meriem	Pr	U. F. ABBAS. SETIF-1	Présidente
CHAFAI Nadjib	M.C.A	U. F. ABBAS. SETIF-1	Rapporteur
HARKAT Hassina	Pr	U. M. B. BATNA- 2	Examinatrice
BAHLOUL Ahmed	Pr	U. B. I. B. BOUARIRIDJ	Examineur
SOBHI Widad	M.C.A	U. F. ABBAS. SETIF-1	Examinatrice
CHAFAA Salah	Pr	U. F. ABBAS. SETIF-1	Rapporteur en retraite

Remerciements

Avant toute chose, je remercie DIEU, le tout-puissant, pour m'avoir donnée la volonté, la santé et la patience pour finir ce travail.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Électrochimie des Matériaux Moléculaire et Complexes (LEMMC), Faculté de technologie, Département de Génie des Procédés de l'Université Ferhat ABBAS – SETIF-1 sous la direction du Professeur **Salah CHAFAA**.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à mon encadreur Pr. **Salah CHAFAA** qui a guidé, suivi le déroulement et l'exécution du travail de cette thèse en me prodiguant tout aide possible, et en me consacrant son temps précieux.

Je tien également à témoigner toute ma gratitude envers Monsieur **Nadjib CHAFAI**, maître de conférences MCA, Université Ferhat ABBAS SETIF- d'avoir accepté régulariser ma situation administrative en remplaçant mon encadreur partant à la retraite. Qu'il trouve ici mes sincères considérations et mon profond respect.

Que Madame la Professeur **Meriem MERBAH-ELKOLLI**, Professeur à l'Université Sétif-1, trouve l'expression de ma profonde reconnaissance d'avoir accepté de présider ce jury.

Je remercie vivement monsieur **Ahmed BEHLOUL**, Professeur à l'université de BBA, Madame **Hassina HARKET**, Professeur à l'université de Batna, ainsi qu'à Madame **Widad SOBHI**, MCA à l'université de Sétif, d'avoir accepté juger ce travail. Je présente ici le témoignage de ma sincère gratitude pour leur aide.

J'adresse mes remerciements particuliers à M^{lle}. **Hanane HAMANI**, M^{me} **Fatima DOUADI**, M^{me} **Djihane BOUZID**, Monsieur **Farid RIAHI**, Monsieur **Touhami LANEZ**, monsieur **El Hafnaoui LANEZ**, monsieur **Yacine BENGUERBA** et monsieur **Walid BOUOUDEN**.

Mes sincères remerciements vont aussi à tous les membres de laboratoire LEMMC, sans oublier les ingénieurs de laboratoire, mes collègues et mes amies aussi.

Je ne saurais oublier de remercier chaleureusement toute ma famille (mes chers parents qui m'ont toujours encouragé, mon cher mari qui a toujours été compréhensif, ma fille, mes sœurs et mes frères).

Dédicaces

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mon cher mari qui a su m'épauler, me pousser dans mes choix, et qui m'encourage toujours à aller plus loin. Sa patience m'a toujours égayé. Sans lui je ne serai pas arrivée jusque là,

A ma chère fille Khadidja ; dont la joie n'est complète qu'avec elle,

A mes chers frères et sœurs, et toute ma famille,

A tous mes collègues et amies.

.....KHAOULA.....

Table des matières

Table des matières

Table des matières	i
Liste des abréviations.....	vi
Introduction générale	1
<u>Chap. I: Bibliographie</u>	
I.1. Les bases de Schiff dérivées d' amino quinoléine.....	5
I.1.1. Les bases de Schiff	5
I.1.2. Domaines d'application des bases de Schiff	5
I.1.3. Les quinoléines	6
I.1.4. Domaines d'application des dérivés de la quinoléine	7
I.2. Activité antioxydante.....	7
I.2.1. Le stress oxydant	7
I.2.2. Radicaux libres	8
I.2.2.1. Formes des radicaux libres	8
I.2.2.2. Les sources des radicaux libres	9
I.2.3. Les pathologies liées au stress oxydant	10
I.2.2. Les systèmes de défenses antioxydants	10
I.2.2.1. Les sources des antioxydants.....	10
I.2.2.2. Mécanismes d'antioxydation.....	11
I.2. Activité antiinflammatoire.....	11
I.2.1. Inflammation	11
I.2.2. Types d'inflammation.....	12
I.2.2.1. L'inflammation aiguë.....	12
I.2.2.2. L'inflammation chronique	12
I.2.3. Les antiinflammatoires	12
I.2.3.1. Les antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	12
I.2.3.2. Les antiinflammatoires stéroïdiens (AIS).....	13
I.3. Activité antimicrobienne	14
I.3.1. Activité antibactérienne.....	14
I.3.1.1. Les antibiotiques	14
I.3.1.2. Mode d'action des antibiotiques	14

I.3.1.3. Résistance bactériennes aux antibiotiques	15
I.3.2. Activité antifongique	16
I.3.2.1. Les antifongiques	16
I.3.2.2. Cibles des antifongiques.....	16
I.3.2.3. Mécanismes de la résistance aux antifongiques.....	17
I.4. ADN (Acide Désoxyribonucléique)	18
I.4.1. Définition.....	18
I.4.2. Rôles biologiques	18
I.4.3. Caractéristiques de l'acide désoxyribonucléique	19
I.4.3.1. Instabilité chimique d'ADN	19
I.4.3.2. Spectres UV des bases nucléiques	19
I.4.3.3. Dénaturation thermique de l'ADN	19
I.4.4. Dommages de l'ADN par le stress oxydatif.....	20
I.4.5. Interaction de l'ADN avec les adduits.....	20
I.4.5.1. Interaction covalente avec l'ADN.....	21
I.4.5.2. Interaction non covalente avec l'ADN.....	21
I.5. Les protéines globulaires	22
I.5.1. Structure de la BSA	22
I.5.2. Nature de l'interaction.....	23
I.5.2.1. Liaisons hydrogènes	23
I.5.2.2. Interaction ionique.....	23
I.5.2.3. Interaction aromatique.....	24
I.6. Intérêt biologique des bases de Schiff et des dérivés de la quinoléine.....	24
I.6.1. Exemples d'activités spécifiques de quelques bases de Schiff	24
I.6.2. Exemples d'activités spécifiques de quelques dérivés de la quinoléine.....	26
I.6.3. Exemples d'activités spécifiques de quelques bases de Schiff dérivées de la quinoléine.....	28

Chap. II: Méthodes et techniques

II.1. Contexte théorique des techniques expérimentales utilisées	43
II.1.1. Spectrophotométrie UV-vis	43
II.1.1.1. Loi de Beer-Lambert.....	43
II.1.2. Voltampérométrie cyclique	45
II.2. Méthodes d'évaluation des activités biologiques.....	49

II.2.1. Activité antioxydante	49
II.2.1.1. Test de l'effet du piégeage du radical libre DPPH'.....	50
II.2.1.2. Test du pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium.....	51
II.2.1.3. Activité antioxydante totale au phosphomolybdate d'ammonium	51
II.2.1.4. Méthode de la voltampérométrie cyclique (VC)	52
II.2.2. Activité antiinflammatoire	55
II.2.3. Activité antibactérienne et antifongique	55
II.2.3.1. Les microorganismes testés	56
II.2.3.2. Technique de disque	56
II.2.3. Essai de la toxicité érythrocytaire	57
II.2.4. Etude in vitro de l'interaction des dérivés de la quinoléine avec l'ADN et la BSA.....	57
II.2.4.1. Interaction avec l'ADN.....	57
II.2.4.2. Interaction avec la BSA	58

Chap.III: Activités biologiques

III.1. Caractérisation des bases de Schiff dérivées d' amino quinoléine H ₂ L-H, H ₂ L-F, H ₂ L-Br et H ₂ L-NO ₂	63
III.1.1. Propriétés spectrales des composés synthétisés.....	63
III.2. Évaluation de l'activité antioxydante	65
III.1.1. L'essai de piégeage du radical DPPH'	65
III.1.2. Test du pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium.....	72
III.1.3. Activité antioxydante totale au phosphomolybdate d'ammonium	74
III.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante par le piégeage de l'anion superoxyde O ₂ ^{•-}	76
III.1.5. Comportement électrochimique d'oxygène en présence des dérivés de la quinoléine.....	77
III.1.6. Détermination des paramètres thermodynamiques.....	83
III.1.6.1. La constante de liaison k _b et l'énergie libre de Gibbs standard (ΔG°) ..	83
III.2. Évaluation de l'activité antiinflammatoire	85
III.3. Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique.....	87
III.4. Evaluation de la toxicité	90
III.5. Etude qualitative de la relation structure-activité QSAR.....	92
III.5.1. Les descripteurs moléculaires utilisés dans l'analyse QSAR.....	92
III.5.1.1. Poids moléculaire (MW)	92

III.5.1.2. Volume moléculaire (MV)	92
III.5.1.3. Le nombre de liaisons rotatives (nrot).....	92
III.5.1.4. Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène (NHD)	93
III.5.1.5. Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (NHA).....	93
III.5.1.6. Superficie topologique de la surface polaire (TPSA).....	93
III.5.1.7. Coefficient de partage (Log P)	93
III.5.2. Règle de 5	93
III.5.3. Logiciels de calcul des descripteurs moléculaires	94
III.5.3.1. Molinspiration	94
III.5.3.2. Molsoft.....	94
III.5.3.3. OSIRIS.....	94
III.5.3.4. SwissADME	95
III.5.4. Résultats de la modélisation des dérivés amino quinoléine.....	95
III.5.4.1. Préviation des propriétés physicochimiques (drug likeness)	95
III.5.4.2. Score de bioactivité	97
III.5.4.3. Prédiction du métabolisme	98
III.5.4.4. Risques de toxicité.....	99
III.6. Théorie de la fonctionnelle de la densité "DFT"	101
III.7. Calcul des paramètres quantiques	102
III.7.1. Propriétés structurales et électroniques.....	102
III.7.2. Surfaces du potentiel électrostatique moléculaire (MEP).....	105
III.7.3. charges atomiques de Mulliken	106

Chap.VI : Mécanisme d'interaction quinoléines-ADN et BSA

IV.1. Interaction avec l'ADN	117
IV.1.1. Quantification et analyse de la pureté des échantillons d'ADN	117
IV.1.1.1. Étude de l'interaction ADN-Drogue par spectroscopie électronique	118
IV.1.1.1.1. Étude spectroscopique UV-vis de l'interaction des dérivés d' amino quinoléine avec l'ADN.....	119
IV.1.1.2. Étude de l'interaction ADN-drogue par voltampérométrie cyclique	126
IV.1.1.2.1. Étude de l'interaction des dérivés amino quinoléine avec l'ADN par voltampérométrie cyclique	127
IV.1.1.3. Étude de l'interaction ADN-Drogue par amarrage moléculaire	136
IV.2. Interaction avec l'albumine du sérum bovin (BSA).....	140

IV.2.1. Etude de l'interaction BSA-drogue par spectroscopie électronique.....	140
IV.2.2. Etude de l'interaction BSA-drogue par voltampérométrie cyclique	144
IV.2.4. Etude de l'interaction BSA-drogue par amarrage moléculaire	148
Conclusion générale	157

Liste des abréviations

A : Affinité électronique.

Å : Angström.

AAE : Ascorbic acid equivalent.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AINS : Antiinflammatoires non stéroïdiens.

AIS : Antiinflammatoires stéroïdiens.

AO : Antioxydant.

ARNm : Acide ribonucléique messenger.

BHA : 3-tertiobutyl-4- hydroxyanisole.

BHT : 3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène.

BSA : Albumine du sérum bovin.

B3LY P: Becke Three Paramaters Lee-Yang-Parr.

C : Concentration.

°C: Degré Celsius

CAT : Capacité antioxydante totale.

Da : Dalton.

DFT : Théorie de la fonctionnelle de la densité.

DL: Drug-likeness.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DO: Densité optique.

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil.

APR $o_2^{\cdot-}$: Pourcentage d'inhibition de l'anion superoxyde.

DS: Drug-Score.

EC₅₀ : Concentration effectrice

EI : Inhibiteur des enzymes.

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

GPCRL: récepteur des ligands couplés à la protéine G.

H : dureté moléculaire

H₂L-H : (1Z)-2-oxo-N'-phenyl-N-quinoléine -8-ylpropanehydrazonamide.

H₂L-Br : 1Z)-N'-(4-bromophenyl)-2-oxo-N-quinoléine -8-ylpropanehydrazonamide.

H₂L-F: (Z)-N'-(4-fluorophenyl)-2-oxo-N-quinoléine -8-ylpropanehydrazonamide.

H₂L-NO₂ : (Z)-N'-(4-nitrophenyl)-2-oxo-N-quinoléine -8-ylpropanehydrazonamide.

HOMO : Orbitale Moléculaire Haute Occupée.

HSA : Albumine du sérum humain.

I : Energie d'ionisation.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50.

ICM : Modulateur des canaux ioniques.

IRRI : Irritant.

k_b : Constante de liaison.

K_{red}: Constante de liaison du composé réduit.

KI : Inhibiteur de l'enzyme Kinase.

K_{ox}: Constante de liaison du composé oxydé.

K_{sv} : constante d'extinction.

Log P : Coefficient de partage

LUMO : Orbitale Moléculaire Basse Occupée.

M : Potentiel chimique électronique.

MEP : Surfaces du potentiel électrostatique moléculaire.

MH : Gélose Mueller-Hinton.

MUT : Mutgénique.

MV : Volume moléculaire.

MW : Poids moléculaire.

NHA : Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène.

NHD : Nombre de donneurs de liaisons hydrogène.

NRL : Récepteur des ligands nucléaires.

nrot : Nombre de liaisons rotatives.

NV : Nombre de violation

Ox: oxydant

PDA : Potatoes dextrose agar.

Phe : Phénylalanine.

PI : Inhibiteur des enzymes Protéases.

QSAR : Quantitative structure – activity relationship.

RSA_{DPPH} : Radical scavenging activity of DPPH.

Red : réducteur.

REP: Reproduction efficace.

RL : Radical libre.

RONS : Reactive Oxygen and Nitrogen Species.

s : Taille des sites de liaison.

S : Solubility.

S : Douceur moléculaire.

SDS : Dodécylsulfate de sodium.

TBAHF : Tetrabutylammoniumhexafluorophosphate

TPSA : Superficie topologique de la surface polaire.

Trp : Tryptophane.

TUMO : Tumorigénique.

Tyr : Tyrosine.

VC : Voltampérométrie cyclique.

X : Electronégativité.

ΔG° : Energie libre de Gibbs.

ΔE_{GAP} : Gap énergétique.

%ABS : Pourcentage d'absorption

ω : Indice global d'électrophilie.

Introduction générale

Introduction générale

De nos jours, les besoins croissants de l'humanité pour la prise en charge de nombreuses maladies, poussent les chercheurs à s'intéresser à la découverte de nouvelles méthodes de synthèses, moins coûteuses, et aussi à investir dans la nature.

Les hétérocycles quinoléiques sont parmi les divisions classiques de la chimie organique qui ont été largement étudiés dans différents domaines de la chimie, y compris les industries chimiques et pharmaceutiques [1]. Ils constituent d'excellents précurseurs dans la synthèse de nouveaux systèmes susceptibles de présenter d'intéressantes propriétés biologiques, relatives au traitement de la malaria, des maladies cardiovasculaires, antifongiques, antiinflammatoires, antibiotiques, antitumorales et antimicrobiennes [2–5]. Certains dérivés de la quinoléine ont montré un profil pharmacologique favorable et un pouvoir bactéricide confirmé sur des souches sensibles. Ils sont également utilisés comme des inhibiteurs de corrosion [6,7].

L'étude de l'interaction des petites molécules avec l'ADN a fait l'objet d'une investigation intensive depuis des décennies car elle permet de mieux comprendre la conception du dépistage de nouvelles molécules plus efficaces ciblant l'ADN, qui peut accélérer la découverte de nouveaux médicaments. Les processus tumoraux sont caractérisés par une prolifération anormale des cellules; l'ADN est donc la cible biologique de nombreux médicaments antitumoraux [8].

La caractérisation de l'interaction des petites molécules, qu'elles soient synthétiques ou naturelles, non seulement fournit un aperçu de la biologie, mais donne également la possibilité de développer des agents thérapeutiques pour le contrôle de l'expression des gènes [9,10]. Certains dérivés de la quinoléine se sont révélés utiles en tant qu'agents anticancérogènes en se liant électrostatiquement à l'ADN, par des liaisons intercalaires ou par des liaisons hydrogène [11,12]. Diverses techniques d'analyse, telles que l'électrophorèse, la fluorescence ont été largement utilisées pour la caractérisation et l'identification de l'interaction des petites molécules avec l'ADN [13,14]. Cependant, la plupart de ces méthodes souffrent d'un fort coût, une faible sensibilité et la complication des procédures.

L'électrochimie et la spectroscopie UV-vis se posent alors comme des alternatives de choix pour proposer des méthodes de mesures moins coûteuses qui allient simplicité, rapidité, sensibilité et spécificité.

Le travail décrit dans ce manuscrit s'inscrit dans ce contexte d'évaluation des différentes activités biologiques d'une série de bases de Schiff dérivées d' amino quinoléine.

Pour présenter nos travaux et mettre en évidence nos différentes contributions à la fouille de données, nous avons retenu l'articulation suivante :

Dans le premier chapitre, nous exposons un aperçu général, sur les bases de Schiff et les dérivés quinoléiques, les agents antioxydants, antiinflammatoires, antimicrobiens et sur l'acide désoxyribonucléique (ADN) et les protéines, suivi d'une étude bibliographique sur l'intérêt biologique que présente cette famille de molécules.

Le deuxième chapitre a pour objectif de présenter les principes de différentes méthodes d'analyse utilisées pour évaluer *in vitro* l'activité antioxydante, antiinflammatoire, antimicrobienne et antihémolytique des molécules criblées. Les techniques de mesure électrochimiques et spectroscopiques utilisées pour explorer l'interaction des dérivés avec l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'albumine du sérum bovin (BSA), sont à leur tour présentées dans cette partie.

Le troisième chapitre consiste en une analyse des résultats de l'évaluation des différentes activités biologiques et une discussion qui mettra l'emphase sur leur signification par rapport aux données de la littérature. Les études sont également complétées par une prédiction des propriétés QSAR et une étude de corrélation entre la structure moléculaire et l'activité biologique par la théorie fonctionnelle de la densité (DFT).

Le dernier chapitre détaille les résultats de l'étude spectroscopique, électrochimique et théorique de l'interaction des composés avec l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'albumine du sérum bovin (BSA). A partir de l'examen des paramètres de liaison, un mode d'interaction mis en jeu est déterminé.

Enfin, cette thèse est clôturée par une conclusion générale qui permettra de tirer quelque suggestion de prolongation à ce travail.

Références bibliographiques

- [1] Y.F. Baba, N.K. Sebbar, S. Hayani, F.O. Chahdi, E.M. Essassi, SYNTHESE REACTIVITE ET PROPPRIETES BIOLOGIQUES DES DERIVES DE LA QUINOLEINE, Moroccan Journal of Heterocyclic Chemistry. 17 (2018).
- [2] H. Breuer, M. Meslé-Gribenski, P. Morin, M. Sénéchal-Couvercelle, Atlas de la chimie, Librairie générale française, 2000.
- [3] A. Korolkovas, Essentials of medicinal chemistry, John Wiley & Sons, 2008.
- [4] J.-J. Pocidalo, Les nouvelles quinolones, Arnette, 1985.
- [5] J.C. Bergh, T.H. Tötterman, B.C. Termander, K.A.-M. Strandgarden, P.O.G. Gunnarsson, B.I. Nilsson, The first clinical pilot study of roquinimex (Linomide®) in cancer patients with special focus on immunological effects, Cancer Investigation. 15 (1997) 204–211.
- [6] I. Benmahammed, T. Douadi, S. Issaadi, M. Al-Noaimi, S. Chafaa, Heterocyclic Schiff bases as corrosion inhibitors for carbon steel in 1 M HCl solution: hydrodynamic and synergetic effect, Journal of Dispersion Science and Technology. (2019) 1–20.
- [7] Y.F. Baba, H. Elmsellem, Y.K. Rodi, H. Steli, F.O. Chahdi, Y. Ouzidan, N.K. Sebbar, E.M. Essassi, F. El-Hajjaji, B. Hammouti, Experimental and quantum chemical studies on corrosion inhibition effect of 6-bromo-2-oxo-1, 2-dihydroquinoline-4-carboxylic acid on mild steel in HCl solution, (n.d.).
- [8] Y.Q. Li, Y.J. Guo, X.F. Li, J.H. Pan, Electrochemical studies of the interaction of Basic Brown G with DNA and determination of DNA, Talanta. 71 (2007) 123–128.
- [9] M. Maiti, G.S. Kumar, Molecular aspects on the interaction of protoberberine, benzophenanthridine, and aristolochia group of alkaloids with nucleic acid structures and biological perspectives, Medicinal Research Reviews. 27 (2007) 649–695.
- [10] P.B. Dervan, Molecular recognition of DNA by small molecules, Bioorganic & Medicinal Chemistry. 9 (2001) 2215–2235.
- [11] Z.-C. Liu, Z.-Y. Yang, T.-R. Li, B.-D. Wang, Y. Li, M.-F. Wang, DNA-binding, antioxidant activity and solid-state fluorescence studies of copper (II), zinc (II) and nickel (II) complexes with a Schiff base derived from 2-oxoquinoline-3-carbaldehyde, Transition Metal Chemistry. 36 (2011) 489–498.

- [12] D.S. Lamani, K.R. Venugopala Reddy, H.S. Bhojya Naik, A. Savyasachi, H.R. Naik, Synthesis and DNA binding studies of novel heterocyclic substituted quinoline schiff bases: a potent antimicrobial agent, *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*. 27 (2008) 1197–1210.
- [13] W. Zhong, J.-S. Yu, Y. Liang, K. Fan, L. Lai, Chlorobenzylidene–calf thymus DNA interaction II: circular dichroism and nuclear magnetic resonance studies, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 60 (2004) 2985–2992.
- [14] R.A. Hutchins, J.M. Crenshaw, D.E. Graves, W.A. Denny, Influence of substituent modifications on DNA binding energetics of acridine-based anticancer agents, *Biochemistry*. 42 (2003) 13754–13761.

Chap. I: Bibliographie

Les bases de Schiff dérivées de la quinoléine jouent un rôle important dans différents domaines de la chimie. En effet, des efforts considérables ont été déployés pour développer les méthodes de synthèse de ces composés, qui ont suscité, pendant très longtemps une attention très particulière chez beaucoup de chercheurs en se basant sur leur importance pas seulement dans les domaines biologiques, médicaux et pharmaceutiques, mais aussi dans le traitement des eaux, la protection de l'environnement et la lutte contre la corrosion.

Dans ce chapitre nous exposerons un rappel bibliographique portant essentiellement sur les bases de Schiff et les dérivés de la quinoléine; puis une présentation générale relative aux agents antioxydants, antiinflammatoires, antibactériens et antifongiques et des généralités sur l'ADN et les protéines, suivi d'un bref rappel bibliographique sur l'intérêt biologique des bases de Schiff dérivées de la quinoléine.

I.1. Les bases de Schiff dérivées d'amino quinoléine

I.1.1. Les bases de Schiff

Les bases de Schiff nommées d'après leur inventeur Hugo Schiff qui fut le premier chimiste à synthétiser ce type de composés en 1864 [1]. On appelle base de Schiff, tout produit comportant une double liaison C=N. Elles sont obtenues par condensation d'un aldéhyde ou d'une cétone sur une amine primaire:

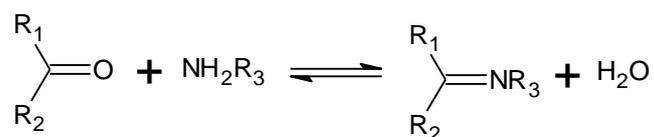


Schéma I. 1. Réaction de synthèse des bases de Schiff

I.1.2. Domaines d'application des bases de Schiff

Le champ d'application des bases de Schiff est extrêmement vaste et touche l'ensemble des aspects de la vie de tous les jours à savoir, la chimie, l'industrie pharmaceutique, la médecine ainsi que la biologie. Ces applications ne sont pas limitées à l'échelle de laboratoire, mais elles ont été extrapolées à l'échelle

industrielle, faisant partie des systèmes innovants les plus exploités dans le domaine de la recherche.

En biologie, de nombreux travaux récemment réalisés sur les bases de Schiff ont mis en exergue pour ces systèmes, d'excellentes propriétés antifongiques, antibactériennes, antipaludiques, antiprolifératives, antiinflammatoires, anticancéreuse, cytotoxique, antivirales et antipyrétiques [2,3].

Dans le domaine de la synthèse chimique, elles sont souvent employées comme intermédiaires réactionnels et leurs complexes métalliques comme catalyseurs dans plusieurs types de réactions telles que les réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse [4].

Dans la chimie analytique, les bases de Schiff servent à travers les titrages et précipitations, à séparer certains ions métalliques présents dans un mélange[5].

Dans l'inhibition de la corrosion, ces systèmes ont fait l'objet de nombreuses études et acquièrent actuellement une importance primordiale, tant sur le plan de la recherche que sur le plan industriel. Ainsi, leurs propriétés inhibitrices de corrosion ont été testées vis-à-vis de plusieurs matériaux tels que l'acier, le cuivre, l'aluminium et le Zinc [6–8].

I.1.3. Les quinoléines

La quinoléine est une base organique ayant une formule brute C_9H_7N , elle résulte de la juxtaposition d'un noyau pyridinique et d'un noyau benzénique. La quinoléine fut obtenue, pour la première fois, par F. Runge en 1834 à partir de goudron de houille, sa structure chimique a été connue en 1908 et sa synthèse réalisée en 1944. Elle constitue le motif hétérocyclique structural d'un grand nombre de molécules présentant des propriétés pharmacologiques, et qui ont trouvé leur utilisation dans le domaine thérapeutique. Ces molécules peuvent être issues d'origine végétale, microbien, animal ou d'origine synthétiques [9].

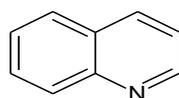


Schéma I. 2. Structure du noyau quinoléine

I.1.4. Domaines d'application des dérivés de la quinoléine

L'intérêt que présente la quinoléine résulte du fait que cette molécule constitue d'excellent précurseur dans la synthèse de nouveaux composés hétérocycliques susceptibles de présenter des propriétés biologiques intéressantes [10].

Certains dérivés naturels de la quinoléine ont montré un profil pharmacologique favorable et un pouvoir bactéricide confirmé sur des souches sensibles. Ces dérivés ont été largement étudiés dans différents domaines de la chimie, y compris les industries chimiques et pharmaceutiques. Ils présentent diverses activités biologiques, relatives au traitement de la malaria, des maladies cardiovasculaires, antifongiques, antibiotiques, antitumorales, antimicrobiennes. Ils sont également utilisés comme des inhibiteurs de corrosion [11].

Les dérivés de la quinoléine sont également utilisés dans le domaine de l'industrie, comme cellules photovoltaïques, ainsi que comme solvants pour les terpènes et les résines. En outre, les colorants à base de quinoléine telle que l'iodure d'éthyle rouge et le pinacyanol, ont été utilisés depuis le début du XIXe siècle dans des plaques photographique [12].

I.2. Activité antioxydante

I.2.1. Le stress oxydant

Des composés à fort potentiel oxydant, sont produits constamment en situation physiologique au sein de l'organisme. Il se met alors en place un système antioxydant. En situation normale, la balance antioxydant /oxydant est équilibrée. Mais l'organisme peut être confronté à une surexposition à des composés oxydants lorsque la production endogène d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) devient excessive ou suite à l'exposition à un phénomène toxique exogène.

Lorsqu'un déséquilibre intervient (par génération excessive des oxydants ou par carence d'apport et/ou de production d'antioxydants), on parle de stress oxydatif ou stress oxydant [13].

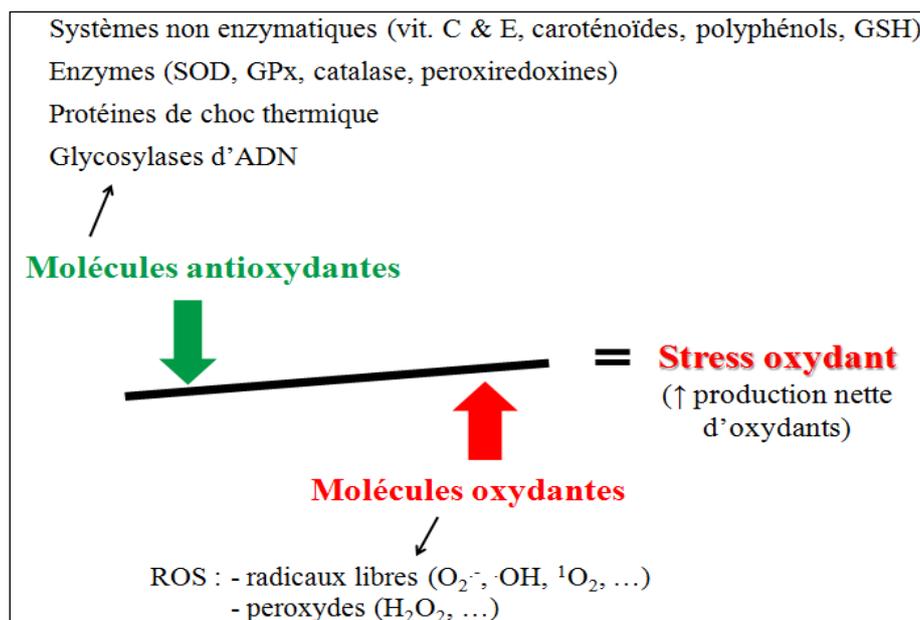


Figure I. 1. Balance radicalaire libre /antioxydants

I.2.2. Radicaux libres

Les radicaux libres RL sont des espèces chimiques possédant, sur leur couche périphérique, un ou plusieurs électrons célibataires, ce qui leur confère une grande instabilité et une forte réactivité [14,15]. Les espèces radicalaires vont tenter de rattraper leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron [16]. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour des radicaux libres et commencent une chaîne des réactions [17]. A des concentrations physiologiques, les RL jouent un rôle dans le maintien d'un statut redox cellulaire normal, les fonctions tissulaires et les processus de signalisation intracellulaire [18,19]. Par contre, une production excessive des RL induit la mort cellulaire et l'apoptose [20].

I.2.2.1. Formes des radicaux libres

Dans les cellules, il convient de distinguer les radicaux primaires qui jouent un rôle particulier en physiologie. Les autres, dits radicaux secondaires, se génèrent par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [13]. Plus récemment, certains auteurs ont parlé de RONS (Reactive Oxygen and Nitrogen Species) au lieu de ROS pour désigner l'ensemble des espèces réactives oxydantes radicalaires ou non radicalaires. Les principales RONS peuvent être produites par le

métabolisme cellulaire normal et/ou pathologique, ou par exposition environnementale (tabagisme, ozone, alimentation ...) [21,22]

Tableau I. 1. Principales espèces réactives générées dans les systèmes biologiques (RONS) [13]

Nom	Symbole
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet -}$
Hydroxyle	OH^{\bullet}
Radical alkoxy	RO^{\bullet}
Radical peroxy	ROO
Monoxyde d'azote	NO^{\bullet}

1.2.2.2. Les sources des radicaux libres

- **Les sources exogènes**

Les facteurs exogènes majoritairement liés à l'environnement ou au mode de vie sont également à l'origine d'une augmentation du stress oxydant dans l'organisme par l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme.

Ces facteurs environnementaux incluant les agents exogènes (toxines, pesticides, herbicides, métaux lourds, fumée de cigarettes), et les composés induits par la prise de certains médicaments, par les rayonnements UV ou lors d'un coup de chaleur [23,24].

- **Les sources endogènes**

La production des ERO dans les cellules des mammifères découle de plusieurs réactions engagées dans les mécanismes physiologiques, (respiration mitochondriale), dans les mécanismes pathologiques (inflammation, infection) et les allergies [25].

- **Les ions métalliques**

Les ions métalliques, comme le fer et le cuivre sous leurs formes réduites, sont des remarquables promoteurs de processus radicalaires *in vitro* : ils transforment l' H_2O_2 en OH^{\bullet} par la réaction de Fenton [26,27].

1.2.3. Les pathologies liées au stress oxydant

Lors d'un stress oxydant, les RL non détoxiqués par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines et l'acide désoxyribonucléique. L'oxydation des lipides et celle de l'ADN via la formation de dérivés toxiques de l'oxygène sont respectivement impliquées dans le développement de maladies cardiovasculaires et du cancer [28]. Les protéines sont aussi sensibles aux attaques radicalaires. Les enzymes cellulaires et les protéines oxydées vont être inactivées et par conséquent elles perdent leurs propriétés biologiques, et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases [29,30]. Un stress oxydatif est souvent associé à toutes sortes de maladies, mais il n'est pas toujours facile de déterminer s'il s'agit d'une cause ou une conséquence de l'état observé. L'arthrose, la polyarthrite rhumatoïde, l'inflammation sont de plus en plus établies [31].

1.2.2. Les systèmes de défenses antioxydants

Les antioxydants sont définis comme toute substance capable de ralentir ou inhiber le phénomène d'oxydation du substrat oxydable [32,33]. Un antioxydant idéal devrait être aisément absorbé et éteindre les RL, et chélate les métaux aux niveaux physiologiques appropriés.

1.2.2.1. Les sources des antioxydants

1.2.2.1.1. Les antioxydants enzymatiques

Des enzymes comme le superoxyde dismutase (SOD), le catalase (CAT), le glutathion peroxydase (GPx) et le glutathion réductase (GR) font partie du système endogène de défense contre les ROS [34].

1.2.2.1.2. Les antioxydants non enzymatiques

Les principaux antioxydants non enzymatiques sont la vitamine C, le glutathion, les tocophérols, la vitamine A, les thiols, les polyphénols et les caroténoïdes [35].

1.2.2.1.3. Antioxydants synthétiques

Le 3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène (BHT 321), le 3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole (BHA 320), les esters de l'acide gallique sont des antioxydants

solubles dans les lipides. Le BHA et le BHT sont fréquemment employés comme conservateurs dans les produits alimentaires et cosmétiques pour protéger les lipides du rancissement.

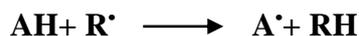
1.2.2.2. Mécanismes d'antioxydation

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

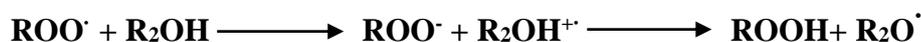
1.2.2.2.1. Les antioxydants secondaires ou préventifs : qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres.

1.2.2.2.2. Les antioxydants radicalaires « chain breaking » : ils peuvent agir selon deux mécanismes :

- Hydrogen atom transfert (HAT) : l'antioxydant (AH) réagit avec le radical libre (R[•]) en lui transférant un atome d'hydrogène. Les composés phénoliques et les flavonoïdes entrent dans cette classification car ils donnent des ions hydrogène tout en conservant une structure stable [36]. Le radical A[•] est généralement stabilisé par plusieurs facteurs tels que les effets de résonance, la conjugaison, et des liaisons hydrogènes [37].



- Single electron transfert (ET) : l'antioxydant inhibe la propagation du radical peroxy par transfert d'atomes d'hydrogène, suivi d'un transfert d'électrons [38].



I.2. Activité antiinflammatoire

I.2.1. Inflammation

L'inflammation ou réaction inflammatoire est l'ensemble des mécanismes réactionnels de défense par lesquels l'organisme reconnaît, détruit et élimine toutes les substances qui lui sont étrangères. L'inflammation est un processus habituellement

bénéfique, son but est de mobiliser le système immunitaire afin d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires [39].

1.2.2. Types d'inflammation

L'inflammation est classée en deux catégories selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires.

1.2.2.1. L'inflammation aiguë

Il s'agit d'une réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), caractérisée par quatre signes cardinaux: rougeur et gonflement avec chaleur et douleur. L'inflammation aiguë est divisée en trois phases : phase vasculaire, phase cellulaire et phase de résolution et de cicatrisation [40].

1.2.2.2. L'inflammation chronique

La persistance de la réaction inflammatoire et la perturbation de son contrôle physiologique conduisent à la chronicité de l'inflammation [40]. Elle est également provoquée par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise, dans de nombreux cas, elle peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années)[41].

1.2.3. Les antiinflammatoires

Les antiinflammatoires sont des médicaments qui antagonisent les processus inflammatoires [42]. Il existe deux grands types d'antiinflammatoires : les antiinflammatoires stéroïdiens (AIS); les antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS).

1.2.3.1. Les antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les antiinflammatoires non stéroïdiens sont des médicaments largement utilisés, ils ont des effets analgésiques, antipyrétiques et antiinflammatoires, cette classe est très vaste, elle comprend:

- les dérivés salicylés: comme l'Aspirine (acide acétylsalicylique).

- les dérivés de l'acide propionique et de l'acide butyrique: comme l'Ibuprofène, Naproxen et Kétoprofène.
- les dérivés de l'acide anthranilique ou fénamates: Diclofénac, l'Acide méfénamique et l'Acide niflumique.

1.2.3.1.1. Mécanisme d'action des antiinflammatoires non stéroïdiens

Les antiinflammatoires non stéroïdiens présentent une grande hétérogénéité chimique mais ils ont en commun l'inhibition non sélective de l'enzyme cyclooxygénase (COX), enzyme clé de la biosynthèse de la prostaglandine [43]. Cette COX existe sous deux isoformes dont chacune à ses spécificités, la COX-1 et COX-2. La COX-1 est plutôt impliquée dans les phénomènes plaquettaires et stomacaux; alors que la COX-2 est spécifiquement exprimée dans les cellules inflammatoires et implique des réponses inflammatoires aiguës et chroniques [44].

1.2.3.2. Les antiinflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les AIS ou glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés des hormones stéroïdiennes de la corticosurrénale, cortisol et cortisone. Ils sont employés dans le domaine médical pour le traitement des maladies inflammatoires chroniques telles que l'arthrite rhumatoïde et les maladies autoimmunes [45]. L'hypertension artérielle et l'ulcère gastroduodénaux sont les effets indésirables les plus associés à l'usage prolongé des antiinflammatoires stéroïdiens[46,47].

1.2.3.2.1. Mécanisme d'action des antiinflammatoires stéroïdiens

- **Régulation:** les antiinflammatoires stéroïdiens agissent en modulant l'expression génique d'un certain nombre de protéines impliquées dans la réaction inflammatoire. Cette action passe par la fixation au récepteur des glucocorticoïdes endogènes. Il se produit alors une production accrue de protéines antiinflammatoires comme la lipocortine-1, l'interleukine IL-10 [48].
- **Inhibition de l'acide arachidonique:** par la synthèse de lipocortine-1 qui possède une activité antiphospholipase A2, ils empêchent la libération de l'acide arachidonique précurseur des prostaglandines [49].

I.3. Activité antimicrobienne

Les maladies infectieuses, provoquées par les virus, les bactéries et les eucaryotes parasites, constituent un problème de santé publique qui se présente, depuis ces dernières années, avec une ampleur et des caractéristiques nouvelles. L'hygiène et les antibiotiques ont constitué des armes d'une remarquable efficacité dans la maîtrise de ces maladies infectieuses.

I.3.1. Activité antibactérienne

I.3.1.1. Les antibiotiques

Un antibiotique est une substance antibactérienne produite par des microorganismes (champignons, bactéries) ou de synthèse chimique capable d'inhiber la multiplication ou détruire les microorganismes. Les antibiotiques peuvent être classés selon l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'activité [50].

I.3.1.2. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie.

- **Action sur la paroi bactérienne**

La paroi est l'enveloppe externe de la cellule bactérienne qui joue un rôle important dans la protection des bactéries de l'environnement extérieur, ceci grâce à la présence d'une substance complexe appelée « peptidoglycane ». Il existe un ensemble d'antibiotiques qui altèrent la structure des bactéries en inhibant la formation de leur paroi: cas des β -lactames et des glycopeptides, qui bloquent différentes étapes de la voie de synthèse du peptidoglycane [51].

- **Destruction de la membrane cellulaire**

Ces antibiotiques altèrent la membrane cytoplasmique en agissant comme des détergents cationiques. Ils se fixent aux phospholipides de la membrane cytoplasmique et entraînent des troubles de perméabilité. Il en résulte une rupture de

l'équilibre osmotique de la cellule bactérienne et un rélargage dans le milieu extérieur des constituants intracellulaires; ce qui entraîne la mort de la bactérie [52].

- **Inhibition de la synthèse protéique**

Ces antibiotiques ont pour cible le ribosome bactérien, ils perturbent la lecture du code lors de la synthèse des protéines. Il en résulte une altération de la synthèse protéique, soit en inhibant la traduction, soit en induisant des erreurs de lecture du code génétique, ce qui entraîne la synthèse de protéines anormales incompatibles avec la vie de la cellule bactérienne [53].

- **Inhibition de la synthèse des acides nucléiques**

La synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) peut aussi être perturbée par les antibiotiques: cas des sulfamides, dutriméthoprine, des quinolones, des rifamycines et des nitroimidazoles [54].

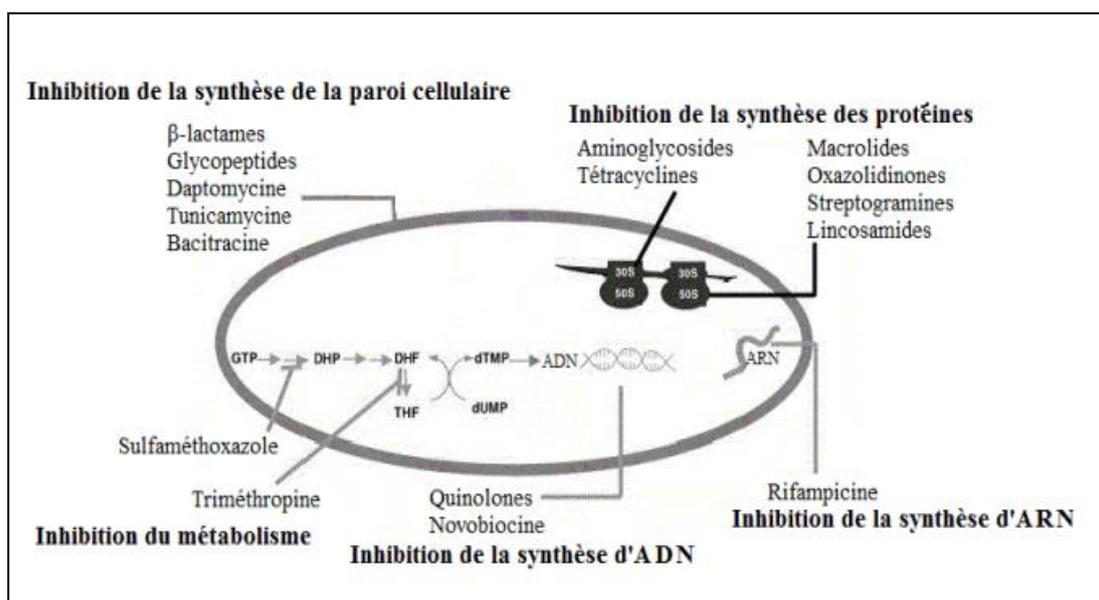


Figure I. 2. Mode d'action des antibiotiques; DHP: dihydroptéroate; DHF: dihydrofolate; THF: tétrahydrofolate [55]

I.3.1.3. Résistance bactériennes aux antibiotiques

- **La résistance naturelle**

On parle de résistance naturelle ou intrinsèque lorsque toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre bactérien sont résistantes à un antibiotique. Des

particularités structurales de la paroi cellulaire, empêchant les antibiotiques d'accéder à leur cible, ou l'absence de cible sont autant de facteurs, qui conditionnent la résistance naturelle. La résistance naturelle fait partie du patrimoine génétique habituel de l'espèce bactérienne [56].

- **La résistance acquise**

La résistance acquise correspond à l'acquisition de la résistance par une souche normalement sensible. Cette résistance peut être acquise par mutation chromosomique ou par transfert de gènes. La résistance par mutation chromosomique est due à une altération de l'information génétique endogène. Les antibiotiques permettent aux mutants résistants de se multiplier plus facilement. La cause principale de l'extension des résistances aux antibiotiques est leur prescription à grande échelle en thérapeutique humaine. La résistance par acquisition de gène est due à la transmission d'éléments génétique mobiles exogènes comme les plasmides et les transposons par transduction, conjugaison ou transformation [57,58].

I.3.2. Activité antifongique

I.3.2.1. Les antifongiques

Les antifongiques sont des molécules capables de détruire spécifiquement les différents champignons impliqués en mycologie médicale (fongicide), ou au moins de réduire leur prolifération (fongistatique)[59]. Il n'existe actuellement que quatre classes d'antifongiques du fait que les champignons étant des cellules eucaryotes, leur structure est relativement proche des cellules humaines comparativement à celle des bactéries.

I.3.2.2. Cibles des antifongiques

Les cibles des antifongiques sont essentiellement l'ergostérol de la membrane plasmique du champignon pour les polyènes et les azolés, le métabolisme pyrimidique pour la 5-flucytosines, et la paroi pour les échinocandines.

- **L'ergostérol membranaire**

Les antifongiques azolés ont pour cible la voie de biosynthèse de l'ergostérol, principal composant de la membrane fongique. Ils inhibent la synthèse de l'ergostérol

empêchant la constitution d'une membrane plasmique fonctionnelle. Les polyènes interagissent directement avec l'ergostérol en formant des pores qui provoquent la fuite de matériel cytoplasmique à travers la membrane de la levure [60,61].

- **La paroi cellulaire fongique**

La paroi fongique est la cible privilégiée des échinocandines. Ces antifongiques sont des inhibiteurs non compétitifs de la $\beta(1-3)$ glucane synthétase, le blocage de cette enzyme entraîne une fuite des composants intracellulaires, aboutissant à la lyse de la cellule fongique[62,63].

- **Le métabolisme pyrimidique**

Les analogues structuraux nucléosidiques tels que la flucytosine inhibent la biosynthèse d'ADN ou interfèrent avec la traduction des ARNm en protéines fongiques [64,65].

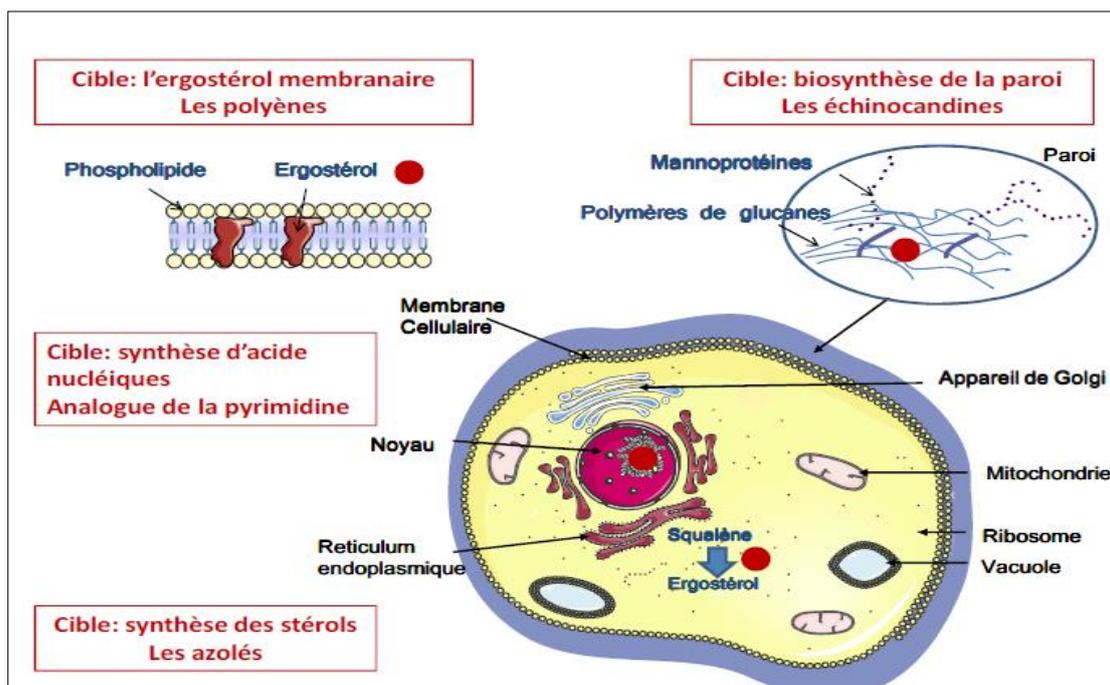


Figure I. 3. Cibles des principaux antifongiques [66]

I.3.2.3. Mécanismes de la résistance aux antifongiques

Il existe deux types de résistances chez les champignons [67]:

- **La résistance intrinsèque:** naturellement présente chez toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre.

- **La résistance acquise:** induite par une sélection de mutants résistants après l'exposition à l'antifongique.

I.4. ADN (Acide Désoxyribonucléique)

I.4.1. Définition

L'acide désoxyribonucléique ou ADN est une biomacromolécule qui contient toutes les informations génétiques pour la fonction cellulaire, composé de deux brins antiparallèles qui s'enroulent l'un autour de l'autre pour former une hélice droite. Chaque brin consiste en une chaîne de polymère de sucres cycliques appelés deoxyriboses reliés par des ponts phosphodiester. La liaison s'effectue sur le carbone 3' d'un sucre et le carbone 5' du suivant. Il existe quatre groupements chimiques capables d'assurer une liaison entre les deux squelettes sucre-phosphate : l'adénine (A), la guanine (G), la cytosine (C) et la thymine (T). Ces groupements, qui sont reliés au squelette par le carbone 1', interagissent par paires en formant deux (A-T) ou trois (G-C) liaisons hydrogène [68].

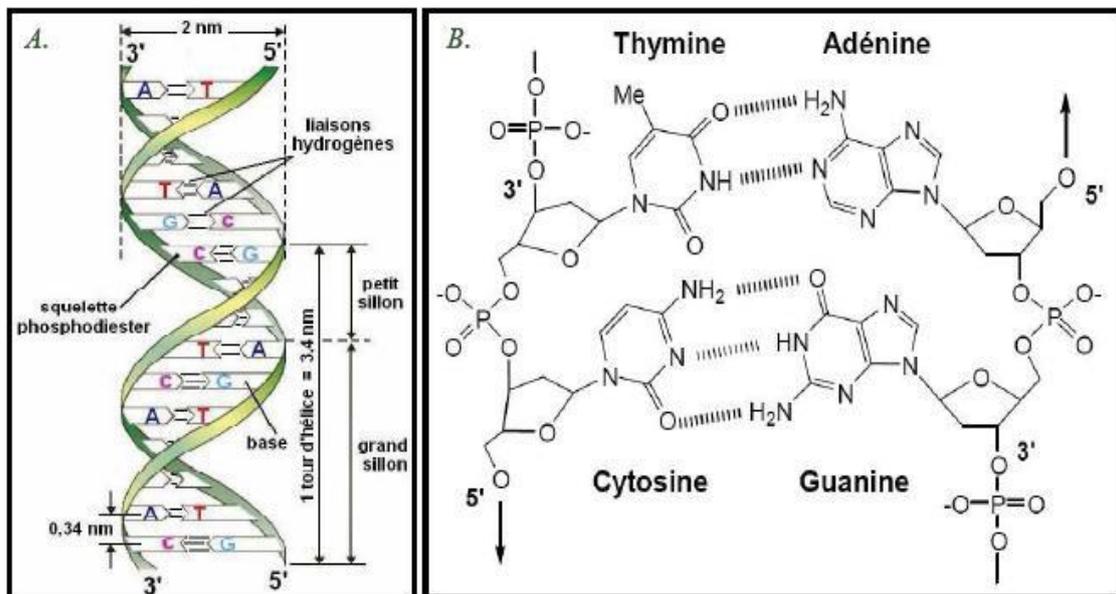


Figure I. 4. Structure de l'ADN [69]

I.4.2. Rôles biologiques

L'ADN joue un rôle central dans la vie cellulaire. En effet, il est le détenteur de l'information génétique qui permet à la cellule de synthétiser continuellement ses protéines, sa réplication qui assure la transmission du message génétique au cours des

génération cellulaires. Les études menées sur le mécanisme de liaison de certaines molécules avec de l'ADN ont permis de bien élucider les propriétés structurales de l'ADN, la mutation des gènes, l'origine de certaines maladies, le mécanisme d'action de certains médicaments anticancéreux et antiviraux, par conséquent, de concevoir de nouveaux médicaments plus efficaces ciblant l'ADN pour traiter les maladies génétiques [70].

I.4.3. Caractéristiques de l'acide désoxyribonucléique

I.4.3.1. Instabilité chimique d'ADN

Les acides nucléiques se décomposent spontanément en solution, la présence du 2-désoxyribose rend la liaison N-glycosidique fragile à l'hydrolyse, particulièrement celle des purines qui est 20 fois plus instable que celle des pyrimidines. Les fonctions amine exocycliques des bases peuvent être sujettes à des réactions d'hydrolyse à température et à pH physiologiques. Ces réactions peuvent y avoir des conséquences délétères pour la cellule, en effet l'appariement des bases désaminées est différent de celui des précurseurs et la réplication des bases induit des mutations [71].

I.4.3.2. Spectres UV des bases nucléiques

La majorité des molécules biologiques contenant des noyaux aromatiques absorbent préférentiellement dans l'UV et la lumière visible (l'ADN et les protéines comme la mélanine). Les zones d'absorption des quatre bases constituant la molécule d'ADN s'étalent de 240 à 280 nm, les acides nucléiques formés de ces nucléotides ont un maximum d'absorption à 260 nm. Ces propriétés spectrales sont utilisées pour la détection, le dosage et le contrôle de pureté des acides nucléiques [72].

I.4.3.3. Dénaturation thermique de l'ADN

La dénaturation thermique de l'ADN correspond au fait que l'ADN est à moitié déroulé lorsqu'il est soumis à une température dite de fusion ou T_m (melting temperature) [73]. Lorsque la température atteint 95°C, toutes les liaisons hydrogène H sont rompues et la dénaturation de l'ADN est complète. Les régions riches en guanine (G) et cytosine (C) forment des doubles hélices plus stables que les régions riches en adénine (A) et thymine (T) ; en conséquence, l'ADN riche en GC a une température de fusion plus élevée que l'ADN riche en AT [74].

I.4.4. Dommage de l'ADN par le stress oxydatif

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène. Cinq classes principales de dommages oxydatifs médiés par OH^\bullet peuvent être générées. Parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intracaténaires, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines. Dans certains cas, les lésions non réparées vont perturber les mécanismes de réplication de l'ADN et entraîner soit une impossibilité de copie de l'ADN qui aboutira à la mise en route du suicide programmé des cellules par un mécanisme appelé apoptose, soit des erreurs de lecture et de synthèse aboutissant à une mutation dans le génome souvent observé spontanément dans les cellules cancéreuses[75,76].

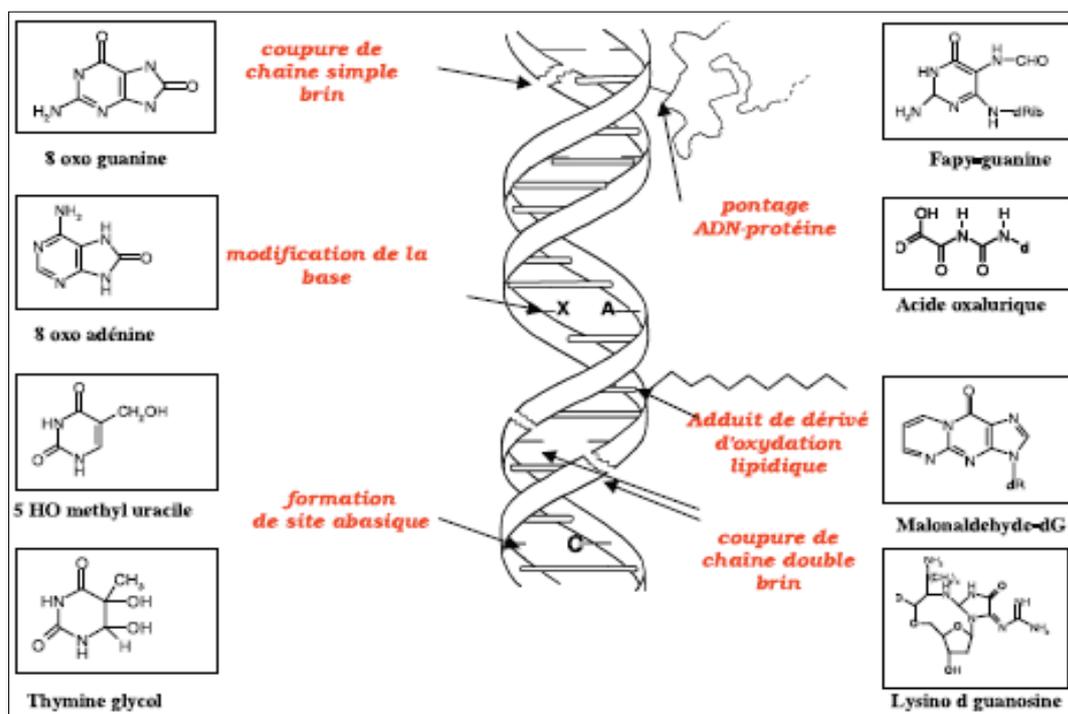


Figure I. 5. Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules [75]

1.4.5. Interaction de l'ADN avec les molécules organiques

L'étude de l'association des composés avec la double hélice permet de mieux comprendre le mode d'action des drogues afin d'améliorer leur efficacité. L'ADN offre

de nombreux sites de liaison en raison de sa taille et de sa complexité. Les molécules organiques sont capables de se lier à l'ADN par plusieurs modes d'interaction [77,78].

I.4.5.1. Interaction covalente avec l'ADN

Ce mode d'interaction implique la formation d'une liaison covalente entre l'agent alkylant et les bases d'ADN. Les sites de liaison préférés sont: les positions N1 et N7 de l'adénine, la position N3 de la cytosine et la position N7 de la guanine.

I.4.5.2. Interaction non covalente avec l'ADN

A. Interaction électrostatique

Le squelette de l'hélice de l'ADN chargé négativement interagit avec les molécules organométalliques chargées positivement par des interactions coulombiennes ou par une liaison phosphate-oxygène.

B. Groove binding

Certaines molécules possédant des cycles aromatiques, tels que le pyrrole, le furane ou benzène peuvent se lier au petit sillon de l'ADN, en formant des liaisons hydrogène avec les bases, généralement avec l'azote N3 de l'adénine et l'O₂ de la thymine. Ces interactions sont le plus souvent spécifiques des régions riches en AT.

C. Liaison d'intercalation

Ce sont des molécules polycycliques planes, qui inhibent la réplication de l'ADN en s'intercalant entre deux paires de bases de la double hélice d'ADN. L'intercalation provoque un changement de la structure d'ADN inhibant le procédé de transcription et réplication.

D. Rupture des brins

Ce type d'interaction correspond à une forte modification de la structure d'ADN avec une rupture des liaisons hydrogènes entre les bases, le médicament prend la place de la base éjectée dans la structure du double brin.

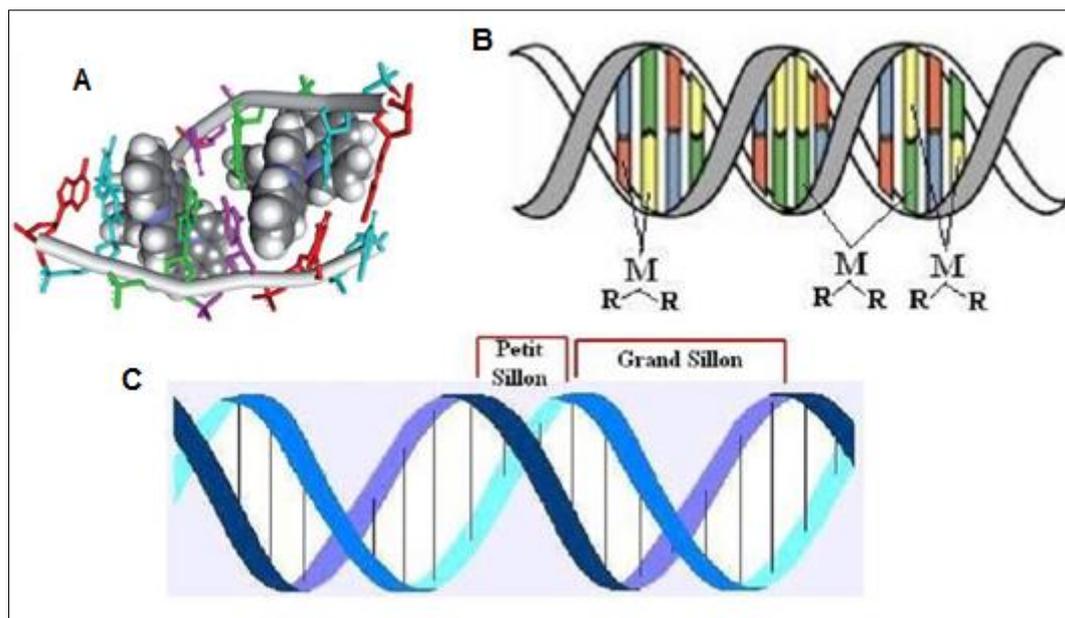


Figure I. 6. (A) liaison d'intercalation, (B) interaction covalente avec l'ADN, (C) groove binding [79]

I.5. Les protéines globulaires

L'albumine est une protéine de transport capable d'interagir avec une quantité de ligands endogènes et exogènes. Elle peut modifier fortement les propriétés pharmacocinétiques d'une drogue, comme sa solubilité, sa métabolisation et sa distribution corporelle [80,81]. L'étude de l'interaction entre une drogue et la HSA est capitale pour évaluer son comportement in vivo. L'albumine du sérum bovin (BSA) est communément utilisée comme protéine modèle en raison de sa forte similarité structurelle avec l'albumine sérique humaine (HSA), de son faible coût et de sa disponibilité [82].

I.5.1. Structure de la BSA

La BSA est une protéine globulaire constituée de 583 acides aminés avec un poids moléculaire de 66200 Da. Elle présente une structure primaire en forme de cœur. La BSA est composée de trois domaines structurellement similaires (I, II et III), chacun étant lui-même divisé en deux sous-domaines A et B. La structure cristalline de la BSA indique que l'attache spécifique des ligands par la protéine provient de la

présence des sites de liaison sélectifs de ligands nommés: site I et II localisés sur les sous-domaines IIA et IIIA respectivement [83,84].

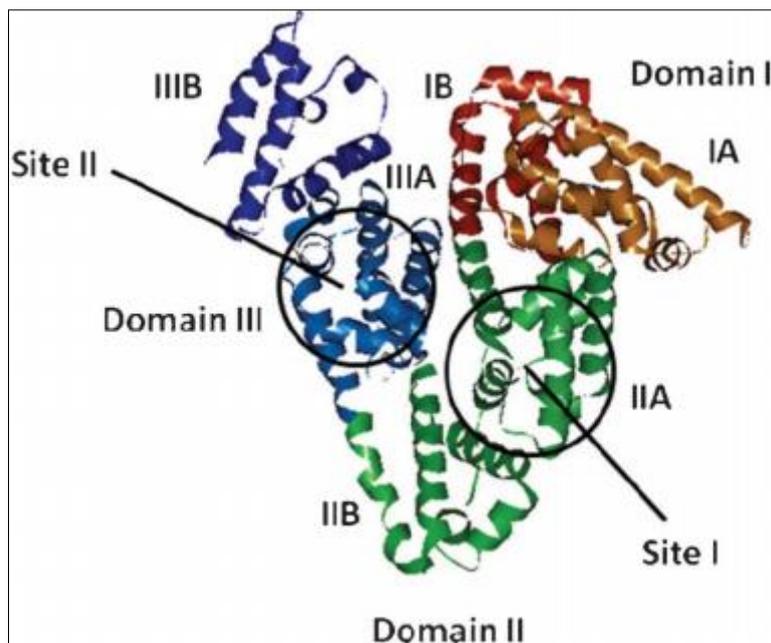


Figure I. 7. Représentation de la structure du BSA indiquant les domaines et les sites de liaison [84]

I.5.2. Nature de l'interaction

Les protéines sont caractérisées par leur aptitude à former des associations réversibles par des liaisons non covalentes avec un nombre de molécules organiques de petite ou de grande taille [85].

I.5.2.1. Liaisons hydrogènes

La liaison hydrogène met en jeu un atome d'hydrogène, lié à un atome donneur de liaison hydrogène tel qu'un atome oxygène, un azote ou l'hydrogène, et un hétéroatome polarisable que l'on nommera accepteur H.

I.5.2.2. Interaction ionique

Les interactions ioniques résultent d'une force d'attractions électrostatiques entre deux atomes de charges opposées.

I.5.2.3. Interaction aromatique

Les interactions aromatiques sont des exemples typiques d'interactions des groupements hydrophobes qui peuvent se produire entre le noyau aromatique du ligand et de la protéine.

I.6. Intérêt biologique des bases de Schiff et des dérivés de la quinoléine

Les composés organiques de type base de Schiff constituent des systèmes dont l'importance et l'efficacité thérapeutique en tant qu'agents antiviraux et anticancéreux demeurent avérés.

I.6.1. Exemples d'activités spécifiques de quelques bases de Schiff

Dans ce qui suit, nous citons quelques travaux les plus récents, ayant porté sur l'élaboration de bases de Schiff et sur la mise en évidence de leurs propriétés bioactives.

Ejidike P et coll. ont décrit en 2015 la mise au point d'une série de base de Schiff tétradentée et leurs complexe de Ruthenium(III), dotée de vertus thérapeutiques intéressantes. Ceux -ci ont en effet révélé une bonne activité antioxydante envers le radical DPPH, avec une IC_{50} comprise entre 0.055 et 0.067 mg/ml comparable à celle de l'acide ascorbique et la rutine. Les complexes ont présenté également un effet antiprolifératif *in vitro* faible à modéré contre lignées de cellules tumorales sélectionnées [86].

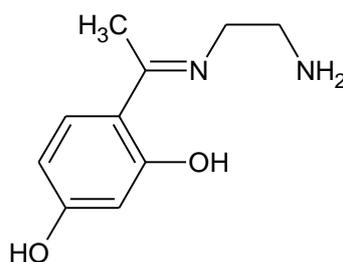


Schéma I. 3. Base de Schiff tétradentée à vertus thérapeutiques multiples

Rehman et coll. ont réussi à inhiber la croissance de certains champignons affectant la production de la plupart des cultures de crucifères (brocoli, chou-fleur, navet etc.), par utilisation des vertus antimicrobiennes d'une base de Schiff de type *N*-(salicylidène)-2-hydroxyaniline. Le taux d'inhibition s'est avéré atteindre 70% [87].

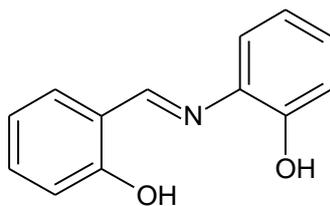


Schéma I. 4. Base de Schiff de type N-(salicylidène)-2-hydroxyaniline à effet antifongique

Durant l'année 2020, Eltayeb et coll. ont décrit la synthèse de deux bases de Schiff dérivées d'aryl-carbaldehyde et 4- aminoantipyrine. Ils ont ensuite évalué leurs activités antibactériennes *in vitro*, vis-à-vis des souches bactériennes diverses dont, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Le composé **3b** s'est avéré être plus actif que **3a** [88].

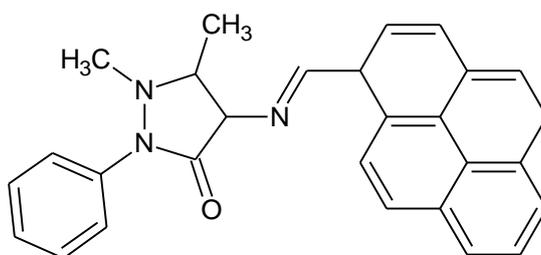


Schéma I. 5. Base de Schiff 3b à activité antibactérienne

Shabbir et coll. ont élaboré durant l'année 2016, une série bases de Schiff bidentate NO donneurs (HL₁-HL₄) et ont établi leurs interactions avec l'ADN électrochimiquement par voltampérométrie cyclique. Les constantes de liaison se sont avérées de l'ordre de 10⁴ L.mol⁻¹. Le déplacement du potentiel révèle l'interaction électrostatique entre les molécules étudiées et le squelette d'ADN chargé négativement [89].

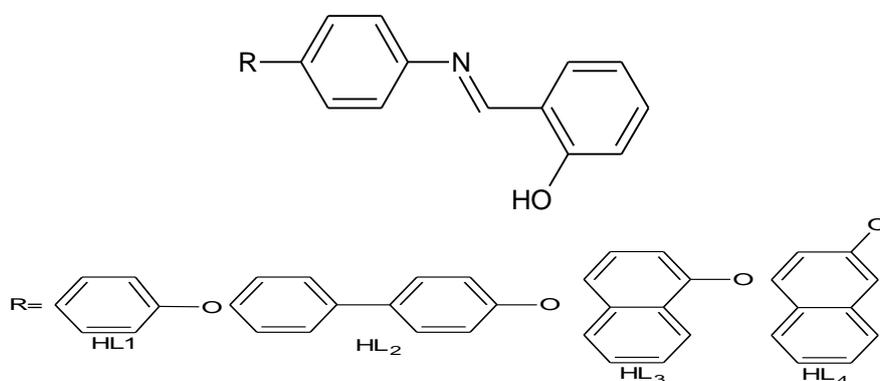


Schéma I. 6. Base de Schiff explorée par Shabbir et coll

Dans une autre étude, Ramadevi et coll. [90], ont synthétisé une série d'hydrazones isonicotinoyl et leurs complexes de Cu(II) (**L1–C8**). Ils ont ensuite évalué leurs interactions avec l'ADN et la BSA par différentes méthodes spectroscopiques. L'interaction des composés avec l'ADN et la BSA est étayée par les observations suivantes: des valeurs élevées des constantes de liaison k_b dans la gamme de $5,7 \times 10^4$ - $1,4 \times 10^4$ L.mol⁻¹ et une hypochromie des bandes d'absorption pour les composés L1-C8, une forte liaison des ligands avec la BSA avec des valeurs de K_{sv} dans la gamme de $1,79 \times 10^4$ - $4,3 \times 10^5$ M⁻¹.

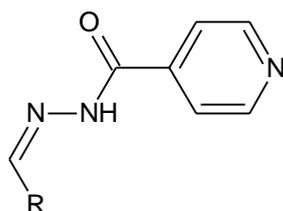


Schéma I. 7. Base de Schiff dérivée d'hydrazones isonicotinoyl, puissant liants d'ADN et BSA

I.6.2. Exemples d'activités spécifiques de quelques dérivés de la quinoléine

Parmi la grande variété de composés hétérocycliques qui ont été explorés pour le développement de nouvelles molécules bioactives, les quinoléines ont joué un rôle important dans la chimie médicinale au cours des dernières années. Nous proposons quelques exemples des activités des dérivés de la quinoléine.

Ma et coll. ont synthétisé des quinoléines substituées par des groupements phénoxy, phénylsulfanyl et benzyloxy avec une bonne activité antibactérienne [91].

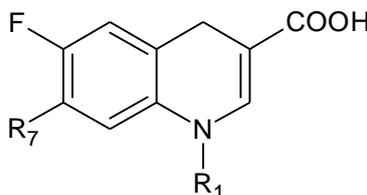


Schéma I. 8. Une quinoléine substituée à activité antibactérienne

En outre, Gholap et coll. ont préparé certaines tétrahydroquinoléines qui se sont révélées avoir un bon degré d'activité contre les champignons *Candida albican* et *Fusarium oxysporum* [92].

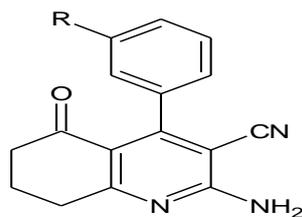


Schéma I. 9. Dérivé de la tétrahydroquinoléine

Dans une autre étude, Naik et son groupe ont mis au point deux nouvelles molécules benzo quinoléine. Ils ont ensuite évalué leur pouvoir antibactérien, antioxydant et leur capacité de former des adduits avec l'ADN. Le composé **4** a démontré la meilleure activité antibactérienne vis-à-vis des souches bactériennes testées. Un déplacement hypochrome de 20.5% et 25.1% est observé pour le composé 2-mercaptobenzo[h]quinoline-3-carbaldehyde (**3**) et 2-selenobenzo[h]quinoline-3-carbaldehyde (**4**), respectivement reflétant l'interaction intercalaire. L'activité antioxydante a été évaluée in vitro par plusieurs méthodes à savoir le pouvoir réducteur de fer, le piégeage du radical DPPH, l'anion superoxide et le peroxyde d'hydrogène. Les résultats ont révélé que les composés sont pourvus d'un pouvoir antioxydant significatif comparable à celui du BHT et BHA [93].

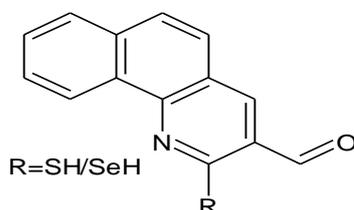


Schéma I. 10. Dérivé de la quinoléine exploré par Naik et son groupe

Sankaran et coll. ont par ailleurs élaboré durant l'année 2010 une nouvelle série de dérivés quinoléines, et les ont évaluées pour leur activité antioxydante en utilisant six méthodes différentes de piégeage des radicaux libres. Les résultats du piégeage du DPPH montrent que le composé 3-methylisoxazolo [4,5-c]quinoléine-4(5H)-one (**4d**) est le plus antioxydant avec une IC_{50} égale à 465.5 $\mu\text{g/ml}$ [94].

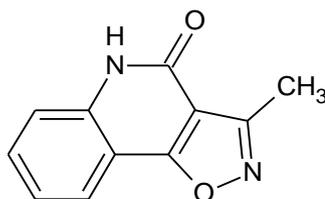


Schéma I. 11. La molécule **4d**, dérivée quinoléiques à activité antioxydante

I.6.3. Exemples d'activités spécifiques de quelques bases de Schiff dérivées de la quinoléine

Plusieurs laboratoires de recherche se sont intéressés actuellement, par la synthèse des nouvelles drogues possédant des activités biologiques potentielles par combinaison de deux pharmacophores. Ce procédé représente une nouvelle approche qui pourra permettre la conception de médicaments plus puissants avec une double activité [95]. En effet, l'administration d'un médicament composé d'un principe actif agissant sur plusieurs cibles est plus attractive du point de vue efficacité et économie que la combinaison de plusieurs médicaments.

Toute une bibliothèque de systèmes hétérocycliques bases de Schiff dérivées de la quinoléine d'origine synthétique ne cesse de s'enrichir chaque année. Les composés que nous représenterons dans ce qui suit ne constituent qu'une infime partie des dérivés actifs dans le domaine thérapeutique.

Maity et coll. ont synthétisé et évalué *in vitro* l'activité antimicrobienne et antioxydante d'une série de base de Schiff dérivées de 2-quinoléine-8-yloxy acetohydrazide. Les résultats obtenus indiquent que la majorité des molécules préparées sont actives, à l'échelle du microgramme, contre les microorganismes testés, ainsi, elles possèdent un pouvoir du piégeage du radical DPPH comparable à celui du standard; l'acide ascorbique [96].

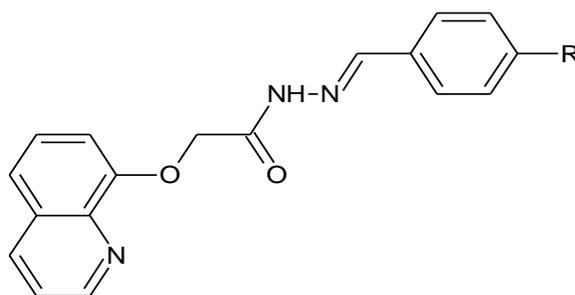


Schéma I. 12. Base Schiff dérivée de 2-quinoléine-8-yloxy acetohydrazide pourvus d'effet antimicrobien et antioxydant, R=H,2,4-Dihydroxy, 2-Nitro,4-Chloro, 4-Chloro-3-methoxy, 4-Hydroxy, 2-Hydroxy, 4-Methoxy, 4-Dimethylamino, 2,6- Dihydroxy.

En 2012, Desai et coll. ont décrit la synthèse d'une série de nouveaux composés hybrides quinoléine thiazole à partir de la 2-chloro-3-formylquinoléine. L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée sur plusieurs souches en

utilisant la *Gentamycine* et le *Nystatin* comme références. Les résultats obtenus ont montré que les composés **4d**, **4g**, **4h**, **4i** et **4l** sont modérément actifs contre *E. coli*, tandis que le composé **4h** possède l'activité la plus haute contre *P.aeruginosa* [97].

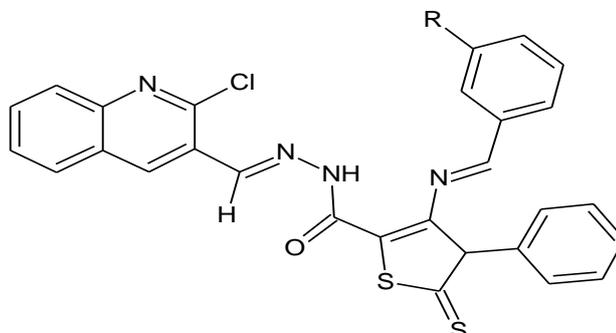


Schéma I. 13. Base de Schiff dérivée de la 2-chloro-3-formylquinoléine à effet antimicrobien ; **4d** (R=4-OH), **4g** (R= (3,4(O-CH₃)₂), **4h** (R=3,4,5-(OCH₃)₂), **4i** (R=4-CH₃), **4l** (R= 2-F)

De même, Dhumwad et coll. ont mis au point la synthèse d'une nouvelle série bases de Schiff dérivées de la 2-oxo-quinoléine, pourvues d'un degré moyen d'activité contre les bactéries Gram⁺ et Gram⁻, ces molécules possèdent également une activité contre les espèces fongiques testées [98].

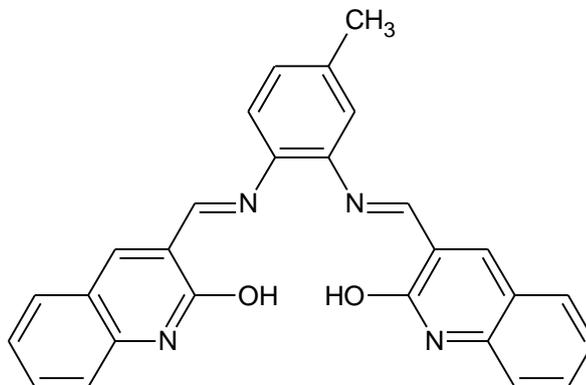


Schéma I. 14. Base de Schiff dérivée de la quinoléine pourvue d'activité antimicrobienne, R=H, NO₂

Dans le même cadre, des composés de structure 2-chloro-6-methyl quinoléine hydrazones synthétisés par Bawa et coll. ont montré que le maximum d'inhibition bactérienne est observé pour les composés substitués par le fluor, le chlore, le nitro ou par le 2,4 dichloro en position 4 du cycle benzène [99].

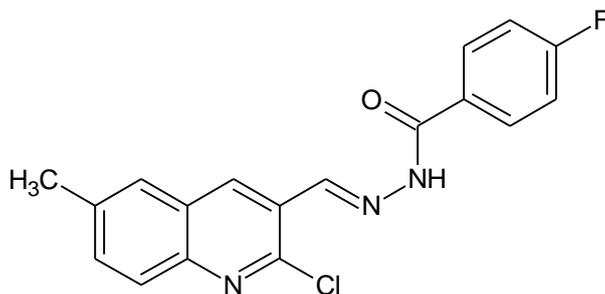


Schéma I. 15. Dérivé de la 2-chloro-6-méthyl quinoléine hydrazones exploré par Bawa et all

Récemment, des chercheurs chinois ont procédé à la synthèse et l'évaluation de l'interaction des bases de Schiff dérivées de 2-oxo-quinoline-3-carbaldehyde avec l'ADN par différentes méthodes spectroscopiques. Les résultats ont révélé que les composés étudiés interagissent avec l'ADN par intercalation ce qui suggère leur utilisation comme des médicaments anticancéreux [100].

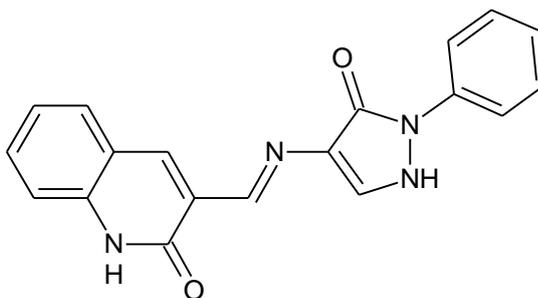


Schéma I. 16. Base de Schiff dérivée de la quinoléine, agent intercalant avec l'ADN

Encouragés par les activités anticancéreuses et antiinflammatoires expérimentalement prouvées des noyaux quinoléines, Dhumwad et coll. [101] ont rapporté la synthèse d'une série de nouveaux composés bases de Schiff et de leurs complexes à partir de la 3-formylquinoléine. Les résultats obtenus ont montré que les deux molécules synthétisées; 2-mercapto-3-formyl-quinoléine et 2-hydroxy-3-formyl-quinoléine possèdent une activité antiinflammatoire modérée par rapport au standard ; la Nimesulide.

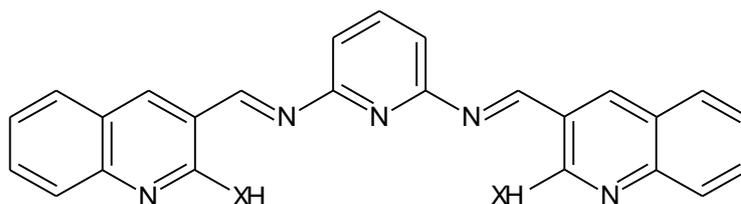


Schéma I. 17. Base de Schiff dérivée de la quinoléine à rôle antiinflammatoire

Intéressés par les propriétés pharmacologiques de ce type de composés, Liu et coll. ont synthétisé de nouveaux composés hybrides quinoléine hydrazone à partir de la 8-hydroxyquinoléine. L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée par plusieurs méthodes à savoir le piégeage du radical hydroxyle et superoxyde. Les résultats obtenus ont montré que tous les dérivés possèdent un pouvoir antiradicalaire puissant vis-à-vis des radicaux testés [102].

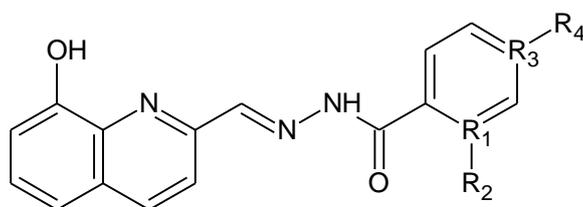


Schéma I. 18. Dérivé de la 8-hydroxyquinoléine antioxydant, (1a): R1=C, R2=H, R3=C, R4=H, (1b): R1=C, R2=OH, R3=C, R4=H, (1c): R1=C, R2=H, R3=C, R4=OH, (1d): R1=C, R2=H, R3=N

Des nouvelles molécules de structure 2-chloro quinoléine-3-carbaldehyde hydrazone préparées par Lamani et ces collaborateurs ont été évaluées pour leur pouvoir antimicrobien ainsi leur capacités de former des adduits avec l'ADN. Les résultats ont montré que ces molécules ont montré un degré d'activité in vitro significatif contre *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *A. niger* et *C. albicans*. Les constantes intrinsèques se sont avérées atteindre 2.3×10^3 L.mol⁻¹ pour 2-chloroquinoline-3-carbaldehyde [(2-hydroxy-1-naphthyl) méthylène] hydrazone (**2a**) et 2.5×10^4 L.mol⁻¹ pour 2-chloroquinoline-3-carbaldehyde [4-(diméthylamino) benzylidène] hydrazone (**3a**). Un effet hypochrome et bathochrome sont observés dans les spectres UV-vis des composés 2a et 3a ce qui reflète l'interaction intercalaire avec l'ADN [103].

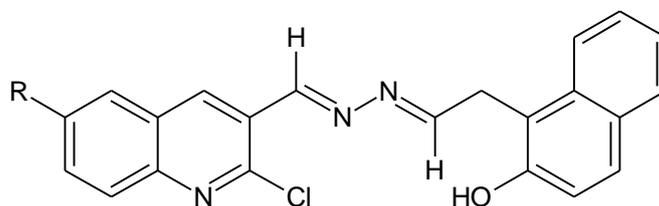


Schéma I. 19. Base de Schiff de structure 2-chloro quinoléine-3-carbaldehyde hydrazone explorée par Lamani et ces collaborateurs

En 2014, Maddela et coll. ont mis au point la synthèse d'une série de dix bases de Schiff dérivée de la quinoléine et ont évalué leurs pouvoirs

antimicrobiens et antioxydants. Les résultats ont révélé clairement que les composés substitués par des groupes attracteurs d'électrons sur le cycle aromatique sont pourvus d'activité plus importante que les composés non substitués [104].

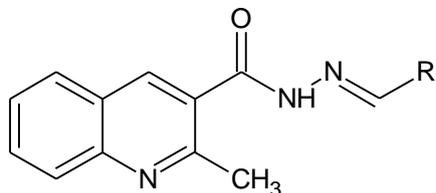


Schéma I. 20. Base de Schiff dérivée de la quinoléine, agent antimicrobien et antioxydant

Références bibliographiques

- [1] S. Dayagi, Y. Degani, *The Chemistry of the Carbon-Nitrogen Double Bond*, By S. Patai, Interscience Publishers, London. (1970) 81.
- [2] A. Prakash, D. Adhikari, Application of Schiff bases and their metal complexes-A Review, *Int. J. Chem. Tech. Res.* 3 (2011) 1891–1896.
- [3] P. Przybylski, A. Huczynski, K. Pyta, B. Brzezinski, F. Bartl, Biological properties of Schiff bases and azo derivatives of phenols, *Current Organic Chemistry.* 13 (2009) 124–148.
- [4] K. Nakajima, M. Kojima, K. Toriumi, K. Saito, J. Fujita, Crystal Structures of $[\text{VO}(\text{sal-L-ala})(\text{OCH}_3)(\text{CH}_3\text{OH})](\text{sal-L-ala}=\text{N-salicylidene-L-alaninate})$ and $\{[\text{VO}(\text{sal-L-ala})]_2\text{O}\} \cdot 2\text{CH}_2\text{Cl}_2$, and the Catalytic Activity of These and Related Complexes on Asymmetric Oxidation of Methyl Phenyl Sulfide with *t*-Butyl Hydroperoxide, *Bulletin of the Chemical Society of Japan.* 62 (1989) 760–767.
- [5] M. Orlandi, B. Rindone, G. Molteni, P. Rummakko, G. Brunow, Asymmetric biomimetic oxidations of phenols: the mechanism of the diastereo- and enantioselective synthesis of dehydrodiconiferyl ferulate (DDF) and dehydrodiconiferyl alcohol (DDA), *Tetrahedron.* 57 (2001) 371–378.
- [6] D. Daoud, T. Douadi, S. Issaadi, S. Chafaa, Adsorption and corrosion inhibition of new synthesized thiophene Schiff base on mild steel X52 in HCl and H₂SO₄ solutions, *Corrosion Science.* 79 (2014) 50–58.
- [7] H. Hamani, T. Douadi, M. Al-Noaimi, S. Issaadi, D. Daoud, S. Chafaa, Electrochemical and quantum chemical studies of some azomethine compounds as corrosion inhibitors for mild steel in 1 M hydrochloric acid, *Corrosion Science.* 88 (2014) 234–245.
- [8] D. Daoud, T. Douadi, H. Hamani, S. Chafaa, M. Al-Noaimi, Corrosion inhibition of mild steel by two new S-heterocyclic compounds in 1 M HCl: experimental and computational study, *Corrosion Science.* 94 (2015) 21–37.
- [9] J.P. Michael, Quinoline, quinazoline and acridone alkaloids, *Natural Product Reports.* 24 (2007) 223–246.
- [10] F. Fadel, S.L. Titouani, M. Soufiaoui, H. Ajamay, A. Mazzah, Synthèse de nouveaux dérivés tétrahydroquinoléines et quinoléines via la réaction d'aza-Diels–Alder suivie d'aromatisation, *Tetrahedron Letters.* 45 (2004) 5905–5908.

- [11] Y.F. Baba, N.K. Sebbar, S. Hayani, F.O. Chahdi, E.M. Essassi, SYNTHÈSE REACTIVITE ET PROPRIETES BIOLOGIQUES DES DERIVES DE LA QUINOLEINE, Moroccan Journal of Heterocyclic Chemistry. 17 (2018).
- [12] T. Chanda, R.K. Verma, M.S. Singh, InCl₃-driven regioselective synthesis of functionalized/annulated quinolines: Scope and limitations, Chemistry—An Asian Journal. 7 (2012) 778–787.
- [13] A. Favier, Le stress oxydant, L'actualité Chimique. 108 (2003).
- [14] D.L. Gilbert, Fifty years of radical ideas, Annals of the New York Academy of Sciences. 899 (2000) 1–14.
- [15] G.G. Ortiz, F.P. Pacheco-Moisés, O.K. Bitzer-Quintero, A.C. Ramírez-Anguiano, L.J. Flores-Alvarado, V. Ramírez-Ramírez, M.A. Macias-Islas, E.D. Torres-Sánchez, Immunology and oxidative stress in multiple sclerosis: clinical and basic approach, Clinical and Developmental Immunology. 2013 (2013).
- [16] I.B. Afanas' ev, Signaling mechanisms of oxygen and nitrogen free radicals, CRC Press, 2009.
- [17] J. Karlsson, V.A. Alexandria, Introduction to nutraology and radical formation, Antioxidants and Exercise. 1 (1997).
- [18] D. Ziech, R. Franco, A.G. Georgakilas, S. Georgakila, V. Malamou-Mitsi, O. Schoneveld, A. Pappa, M.I. Panayiotidis, The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental carcinogenesis and biomarker development, Chemico-Biological Interactions. 188 (2010) 334–339.
- [19] B.P. Yu, Cellular defenses against damage from reactive oxygen species, Physiological Reviews. 74 (1994) 139–162.
- [20] G.M. Salido, J.A. Rosado, Apoptosis: Involvement of oxidative stress and intracellular Ca²⁺ homeostasis, Spain: Dept of Physiology. University of Extremadura. (2009) 229–35.
- [21] R.J. Bloomer, K.H. Fisher-Wellman, Blood oxidative stress biomarkers: influence of sex, exercise training status, and dietary intake, Gender Medicine. 5 (2008) 218–228.
- [22] K. Venkataraman, S. Khurana, T.C. Tai, Oxidative stress in aging-matters of the heart and mind, International Journal of Molecular Sciences. 14 (2013) 17897–17925.

- [23] M. Martinez-Cayueta, Oxygen free radicals and human disease, *Biochimie*. 77 (1995) 147–161.
- [24] L. Chen, J.Y. Hu, S.Q. Wang, The role of antioxidants in photoprotection: a critical review, *Journal of the American Academy of Dermatology*. 67 (2012) 1013–1024.
- [25] A.B. Krishnaa, M.V.N. Reddya, G.C.S. Reddya, B.S. Krishnaa, S.K. Nayakb, C.S. Reddy, Synthesis, anti-oxidant and antibacterial properties of diethyl (4-flouro-3-nitro phenylamino)(substituted phenyl) methyl phosphonates, *The International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 1 (2010) 873–882.
- [26] E. Fontaine, Radicaux libres, in: *Traité de Nutrition Artificielle de l'adulte*, Springer, 2007: pp. 251–257.
- [27] M.G. Coticelli, A.M. Crabbe, R.B. Wilson, M.S. Shchepinov, Insights into the role of oxidative stress in the pathology of Friedreich ataxia using peroxidation resistant polyunsaturated fatty acids, *Redox Biology*. 1 (2013) 398–404.
- [28] J.-F. Lesgards, P. Durand, M. Lassarre, P. Stocker, G. Lesgards, A. Lanteaume, M. Prost, M.-P. Lehucher-Michel, Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects., *Environmental Health Perspectives*. 110 (2002) 479–486.
- [29] Z. Ďuračková, A. Gvozdjáčková, Oxidants, antioxidants and oxidative stress, in: *Mitochondrial Medicine*, Springer, 2008: pp. 19–54.
- [30] A. Rahal, A. Kumar, V. Singh, B. Yadav, R. Tiwari, S. Chakraborty, K. Dhama, Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay, *BioMed Research International*. 2014 (2014).
- [31] Y. Henrotin, B. Kurz, T. Aigner, Oxygen and reactive oxygen species in cartilage degradation: friends or foes?, *Osteoarthritis and Cartilage*. 13 (2005) 643–654.
- [32] S.C. Litescu, S.A. Eremia, M. Diaconu, A. Tache, G.-L. Radu, Biosensors applications on assessment of reactive oxygen species and antioxidants, *Environmental Biosensors*. (2011) 95.

- [33] J. Miquel, Can antioxidant diet supplementation protect against age-related mitochondrial damage?, *Annals of the New York Academy of Sciences*. 959 (2002) 508–516.
- [34] S. Noori, An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system, *Open Access Scientific Reports*. 1 (2012) 1–9.
- [35] E.F. Rostan, H.V. DeBuys, D.L. Madey, S.R. Pinnell, Evidence supporting zinc as an important antioxidant for skin, *International Journal of Dermatology*. 41 (2002) 606–611.
- [36] D. Huang, B. Ou, R.L. Prior, The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (2005) 1841–1856.
- [37] M. Leopoldini, T. Marino, N. Russo, M. Toscano, Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism, *The Journal of Physical Chemistry A*. 108 (2004) 4916–4922.
- [38] J.S. Wright, E.R. Johnson, G.A. DiLabio, Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants, *Journal of the American Chemical Society*. 123 (2001) 1173–1183.
- [39] J.A. Rankin, Biological mediators of acute inflammation, *AACN Advanced Critical Care*. 15 (2004) 3–17.
- [40] C.N. Serhan, P.A. Ward, D.W. Gilroy, *Fundamentals of inflammation*, Cambridge University Press, 2010.
- [41] T. Anzai, T. Yoshikawa, H. Kaneko, Y. Maekawa, S. Iwanaga, Y. Asakura, S. Ogawa, Association between serum C-reactive protein elevation and left ventricular thrombus formation after first anterior myocardial infarction, *Chest*. 125 (2004) 384–389.
- [42] F.T.M. Bourgeoise, *Vade-mecum du jeune médecin: contenant un précis de nosographie médicale; un abrégé de pharmacologie...*, Méquignon-Marvis, 1817.
- [43] N. Ortega, I. Doña, E. Moreno, M.T. Audicana, M.J. Barasona, M.P. Berges-Gimeno, N. Blanca-Lopez, T. Lobera, A. Padial, A. Rosado, Practical guidelines for diagnosing hypersensitivity reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs, *J Investig Allergol Clin Immunol*. 24 (2014) 308–323.
- [44] H.E. Vonkeman, L.M. Braakman-Jansen, R.M. Klok, M.J. Postma, J.R. Brouwers, M.A. van de Laar, Incremental cost effectiveness of proton pump

- inhibitors for the prevention of non-steroidal anti-inflammatory drug ulcers: a pharmaco-economic analysis linked to a case-control study, *Arthritis Research & Therapy*. 10 (2008) R144.
- [45] L. Kessel, B. Tendal, K.J. Jørgensen, D. Erngaard, P. Flesner, J.L. Andresen, J. Hjortdal, Post-cataract prevention of inflammation and macular edema by steroid and nonsteroidal anti-inflammatory eye drops: a systematic review, *Ophthalmology*. 121 (2014) 1915–1924.
- [46] W.J. Chung, Management of portal hypertensive gastropathy and other bleeding, *Clinical and Molecular Hepatology*. 20 (2014) 1.
- [47] C. Henzen, Traitement aux glucocorticoïdes: risques et effets secondaires, in: *Forum Médical Suisse*, EMH Media, 2003: pp. 442–446.
- [48] G. Orliaguet, O. Gall, F. Benabess-Lambert, Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens, *Le Praticien En Anesthésie Réanimation*. 17 (2013) 228–237.
- [49] D. Muster, Médicaments de l'inflammation, *EMC-Stomatologie*. 1 (2005) 21–29.
- [50] S. Thiele-Bruhn, Pharmaceutical antibiotic compounds in soils—a review, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 166 (2003) 145–167.
- [51] D. Yala, A.S. Merad, D. Mohamedi, M.N. Ouar Korich, Classification et mode d'action des antibiotiques, *Médecine Du Maghreb*. 91 (2001) 5–12.
- [52] H. Leclerc, J.-L. Gaillard, M. Simonet, *Microbiologie générale: la bactérie et le monde bactérien*, Doin, 1995.
- [53] Y. Qin, N. Polacek, O. Vesper, E. Staub, E. Einfeldt, D.N. Wilson, K.H. Nierhaus, The highly conserved LepA is a ribosomal elongation factor that back-translocates the ribosome, *Cell*. 127 (2006) 721–733.
- [54] F. Van Bambeke, S. Pharm, *Pharmacologie et Pharmacothérapie anti-infectieuse*, Syllabus National Belge de Pharmacologie. 2008 (2007) 1–134.
- [55] S.B. Singh, J.F. Barrett, Empirical antibacterial drug discovery—foundation in natural products, *Biochemical Pharmacology*. 71 (2006) 1006–1015.
- [56] B.H. Normark, S. Normark, Evolution and spread of antibiotic resistance, *Journal of Internal Medicine*. 252 (2002) 91–106.

- [57] H. Goossens, D. Guillemot, M. Ferech, B. Schlemmer, M. Costers, M. van Breda, L.J. Baker, O. Cars, P.G. Davey, National campaigns to improve antibiotic use, *European Journal of Clinical Pharmacology*. 62 (2006) 373–379.
- [58] M.A.Y. GUINDO, étude prospective de la prescription et de la consommation des antibiotiques dans le centre de sante de référence de la commune iii du district de Bamako [internet][thèse], Université de Bamako. (2008).
- [59] M. Mesbah, Synthèse Caractérisation et Application Biologique de Nouveaux Ligands Bases de Schiff et Leurs Complexes métalliques, PhD Thesis, 2018.
- [60] P. Vandeputte, Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques chez *Candida glabrata*, PhD Thesis, 2008.
- [61] A.J. Carrillo-Munoz, G. Giusiano, P.A. Ezkurra, G. Quindós, Antifungal agents: mode of action in yeast cells, *Rev Esp Quimioter*. 19 (2006) 130–9.
- [62] E.A. Stone, H.B. Fung, H.L. Kirschenbaum, Caspofungin: an echinocandin antifungal agent, *Clinical Therapeutics*. 24 (2002) 351–377.
- [63] E. Guinoiseau, Molécules antibactériennes issues d’huiles essentielles: séparation, identification et mode d’action, PhD Thesis, 2010.
- [64] A.R. Waldorf, A. Polak, Mechanisms of action of 5-fluorocytosine., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 23 (1983) 79–85.
- [65] A. Polak, H.J. Scholer, Mode of action of 5-fluorocytosine and mechanisms of resistance, *Chemotherapy*. 21 (1975) 113–130.
- [66] A. Galès, Rôle central des Monocytes/Macrophages dans la défense anti-infectieuse; implication de la polarisation M2 et des marqueurs associés Dectine-1, Récepteur Mannose et Interleukine-10, PhD Thesis, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2009.
- [67] S. Normark, J. Schönebeck, In vitro studies of 5-fluorocytosine resistance in *Candida albicans* and *Torulopsis glabrata*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2 (1972) 114–121.
- [68] B. Swynghedauw, J.-S. Silvestre, Aide-mémoire de biologie et génétique moléculaire-3ème édition, Dunod, 2008.
- [69] G. Lenglet, Mécanisme d’action de nouveaux agents alkylants ciblant l’ADN ou les protéines, PhD Thesis, 2010.

- [70] S. Rauf, J.J. Gooding, K. Akhtar, M.A. Ghauri, M. Rahman, M.A. Anwar, A.M. Khalid, Electrochemical approach of anticancer drugs–DNA interaction, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 37 (2005) 205–217.
- [71] J.R. Wenner, M.C. Williams, I. Rouzina, V.A. Bloomfield, Salt dependence of the elasticity and overstretching transition of single DNA molecules, *Biophysical Journal*. 82 (2002) 3160–3169.
- [72] J.-P. Pouget, Effet du rayonnement ionisant sur l'ADN cellulaire: mesure des bases puriques et pyrimidiques modifiées, PhD Thesis, Paris 11, 2000.
- [73] H. Cao, Probe oxidative damage in DNA charge transfer process, PhD Thesis, Georgia Institute of Technology, 2005.
- [74] E.D. De Robertis, E.M.F. De Robertis, *Biologie cellulaire et moléculaire*, Presses Université Laval, 1983.
- [75] A. Favier, Le stress oxydant, *L'actualité Chimique*. 108 (2003).
- [76] F.A. Mallette, G. Ferbeyre, La réponse consécutive à des dommages à l'ADN contribue à la suppression tumorale en détectant l'activité oncogénique, *Médecine/Sciences*. 24 (2008) 29–30.
- [77] S. Despax, Complexation de l'ADN par des composés organoruthénés et étude de l'adhésion cellulaire sur des substrats mous, PhD Thesis, 2014.
- [78] M. Sirajuddin, S. Ali, A. Badshah, Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 124 (2013) 1–19.
- [79] E. Palek, M. Fojta, Peer reviewed: detecting DNA hybridization and damage, ACS Publications, 2001.
- [80] B.R. Bilirubin, Solubility and interaction with albumin and phospholipid, *J Biol Chem*. 10 (1979) 2346–9.
- [81] D.C. Carter, J.X. Ho, Structure of serum albumin, in: *Advances in Protein Chemistry*, Elsevier, 1994: pp. 153–203.
- [82] B.X. Huang, H.-Y. Kim, C. Dass, Probing three-dimensional structure of bovine serum albumin by chemical cross-linking and mass spectrometry, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 15 (2004) 1237–1247.
- [83] V.T.G. Chuang, M. Otagiri, Stereoselective binding of human serum albumin, *Chirality: The Pharmacological, Biological, and Chemical Consequences of Molecular Asymmetry*. 18 (2006) 159–166.

- [84] S. Patra, K. Santhosh, A. Pabbathi, A. Samanta, Diffusion of organic dyes in bovine serum albumin solution studied by fluorescence correlation spectroscopy, *RSC Advances*. 2 (2012) 6079–6086.
- [85] J. Desaphy, L'analyse structurale de complexes protéine/ligand et ses applications en chémogénomique, PhD Thesis, Strasbourg, 2013.
- [86] I.P. Ejidike, P.A. Ajibade, Synthesis, characterization, and in vitro antioxidant and anticancer studies of ruthenium (III) complexes of symmetric and asymmetric tetradentate Schiff bases, *Journal of Coordination Chemistry*. 68 (2015) 2552–2564.
- [87] W. Rehman, M.K. Baloch, B. Muhammad, A. Badshah, K.M. Khan, Characteristic spectral studies and in vitro antifungal activity of some Schiff bases and their organotin (IV) complexes, *Chinese Science Bulletin*. 49 (2004) 119–122.
- [88] N.E. Eltayeb, J. Lasri, S.M. Soliman, C. Mavromatis, D. Hajjar, S.E. Elsilik, B.A. Babgi, M.A. Hussien, Crystal structure, DFT, antimicrobial, anticancer and molecular docking of (4E)-4-((aryl) methyleneamino)-1, 2-dihydro-2, 3-dimethyl-1-phenylpyrazol-5-one, *Journal of Molecular Structure*. (2020) 128185.
- [89] M. Shabbir, Z. Akhter, I. Ahmad, S. Ahmed, H. Ismail, B. Mirza, V. McKee, M. Bolte, Synthesis, characterization, biological and electrochemical evaluation of novel ether based ON donor bidentate Schiff bases, *Journal of Molecular Structure*. 1116 (2016) 84–92.
- [90] P. Ramadevi, R. Singh, A. Prajapati, S. Gupta, D. Chakraborty, Cu (II) complexes of isoniazid Schiff bases: DNA/BSA binding and cytotoxicity studies on A549 cell line, *Advances in Chemistry*. 2014 (2014).
- [91] X. Ma, W. Zhou, R. Brun, Synthesis, in vitro antitrypanosomal and antibacterial activity of phenoxy, phenylthio or benzyloxy substituted quinolones, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 19 (2009) 986–989.
- [92] A.R. Gholap, K.S. Toti, F. Shirazi, R. Kumari, M.K. Bhat, M.V. Deshpande, K.V. Srinivasan, Synthesis and evaluation of antifungal properties of a series of the novel 2-amino-5-oxo-4-phenyl-5, 6, 7, 8-tetrahydroquinoline-3-carbonitrile and its analogues, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 15 (2007) 6705–6715.
- [93] H.R.P. Naik, H.S.B. Naik, T.R.R. Naik, H.R. Naika, K. Gouthamchandra, R. Mahmood, B.K. Ahamed, Synthesis of novel benzo [h] quinolines: wound

- healing, antibacterial, DNA binding and in vitro antioxidant activity, *European Journal of Medicinal Chemistry*. 44 (2009) 981–989.
- [94] M. Sankaran, C. Kumarasamy, U. Chokkalingam, P.S. Mohan, Synthesis, antioxidant and toxicological study of novel pyrimido quinoline derivatives from 4-hydroxy-3-acyl quinolin-2-one, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 20 (2010) 7147–7151.
- [95] M. Koufaki, E. Theodorou, D. Galaris, L. Nousis, E.S. Katsanou, M.N. Alexis, Chroman/catechol hybrids: synthesis and evaluation of their activity against oxidative stress induced cellular damage, *Journal of Medicinal Chemistry*. 49 (2006) 300–306.
- [96] S. Maity, S.A. Khan, S. Ahmad, Synthesis, characterization, anti-microbial and antioxidant activity of some novel Schiff bases derived from 8-hydroxy quinoline, *IJBPS*. 3 (2012) 90–98.
- [97] N.C. Desai, N. Shihory, K. Rajpara, A. Dodiya, Synthesis, characterization and antimicrobial screening of novel quinoline-thiazole derivatives, (2012).
- [98] S.D. Dhumwad, Synthesis, characterization, electrochemical, in vitro antimicrobial and DNA cleavage studies of Co (II), Ni (II), Cu (II) and Zn (II) complexes of Schiff bases derived from 2-oxo-quinoline-3-carbaldehyde, *Main Group Chemistry*. 10 (2011) 229–242.
- [99] S. Bawa, S. Kumar, S. Drabu, R. Kumar, Synthesis and antimicrobial activity of 2-chloro-6-methylquinoline hydrazone derivatives, *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*. 1 (2009) 27.
- [100] Z.-C. Liu, Z.-Y. Yang, T.-R. Li, B.-D. Wang, Y. Li, M.-F. Wang, DNA-binding, antioxidant activity and solid-state fluorescence studies of copper (II), zinc (II) and nickel (II) complexes with a Schiff base derived from 2-oxo-quinoline-3-carbaldehyde, *Transition Metal Chemistry*. 36 (2011) 489–498.
- [101] S.D. Dhumwad, S. Mutalik, M.H. Hugar, P.N. Naik, Synthesis, spectral characterization of Co (II), Ni (II), Cu (II) and Zn (II) complexes of Schiff bases derived from 3-formyl quinoline and 2, 6-diaminopyridine and their biological studies, *Main Group Chemistry*. 12 (2013) 87–104.
- [102] Y. Liu, Z. Yang, Crystal structures, antioxidation and DNA binding properties of Yb (III) complexes with Schiff-base ligands derived from 8-hydroxyquinoline-2-carbaldehyde and four aroylhydrazines, *Biometals*. 22 (2009) 733–751.

- [103] D.S. Lamani, K.R. Venugopala Reddy, H.S. Bhojya Naik, A. Savyasachi, H.R. Naik, Synthesis and DNA binding studies of novel heterocyclic substituted quinoline schiff bases: a potent antimicrobial agent, *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*. 27 (2008) 1197–1210.
- [104] S. Maddela, M. Ajitha, M. Venugopal, R. Maddela, Design and synthesis of novel quinoline 3-carbohydrazone derivatives for their antimicrobial and antioxidant activity, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 6 (2014) 254–258.

Chap. II: Méthodes et techniques

Ce chapitre est consacré aux différentes techniques d'analyse utilisées pour évaluer *in vitro* les activités biologiques et déterminer le type d'interaction entre les quatre bases de Schiff dérivées quinoléique et les deux macromolécules, l'ADN et l'albumine du sérum bovin (BSA).

II.1. Contexte théorique des techniques expérimentales utilisées

II.1.1. Spectrophotométrie UV-vis

La spectrophotométrie d'absorption ultraviolet-visible est essentiellement fondée sur le phénomène d'absorption d'énergie lumineuse par une substance. Elle est largement utilisée en analyse quantitative ainsi qu'en analyse chimique ou biochimique. Elle s'avère nécessaire et utile pour la caractérisation des produits initiaux et finaux, la détermination de la pureté d'ADN et certaines protéines après leur extraction, le contrôle de qualité ou le suivi de la cinétique d'une réaction, la détermination des constantes de dissociation des acides ou des constantes de complexation ainsi que la détermination des masses molaires [1,2].

La spectroscopie ultraviolet-visible est une méthode mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine de l'ultraviolet (200 nm – 400 nm), du visible (400 nm – 800 nm) ou du proche infrarouge (750 nm -1 400 nm). Soumis à un rayonnement dans cette gamme de longueurs d'onde, les molécules, les ions ou les complexes sont susceptibles de subir une ou plusieurs transitions électroniques. Les substrats analysés sont le plus souvent en solution, le spectre électronique est la fonction qui relie l'intensité lumineuse absorbée par l'échantillon analysé en fonction de la longueur d'onde.

Elle permet d'accéder qualitativement à des renseignements quant à la nature des liaisons présentes au sein de l'échantillon (via l'ordre de grandeur de λ_{max} et ϵ_{max}) et de déterminer quantitativement la concentration d'espèces absorbant dans ce domaine spectral.

II.1.1.1. Loi de Beer-Lambert

La loi de Beer-Lambert indique que l'absorbance d'une solution est proportionnelle à sa concentration et à l'épaisseur l de l'échantillon. La relation de

Beer-Lambert donne accès au coefficient d'extinction molaire ϵ qui caractérise l'absorption de l'édifice dans les conditions de l'expérience. A cet effet on trouve la loi de BEER LAMBERT s'exprime par la relation suivante :

$$A = \epsilon Cl = \log \frac{I_0}{I} \quad \text{II.1}$$

Où I/I_0 est la transmittance de la solution (sans unité).

A_λ est l'absorbance ou densité optique à une longueur d'onde λ .

ϵ est le coefficient d'extinction molaire (en $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$).

l est la longueur du trajet optique dans la solution traversée, elle correspond à l'épaisseur de la cuvette utilisée (en cm).

C est la concentration molaire de la solution (en $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$).

L'énergie absorbée dans la région UV de la radiation électromagnétique, produit des variations dans l'énergie électronique de la molécule résultant de transition d'électrons de valence dans celle-ci[3]. Dans le cas de molécules organiques, les niveaux électroniques concernés par ces transitions correspondent aux orbitales de valence de l'édifice et leur énergie est dépendante de leur nature (σ , π) et de leur caractère (liante, antiliante, non liante).

De nombreuses transitions sont possibles mais seules celles de plus faibles énergies conduisent à une absorption dans l'UV-vis. La nature σ ou π des niveaux impliqués reflètent la nature du groupe fonctionnel présent dans l'édifice[4]. Les diverses transitions possibles sont:

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

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

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

Transition $\pi \rightarrow \pi^$* : les composés qui possèdent une double liaison éthylénique isolée, conduisent à une forte bande d'absorption vers 270 nm dont la position dépend de la présence des substituants.

II.1.2. Voltampérométrie cyclique

La voltampérométrie cyclique est une méthode potentiodynamique très utilisée en électrochimie pour l'étude préliminaire des systèmes électrochimiques. Elle apporte par une expérience simple et rapide de nombreuses informations sur le comportement du système redox fixé à la surface de l'électrode [5]. C'est est une méthode électrochimique transitoire dans laquelle le potentiel de l'électrode indicatrice varie linéairement en fonction du temps selon la relation:

$$E = E_i + v \cdot t \quad \text{II.2}$$

E : Potentiel de l'électrode indicatrice (volt).

E_i : Potentiel initial.

v : Vitesse de balayage.

t : Temps (s).

Dans la voltampérométrie cyclique, la diffusion est le seul mode de transport mis-en jeu pour les substances actives, la migration est toujours assurée par un électrolyte support [6]. Cette technique repose sur un balayage linéaire aller-retour du potentiel qui permet d'observer facilement le comportement du système et d'identifier les différentes espèces électroactives [7]. L'inversion de la direction de variation du potentiel permet d'observer à la fois le comportement électrochimique des réactifs et des produits, et donc la réversibilité des réactions. De plus, la vitesse de balayage offre un moyen direct de contrôle du régime cinétique des réactions (régime réversible, quasi-réversible, irréversible) et sa variation permet d'observer les réactions sous différents régimes et de diagnostiquer leur mécanistique.

Cette technique est généralement applicable à tous types d'électrodes et électrolytes. L'allure des courbes intensité-potentiel obtenues permet de distinguer les différents systèmes redox selon qu'ils sont réversibles, quasi-réversibles ou irréversibles.

Les expressions mathématiques du courant et du potentiel du pic ont été développées initialement pour un balayage aller par Randels et Sevcik pour des systèmes rapides [8,9] et par Delahay pour des systèmes lents [10]. Cette théorie est étendue par Matsuda et Ayabe [11] aux systèmes semi-rapides. Les travaux de Nicholson et Shain [12] ont permis la mise au point des relations décrivant les courbes expérimentales des balayages cycliques.

a. Système réversible

Un système est dit réversible (ou Nernstien) lorsque l'espèce oxydée formée peut subir consécutivement la réaction inverse de réduction.

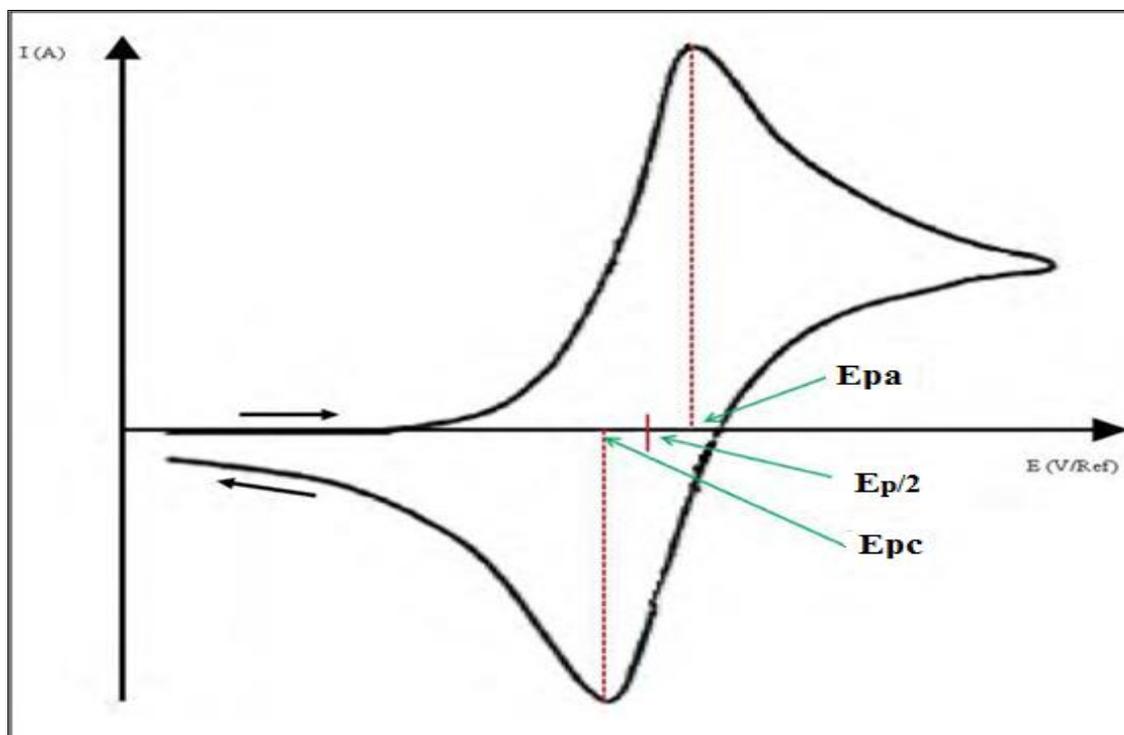


Figure II. 1. Voltampérogramme cyclique d'un système réversible, E_{pa} et E_{pc} sont les potentiels de pics anodique et cathodique, $E_{p/2}$ est le potentiel de demi-vague

Ce cas est possible lorsque la cinétique de transfert de charge est très rapide. L'allure du voltampérogramme cyclique obtenu est présentée sur la Figure II.1. La valeur du courant de pic I_p est donnée par la relation (équation II.4):

$$I_p = 2,69 \cdot 10^5 A \cdot n^{\frac{3}{2}} \cdot D^{\frac{1}{2}} \cdot C v^{\frac{1}{2}} \quad \text{II.4}$$

Où A la surface de l'électrode (cm^2), D le coefficient de diffusion de l'espèce (cm^2s^{-1}), C la concentration de l'espèce en solution ($\text{mol}\cdot\text{cm}^{-3}$), n le nombre total d'électrons transférés et v la vitesse de balayage de potentiel (V/s).

L'équation II.4 est connue sous le nom d'équation de Randles-Sevcik. Elle permet notamment de déterminer le coefficient de diffusion D de l'espèce électroactive en faisant varier la vitesse de balayage pour une même concentration en espèce redox.

Le potentiel de pic observé pour une réaction électrochimique est indépendant de la vitesse de balayage (équation II.5) :

$$E_p = E_p/2 + 0.029/n \quad \text{II.5}$$

La différence de potentiel des pics d'oxydation et de réduction s'exprime par l'équation II.6

$$E_{p_a} - E_{p_c} = 0.059/n \text{ à } 25^\circ\text{C} \quad \text{II.6}$$

Et le rapport des courants de pics par la relation II.7:

$$I_{p_{retour}}/I_{p_{aller}} = 1 \quad \text{II.7}$$

b. Système irréversible

Un système est dit irréversible lorsque le produit formé à l'électrode lors du balayage aller des potentiels ne peut être consommé via la réaction électrochimique inverse. Le voltampérogramme cyclique de la Figure II.2 représente un exemple d'une réaction d'oxydation irréversible.

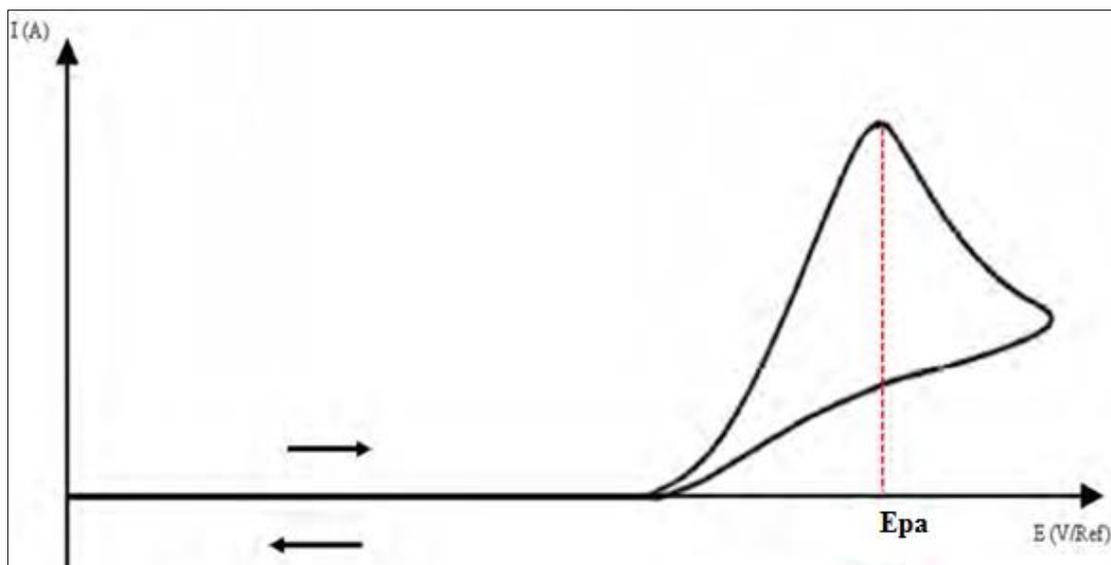


Figure II. 2. Voltampérométrie cyclique d'une réaction d'oxydation irréversible.

Le transfert électronique hétérogène est lent et le rapport des concentrations des formes oxydée et réduite ne respecte plus la loi de Nernst. L'intensité de pic s'écrit (équation II.8)

$$I_p = 2,99 \cdot 10^5 A \cdot n^{3/2} \alpha^{1/2} \cdot D^{1/2} \cdot v^{1/2} \cdot C \quad \text{II.8}$$

Avec α le coefficient de transfert anodique et v la vitesse de balayage du potentiel (V/s).

c. Système quasi-réversible

En 1955 Matsuda et Ayabe ont introduit le terme de système « quasi-réversible » [11]. Leurs recherches ont montré que malgré un coefficient de transfert électronique faible, la réaction inverse doit être considérée. L'allure du voltampérométrie cyclique résultante est présentée sur la figure II.3.

L'expression du courant relative à ce système devient (équation II.9):

$$I_p = 2,69 \cdot 10^5 A n^{3/2} D^{1/2}_R C_R v^{1/2} K(\Lambda, \alpha); \Lambda = K^0 / (D_{Red}^\alpha D_{Ox}^{1-\alpha} \frac{nF}{RT})^{1/2} v^{1/2} \quad \text{II.9}$$

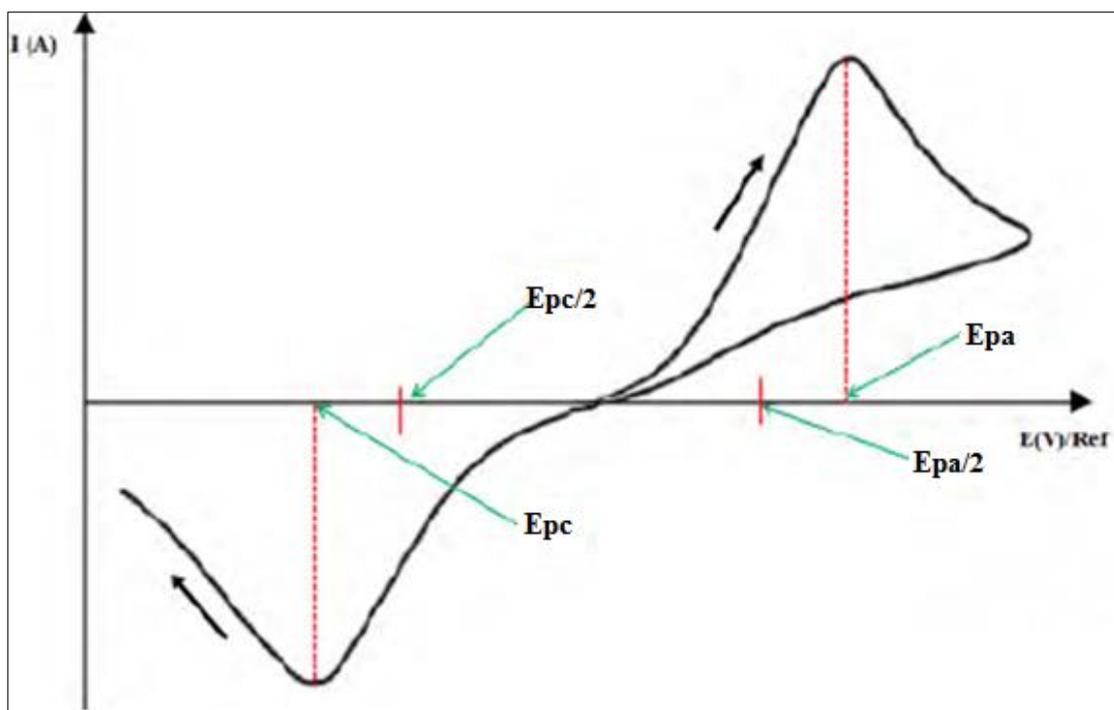


Figure II.3. Voltammogramme cyclique d'un système quasi-réversible, $E_{pa/2}$ et $E_{pc/2}$ sont les potentiels de demi-vague anodique et cathodique.

II.2. Méthodes d'évaluation des activités biologiques

II.2.1. Activité antioxydante

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques. La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène.

Dans la pratique, plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et des systèmes biologiques, ces techniques sont nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres. Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes: soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron. L'activité antioxydante ne doit pas être conclue sur la base d'une seule méthode de test antioxydant et il est recommandé d'utiliser plusieurs méthodes pour estimer la capacité antioxydante d'une substance [13,14]. Des études récentes ont montré que les

bases de Schiff dérivées de la quinoléine sont capables de piéger de nombreuses espèces oxydatives comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), le radical peroxy (ROO^{\cdot}) ou encore l'oxygène singulet [15,16].

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* des quatre bases de Schiff dérivées de la quinoléine a été réalisée par trois techniques chimiques à savoir: le piégeage du radical libre DPPH, la réduction du fer et la capacité antioxydante totale (CAT), et électrochimiquement par voltampérométrie cyclique.

II.2.1.1. Test de l'effet du piégeage du radical libre DPPH $^{\cdot}$

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH $^{\cdot}$). Ce dernier de couleur violette se réduit en présence des capteurs de radicaux libres, en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune en acceptant un atome d'hydrogène. Ceci permet de suivre spectrophotométriquement la cinétique de décoloration à 517 nm. Ce test est très utilisé, car il est rapide, facile et non couteux [17].

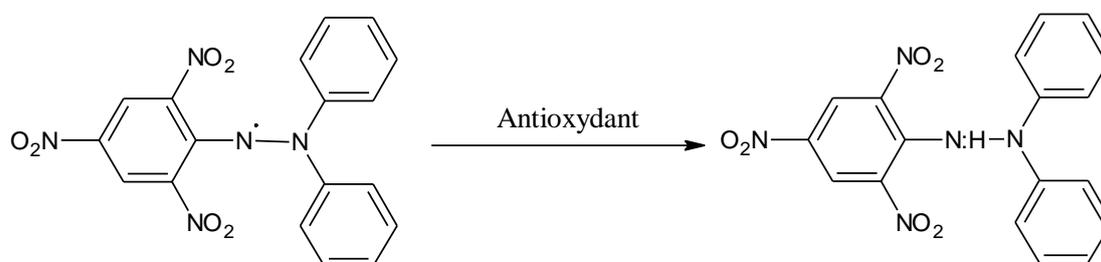
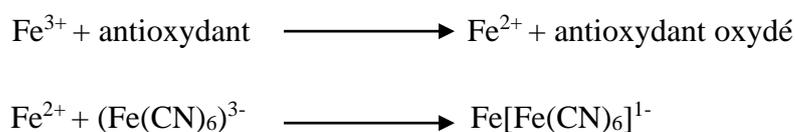


Schéma II. 1. Réduction du radical DPPH $^{\cdot}$

La capacité des molécules étudiées à piéger le DPPH a été déterminée selon la procédure de Verbanac et coll.[18], en utilisant l'acide ascorbique comme référence. Un volume de 1 ml des composés étudiés, ou de l'acide ascorbique, dissous dans de l'acétonitrile, a été mélangée à 1 ml de la solution éthanoïque de DPPH, puis le mélange a été agité et laissé dans l'obscurité pendant 30 minutes.

II.2.1.2. Test du pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium

Le pouvoir réducteur du fer des molécules étudiées est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu en 1986. C'est un test direct, rapide et reproductible largement utilisé comme un marqueur important pour estimer l'activité antioxydante d'un composé. Il détermine la capacité d'une molécule antioxydante à réduire le fer ferrique du complexe ferricyanide Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . Cette réduction se traduit par une coloration verte dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur [19,20].



Le pouvoir réducteur de tous les dérivés de la quinoléine a été évalué selon la procédure décrite par Oyaizu (1986)[21]. Différentes concentrations de $\text{H}_2\text{L-H}$, $\text{H}_2\text{L-NO}_2$, $\text{H}_2\text{L-Br}$ et $\text{H}_2\text{L-F}$ (2.5 ml) sont mélangées avec 2,5 ml de tampon phosphate (0.2 mol.L⁻¹, pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] (1%). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min. Ensuite, la réaction est arrêtée par l'ajout de 2.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) (10%). Le surnageant (2.5 ml) est mélangé avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de solution aqueuse de chlorure ferrique FeCl_3 (0.1 %). Les absorbances sont mesurées à 700 nm par rapport à une solution témoin. L'acide ascorbique est utilisé comme référence.

II.2.1.3. Activité antioxydante totale au phosphomolybdate d'ammonium

La capacité antioxydante totale (CAT) des quatre dérivés est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de Prieto et coll. (1999). Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence d'un antioxydant pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide.

Pour évaluer l'activité antioxydante totale des molécules $\text{H}_2\text{L-H}$, $\text{H}_2\text{L-NO}_2$, $\text{H}_2\text{L-Br}$ et $\text{H}_2\text{L-F}$, nous avons utilisé le test de phosphomolybdate d'ammonium selon la méthode de Prieto (1999)[22]. 1ml de la solution de réactif (0.6 mol d'acide sulfurique, 28 mmol.L⁻¹ de phosphate de sodium et 4 mmol.L⁻¹ de molybdate

d'ammonium) est ajouté à 100 ml des échantillons préparés puis les mélanges sont incubés dans un bain d'eau bouillante à 95 C pendant 90 min. Les absorbances sont ensuite enregistrées à 695 nm à l'aide d'un spectrophotomètre par rapport à une solution témoin. L'acide ascorbique est utilisé comme référence.

II.2.1.4. Méthode de la voltampérométrie cyclique (VC)

Le superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) est un radical libre formé par la réduction du dioxygène (O_2), et il est considéré le plus dangereux parmi tous les radicaux oxygènes (ERO) car il a une demi-vie plus longue et il peut générer d'autres radicaux nuisibles tels que le radical hydroxyle [23,24]. La voltampérométrie cyclique a récemment servi à déterminer l'activité antioxydante vis-à-vis de ce radical en se basant sur la génération électrochimique de $O_2^{\bullet-}$ par la réduction de O_2 dissous dans des solvants convenables.

II.2.1.4.1. Principe de la voltampérométrie cyclique

Le principe général de la voltampérométrie est l'obtention d'une réponse à l'excitation responsable de la réaction électrochimique désirée. Cette opération est réalisée en effectuant un balayage de potentiel. On obtient alors un voltampérogramme cyclique, qui représente la réponse courant en fonction du potentiel appliqué

II.2.1.4.2. Matériels utilisés pour la VC

Les unités de bases d'un analyseur voltampérométrique sont :

- **Une cellule électrochimique**
- **Trois électrodes**; E_T : électrode de travail, E_R : électrode de référence et E_{aux} : électrode auxiliaire (contre électrode).
- **Un circuit électronique**, appelé potentiostat, permettant de modifier le potentiel et d'enregistrer le courant.
- **Electrode de travail** (électrode indicatrice): est une microélectrode de petite surface et elle est considérée comme le cœur de tous systèmes voltamétrique. Les électrodes de travail les plus utilisées en voltampérométrie sont: Hg, Au, Pt, Ir et CV (carbone vitreux).
- **Electrode de référence**: cette électrode possède un potentiel spécifique et constant, ce qui permet d'imposer un potentiel bien défini à l'électrode de

travail. Les électrodes de référence les plus utilisées sont l'électrode au calomel saturée ECS: $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{KCl}$, ($E_{\text{ECS}} = 241 \text{ mV}$), l'électrode au chlorure d'argent saturée: $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$, ($E_{\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}} = 199 \text{ mV}$).

- **Electrode auxiliaire:** elle assure le passage et la mesure du courant dans la solution. Elle est usuellement en platine ou en carbone (graphite) et possède une large surface par rapport à l'électrode de travail.

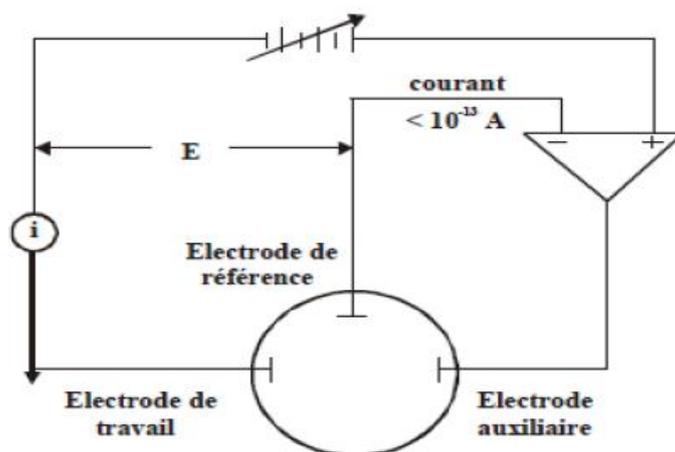


Figure II. 4. Représentation schématique du circuit électronique d'un potentiostat

- **Electrolyte support:** son choix se base sur les propriétés suivantes:
 - Il doit être assez soluble dans les solvants d'étude, pour assurer une bonne conductibilité à une concentration de minimum 50 à 100 fois plus grande que celle de l'espèce électroactive.
 - La force ionique demeure constante, et la contribution de l'espèce électroactive du courant de migration est négligeable.
 - Il ne doit pas interagir chimiquement avec les composés étudiés ni avec leurs produits de réduction.
 - Son domaine d'électroactivité doit être le plus large possible.
- **Solvant:** Il ne doit être ni oxydable, ni réductible dans le domaine du potentiel exploré, possède une bonne stabilité thermique, solubilise les espèces électroactives et l'électrolyte support, ne doit pas être trop visqueux et volatil pour éviter les variations de concentration pendant les mesures.

II.2.1.4.3. Mode opératoire et conditions de travail

L'étude de voltampérométrie cyclique (VC) est assurée par un Voltalab 40 modèle PGZ301 (Radiometer Analytical) potentiostat / galvanostat) relié à une cellule électrochimique à trois électrodes :

- Une électrode en carbone vitreux de diamètre 2,0 mm.
- Une plaque de platine de surface 1,2 cm² comme contre-électrode.
- Une électrode au calomel saturée (ECS) comme électrode de référence.

Le tout est piloté par un micro-ordinateur doté d'un logiciel Volta Master 4, version 7.08.

L'électrode de travail est polie avant chaque manipulation en utilisant le papier abrasif p4000, ensuite rincée avec l'eau distillée et l'acétonitrile et essuyée avec du papier absorbant.



Figure II. 5. Montage expérimental utilisé pour les mesures voltampérométriques

La réaction entre les diverses molécules et l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) est effectuée dans une cellule électrochimique remplie de 10 ml d'une solution contenant l'électrolyte support (T_{Bu}NPF₆, 0.1 mol.L⁻¹) dissous dans l'acétonitrile; cette solution est soumise au barbotage par l'oxygène pendant 15 min. Le voltampérogramme de l'oxygène est enregistré à une vitesse de balayage de 100 mV/s, la gamme de potentiel était de 0 à -1.5 V / ECS et à température ambiante. L'activité de piégeage du radical superoxyde est vérifiée par l'addition successive de 0.1 ml de la solution de

chaque composé, les voltampérogrammes sont ensuite enregistrés dans les mêmes conditions expérimentales.

II.2.2. Activité antiinflammatoire

De nombreux travaux semblent indiquer que les dérivés de la quinoléine possèdent des propriétés antiinflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire [25,26]. L'inhibition de la dénaturation des protéines des quatre molécules est évaluée selon la méthode de Pandey et ses collaborateurs [27], le diclofenac sodique connu pour ses propriétés antiinflammatoires est utilisé comme contrôle positif. Le mélange réactionnel, qui consiste en un volume de 200 μ l de solution de différentes concentrations des molécules testées ou de la référence (standard) est mélangé à 2 ml de l'albumine du sérum bovin (BSA) et incubé à 27 °C pendant 15 min. La dénaturation est induite en maintenant les mélanges réactionnels à 75 ± 1 °C dans un bain d'eau pendant 10 min. 2 ml de l'albumine du sérum bovin BSA à 1 % et 200 μ l de tampon phosphate salin (pH 6.6) est utilisé comme contrôle négatif. La turbidité est mesurée à 660 nm par spectrophotométrie.

II.2.3. Activité antibactérienne et antifongique

Une des principales causes de morbidité et de mortalité chez les patients immunodéprimés dans les pays en développement est principalement due à la vie menaçant par les maladies infectieuses proviennent de divers microorganismes pathogènes. La découverte de nouveaux antibiotiques plus efficaces contre ces microorganismes est essentielle.

Les dérivés de la quinoléine sont une classe importante de composés qui ont déjà été trouvés à agir comme des agents antibactériens et antifongique [28,29].

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de nos produits, consiste à estimer l'inhibition de la croissance des microorganismes (bactéries et champignons) en contact de différents produits, et ceci par la méthode de diffusion sur disque.

II.2.3.1. Les microorganismes testés

Le choix des souches est basé sur leurs différences pariétales (Gram+ et Gram-), les problèmes qu'elles causent en clinique ainsi que le défi qu'elles posent à l'antibiothérapie moderne. Tous les organismes ont été recueillis à partir du laboratoire de recherche de microbiologie de l'Université Ferhat Abess Sétif.

L'activité antibactérienne et antifongique ont été déterminées contre deux bactéries Gram⁻ nommées : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, deux bactéries Gram⁺: *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Bacillus subtilis* ATCC 9372, et contre deux champignons *Candida albicans* ATCC 25923 et *Aspergillus niger* ATCC 16404.

II.2.3.2. Technique de disque

La méthode des disques est couramment utilisée au laboratoire, elle permet de tester, *in vitro*, la sensibilité d'une souche bactérienne aux différents produits tests. C'est l'équivalent d'un antibiogramme où les disques d'antibiotiques sont remplacés par d'autres imprégnés de produit tests. La gélose MH et PDA sont utilisées pour l'essai de la sensibilité des différentes souches pour l'activité antibactérienne et antifongique respectivement.

L'étude *in vitro* de l'activité antimicrobienne des molécules étudiées H₂L-H, H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂ est réalisée par la méthode de diffusion en gélose en utilisant des disques de papier filtre stériles de 6mm de diamètre [30].

Les disques sont imprégnés de 8 µl (1.5µg/disque) des solutions de composés à tester (100 µg/ml) et déposés sur la surface de la géloseensemencée MHA et PDA. Le DMSO est utilisé comme témoin négatif ; la gentamycine et la fluconazole sont utilisés comme témoins positifs pour les bactéries et les champignons respectivement. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, 48 heures à 37°C pour les levures et 7 jours à 28°C pour les champignons. Les zones d'inhibition sont mesurées en millimètres. Les essais sont réalisés en trois répétitions.

II.2.3. Essai de la toxicité érythrocytaire

L'étude de la toxicité et l'évaluation de la dose létale à 50 reste la première étape avant de rechercher les activités pharmacologiques des nouvelles substances. Dans notre étude, nous avons utilisé le test d'hémolyse des globules rouges pour évaluer *in vitro* la toxicité des dérivés étudiés selon la méthode décrite par Malagoli (2007) [31]. Un prélèvement sanguin est réalisé sur des tubes héparinés. Le sang est centrifugé pendant 10 min à 3000 trs/mn. Après trois lavages, le culot érythrocytaire est préparé avec une solution de sérum salé (10%, v/v).

Les tubes renfermant 600 µl de la suspension érythrocytaire sont mélangés avec 600 µl de solution d'échantillons à différentes concentrations. Le tube contrôle contient 600 µl de la suspension érythrocytaire mélangée avec 600 µl d'eau distillée. Le mélange réactionnel est incubé pendant 30 min à 37 °C puis centrifugé pendant 10 min à 2500 trs /mn. L'absorbance du surnageant est lue à 540 nm après 120 minutes à l'aide d'un spectrophotomètre UV-vis contre un blanc contenant le sérum.

II.2.4. Etude *in vitro* de l'interaction des dérivés de la quinoléine avec l'ADN et la BSA

II.2.4.1. Interaction avec l'ADN

L'étude fine des interactions ADN-ligand se fait par des techniques d'analyse *in vitro* qui font appel à plusieurs techniques à savoir les méthodes spectrophotométrique et électrochimiques. Ces techniques ont été développées pour déterminer les paramètres de liaison (la constante de liaison et l'énergie libre) et de caractériser la nature des interactions mises en jeu.

II.2.4.1.1. Extraction de l'ADN génomique

Plusieurs méthodes sont utilisées pour extraire l'ADN génomique, dans notre étude, l'ADN est extrait des cellules d'oignons en adoptant la technique de salting-out (Technique au chlorure de sodium saturé) [32]. Une quantité de la bouillie d'oignons est placée dans un petit bêcher avec 5 ml d'une solution aqueuse de dodécylsulfate de sodium (SDS) 20%, le mélange obtenue est agité pendant 3 minutes. Un volume de 20 ml d'une solution aqueuse de NaCl de concentration 6 mol.L⁻¹ est ajouté, la suspension ainsi obtenue est vortexée vigoureusement jusqu'à avoir un aspect laiteux,

puis centrifugée 10 mn à 1500 trs /mn pour faire précipiter les protéines. Le surnageant, contenant l'ADN dispersé, est récupéré dans des tubes à essai. Un volume égal d'isopropanol (99%) est ajouté au surnageant récupéré précédemment. Faire précipiter l'ADN en retournant délicatement le tube jusqu'à ce que les filaments d'ADN forment une méduse; on la récupère dans un tube en verre (5 ml); la méduse d'ADN ainsi condensée est lavée 3 fois à l'éthanol afin d'éliminer les traces de sels. La pelote est séchée lorsque l'éthanol s'évapore en laissant le tube ouvert toute la nuit à température ambiante.

II.2.4.1.2. Analyse spectrophotométrique UV-vis

Les analyses UV-vis sont effectuées par un spectromètre UV-vis (V-650 Jasco beam) en utilisant des cuves en quartz ayant une capacité volumétrique de 5 ml. Les données sont traitées en utilisant des logiciels d'analyses spécifiques. Les spectres électroniques des quatre dérivés de la quinoléine sont obtenus en maintenant la concentration des composés testés ($10 \mu\text{mol.L}^{-1}$) dans l'acétonitrile/ tampon de phosphate (0.1 mol.L^{-1} , $\text{pH} = 7.2$) (9:1,v:v) avec une augmentation progressive de la concentration de la solution d'ADN ($0-4.37 \mu\text{mol.L}^{-1}$) [33].

II.2.4.1.3. Analyse électrochimique

L'appareillage utilisé pour étudier l'interaction des composés $\text{H}_2\text{L-H}$, $\text{H}_2\text{L-Br}$, $\text{H}_2\text{L-F}$ et $\text{H}_2\text{L-NO}_2$ avec l'ADN par la voltampérométrie cyclique est le même décrit précédemment pour l'étude du piégeage de l'anion superoxyde.

L'interaction de chaque composé ($10 \mu\text{mol.L}^{-1}$) avec de l'ADN est analysée en variant le potentiel de 0 à +0.9 V à une vitesse de balayage de 0,1 V/s sans et avec addition séquentielle d'ADN dans une solution d'acétonitrile/phosphate tampon (0.1 mol.L^{-1} , $\text{pH} = 7.2$), (9:1, v : v) contenant 0.1 mol.L^{-1} TBuNPF₆ comme électrolyte support. Les voltampérogrammes obtenus sont exploités pour accéder aux paramètres d'interaction entre les bases de Schiff dérivée de la quinoléine et l'ADN [34].

II.2.4.2. Interaction avec la BSA

L'étude de l'interaction entre une drogue et la HSA est capitale pour évaluer son comportement *in vivo*, pour cela nous avons choisi l'albumine du sérum bovin BSA comme protéine modèle en raison de sa forte similarité structurale avec

l'albumine sérique humaine pour étudier l'aptitude de nos molécules à former des associations avec celle-ci.

II.2.4.2.1. Analyse spectroscopique UV-vis

L'utilisation de la spectroscopie d'absorption s'est imposée pour l'étude des interactions de nos composés avec la BSA. Cette technique présente deux avantages essentiels sur les autres techniques qui sont la sensibilité et la rapidité de mise en œuvre. Elle ne nécessite que peu de matière et des équipements couramment disponibles dans les laboratoires. Nous les avons complétées par des mesures électrochimiques pour confirmer les informations de mode de liaison des composés à la BSA. Les spectres d'absorption de $12 \mu\text{mol.L}^{-1}$ de l'albumine du sérum bovin (BSA) en absence et en présence des concentrations successives des composés étudiés (0 à $12 \mu\text{mol.L}^{-1}$) sont enregistrés entre 260 et 310 nm [35].

II.2.4.2.2. Analyse électrochimique

L'interaction entre les quatre dérivés de la quinoléine et la BSA est étudiée dans les mêmes conditions électrochimiques que celle de l'ADN tout en maintenant constant la concentration des dérivés étudiés ($100 \mu\text{mol.L}^{-1}$) et en variant la concentration de la solution de BSA de 0 à $12 \mu\text{mol.L}^{-1}$ [36]. Le complexe ainsi formé $\text{H}_2\text{L-R-BSA}$ est agité pendant 10 s, puis le voltampérogramme cyclique est enregistré.

Références bibliographiques

- [1] R.S. Mulliken, W.B. Person, *Molecular complexes: a lecture and reprint volume*, Wiley-Interscience, 1969.
- [2] J.C. Boeyens, The conformation of six-membered rings, *Journal of Crystal and Molecular Structure*. 8 (1978) 317–320.
- [3] C.N.R. Rao, *Ultra-Violet and Visible Spectroscopy* Butterworths, London, 1967.
- [4] R.M. Silverstein, *Identification spectrométrique de composés organiques*, (1968).
- [5] J. Barek, A.G. Fogg, A. Muck, J. Zima, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 31, (2001).
- [6] M. Lacombe, *Méthodes électrochimiques pour l'analyse in situ de composés bioactifs en milieu océanique*, PhD Thesis, 2007.
- [7] S. Chevion, M.A. Roberts, M. Chevion, The use of cyclic voltammetry for the evaluation of antioxidant capacity, *Free Radical Biology and Medicine*. 28 (2000) 860–870.
- [8] J.E. Randles, A cathode ray polarograph. Part II.—The current-voltage curves, *Transactions of the Faraday Society*. 44 (1948) 327–338.
- [9] A. Ševčík, Oscillographic polarography with periodical triangular voltage, *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. 13 (1948) 349–377.
- [10] P. Delahay, *New instrumental methods in electrochemistry*, (1954).
- [11] H. Matsuda, Y. Ayabe, The theory of the cathode-ray polarography of Randles-Sevcik, *Zeitschrift Fuer Elektrochemie and Angewandte Physikalische Chemie*. 59 (1955) 494–503.
- [12] R.S. Nicholson, I. Shain, Theory of stationary electrode polarography. Single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems., *Analytical Chemistry*. 36 (1964) 706–723.
- [13] S. Georgieva, L. Boyadzhiev, G. Angelov, *Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydante*, (2010).
- [14] R. Salazar, M.E. Pozos, P. Cordero, J. Perez, M.C. Salinas, N. Waksman, Determination of the antioxidant activity of plants from Northeast Mexico, *Pharmaceutical Biology*. 46 (2008) 166–170.
- [15] H.R.P. Naik, H.S.B. Naik, T.R.R. Naik, H.R. Naika, K. Gouthamchandra, R. Mahmood, B.K. Ahamed, Synthesis of novel benzo [h] quinolines: wound healing, antibacterial, DNA binding and in vitro antioxidant activity, *European Journal of Medicinal Chemistry*. 44 (2009) 981–989.

- [16] M. Orhan Puskullu, B. Tekiner, S. Suzen, Recent studies of antioxidant quinoline derivatives, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 13 (2013) 365–372.
- [17] Z. Hadbaoui, Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de sorgho et de mil locaux, PhD Thesis, Thèse de Doctorat: Université de Kasdi Merbah OUARGLA-ALGERIE, 2012.
- [18] D. Verbanac, R. Malik, M. Chand, K. Kushwaha, M. Vashist, M. Matijašić, V. Stepanić, M. Perić, H.Č. Paljetak, L. Saso, Synthesis and evaluation of antibacterial and antioxidant activity of novel 2-phenyl-quinoline analogs derivatized at position 4 with aromatically substituted 4 H-1, 2, 4-triazoles, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 31 (2016) 104–110.
- [19] H.-B. Li, C.-C. Wong, K.-W. Cheng, F. Chen, Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants, *LWT-Food Science and Technology*. 41 (2008) 385–390.
- [20] P.-D. Duh, Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* Linné): Its scavenging effect on free-radical and active oxygen, *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 75 (1998) 455–461.
- [21] M. Oyaizu, Studies on products of browning reaction, *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*. 44 (1986) 307–315.
- [22] P. Prieto, M. Pineda, M. Aguilar, Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E, *Analytical Biochemistry*. 269 (1999) 337–341.
- [23] T. Sun, W. Xie, P. Xu, Superoxide anion scavenging activity of graft chitosan derivatives, *Carbohydrate Polymers*. 58 (2004) 379–382.
- [24] M.E. Ortiz, L.J. Nunez-Vergara, J.A. Squella, Cyclic voltammetric behaviour of the O₂/O₂⁻ redox couple at a HMDE and its interaction with nisoldipine, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 519 (2002) 46–52.
- [25] S. Kumar, S. Bawa, H. Gupta, Biological activities of quinoline derivatives, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 9 (2009) 1648–1654.
- [26] W. Calhoun, R.P. Carlson, R. Crossley, L.J. Datko, S. Dietrich, K. Heatherington, L.A. Marshall, P.J. Meade, A. Opalko, R.G. Shepherd, Synthesis and antiinflammatory activity of certain 5, 6, 7, 8-tetrahydroquinolines and related compounds, *Journal of Medicinal Chemistry*. 38 (1995) 1473–1481.

- [27] A.K. Pandey, P.P. Kashyap, C.D. Kaur, Anti-inflammatory activity of novel Schiff bases by in vitro models, *Bangladesh Journal of Pharmacology*. 12 (2017) 41–43.
- [28] P. Narender, U. Srinivas, M. Ravinder, B.A. Rao, C. Ramesh, K. Harakishore, B. Gangadasu, U.S.N. Murthy, V.J. Rao, Synthesis of multisubstituted quinolines from Baylis–Hillman adducts obtained from substituted 2-chloronicotinaldehydes and their antimicrobial activity, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 14 (2006) 4600–4609.
- [29] P. Senthilkumar, M. Dinakaran, P. Yogeewari, D. Sriram, A. China, V. Nagaraja, Synthesis and antimycobacterial activities of novel 6-nitroquinolone-3-carboxylic acids, *European Journal of Medicinal Chemistry*. 44 (2009) 345–358.
- [30] A.W. Bauer, W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, M. Turck, Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, *American Journal of Clinical Pathology*. 45 (1966) 493–496.
- [31] D. Malagoli, A full-length protocol to test hemolytic activity of palytoxin on human erythrocytes, *Invertebrate Survival Journal*. 4 (2007) 92–94.
- [32] J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis, *Molecular cloning: a laboratory manual.*, Cold spring harbor laboratory press, 1989.
- [33] B. Anupama, M. Sunita, D.S. Leela, B. Ushaiah, C.G. Kumari, Synthesis, spectral characterization, DNA binding studies and antimicrobial activity of Co (II), Ni (II), Zn (II), Fe (III) and VO (IV) complexes with 4-aminoantipyrine Schiff base of ortho-vanillin, *Journal of Fluorescence*. 24 (2014) 1067–1076.
- [34] M. Shabbir, Z. Akhter, I. Ahmad, S. Ahmed, H. Ismail, B. Mirza, V. McKee, M. Bolte, Synthesis, characterization, biological and electrochemical evaluation of novel ether based ON donor bidentate Schiff bases, *Journal of Molecular Structure*. 1116 (2016) 84–92.
- [35] M. Kongot, N. Dohare, D.S. Reddy, N. Pereira, R. Patel, M. Subramanian, A. Kumar, In vitro apoptosis-induction, antiproliferative and BSA binding studies of a oxidovanadium (V) complex, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 51 (2019) 176–190.
- [36] S. Bi, L. Yan, B. Wang, J. Bian, Y. Sun, Spectroscopic and voltammetric characterizations of the interaction of two local anesthetics with bovine serum albumin, *Journal of Luminescence*. 131 (2011) 866–873.

Chap.III: Activités biologiques

Ce chapitre est consacré à l'étude *in vitro* des activités biologiques y compris l'activité antioxydante, antiinflammatoire, antimicrobienne et antihémolytiques des quatre bases de Schiff dérivées de la quinoléine. Les résultats de l'étude qualitative de la relation structure activité QSAR ainsi que les calculs de la théorie de la fonctionnelle de la densité "DFT", sont également rapportés dans cette partie.

III.1. Caractérisation des bases de Schiff dérivées d' amino quinoléine H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂

Les molécules présentées dans ce travail ont été synthétisées selon la procédure rapportée par M. El-Noaimi et al [1] en faisant réagir une solution de chlorure d'hydrazonyle appropriée (20 mmol) avec de la 8-aminoquinoléine (2.86 g, 20 mmol) et de la triéthylamine (2.4 g, 24 mmol). L'éthanol absolu a été utilisé comme solvant. Le mélange obtenu a été refluxé pendant 2h; la condensation suivie du refroidissement a donné un cristal jaune. Le schéma III. 1 illustre la structure moléculaire de ces molécules.

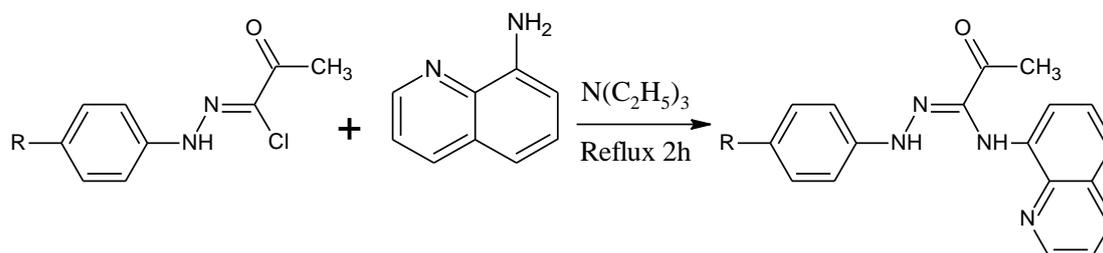


Schéma III. 1. Procédure générale de la synthèse des dérivés H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂, hydrazonyle chlorure, 8-aminoquinoléine, (1Z)-2-oxo-N'-phenyl-N-quinoléine -8-ylpropanehydrazonamide (**H₂L-H**), R=H, (1Z)-N'-(4-bromophenyl)-2-oxo-N-quinoléine -8-ylpropanehydrazonamide (**H₂L-Br**), R=Br, (Z)-N'-(4-fluorophenyl)-2-oxo-N-quinoléine -8-ylpropanehydrazonamide (**H₂L-F**), R=F, (Z)-N'-(4-nitrophenyl)-2-oxo-N-quinoléine -8-ylpropanehydrazonamide (**H₂L-NO₂**), R=NO₂.

III.1.1. Propriétés spectrales des composés synthétisés

III.1.1.1. (1Z)-N'-(4-fluorophenyl)-2-oxo-N-quinoléine -8-ylpropanehydrazonamide (**H₂L-F**)

Rendement: (4.86g, 60%) , T_f: 156-157 °C; UV-vis (TIDAS, dans CH₂Cl₂): λ_{max(1)}(240nm), λ_{max(2)}(340 nm); IR [FT-IR JASCO model 420 cm⁻¹]: ν_{C=N} (1578),

$\nu_{C=O}$ (1673); $^1\text{H NMR}$ (Bruker Avance III 400, CDCl_3 , TMS), δ (ppm): 8.92 (d, 1H, H10), 8.46 (s, 1H, NH), 8.19 (d, 1H, H5), 7.66 (s, 1H, NH), 7.50 (m, 1H, H9), 7.37 (d, 2H, H2, H3), 7.12 (m, 2H, H6, H7), 7.03 (d, 2H, H1, H4), 6.33 (d, 1H, H8), 2.65 (s, 3H, COCH₃); **E.A(Eurovector.3000) %**: C, 67.23; H, 4.88; N, 17.24.

III.1.1.2. (1Z)-2-oxo-N'-phenyl-N-quinoléine-8-ylpropanehydrazoneamide (**H₂L-H**)[1]

Rendement: (3.2g, 52%) , T_f: 140–142 °C; **UV-vis (TIDAS fiberorptic diode array, dans CH₂Cl₂):** $\lambda_{\text{max}(1)}$ (241nm), $\lambda_{\text{max}(2)}$ (299nm), $\lambda_{\text{max}(3)}$ (352nm); **IR [FT-IR JASCO model 420 cm⁻¹]:** $\nu_{C=N}$ (1577), $\nu_{C=O}$ (1668); $^1\text{H NMR}$ (Bruker Avance III 400, CDCl_3 , TMS), δ (ppm): 8.90 (d, 1H, H10), 8.49 (s,1H, NH), 8.15 (d, 1H, H5), 7.70 (s, 1H, NH), 7.50 (t, 1H, H9), 7.40 (d, 2H, H2, H3), 7.35 (m, 3H, Y = H, H7, H6), 7.05 (d, 2H, H1, H4), 6.35 (d, 1H, H8), 2.62 (s, 3H, COCH₃); **E.A(Eurovector.3000) %**: C, 71.21; H, 5.20; N, 18.31.

III.1.1.3. (1Z)-N'-(4-bromophenyl)-2-oxo-N-quinoléine-8-ylpropanehydrazoneamide (**H₂L-Br**) [1]

Rendement: (4.97g, 65%) , T_f: 164–165 °C; **UV-vis (TIDAS fiberorptic diode array, dans CH₂Cl₂):** $\lambda_{\text{max}(1)}$ (245 nm), $\lambda_{\text{max}(2)}$ (297 nm), $\lambda_{\text{max}(3)}$ (380nm); **IR [FT-IR JASCO model 420 cm⁻¹]:** $\nu_{C=N}$ (1578), $\nu_{C=O}$ (1673); $^1\text{H NMR}$ (Bruker Avance III 400, CDCl_3 , TMS), δ (ppm): 8.92 (d, 1H, H10), 8.50 (s,1H, NH), 8.18 (d, 1H, H5), 7.65 (s, 1H, NH), 7.50 (m, 1H, H9), 7.45(d, 2H, H2, H3), 7.35 (m, 2H, H6, H7), 7.05 (d, 2H, H1, H4), 6.35(d, 1H, H8), 2.62 (s, H,COCH₃); **E.A (Eurovector.3000) %**: 56.53; H, 3.78; N, 14.54.

III.1.1.4. (1Z)-N'-(4-nitrophenyl)-2-oxo-N-quinoléine-8-ylpropanehydrazoneamide (**H₂L-NO₂**)[1]

Rendement: (4.88g, 70%) , T_f: 209–210 °C; **UV-vis (TIDAS fiberorptic diode array, dans CH₂Cl₂):** $\lambda_{\text{max}(1)}$ (235 nm), $\lambda_{\text{max}(2)}$ (332 nm), $\lambda_{\text{max}(3)}$ (405nm); **IR [FT-IR JASCO model 420 cm⁻¹]:** $\nu_{C=N}$ (1578), $\nu_{C=O}$ (1675); $^1\text{H NMR}$ (Bruker Avance III 400, CDCl_3 , TMS), δ (ppm): 8.89 (d, 1H, H10), 8.40 (s, 1H, NH), 8.10 (d, 1H, H5), 7.69 (s, 1H, NH), 7.45 (m, 1H, H9), 7.35 (m,2H, H6, H7), 7.05 (d, 2H, H2, H3), 7.00 (d, 2H, H1, H4), 6.29 (d,1H, H8), 2.60 (s, 3H, COCH₃); **E.A (Eurovector.3000) %**: 61.73; H, 4.48; N, 20.24.

Les molécules présentées dans ce travail, ne diffèrent que par la nature des substituants au niveau de la position para du cycle du phényle. Tous ces solides sont caractérisés par la microanalyse et les méthodes spectroscopiques FT-IR, RMN ^1H et UV-vis. Par exemple, la molécule H₂L-F est caractérisée par deux bandes d'absorption des ultraviolets attribuées aux transitions $n \rightarrow \pi^*$ (240-340nm). Les pics IR observés autour de 3100-3250 cm^{-1} sont attribués à la vibration (N-H), tandis que celles situées entre 1577-1596 cm^{-1} et entre 1668-1673 cm^{-1} sont attribuées respectivement au groupe C = N des groupes quinolone et C = O des groupes acétyle. Le déplacement chimique de la RMN ^1H révèle un singulet situé à $\delta = 2.65$ ppm attribué aux protons de -COCH₃ et deux singulets situés à $\delta = 8.46$ ppm et $\delta = 7.66$ ppm attribués au proton de N-H. Les résultats de la microanalyse convergent parfaitement avec la composition des structures des molécules.

III.2. Évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs techniques d'évaluation de l'activité antioxydante sont basées sur l'utilisation de systèmes générant des radicaux libres. Ce sont des méthodes dites "d'inhibition" ou "piégeage". Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la variété des radicaux libre, il n'existe pas de méthode unique permettant de refléter le profil antioxydant d'une substance. C'est pourquoi, nous avons utilisé dans notre étude des méthodes classiques et électrochimiques pour estimer l'activité antioxydante de nos produits.

III.1.1. L'essai de piégeage du radical DPPH

L'activité antiradicalaire des produits H₂L-H, H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂ a été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH. Cette technique utilise le radical libre DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, et qui vire au jaune en présence d'un capteur des radicaux libres. L'antioxydant réagit avec le DPPH et le réduit en DPPH-H non radicalaire. En conséquence, la concentration de DPPH diminue, ce qui entraîne une diminution de l'absorbance à 517 nm [2,3].

La capacité de réduction du DPPH est mesurée par la diminution de l'absorbance à 517 nm, en fonction des concentrations de l'antioxydant ajouté. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau III.1.

Les résultats montrent que l'absorbance du radical DPPH a diminué avec l'augmentation de la concentration des composés étudiés. En outre, l'activité antiradicalaire est calculée selon la formule 1 [4]:

Tableau III.1. Evolution de l'absorbance mesurée à $\lambda=517$ nm pour les molécules H₂L-H, H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂ et l'acide ascorbique.

Concentration ($\mu\text{mol.L}^{-1}$) Molécule	10	30	60	90	100	200
	Absorption à $\lambda=517$ nm					
H ₂ L-H	0.525	0.374	0.275	0.234	0.218	0.161
H ₂ L-Br	0.646	0.475	0.194	0.120	0.108	0.068
H ₂ L-F	0.511	0.316	0.237	0.117	0.091	0.075
H ₂ L-NO ₂	0.553	0.379	0.120	0.117	0.105	0.091
Acide ascorbique	0.593	0.379	0.160	0.093	0.057	0.056

$$I \% = \frac{\text{Abs (c)} - \text{Abs (t)}}{\text{Abs (c)}} \times 100 \quad \text{III. 1}$$

I% : le pourcentage d'inhibition, **abs(c)** : l'absorption moléculaire de contrôle, **Abs (t)** : l'absorption moléculaire de l'échantillon.

Les résultats obtenus, ont permis de tracer les courbes de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des molécules étudiées $I\% = f(C)$ (Figure III.1).

La Figure III. 1 rapporte les pourcentages de l'effet de piégeage des composés testés ainsi que celui de l'acide ascorbique. Tous les composés testés ont une capacité antiradicalaire significative dose dépendante, ils sont capables de piéger les radicaux libres DPPH^{*} à l'échelle micro molaire et leurs activités sont supérieures à celle du standard l'acide ascorbique.

D'après les résultats obtenus, on peut constater que les composés H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂ atteignent rapidement l'activité maximale à une très faible

concentration, tandis que H₂L-H nécessite plus de temps et de concentration pour atteindre le même niveau.

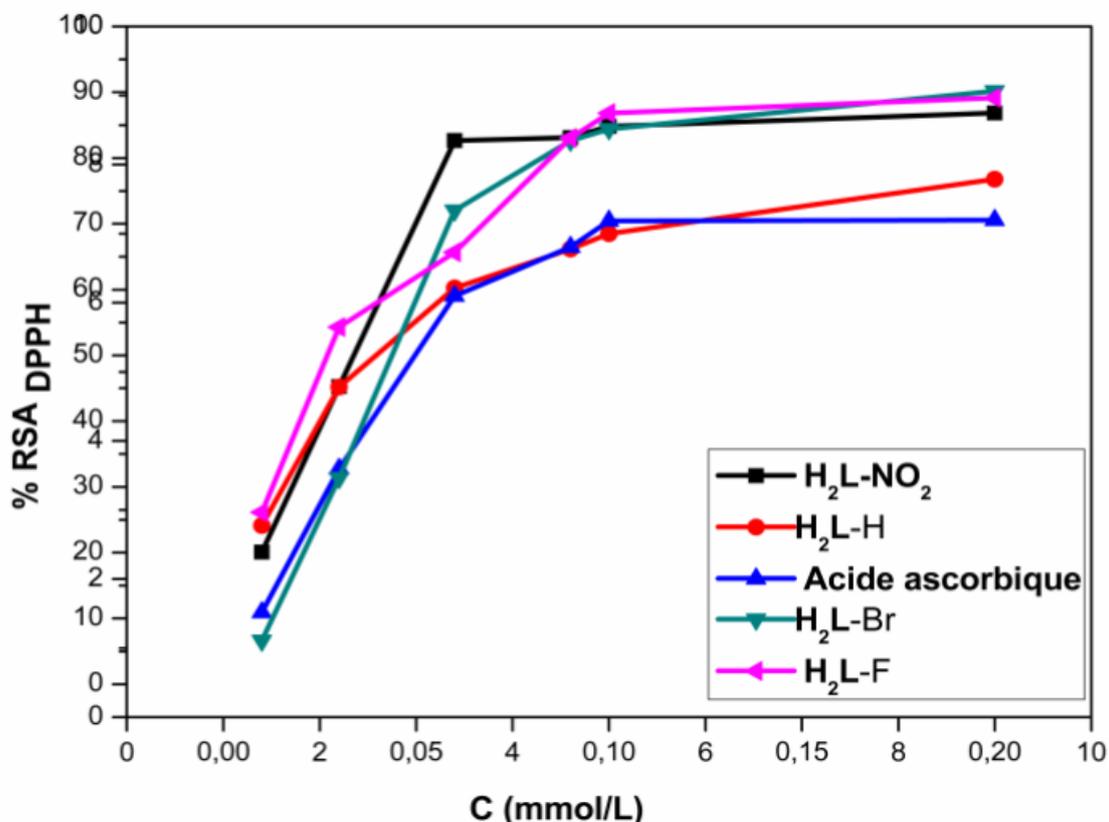


Figure III. 1. Activité antiradicalaire des molécules H₂L-H, H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂ et du standard acide ascorbique

Pour mieux évaluer la capacité antioxydante de nos composés vis-à-vis du DPPH^{*}, les résultats ont été exprimés en IC₅₀; paramètre couramment utilisé pour mesurer l'activité antioxydante d'une molécule. IC₅₀ est défini comme étant la concentration du composé nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH. Nous rappelons qu'une valeur faible d'IC₅₀ correspond à une activité antioxydante élevée du composé [5]. Cette valeur est déterminée graphiquement à partir des droites de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des composés étudiés, présentée par les figures III. (2, 3, 4, 5 et 6).

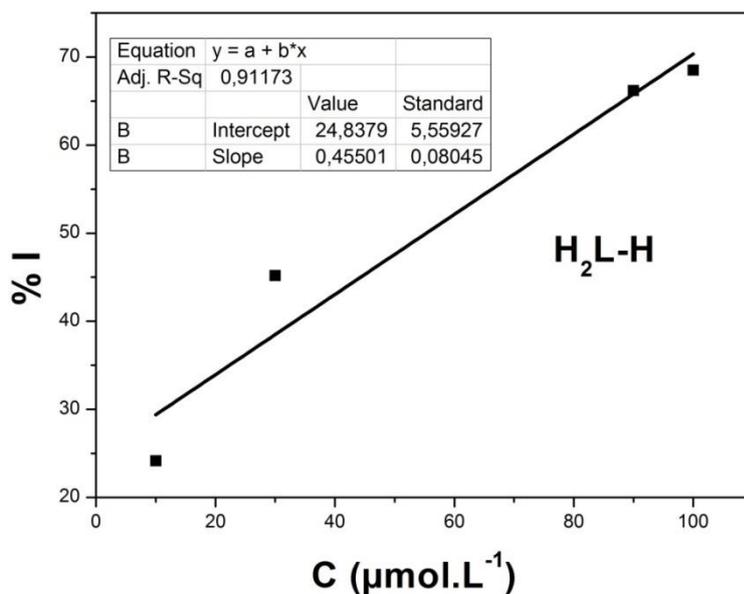


Figure III. 2. Représentation graphique du pourcentage d'inhibition du radical DPPH* en fonction des différentes concentrations du composé H₂L-H

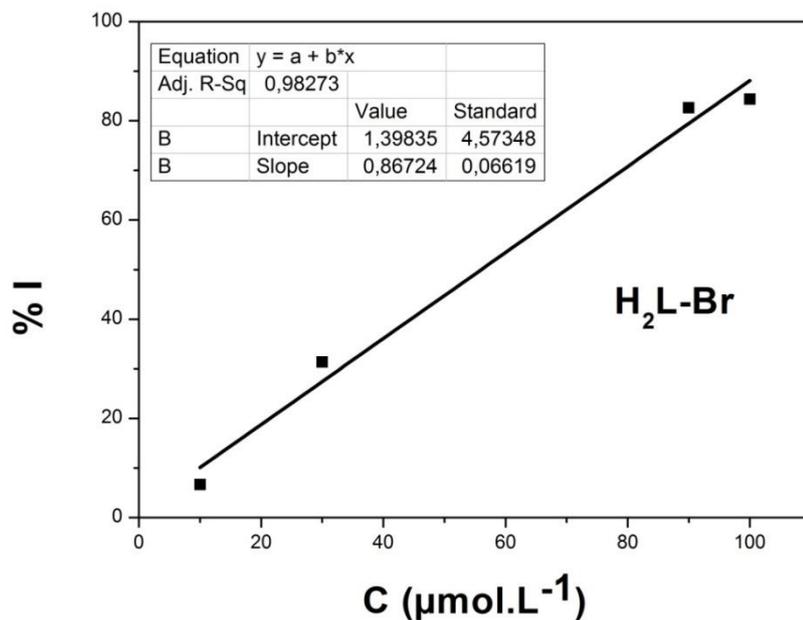


Figure III. 3. Représentation graphique du pourcentage d'inhibition du radical DPPH* en fonction des différentes concentrations du composé H₂L-Br

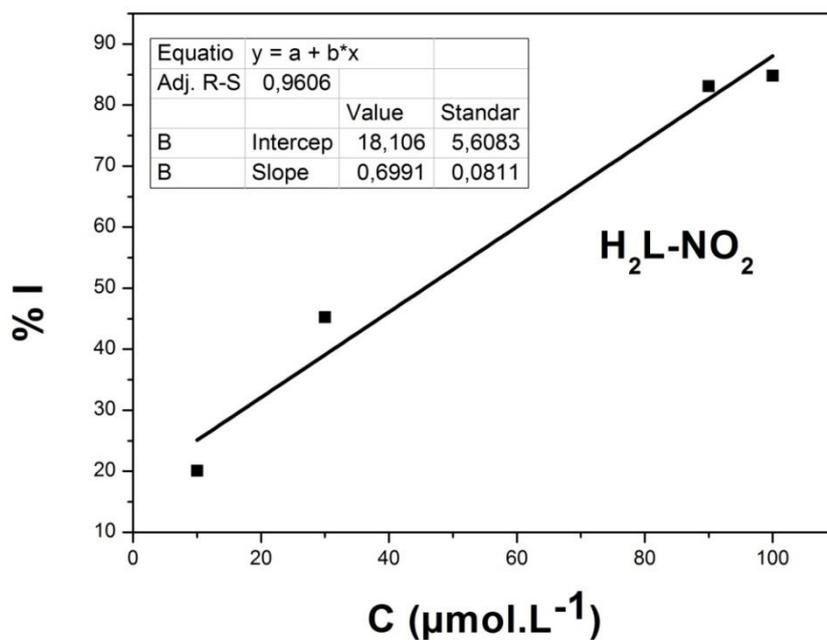


Figure III. 4. Représentation graphique du pourcentage d'inhibition du radical DPPH^{*} en fonction des différentes concentrations du composé H₂L-NO₂

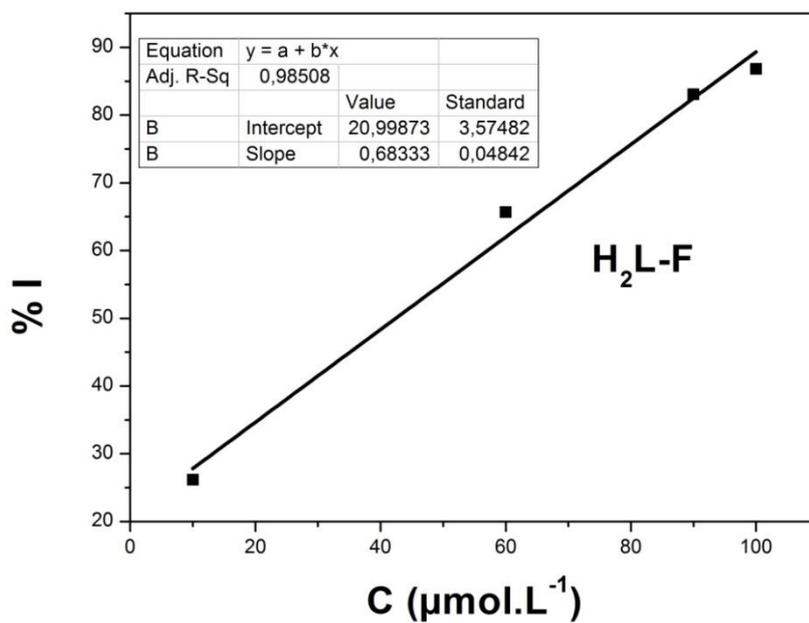


Figure III. 5. Représentation graphique du pourcentage d'inhibition du radical DPPH^{*} en fonction des différentes concentrations du composé H₂L-F

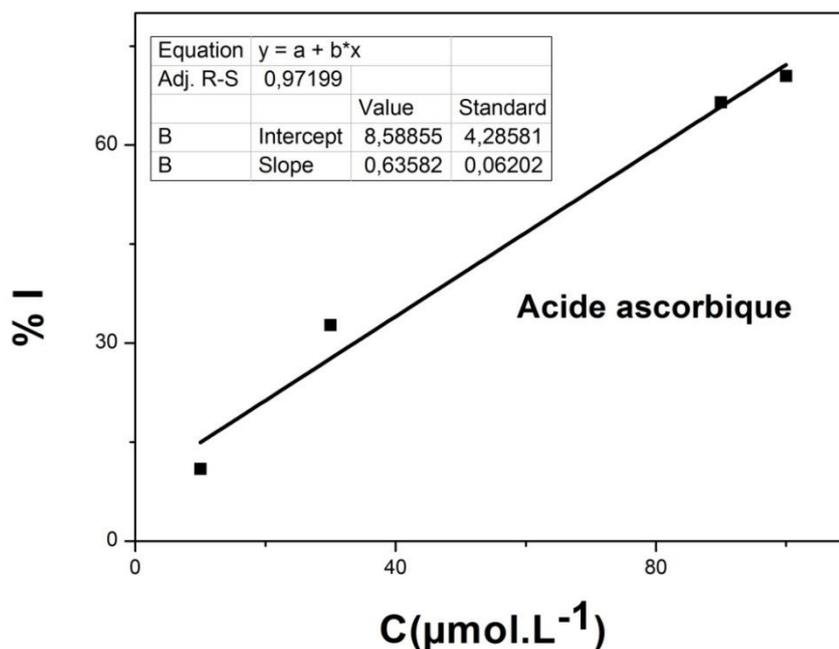


Figure III. 6. Représentation graphique du pourcentage d'inhibition du radical DPPH' en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique

Le Tableau III.2 et la Figure III.7 représentent les valeurs d'IC₅₀ des molécules étudiées.

Tableau III. 2. Valeurs calculées des IC₅₀ pour les molécules H₂L-H, H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂ et du standard acide ascorbique

Paramètre	H ₂ L-F	H ₂ L-Br	H ₂ L-NO ₂	H ₂ L-H	Acide ascorbique
Equation	y=0.68x+20,99	y=0.86x+ 1.39	y=0.69x+1 8.10	y=0.45x+24.83	y=0.635x +8.588
R ²	0.9850	0.9827	0.96064	0.9117	0.9719
IC ₅₀ (μmol.L ⁻¹)	42.74	41.54	45.77	55.31	65.21

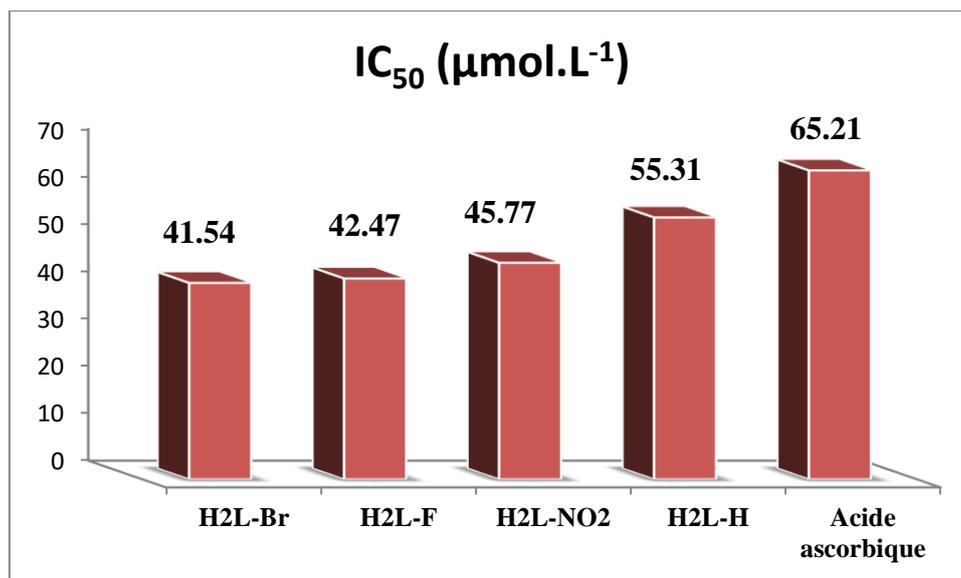


Figure III. 7. Valeurs des concentrations inhibitrices IC₅₀ exprimées en µmol.L⁻¹ des dérivés de la quinoléine: H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-NO₂, H₂L-H et du standard acide ascorbique

De ces résultats, il apparaît que les quatre bases de Schiff dérivées de la quinoléine possèdent un pouvoir antioxydant supérieur à celui de l'acide ascorbique avec des valeurs IC₅₀ de 41.54, 42.47, 45.77, 55.31 et 65.21 µmol.L⁻¹ pour H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-NO₂, H₂L-H et l'acide ascorbique respectivement. Ces résultats révèlent que tous les composés testés sont de puissants agents piègeurs des radicaux DPPH[•]. En général, l'activité antioxydante des composés étudiés peut être classée dans l'ordre décroissant suivant :



Les relations structure-activité suggèrent que le pouvoir antioxydant d'une molécule est favorisé par plusieurs caractéristiques structurales. Pour certains composés, la présence des groupements électrodonneurs et électroattracteurs ainsi que leur position ont un impact sur le pouvoir réducteur des substances [6,7]. La propriété de piégeage de nos produits peut être due aux groupements N-H (hydrazonyl) qui peuvent également neutraliser le radical DPPH[•] par donation d'hydrogène. D'autre part, la présence de puissants groupements électroattracteurs (brome, fluor, nitro) en position para sur le noyau phényle ont considérablement augmenté l'activité des trois molécules H₂L- Br, H₂L- F et H₂L-NO₂ par rapport à H₂L-H. En accord avec les

présents résultats, des travaux antérieurs ont montré que les groupements électroattracteurs substitués en position para sur le cycle augmentent l'activité antioxydante d'une molécule [8].

III.1.2. Test du pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium

Le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle. C'est un test simple, rapide et reproductible par lequel le composé antioxydant réduit le Fe^{3+} du complexe de ferricyanure en Fe^{2+} . Par conséquent, la concentration des ions Fe^{2+} peut être évaluée en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu-vert dans le milieu réactionnel à 700 nm [9,10]. L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique l'augmentation du pouvoir réducteur de l'antioxydant [11,12]. La capacité réductrice des molécules $\text{H}_2\text{L-F}$, $\text{H}_2\text{L-Br}$, $\text{H}_2\text{L-NO}_2$, $\text{H}_2\text{L-H}$ et de l'acide ascorbique est exprimée par la variation de l'absorbance avec la concentration. Les résultats obtenus sont présentés graphiquement dans la Figure III.8.

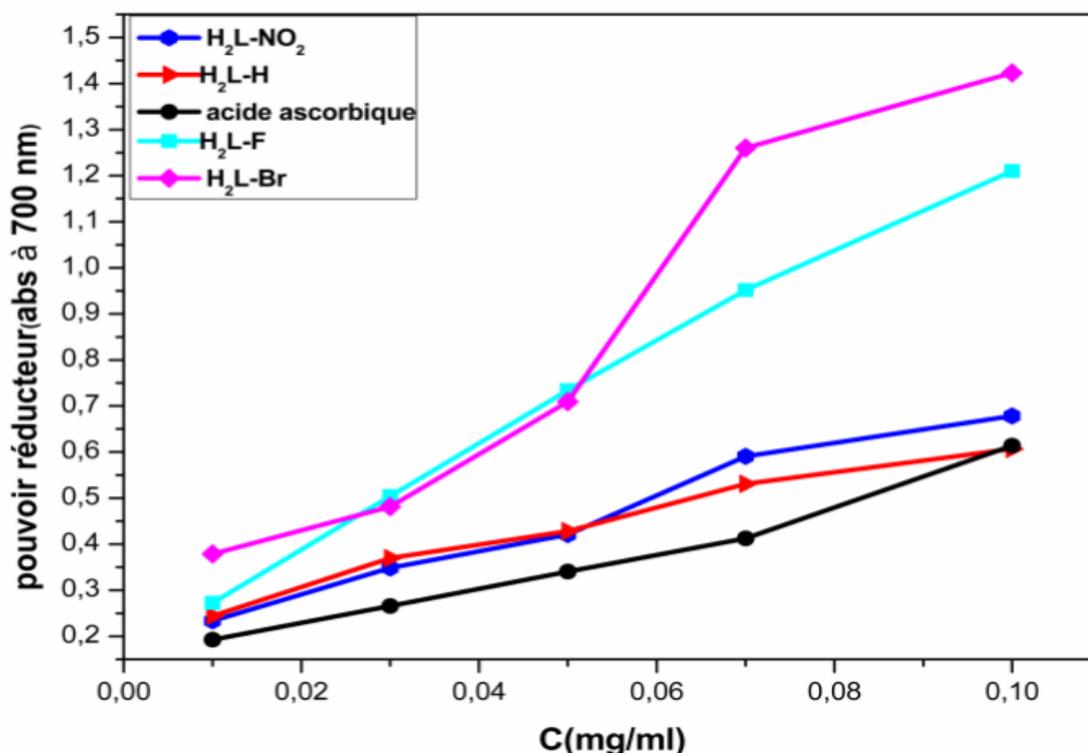


Figure III. 8. Pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium en fonction des concentrations de divers composés $\text{H}_2\text{L-Br}$, $\text{H}_2\text{L-F}$, $\text{H}_2\text{L-NO}_2$, $\text{H}_2\text{L-H}$ et de l'acide ascorbique

À partir de la courbe Absorption = f (concentrations), il en découle que le pouvoir réducteur de tout les composés dépend de la concentration. D'autre part, les quatre composés ont un potentiel réducteur plus élevé que l'acide ascorbique, à la concentration de 100 µg/ ml, l'ordre croissant de la capacité réductrice des molécules étudiées se traduit par des valeurs de densité optique DO est le suivant :

$$\text{H}_2\text{L-Br (1.42)} > \text{H}_2\text{L-F (1.21)} > \text{H}_2\text{L-NO}_2 \text{ (0.67)} > \text{H}_2\text{L-H (0.61)} > \text{Acide Ascorbique (0.60)}$$

En outre, les valeurs EC₅₀ des composés et de l'acide ascorbique ont également été calculées (Tableau III.3). Nous rappelons que la concentration effectrice EC₅₀ est la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0,5.

Tableau III.3. Valeurs des concentrations effectrices EC₅₀ des molécules H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-NO₂, H₂L-H et de l'acide ascorbique.

Composé	EC ₅₀ (µg/ml)
H ₂ L-Br	26.83
H ₂ L-F	31.2
H ₂ L-NO ₂	62.2
H ₂ L-H	68
Acide ascorbique	93

Les valeurs des concentrations effectrices EC₅₀ se sont avérées inférieures à celles de l'acide ascorbique. Il est bien connu que plus la valeur de l'EC₅₀ est faible, plus le composé est plus antioxydant. Des travaux antérieurs indiquent que le pouvoir réducteur d'un dérivé de la quinoléine est basé sur la rupture de la chaîne des radicaux par la donation d'électrons [13]. Par conséquent, il est suggéré que les quatre composés étudiés réagissent avec les radicaux libres et les réduisent en espèces plus stables et non réactives et mettent fin aux réactions radicalaires en chaîne [14].

III.1.3. Activité antioxydante totale au phosphomolybdate d'ammonium

Dans cet essai, le molybdène (VI) est réduit en molybdène (V) par un échantillon réducteur pour former un complexe phosphomolybdate (V) de couleur verte mesurée par spectrophotométrie à 695 nm.

Le Tableau III.4 rapporte les résultats du pouvoir antioxydant des quatre composés testés par la méthode au molybdate d'ammonium.

Tableau III.4. Valeurs des absorbances des molécules H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-NO₂, H₂L-H et de l'acide ascorbique, mesurées à différentes concentrations

C (μmol.L ⁻¹)	A.ascorbique	H ₂ L-Br	H ₂ L-F	H ₂ L-NO ₂	H ₂ L-H
20	0.2407	0.1855	0.2318	0.2936	0.1827
40	0.2657	0.2714	0.3248	0.3166	0.227
50	0.2925	0.3634	0.3628	0.3268	0.3201
60	0.3016	0.4003	0.3859	0.3342	0.3284
70	0.3301	0.4083	0.4652	0.3437	0.3537
90	0.4791	0.488	0.5	0.3584	0.4072

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que la capacité antioxydante totale des molécules étudiées s'est avérée dépendre de la concentration, et que l'activité réductrice maximale du Mo(VI) est observée à des concentrations élevées (90 μmol.L⁻¹).

Le potentiel réducteur des composés est exprimé en équivalents d'acide ascorbique (μmol.L⁻¹ AAE) en utilisant l'équation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

$$\text{Absorbance} = 0.003 \text{ Acide ascorbique } (\mu\text{mol. L}^{-1}) + 0.143 \quad \text{III. 2}$$

D'après les résultats rapportés dans le tableau III.5, on peut constater que les deux composés H₂L-Br et H₂L-F possèdent la meilleure capacité antioxydante totale de l'ordre de 117±2 μmol.L⁻¹ AAE, suivi par H₂L-H qui révèle une activité réductrice

de l'ordre de 88 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ AAE. Le dérivé nitro H₂L-NO₂ a également montré une activité considérable de l'ordre de 71.8 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ AAE.

Tableau III.5. Capacité antioxydante totale des dérivées de la quinoléine H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-NO₂ et H₂L-H exprimée en équivalents d'acide ascorbique $\mu\text{mol.L}^{-1}$ AAE

C ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	H ₂ L-Br	H ₂ L-F	H ₂ L-H	H ₂ L-NO ₂
20	14.2	29.6	13.2	50.2
40	42.8	60.6	28.0	57.9
50	73.5	73.3	59.0	61.3
60	85.8	81.0	61.8	63.7
70	88.4	107.4	70.0	66.9
90	115.0	119.0	88.0	71.8

D'une manière générale, la capacité antioxydante totale des molécules étudiées suit l'ordre croissant donné par la séquence:



Des travaux antérieurs ont signalé que le transfert d'électron ou d'hydrogène par les antioxydants au complexe Mo(VI) se produit dans la méthode au molybdate d'ammonium [15]. Par conséquent, tous les composés sont capables d'agir comme piègeurs des radicaux libres grâce à leur capacité de donner des électrons.

En comparant les activités antioxydantes des composés étudiés mesurées par les trois méthodes, le piégeage des radicaux DPPH[•], pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium et la capacité antioxydante totale, on peut clairement observer que les quatre bases de Schiff dérivées de la quinoléine étudiées exercent un effet antioxydant presque dans le même ordre. En conclusion, tous ces composés ont une activité antioxydante significative avec influence majeure des groupements électroattracteurs.

III.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante par le piégeage de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$

La voltampérométrie cyclique est utilisée pour générer le radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$ par la réduction d'un électron de l'oxygène moléculaire dans le milieu acétonitrile (Figure III. 9; pic C). La présence du radical $O_2^{\bullet-}$ est facilement détectée par son courant anodique mesuré pendant le balayage inverse (Figure III. 9; pic A). La voltampérométrie cyclique est par conséquent un moyen pratique de générer de l' $O_2^{\bullet-}$ sans système enzymatique et d'étudier son interaction avec une molécule ou un extrait, à condition que le substrat ne soit pas actif dans la plage potentielle de réduction de l'oxygène. Lors de l'élaboration de la procédure, le voltampérogramme cyclique de l'oxygène est d'abord enregistré en absence du substrat pour déterminer la valeur du courant de pic anodique de l'oxydation de l' $O_2^{\bullet-}$ (Figure III. 9).

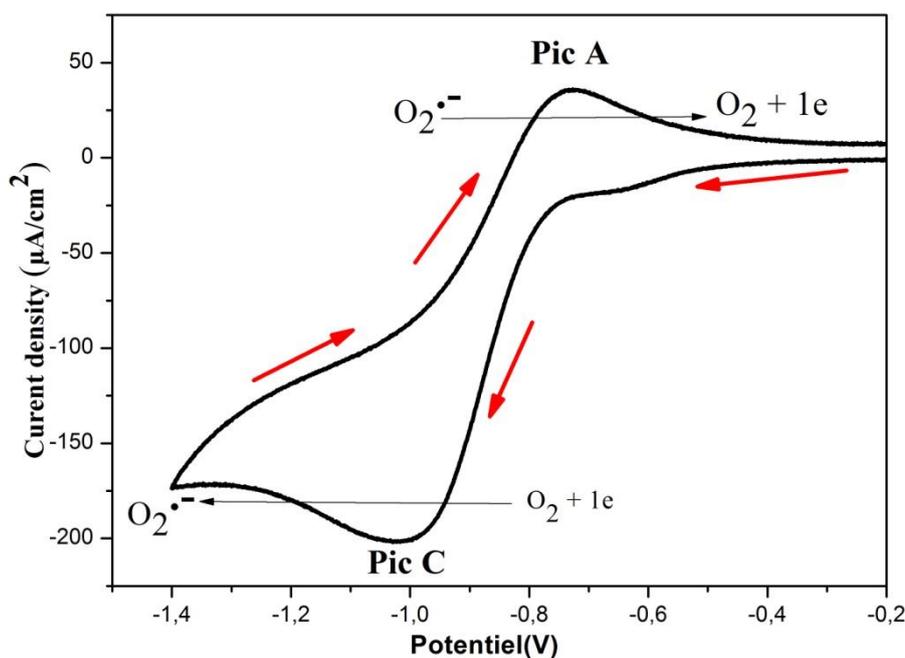


Figure III. 9. Voltampérogramme cyclique de l'oxygène en milieu acétonitrile - TBuNPF6 enregistré à une vitesse de balayage 100 mV / s.

III.1.5. Comportement électrochimique d'oxygène en présence des dérivés de la quinoléine

Les voltampérogrammes cycliques de la réduction de O_2 sont enregistrés en présence des différentes concentrations des quatre molécules H_2L-Br , H_2L-F , H_2L-H et H_2L-NO_2 ou du standard BHT en vue d'évaluer leurs capacités à piéger l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$.

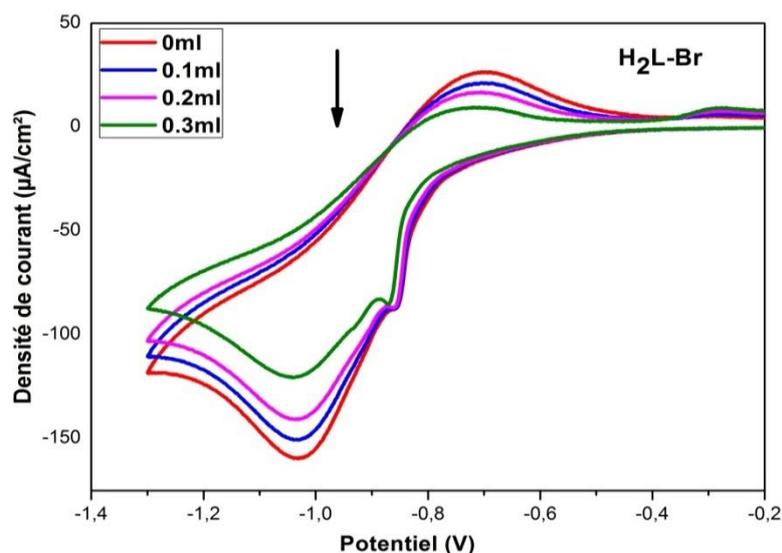


Figure III. 10. Voltampérogrammes cycliques montrant l'effet de piégeage du radical $O_2^{\bullet-}$ enregistrés en présence de différents volumes de H_2L-Br

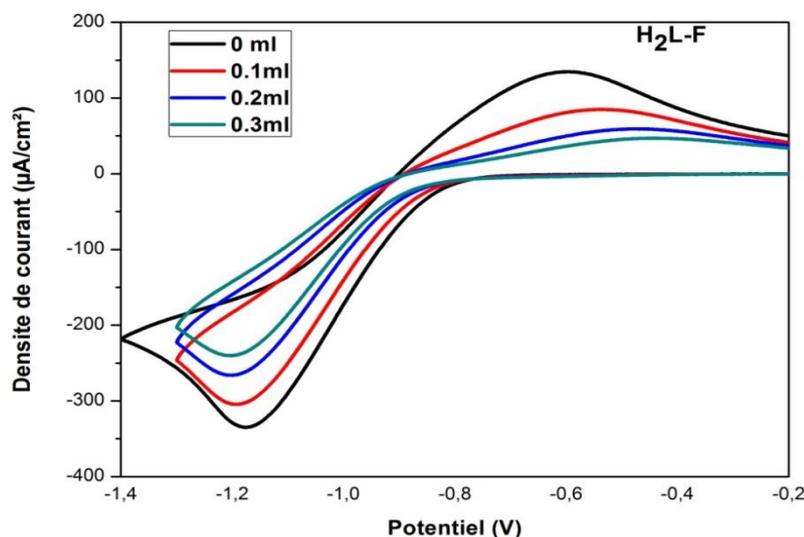


Figure III. 11. Voltampérogrammes cycliques montrant l'effet de piégeage du radical $O_2^{\bullet-}$ en présence de différents volumes de H_2L-F

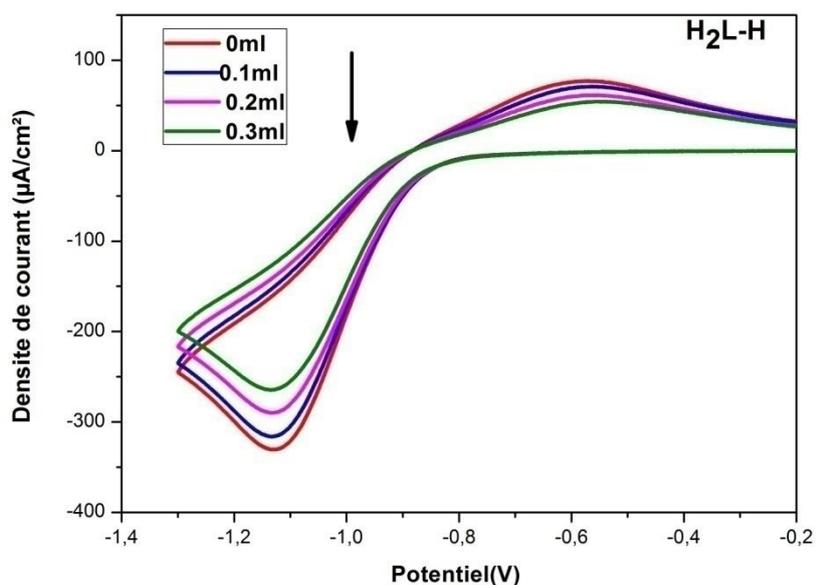


Figure III. 12. Voltampérogrammes cycliques montrant l'effet de piégeage du radical $O_2^{\bullet-}$ en présence de différents volumes de H₂L-H

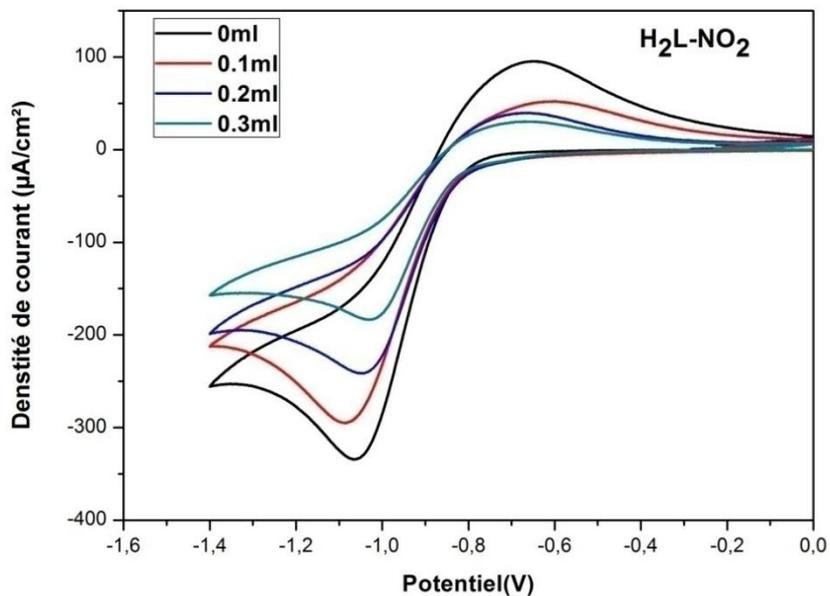


Figure III. 13. Voltampérogrammes cycliques montrant l'effet de piégeage du radical $O_2^{\bullet-}$ en présence de différents volumes de H₂L-NO₂

Les résultats obtenus révèlent que les quatre dérivés exhibent un excellent effet de piégeage de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ et cela se traduit par une diminution proportionnelle du courant anodique et cathodique.

Le pourcentage d'inhibition de l'anion superoxyde ($APR_{O_2^{\bullet-}}$ %) des composés étudiés est calculé en utilisant l'équation suivante [16]:

$$APR_{O_2^{\bullet-}} \% = \frac{I_{pa}^0 - I_{pa}}{I_{pa}^0} \times 100 \quad \text{III. 3}$$

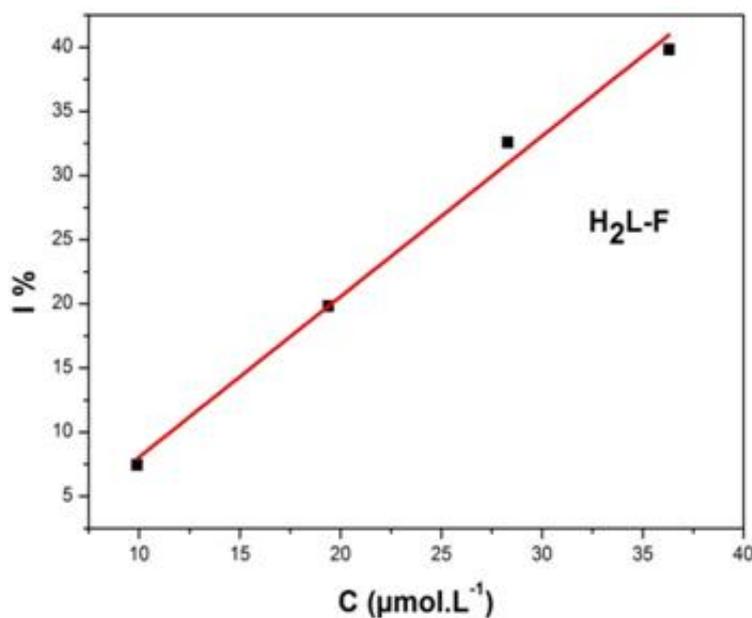
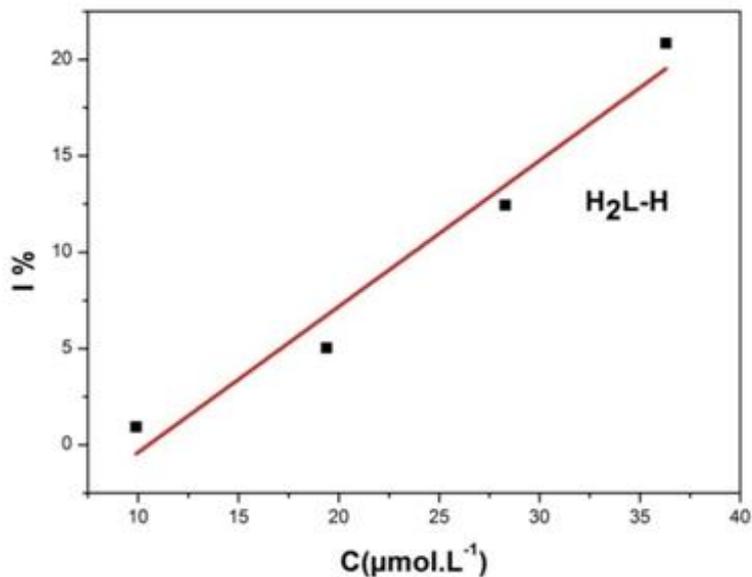
Où I_{pa} et I_{pa}^0 présentent le courant de pic anodique de l'oxydation de l' $O_2^{\bullet-}$ en présence et en absence du composé testé, respectivement.

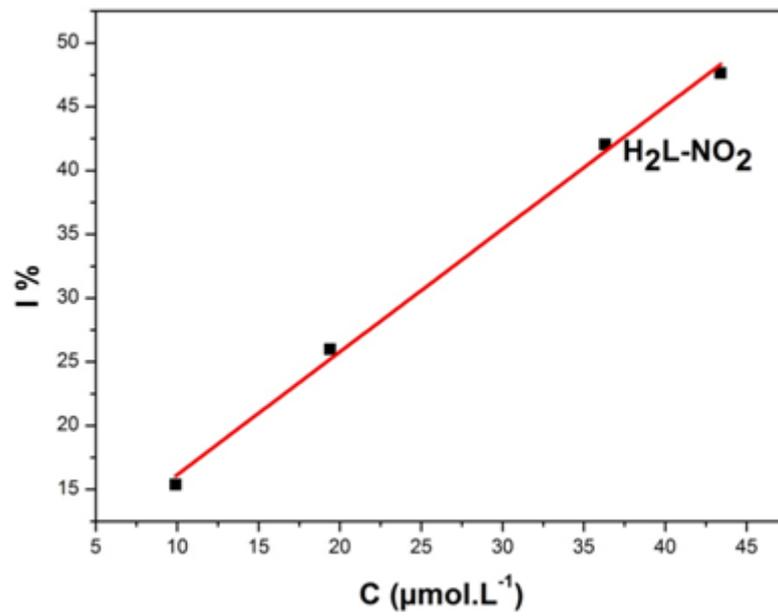
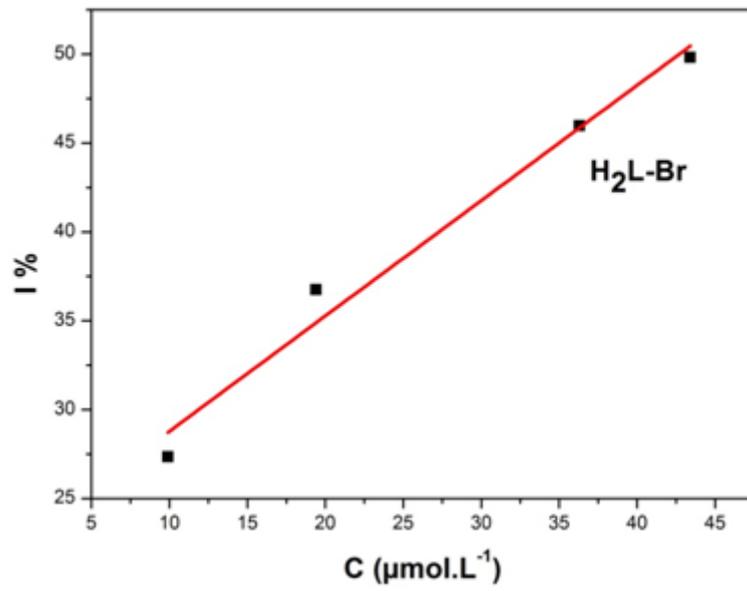
Le tableau III.6 résume le pourcentage d'inhibition du radical superoxyde pour chaque produit.

Tableau III. 6. Valeurs des pourcentages d'inhibition du radical superoxyde pour les molécules H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-H, H₂L-NO₂ et le BHT

Composé	Volume ajouté ml	C (mol.L ⁻¹)	Courant I_{pa} (μA)	$APR_{O_2^{\bullet-}}$ %
H ₂ L-H	0	/	220.803	/
	0.1	9.9×10^{-6}	218.751	5.822
	0.2	1.94×10^{-5}	209.685	14.219
	0.3	2.83×10^{-5}	193.341	22.437
H ₂ L-F	0	/	225.442	/
	0.1	9.9×10^{-6}	208.654	7.446
	0.2	1.94×10^{-5}	180.759	21.208
	0.3	2.83×10^{-5}	151.987	32.582
H ₂ L-Br	0	/	220.803	/
	0.1	4.34×10^{-5}	110.785	7.701
	0.2	4.95×10^{-5}	105.025	17,263
	0.3	5.46×10^{-5}	99.549	33.914
H ₂ L-NO ₂	0	/	227.527	/
	0.1	9.9×10^{-6}	192.512	24.389
	0.2	1.94×10^{-5}	168.414	31.529
	0.3	3.63×10^{-5}	131.849	49.051
BHT	0	/	246.158	/
	0.2	1.94×10^{-5}	234.671	4.666
	0.4	3.63×10^{-5}	211.776	13.967
	0.5	4.34×10^{-5}	205.998	16.314

L'activité de piégeage des dérivés de la quinoléine étudiés est évaluée par la valeur IC_{50} calculée à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations molaires (Figure III.14). Les valeurs IC_{50} obtenues sont regroupées dans la Figure III.15.





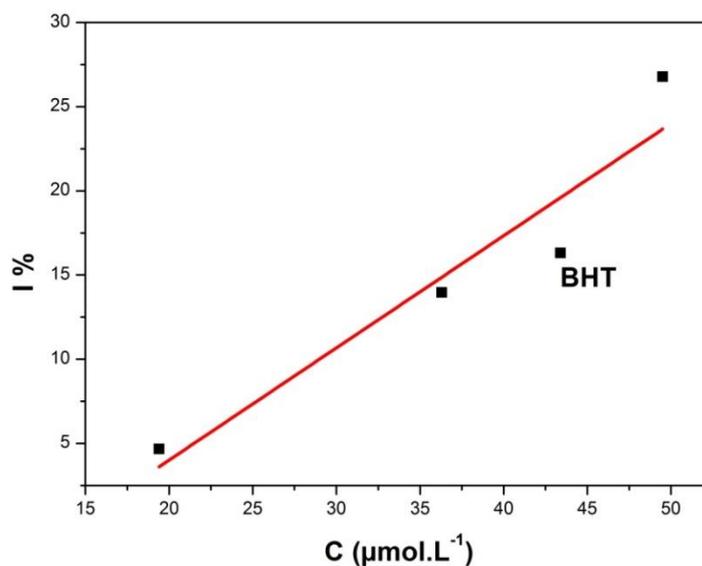


Figure III. 14. Courbes représentant les variations du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des composés H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-H, H₂L-NO₂ et du standard BHT

D'après la Figure III.15, il apparaît que les quatre dérivés de la quinoléine présentent une capacité de piégeage du radical $O_2^{\bullet-}$ supérieure que celle du standard BHT.

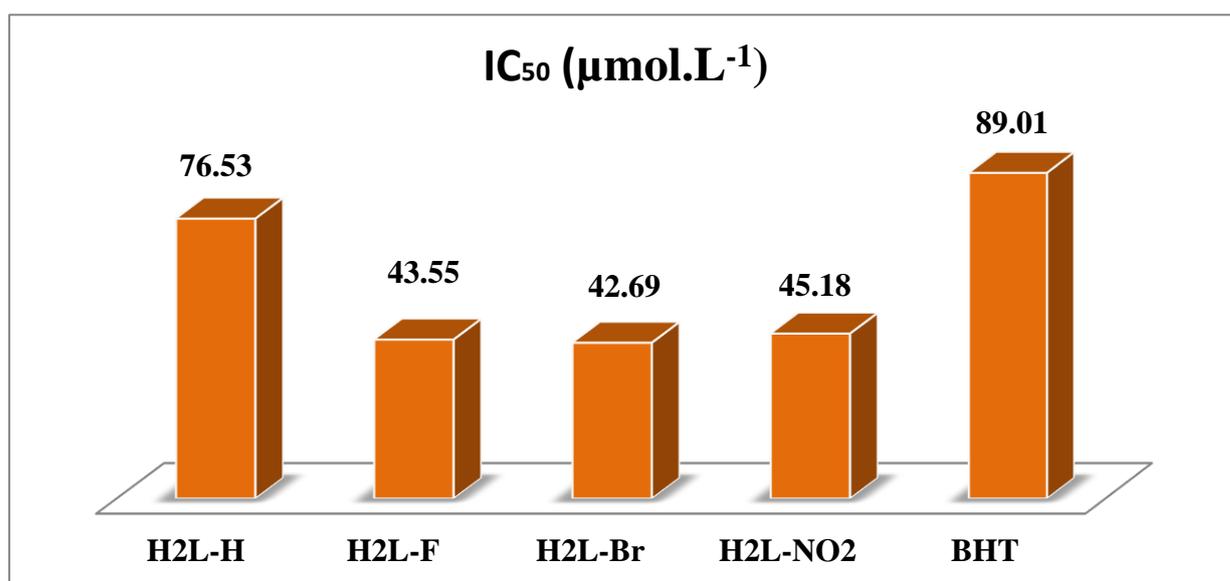
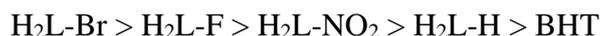


Figure III. 15. Valeurs IC₅₀ représentant le piégeage du radical $O_2^{\bullet-}$ pour les composés H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-H, H₂L-NO₂ et du standard BHT

Les composés H₂L-NO₂, H₂L-Br et H₂L-F présentent les valeurs les plus faibles pour IC₅₀ de l'ordre de 43.80±1.26 μmol. L⁻¹ révélant l'effet des groupements électroattracteurs (Bromo, Fluro et nitro) pour augmenter l'activité antioxydante, l'activité la plus faible est représentée par le composé H₂L-H avec une IC₅₀ de l'ordre de 76.53 μmol. L⁻¹. D'après l'histogramme illustré dans la Figure.III.15, nous pouvons classer les composés testés par ordre de leur réactivité décroissante :



III.1.6. Détermination des paramètres thermodynamiques

L'étude de l'interaction des bases de Schiff dérivées de la quinoléine avec l'anion superoxyde est estimée en déterminant quelques paramètres thermodynamiques à savoir la constante de liaison (k_b) et l'énergie libre de Gibbs standard (ΔG°).

III.1.6.1. La constante de liaison k_b et l'énergie libre de Gibbs standard (ΔG°)

La diminution significative de la valeur du courant anodique peut s'expliquer par la diminution de la concentration des radicaux libres $O_2^{\bullet-}$ et la formation des complexes (AO- $O_2^{\bullet-}$) qui ralentissent la propagation des radicaux libres d'oxygène. Les valeurs k_b sont déterminées à partir des courbes de la variation de $\log(1/C)$ en fonction du $\log(i/i_0-i)$ tracées en utilisant l'équation III.4 [17]:

$$\log \frac{1}{C} = \log k + \log \frac{i}{i_0 - i} \quad \text{III. 4}$$

C: concentration du composé testé (mol.L⁻¹)

k : constante de liaison (L/mol)

i et i_0 : intensité du courant anodique en présence et absence du composé testé respectivement.

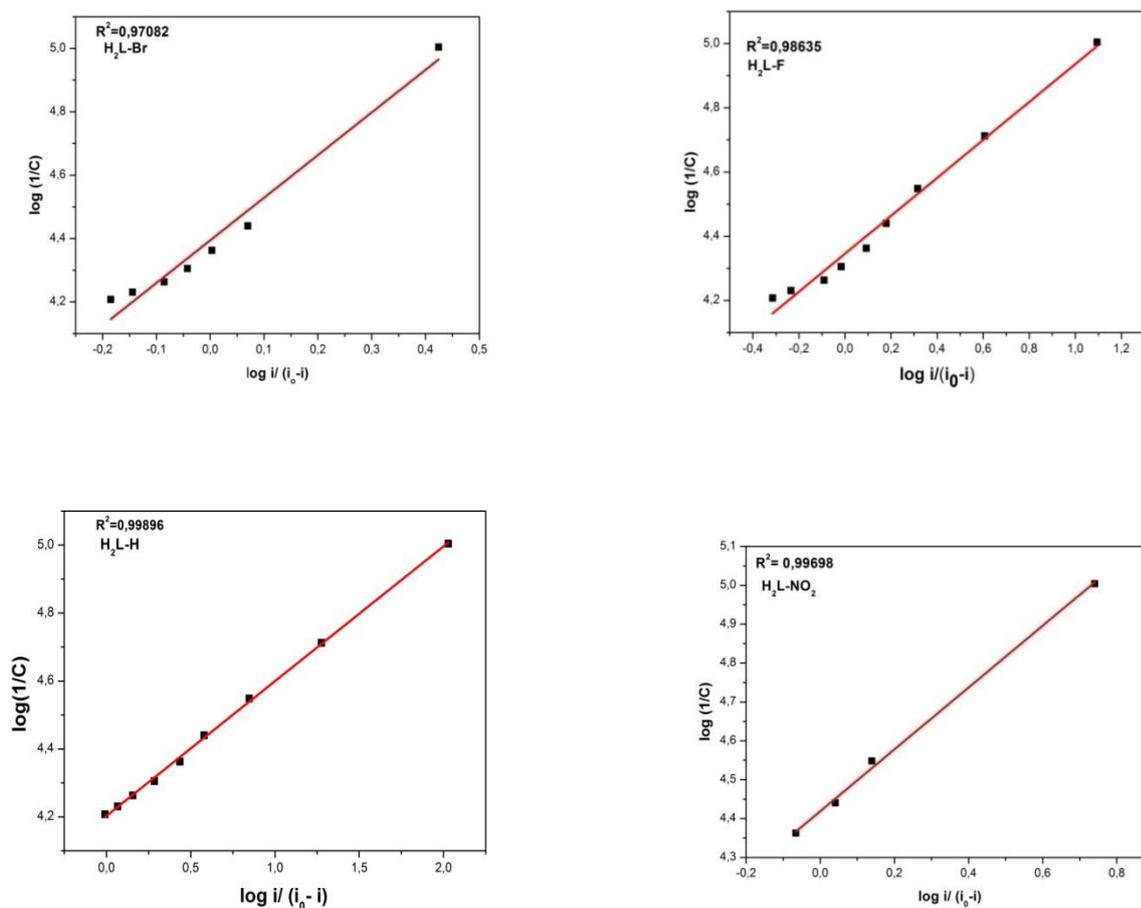


Figure III. 16. Courbes linéaires de $\log(i/i_0 - i) = f(\log 1/C)$ des composés

H_2L-Br , H_2L-F , H_2L-NO_2 et H_2L-H

Les valeurs des constantes de liaison k_b et les énergies ΔG° des complexes ($O_2^{\cdot-}$ -OA) formées entre le radical superoxyde et les dérivés testés sont rapportées dans le tableau III.7

D'après le tableau III.7, nous pouvons remarquer que les dérivés H_2L-Br , H_2L-F et H_2L-NO_2 présentent les valeurs des constantes k_b les plus élevées par rapport au dérivé H_2L-H et au standard BHT confirmant leurs fortes interactions avec le radical superoxyde. Les valeurs négatives des énergies libres ΔG° indiquent la spontanéité de la réaction antiradicalaire ce qui est considéré comme une preuve évidente de l'efficacité des composés testés.

Tableau III.7. Valeurs de k_b et ΔG° des molécules H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-NO₂, H₂L-H et du standard BHT

Composé	Equation	R ²	k _b (L.mol ⁻¹)	ΔG°(kJ/mol)
O ₂ • ⁻ -H ₂ L-NO ₂	y = 0.795x+4.418	0.996	26181.83	-26.21
O ₂ • ⁻ -H ₂ L-H	y = 0.396x+4.202	0.998	15922.08	-24.93
O ₂ • ⁻ -H ₂ L-F	y = 0.591x+4.345	0.986	22134.94	-25.78
O ₂ • ⁻ -H ₂ L-Br	y = 1.402x+4.408	0.970	25585.85	-26.15
O ₂ • ⁻ -BHT	y = 0.369x+4.22	0.979	16595.86	-25.04

III.2. Évaluation de l'activité antiinflammatoire

Il est bien connu que les propriétés antigéniques des protéines dénaturées aboutissent à plusieurs désordres tels que des granulonephrites, des arthrites rhumatoïdes et des lupus systémiques érythémateux [18].

Pour évaluer l'effet antiinflammatoire *in vitro* des quatre dérivés de la quinoléine, nous avons opté pour le modèle d'inhibition de la dénaturation de l'albumine.

L'effet de différents produits sur la dénaturation thermique de l'albumine du sérum bovin (BSA) est évalué à différentes concentrations par rapport au médicament standard, le diclofenac sodique. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine est calculé en utilisant la formule suivante [19]:

$$\% \text{ Inhibition} = 100 - \left[\frac{Ac - At}{Ac} \right] \times 100 \quad \text{III. 5}$$

Ac: l'absorbance du contrôle, At : l'absorbance de l'échantillon testé. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau III.8 et la Figure III.17.

Tableau III.8. Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine des molécules: H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂, H₂L-H et le diclofenac

Concentration (µg/ml)	% d'inhibition de la dénaturation				
	H ₂ L-Br	H ₂ L-F	H ₂ L-NO ₂	H ₂ L-H	Diclofenac
25 µg/ml	70.08	68.61	45.69	47.08	68.78
50 µg/ml	72.48	71.02	52.17	50.02	73.47
75 µg/ml	75.80	75.07	59.61	51.29	78.13
100 µg/ml	77.61	80.68	70.32	54.22	81.02

Au premier abord, nous constatons que l'effet des molécules étudiées dépend des concentrations. D'après les résultats obtenus, on remarque que les composés H₂L-Br et H₂L-F possèdent une activité antiinflammatoire presque similaire à celle du diclofenac et elle atteint le maximum à une concentration de 100 µg/ml avec un pourcentage d'inhibition de 80.68 et 77.61% respectivement. Ces résultats reflètent le rôle crucial des halogènes (Br, F) dans le renforcement de l'activité antiinflammatoire [20–22]. Le composé H₂L-NO₂ a montré un pourcentage d'inhibition de 70.32%, et le dérivé H₂L-H a inhibé la dénaturation protéique à 54.22% à la même concentration.

A la lumière des résultats obtenus, on peut donc résumer l'ordre décroissant du pouvoir inhibiteur de la dénaturation protéique des molécules testées comme suit :



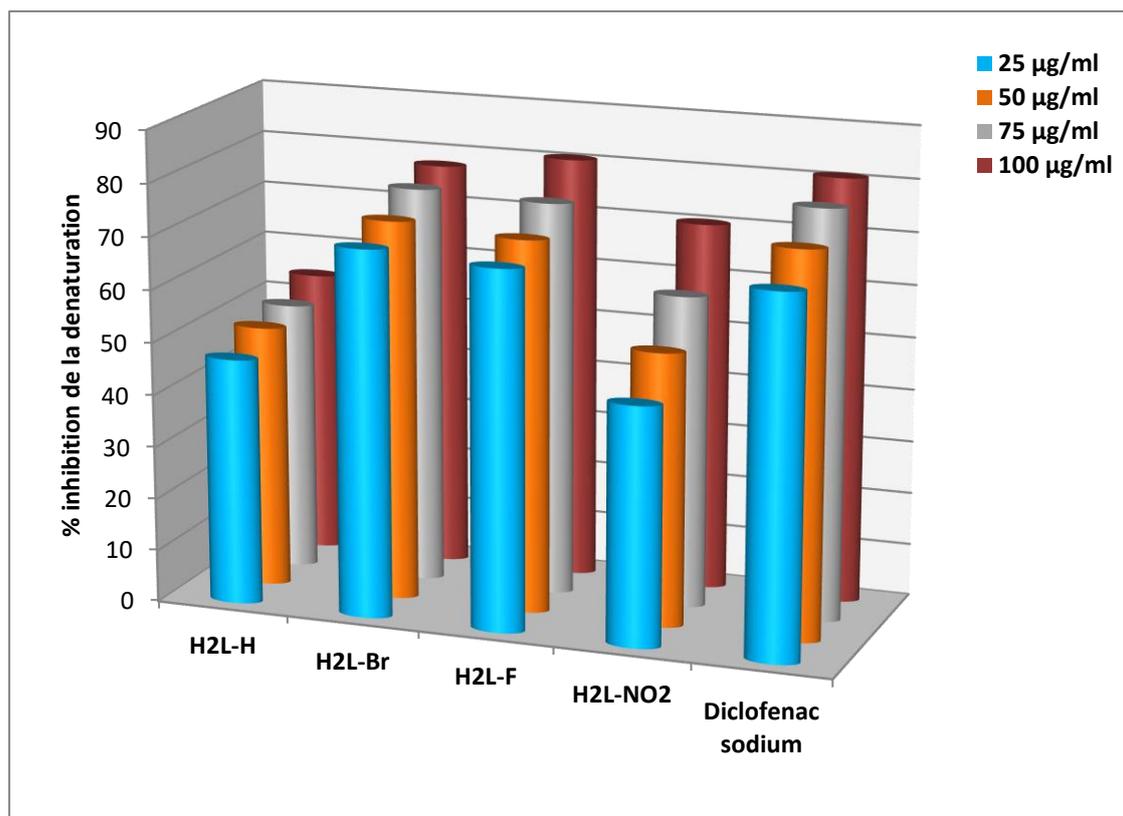


Figure III. 17. Histogramme de comparaison du pouvoir inhibiteur de la dénaturation de l'albumine des composés H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂, H₂L-H et le diclofenac

Bagad et ses collaborateurs ont rapporté que la production d'auto-antigène dans les maladies inflammatoires pourrait être due à la dénaturation *in vivo* des protéines et que le mécanisme aboutissant à cette dénaturation implique probablement une altération des liaisons électrostatiques, hydrogènes, hydrophobes ou encore des ponts disulfures[23]. Les agents qui peuvent empêcher la dénaturation des protéines donc, seraient de bons candidats pour le développement de nouvelles molécules antiinflammatoires [24]. D'après les résultats de l'activité antiinflammatoire, on peut supposer que les quatre composés ont pu contrôler la production d'auto-antigènes en inhibant la dénaturation des protéines.

III.3. Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique

De nombreuses recherches ont été consacrées à la préparation et à l'étude des activités antimicrobiennes de molécules comportant le noyau quinoléine [25–27]. Dans cette étude, l'évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne des quatre dérivés

de la quinoléine est réalisée par la technique de diffusion en milieu solide. Les souches microbiennes utilisées sont: deux bactéries Gram⁻ nommées : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, deux bactéries Gram⁺: *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Bacillus subtilis* ATCC 9372, et deux espèces fongiques *Candida albicans* ATCC 25923 et *Aspergillus niger* ATCC 16404. La gentamycine et le fluconazole sont utilisés comme témoins positifs pour l'activité antibactérienne et antifongique respectivement, le DMSO comme témoin négatif. L'activité antimicrobienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition de croissance microbienne produite autour des disques imbibés de 8µl des composés H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂, H₂L-H après incubation. Les résultats du criblage sont récapitulés dans le tableau III.9 et la Figure III.18.

Tableau III.9. Activité antimicrobienne des dérivés H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂, H₂L-H (1.5µg/disque) mesurée en diamètre d'inhibition (mm).

Microorganismes	Zones d'inhibition (mm)					
	H ₂ L-H	H ₂ L-NO ₂	H ₂ L-F	H ₂ L-Br	Gentamycine	Fluconazole
<i>B.subtilis</i>	10.3 ±0.5	10.0 ±1.0	10.1 ±1.0	9.5 ±1.0	33.0	-
<i>L. monocytogenes</i>	9.3 ±1.2	13.7 ±0.2	8.0 ±0.5	10.0 ±0.5	23.0	-
<i>E.coli</i>	9.2±0.2	R	10.0 ±0.8	12.0 ±2.2	25.0	-
<i>S.typhimurium</i>	11.5 ±0.5	9.5 ±2.2	11.9 ±1.8	11.9 ±1.6	19.0	-
<i>C.albicans</i>	11.5 ±0.5	11.0 ±0.5	12.0 ±2.2	12.0 ±1.0	-	13.0
<i>A.niger</i>	11.5 ±0.5	6.0 ±0	11.7 ±2.0	10.7 ±1.5	-	16.0

R: résistante

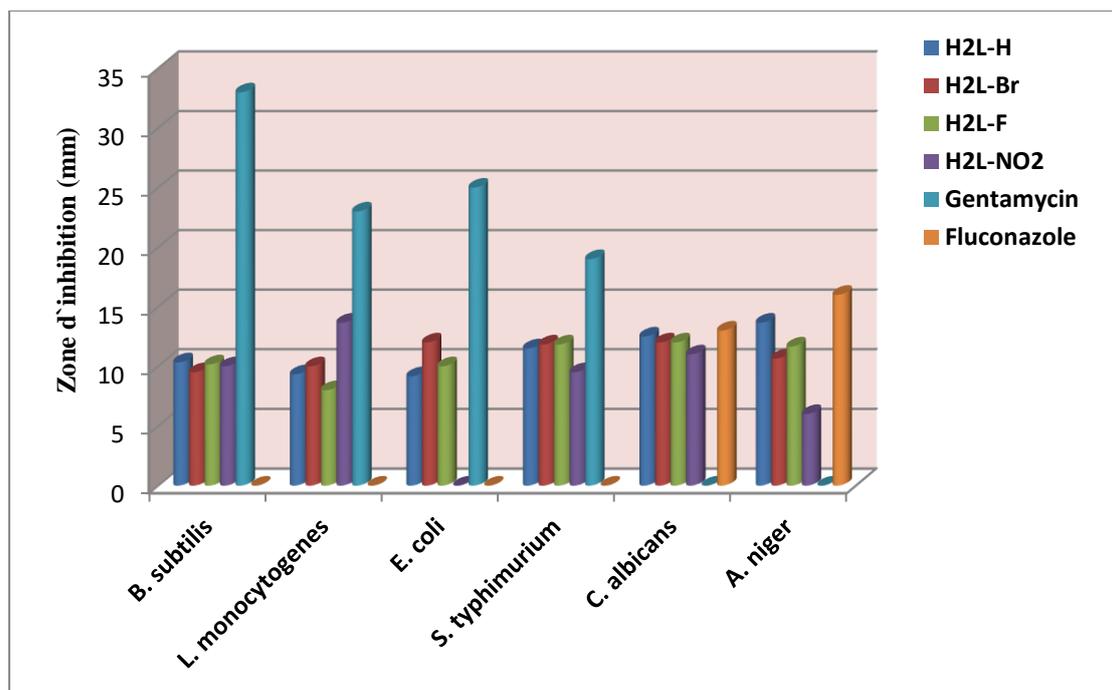


Figure III. 18. Histogramme de comparaison des zones d'inhibition avec une concentration de 100 μ g/ml en composés H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂, H₂L-H

Au regard de ces résultats, on peut remarquer que tous les dérivés présentent de puissants effets inhibiteurs sur la croissance des souches bactériennes testées, ainsi que contre les souches fongiques. Le composé H₂L-H est très actif contre *B.subtilis* et *S.typhimurium*, produisant des zones d'inhibition de 10.33 et 11.5 mm respectivement. En revanche, le composé H₂L-NO₂ est plus efficace contre *L.monocytogenes*, produisant une zone d'inhibition de 13.66 mm. Il convient de noter que les deux composés H₂L-Br et H₂L-F sont plus actifs contre les bactéries Gram négatif que contre les bactéries Gram positif, avec des valeurs de zone d'inhibition comprises entre 10 et 13 mm.

Les résultats de l'activité antifongique *in vitro* révèlent que tous les composés testés présentent une activité puissante contre *C.albicans* et *A.niger* avec une zone d'inhibition de 11-14 mm à 100 μ g/ml (1.5 μ g/disque), à l'exception du composé H₂L-NO₂ qui a montré une activité modérée contre *A.niger*. À la lumière de ces résultats, il est bien évident que les dérivés d'aminoquinoléine engendrent des niveaux d'efficacité moyens vis-à-vis des champignons testés.

La variabilité des résultats du criblage antimicrobien des molécules étudiées peut dépendre de leurs structures chimiques, leurs propriétés physicochimiques et les caractéristiques des membranes plasmiques des microorganismes.

On peut conclure que la substitution hydro, fluoro, bromo ou nitro favorise considérablement l'activité antibactérienne et antifongique et que ces résultats sont en bon accord avec des travaux récents réalisés en 2019 par Hirapara et coll et Insuasty et coll [28,29].

III.4. Evaluation de la toxicité

La biocompatibilité sanguine des dérivés d' amino quinoléine est suivie par la fuite de l'hémoglobine intracellulaire des globules rouges humains. Le taux d'hémolyse induit par les quatre molécules est calculé en utilisant la formule suivante [30].

$$\% \text{ hémolyse} = \frac{A_t}{A_{cp}} \times 100 \quad \text{III. 6}$$

Où A_t et A_{cp} sont les absorbances de l'échantillon et du contrôle positif, respectivement.

La Figure III. 19 présente l'évolution de l'effet hémolytique après 120 minutes d'incubation, dans un milieu salin contenant une suspension érythrocytaire, incubée à 37 °C, en présence des différentes concentrations des quatre composés H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂, H₂L-H (0.25 mg/ml, 0.50 mg/ml, 1 mg/ml et 2 mg/ml), comparées à un témoin négatif (tube contenant que du sérum salé et la suspension érythrocytaire), et un tube d'hémolyse totale provoqué par l'eau distillée.

Le test d'hémolyse est une mesure simple et fiable pour estimer la compatibilité sanguine d'une substance. Dans cette étude, le potentiel hémolytique est utilisé pour évaluer la biocompatibilité des quatre dérivés de la quinoléine quand ils entrent en contact avec le sang.

D'après la Figure III. 19, nous pouvons constater que la fuite d'hémoglobine intracellulaire est dose dépendante. Après 120 minutes et pour toutes les concentrations testées, les pourcentages d'hémolyse sont compris entre 14 et 26.18 %.

Donc, on peut classer l'effet hémolytique des différentes molécules testées, à la concentration de 2 mg/ml, après 120 minutes de contact avec les érythrocytes humains, comme suit: H₂L-Br > H₂L-NO₂ > H₂L-F > H₂L-H

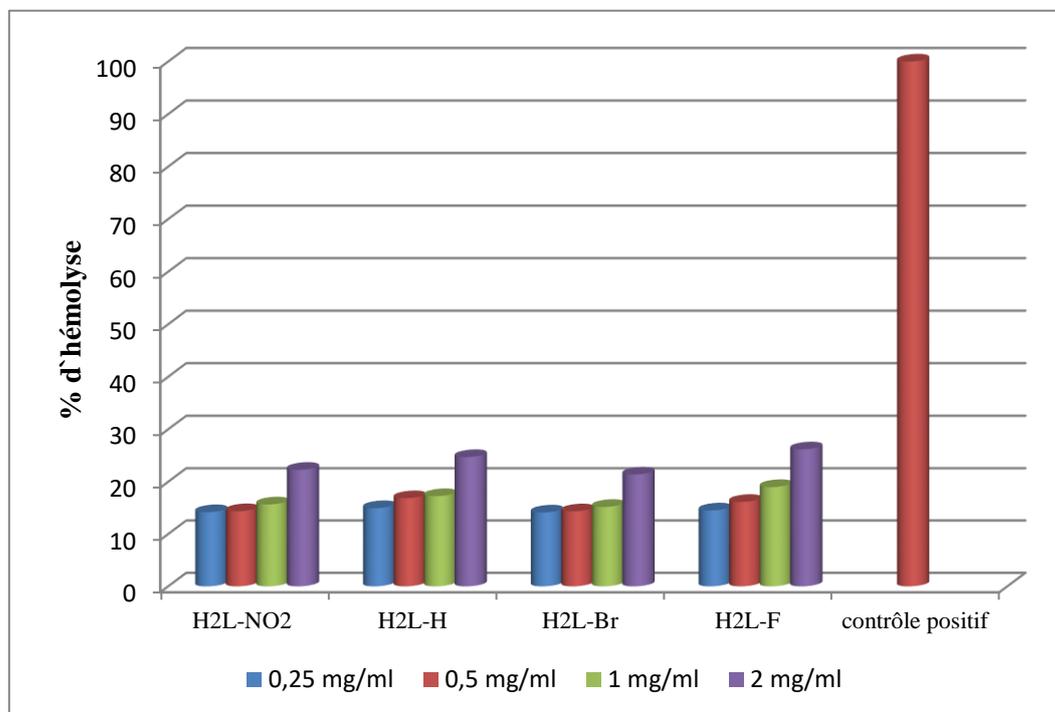


Figure III. 19. Evolution de taux d'hémolyse (%) en présence des différentes concentrations des quatre dérivés de la quinoléine après 120 mn d'incubation par rapport à l'hémolyse totale

D'après nos résultats, il apparaît que les dérivés de la quinoléine ont un effet hémolytique très faible face à des érythrocytes humains isolés, avec un taux d'hémolyse qui ne dépasse pas les 27 % à une concentration de 2 mg/ml. L'étude de l'activité antihémolytique des dérivés de la quinoléine par un dommage oxydatif des membranes des érythrocytes [31] suggère que lorsque ces dérivés sont capables de piéger des radicaux libres, ils peuvent stopper ou empêcher l'hémolyse des érythrocytes en neutralisant les espèces réactives d'oxygène provenant des irradiations X et du peroxyde d'hydrogène. Et de ce fait, ces molécules peuvent être des puissants agents radioprotecteurs. En conclusion, on peut constater que ces molécules ne présentent pas des risques de cytotoxicité et par conséquent, elles peuvent trouver des applications dans le domaine pharmacologique et biologique.

III.5. Etude qualitative de la relation structure-activité QSAR

Pendant ces dernières années, l'utilisation de QSAR n'a cessé de progresser. Elle est devenue indispensable en chimie pharmaceutique et pour la conception de médicaments, notamment dans le cas où la disponibilité des échantillons est limitée ou les mesures expérimentales sont dangereuses, longues et chères. QSAR (*quantitative structure – activity relationship*) sont des tentatives par laquelle une structure chimique est corrélée avec un effet bien déterminé comme l'activité biologique ou la réactivité chimique. Les données extraites à partir des résultats d'étude de QSAR fournissent des informations qui peuvent être utilisées dans la prédiction des propriétés physicochimiques et des activités biologiques de nouveaux composés ainsi que dans la conception de nouvelles structures [32,33].

III.5.1. Les descripteurs moléculaires utilisés dans l'analyse QSAR

III.5.1.1. Poids moléculaire (MW)

Le poids moléculaire est la somme des poids atomiques des atomes constituant la molécule. Il est utilisé dans l'étude de la diffusion et le mode de fonctionnement. Les composés avec des poids élevés sont moins susceptibles d'être absorbés et donc ne peuvent pas atteindre le site d'action. Ainsi, essayer de garder des poids moléculaires aussi bas que possible devrait être l'objectif pour établir un médicament. Pour les médicaments délivrés par voie orale le poids moléculaire doit être inférieur ou égal à 500 daltons (optimum autour de 300 daltons) [34,35].

III.5.1.2. Volume moléculaire (MV)

Le volume moléculaire détermine les caractéristiques de transport d'une molécule, il est défini par la formule suivante :

$$MV = \frac{MW}{d} \quad \text{III.7}$$

Où MW est le poids moléculaire et d la densité.

III.5.1.3. Le nombre de liaisons rotatives (nrot)

Ce paramètre est considéré comme un bon descripteur de la biodisponibilité orale des médicaments, il mesure la flexibilité moléculaire [36]. La liaison rotative est définie comme une liaison d'un composé non cyclique, associée à un atome non

lourd. Les liaisons CN (amide) ne sont pas considérées en raison de leur barrière d'énergie de rotation élevée.

III.5.1.4. Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène (NHD)

La liaison hydrogène joue un rôle très important dans la solubilité des molécules médicamenteuses et leurs interactions avec les récepteurs biologiques [37]. Il s'agit du nombre d'atomes possédant une case quantique vide et contenant un hydrogène acide, c'est-à-dire un atome d'hydrogène lié à un hétéroatome (comme dans les amines, alcools, thiols)

III.5.1.5. Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (NHA)

Il s'agit du nombre d'atomes possédant des doublets non liants (N, O ou F) capable de se lier par liaisons hydrogène à d'autres molécules.

III.5.1.6. Superficie topologique de la surface polaire (TPSA)

La TPSA d'une molécule est définie comme la somme des surfaces de tous les atomes polaires, principalement l'oxygène, l'azote, le soufre, le chlore y compris également leurs atomes d'hydrogène attachés. Ce paramètre est très utilisé pour prédire les propriétés du transport des médicaments.

III.5.1.7. Coefficient de partage (Log P)

Le coefficient de partage est le rapport des concentrations d'équilibres d'un soluté dans la phase organique apolaire et la phase aqueuse. Ce paramètre montre l'intervalle relatif entre la solubilité dans l'eau d'un substrat et l'absorption intestinale dans le corps humain [38]. C'est une mesure importante pour l'identification de la similarité médicamenteuse, les molécules qui ont des valeurs de $\log P > 0$ sont dites lipophiles, et celles qui ont des valeurs de $\log P < 0$ sont dites hydrophiles.

III.5.2. Règle de 5

La règle de Lipinski de cinq est une règle de base pour identifier les composés drug-like. D'après cette règle, les composés ne satisfont pas au moins deux des critères suivants ont de très fortes chances d'avoir des problèmes d'absorption ou de perméabilité [35]:

- La masse moléculaire du composé ne doit pas être supérieure à 500 Da.

- Le logarithme décimal du coefficient de partage eau /1-octanol (**logP**), doit être inférieur à 5.
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogènes (**HBD**) doit être inférieur à 5.
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes (**HBA**) doit être inférieur à 10

Deux autres critères introduits par Veber sont souvent employés en complément de la règle des 5 : la TPSA $\leq 140 \text{ \AA}^2$ et le nombre de liaisons de rotation ($i \leq 10$)[39].

III.5.3. Logiciels de calcul des descripteurs moléculaires

Plusieurs logiciels sont disponibles pour faire les calculs des descripteurs, parmi ceux, que nous avons utilisé dans nos travaux, on trouve :

III.5.3.1. Molinspiration

Ce logiciel permet de calculer les propriétés physicochimiques des molécules pour la conception des médicaments y compris le LogP, la superficie topologique de la surface polaire (TPSA), nrotb et HBA/HBD. Ce logiciel offre également des outils pour calculer les propriétés de drug-likeness, le poids moléculaire, le volume moléculaire et le nombre de violations. D'autres propriétés bioactives peuvent être calculées : la réception des ligands couplés à la protéine G (GPCRL), la modulation des canaux ioniques (ICM), l'inhibition de l'enzyme Kinase (KI), la réception des ligands nucléaires (NRL), l'inhibition des enzymes Protéases (PI) et l'inhibition des enzymes (EI) [40,41].

III.5.3.2. Molsoft

Ce logiciel est établi par *California Based Software Company*, qui est une source principale de nouvelles technologies percée. Molsoft calcule les propriétés chimiques comme la formule moléculaire, le poids moléculaire, le nombre de liaisons hydrogène accepteurs et donneurs (HBA/HBD), LogP (octanol /coefficient de partage de l'eau) [42].

III.5.3.3. OSIRIS

OSIRIS est un logiciel en ligne, il permet de dessiner des structures chimiques et calculer les différentes propriétés concernant chaque substance. Les risques de toxicité (mutagénicité, tumorigénicité, irritabilité et les effets sur la reproduction) sont aussi générés par ce logiciel. Une fois que la structure est valide, les résultats de

prévision sont évalués et codés par une couleur. Les propriétés avec des risques élevés et des effets indésirables comme l'effet mutagénique ou la mauvaise absorption intestinale sont indiquées en rouge, alors que la couleur verte indique le comportement adéquat de la substance. Osiris permet de calculer les indices LogP, Log S, le poids moléculaire, Drug-likeness et Drug-score [34].

III.5.3.4. SwissADME

Ce logiciel permet de prédire l'absorption gastro-intestinale humaine d'une molécule ainsi que sa capacité à franchir la barrière hémato-encéphalique. Il permet également de savoir le pouvoir d'inhiber les isoenzymes CYP [43].

III.5.4. Résultats de la modélisation des dérivés amino quinoléine

Pour explorer l'importance de nos composés, nous avons utilisé trois médicaments références, la streptomycine, l'ampicilline et la fluconazole pour comparer leurs propriétés QSAR avec les produits testés.

III.5.4.1. Prédiction des propriétés physicochimiques (drug likeness)

La distribution des médicaments résulte de la diffusion tissulaire qui dépend elle-même de la taille et de la lipophilie des médicaments, d'où la prédiction de la perméabilité à travers les cellules épithéliales gastro-intestinales, la barrière hémato-encéphalique et le cerveau, ce qui peut aider à interpréter les résultats pharmacocinétiques et à comprendre le comportement de ces produits dans l'organisme [44]. Les descripteurs moléculaires et les paramètres pharmacocinétiques des quatre dérivés sont analysés en utilisant le serveur Molsoft et Molinspiration basé sur la règle de cinq de Lipinski. Les résultats sont illustrés dans le tableau III.10.

Tableau.III.10. Propriétés physicochimiques et drug-Likness des composés calculés par Molinspiration et Molsoft.

Composé	M	LogP	TPSA	HBD	HBA	nrotb	Volume	NV	%ABS
Règle de 5	< 500	≤ 5	-	< 5	< 10	-	-	≤ 1	-
H ₂ L-H	304.35	4.21	66.38	2	3	5	278.90	0	86.09
H ₂ L-Br	383.25	5.02	66.38	2	3	5	296.78	1	86.09
H ₂ L-F	322.34	4.38	66.38	2	3	5	283.83	0	86.09
H ₂ L-NO ₂	349.35	4.17	112.2	2	5	6	302.23	0	70.29
Strept	581.58	-5.35	336.4	16	15	9	497.25	3	7.05
Amp	349.41	-0.87	112.7	4	6	4	298.87	0	70.11
Flucon	306.28	-0.12	81.66	1	5	5	248.96	0	80.82

Sterpt. Streptomycine; **Amp.** Ampicilline; **Flucon.** Fluconazole; **Vol.** Volume; **TPSA.** Surface polaire topologique; **nrotb.** Nombre de liaisons rotatives; **HBD.** Nombre de donneurs de liaisons hydrogène; **HBA.** Nombre d'accepteurs de liaison hydrogène; **Log P.** Logarithme de la partition composée; **MW.** Masse moléculaire; **NV.** Nombre de violation; **%ABS.** Pourcentage d'absorption.

De ce tableau, il est intéressant de noter que :

✚ tous les composés ont un poids moléculaire compris entre 305-385 (< 500). Les médicaments à faible poids moléculaire (< 500) sont facilement transportés, diffusés et absorbés par rapport aux molécules lourdes [45].

✚ Les quatre composés H₂L-H, H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂ contiennent deux sites donneurs de proton (2NH) et trois sites accepteurs de proton (2N et 1O) à l'exception du composé H₂L-NO₂ qui possède 5 sites accepteurs de proton (3N et 2O). Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (atomes O et N) et le nombre de donneurs de liaisons hydrogène (NH) dans les composés testés ont été jugés conformes à la limite de Lipinski comprise entre 2 et 5 et moins que 5 et 10 respectivement.

✚ Le coefficient de partage LogP de tous les composés est calculé et jugé dans une fourchette acceptable selon la règle de Lipinski (4.17-4.38) sauf pour H₂L-Br qui présente un Log P légèrement supérieur à 5. La valeur de LogP reflète le taux de lipophilie qui joue un rôle essentiel dans la distribution du médicament dans l'organisme après son absorption [46]. De ce fait, le coefficient de partage LogP est

essentiel dans la conception rationnelle des médicaments et les études QSAR. Les composés ayant un faible Log P sont plus polaires et ont une mauvaise perméabilité dans la bicouche lipidique. Les composés ayant un Log P supérieur sont moins polaires et ont une faible solubilité aqueuse. Compte tenu de ces recommandations, les résultats obtenus indiquent que tous les composés analysés ont une bonne diffusion à travers les biomembranes.

✚ La surface topologique polaire (TPSA) s'est révélée un paramètre très utile pour prédire les propriétés du transport des médicaments, y compris l'absorption intestinale, la biodisponibilité, la perméabilité à Caco-2 et la pénétration de la barrière hémato encéphalique [47]. Elle est calculée à partir des surfaces qui sont occupées par les atomes d'oxygène et d'azote et par les atomes d'hydrogène qui leur sont attachés. Dans la présente étude, tous les dérivés ont montré une valeur de TPSA comprise entre 67-113 Å. Les molécules dont la valeur du TPSA d'environ 140 Å ou plus présentent une mauvaise absorption intestinale [48]. En effet, la TPSA de tous les composés testés se situe dans cette limite. Il convient alors de dire qu'ils ont une bonne biodisponibilité par voie orale. Le pourcentage d'absorption est aussi évalué par l'équation $\%ABS = 109 - (0.345 \times TPSA)$ [49], il est avéré égale à 86 % pour H₂L-H, H₂L-Br, H₂L-F et de 70 % pour H₂L-NO₂ ce qui indique une très bonne biodisponibilité orale.

✚ Le nombre de liaisons rotables est utilisé pour identifier la flexibilité de la molécule. Il est considéré comme un bon descripteur de la biodisponibilité orale des médicaments. Tous les composés criblés ont 5 à 6 liaisons rotatives et flexibles et c'est jugé pertinent [50,51].

✚ Tous les composés n'ont pas violé la règle de cinq de Lipinski, la violation zéro est observée pour tous les composés, à l'exception du composé H₂L-Br qui fait l'objet d'une seule violation. On peut prédire que les dérivés H₂L-H, H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂ sont susceptibles d'être actifs par voie orale car ils ont obéi à la règle de cinq de Lipinski.

III.5.4.2. Score de bioactivité

La bioactivité des médicaments est également vérifiée en calculant le score d'activité pour différentes cibles telles que le ligand RCPG (récepteur couplé aux protéines G), la modulation des canaux ionique, l'inhibition de la kinase, le ligand de récepteur nucléaire, l'inhibition de protéase et l'inhibition de l'enzyme. Tous ces

paramètres ont été analysés par le serveur Molinspiration. Les résultats sont résumés dans le tableau III.11.

Tableau III.11. Score de bioactivité des composés prédits par Molinspiration.

Composé	GPCRL	ICM	KI	NRL	PI	EI
H₂L-H	-0.01	-0.25	-0.35	-0.80	-0.28	-0.14
H₂L-Br	-0.11	-0.32	-0.39	-0.88	-0.37	-0.22
H₂L-F	0.00	-0.26	-0.31	-0.74	-0.28	-0.16
H₂L-NO₂	-0.15	-0.27	-0.46	-0.79	-0.35	-0.23
Strept	0.09	-0.16	-0.17	-0.18	0.65	0.38
Amp	0.04	-0.47	-0.71	-0.61	0.87	0.25
Flucon	0.04	0.01	-0.09	-0.23	-0.09	0.03

Sterpt. Streptomycine; **Amp.** Ampicilline; **Flucon.** Fluconazole; **GPCRL.** GPCR; ligand; **ICM.** Modulateur de canal ionique; **KI.** Inhibiteur de kinase; **NRL.** Ligand du récepteur nucléaire; **PI.** Inhibiteur de protéase; **EI.** Inhibiteur d'enzyme.

En règle générale, une molécule ayant un score de bioactivité supérieur à 0.00 est plus susceptible de présenter des activités biologiques considérables, tandis que les molécules avec un score compris entre -0.50 à 0.00 sont censées être modérément actives et si le score est inférieur à -0.50, la molécule est présumée inactive [52,53].

Le score de bioactivité des composés criblés s'est avéré compris entre -0.50 et 0.00 suggérant une interaction modérée avec toutes les cibles à l'exception du ligand de récepteur nucléaire dont les quatre dérivés sont inactifs avec un score de bioactivité inférieur à -0.5.

III.5.4.3. Prédiction du métabolisme

La phase métabolique des quatre composés est prédite par le serveur SwissADME (Tableau III.12). Le paramètre le plus important est le cytochrome P450 (CYP450) qui est impliqué dans le métabolisme des médicaments, des acides gras, des stéroïdes et des acides biliaires.

Tableau III.12. Prédiction du métabolisme des quatre dérivés amino quinoléine

Composé	P-gp substrate	CYP1A2 inhibiteur	CYP2C19 inhibiteur	CYP2C9 inhibiteur	CYP2D6 inhibiteur	CYP3A4 inhibiteur
H ₂ L-H	non	inhibiteur	inhibiteur	inhibiteur	inhibiteur	non inhibiteur
H ₂ L-Br	non	inhibiteur	inhibiteur	inhibiteur	non inhibiteur	inhibiteur
H ₂ L-F	non	inhibiteur	non inhibiteur	inhibiteur	inhibiteur	non inhibiteur
H ₂ L-NO ₂	non	inhibiteur	inhibiteur	inhibiteur	non inhibiteur	non inhibiteur
Strept	oui	non inhibiteur	non inhibiteur	non inhibiteur	non inhibiteur	non inhibiteur
Amp	non	non inhibiteur	non inhibiteur	non inhibiteur	non inhibiteur	non inhibiteur
Flucon	non	non inhibiteur	inhibiteur	non inhibiteur	non inhibiteur	non inhibiteur

Sterpt. Streptomycine; **Amp.** Ampicilline; **Flucon.** Fluconazole; **CYP.** L'enzyme cytochrome P; **P-gp.** P-glycoprotéine

Les résultats présentés dans le tableau indiquent que tous les composés ne sont pas des substrats de la glycoprotéine P-gp, mais ils sont remarquablement inhibiteurs des enzymes CYP 450 1A2 et CYP 450 2C9. Pour le CYP 450 2C19 tous les composés inhibent cette enzyme à l'exception de H₂L-F, pour le CYP 450 2D6 uniquement H₂L-F et H₂L-H se sont avérés inhibiteurs, pour CYP 450 3A4 tous les dérivés se sont observés non inhibiteurs sauf H₂L-Br.

III.5.4.4. Risques de toxicité

Le prédicateur de risque de toxicité OSIRIS localise les fragments qui indiquent un risque de toxicité potentielle dans une molécule [54]. Les alertes de risque de toxicité indiquent que la structure dessinée peut être dangereuse pour la catégorie de risques spécifiés. D'après les données présentées dans le tableau III.13, il est évident que les composés analysés sont supposés être non mutagènes, non tumorigènes, non irritants et sans effets sur la reproduction, à l'exception du composé H₂L-H qui montre un risque tumorigènes.

Tableau III.13. Risques de toxicité estimés par Osiris

Composé	Risque de toxicité				Osiris calculations			
	MUT	TUMO	IRRI	REP	CLP	S	DL	DS
H ₂ L-NO ₂	■	■	■	■	3.40	-4.25	-2.98	0.37
H ₂ L-H	■	■	■	■	4.32	-3.79	2.11	0.39
H ₂ L-F	■	■	■	■	4.42	-4.10	0.77	0.55
H ₂ L-Br	■	■	■	■	5.05	-4.62	0.32	0.42
Strep	■	■	■	■	-7.85	-0.95	0.83	0.32
Amp	■	■	■	■	-1.65	-1.56	9.36	0.91
Flucon	■	■	■	■	-0.10	-2.17	3.03	0.90

■ . Non toxique; ■. Hautement toxique; **MUT.** Mutagénique; **TUMO.** Tumorigénique; **IRRI.** Irritant; **REP.** Reproduction efficace; **CLP.** cLogP; **S.** Solubilité; **DL.** Drug-likeness ; **DS.** Drug-Score ; **Sterpt.** Streptomycine; **Amp.** Ampicilline; **Flucon.** Fluconazole.

La solubilité aqueuse d'une molécule affecte de manière significative ses caractéristiques d'absorption et de distribution. Généralement, une faible solubilité s'accompagne d'une mauvaise absorption. Plus de 80% des médicaments commercialisés sur le marché ont une valeur estimée du log supérieure à -4. Tous les composés testés ont une solubilité aqueuse acceptable.

La ressemblance avec les médicaments (Drug-likeness ; DL) est définie comme un équilibre entre les diverses propriétés moléculaires et les caractéristiques structurales indiquant si une molécule est semblable à des médicaments connus [55]. Il convient de mentionner qu'une valeur positive indique que la molécule conçue contient des fragments qui sont fréquemment présents dans les médicaments commerciaux. Les données obtenues dans le tableau III.13 ont révélé que les composés H₂L-H, H₂L-Br, H₂L-F montrent des valeurs positives de similarité avec les médicaments. En revanche, le composé H₂L-NO₂ ne présente pas de similarité avec les médicaments (DL=-2.98).

Le score du médicament (DS) combine la similarité avec le médicament, le LogP, la solubilité, le poids moléculaire et les risques de toxicité en une valeur pratique qui peut être utilisée pour juger du potentiel global du composé à se qualifier à un médicament [47]

En effet, une valeur de 0.5 ou plus rend le composé prometteur pour le développement de futurs médicaments efficaces. En outre, le score du médicament de H₂L-H, H₂L-Br et H₂L-NO₂ est avéré inférieur à la valeur typique, mais cela n'indique pas que ces molécules ne sont pas efficaces par comparaison avec la streptomycine, H₂L-F présente une bonne valeur de scores de médicament.

III.6. Théorie de la fonctionnelle de la densité "DFT"

De nos jours, la théorie de la fonctionnelle de la densité ou DFT est la méthode de calcul de propriétés chimiques la plus utilisée en chimie théorique. Elle présente l'avantage d'être simple à mettre en œuvre, d'être prédictive sur l'ensemble des matériaux et enfin d'être utilisable sur des systèmes de très grandes tailles [56].

Les géométries des quatre molécules ont été optimisées par le programme GAUSSIAN 09W, en utilisant les fonctions d'échange hybride à trois paramètres de Becke avec les fonctionnelles de corrélation Lee-Yang-Parr (B3LYP) avec la base 6-31 ++ (d,p) [57,58]. Les résultats obtenus ont été visualisés à l'aide du programme GausView05.

Les paramètres chimiques quantiques des molécules visées par ce travail tels que le gap énergétique ΔE_{GAP} , l'énergie d'ionisation **I**, l'affinité électronique **A**, l'électronégativité χ , le potentiel chimique électronique μ , la dureté moléculaire η , la douceur moléculaire **S** et l'indice d'électrophilie ω sont calculés en utilisant les équations suivantes [59,60]:

Le potentiel d'ionisation (I)	$I = - E_{HOMO}$	III.8
L'affinité électronique (A)	$A = - E_{LUMO}$	III.9
L'électronégativité (χ)	$\chi = (I + A)/2$	III.10
Le potentiel chimique électronique (μ)	$\mu = (E_{HOMO} + E_{LUMO}) / 2$	III.11
La dureté (η)	$\eta = (E_{LUMO} - E_{HOMO}) / 2$	III.12
La mollesse (S)	$S = 1/\eta$	III.13

Ces paramètres sont souvent utilisés pour comprendre la réactivité des molécules organiques et tenter de faire un lien avec leurs activités biologiques.

III.7. Calcul des paramètres quantiques

III.7.1. Propriétés structurales et électroniques

Les structures d'équilibre des dérivés de la quinoléine H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂ optimisées par la méthode DFT au niveau B3LYP avec la base 6-31G (d, p) sont illustrées dans la figure III. 20.

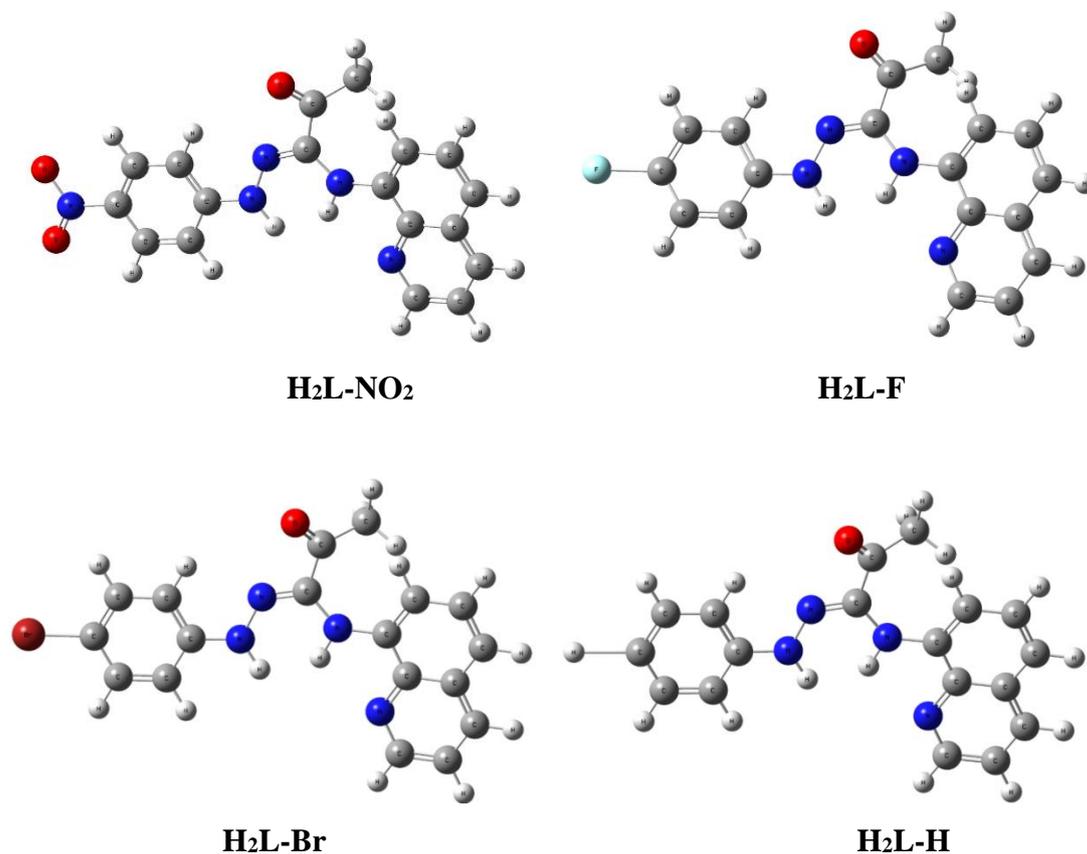


Figure III. 20. Structures des molécules H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂ optimisées par DFT

Les valeurs des énergies des orbitales HOMO, LUMO et l'écart énergétique ΔE_{GAP} des molécules H₂-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂ ont été calculés par la DFT avec la base 6-31G ++ (d, p). Les distributions des densités électroniques des orbitales moléculaires frontières pour les quatre structures optimisées sont présentées dans la figure III.21.

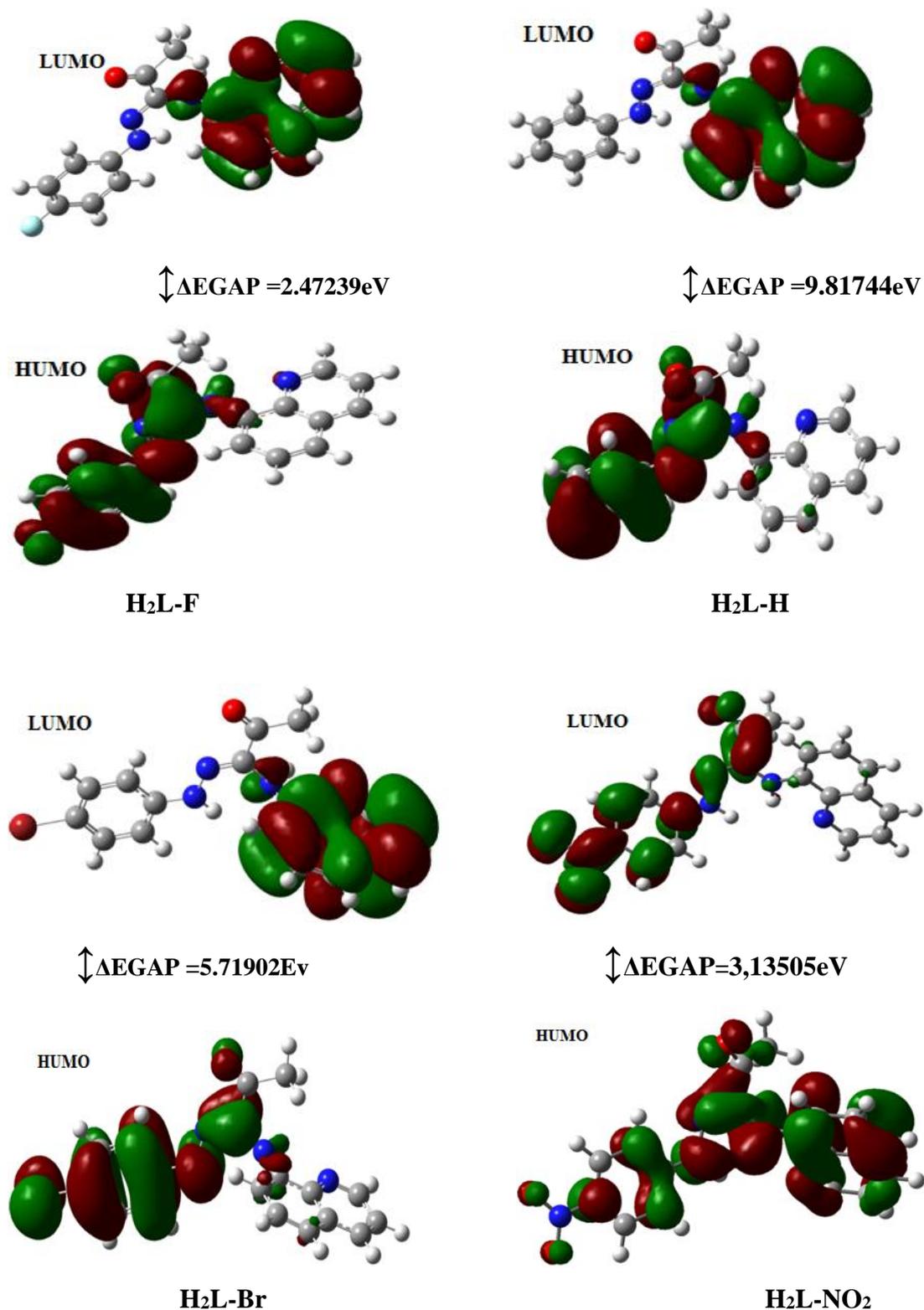


Figure III. 21. Distribution des densités électroniques des orbitales moléculaires des molécules H_2-H , H_2L-F , H_2L-Br et H_2L-NO_2

Il est bien connu que l'énergie E_{HOMO} est directement proportionnelle au potentiel d'ionisation (I) et l'énergie E_{LUMO} est directement liée à l'affinité électronique

(A). La différence d'énergie entre l'orbite de HOMO et celle de LUMO est appelée écart d'énergie, qui est un paramètre important reflétant l'activité chimique et biologique de la molécule [61]. Le composé caractérisé par la plus grande énergie HOMO est H₂L-NO₂ avec $E_{HOMO} = -6.09811$ eV. D'autre part, la plus petite énergie LUMO est représentée par le composé H₂L-F avec une $E_{LUMO} = -5.31652$ eV. Comme on peut le voir sur la figure III.23, l'orbite HOMO est répartie sur le cycle benzène et C=N pour H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-H, et l'orbite de LUMO est localisée sur le noyau quinoléine. D'autre part, HOMO est principalement localisé sur toute la molécule H₂L-NO₂, les grandes contributions à LUMO étaient pour ceux des atomes de cycle aromatique.

L'étude théorique des quatre bases de Schiff dérivés de la quinoléine, nous a permis de déterminer un ensemble des descripteurs de réactivité chimique des systèmes étudiés, notamment l'énergie totale (E_{Tot}), la dureté chimique (η), le potentiel chimique électronique (μ) et l'indice global d'électrophilie (ω). Tous ces paramètres sont rassemblés dans le tableau III.14

Tableau III.14. Les indices de réactivité chimique globale des molécules H₂-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂

<i>Paramètres quantiques</i>	H₂L-H	H₂L-NO₂	H₂L-Br	H₂L-F
$E_{Tot}(eV)$	-983.60734	-32495.53189	-3552.91294	-1082.45506
$E_{HOMO}(eV)$	-7.64658	-6.09811	-7.79109	-7.78891
$E_{LUMO}(eV)$	2.17086	-2.96306	-2.07207	-5.31652
$\Delta E_{Gap}(eV)$	9.81744	3.13505	5.71902	2.47239
<i>Energie d'ionisation I</i>	7.64658	6.09811	7.79109	7.78891
<i>Affinité électronique(A)</i>	-2.17086	2.96306	2.07207	5.31652
<i>Electronégativité (χ)</i>	2.73786	4.53058	4.93158	6.55271
<i>Potentiel chimique (μ)</i>	-2.73786	-4.53058	-4.93158	-6.55271
<i>Dureté moléculaire(η)</i>	4.90872	1.56752	2.85951	1.23619
<i>Douceur moléculaire S</i>	0.20371	0.63794	0.34971	0.80893
<i>Indice d'électrophilie ω</i>	0.76352	6.54732	4.25256	17.36703
<i>Moment dipolaire Debye</i>	6.3736	12.4717	8.1685	7.5331

L'analyse des résultats présentés dans le tableau III. 14, indique que les molécules contenant le fluore et le nitro sont plus mous que ceux contenant le brome et l'hydrogène

$$\eta(\text{H}_2\text{L-F}) < \eta(\text{H}_2\text{L-NO}_2) < \eta(\text{H}_2\text{L-Br}) < \eta(\text{H}_2\text{L-H})$$

En outre, le composé $\text{H}_2\text{L-F}$ est le plus doux, moins stable et le plus réactif avec la plus faible différence d'énergie ΔE_{Gap} .

Le potentiel chimique électronique décrit la tendance de dispersion des électrons à partir d'un système à l'équilibre [62]. Plus le potentiel chimique électronique d'une molécule est important, moins elle est stable et plus elle est réactive. La tendance du potentiel chimique électronique suit la séquence suivante:

$$\mu_{\text{H}_2\text{L-F}} (-6.552\text{eV}) < \mu_{\text{H}_2\text{L-Br}} (-4.9315\text{eV}) < \mu_{\text{H}_2\text{L-NO}_2} (-4.5305\text{V}) < \mu_{\text{H}_2\text{L-H}} (-2.7378\text{eV}) .$$

L'indice d'électrophilicité reflète la capacité d'une molécule d'accepter des électrons. Les composés $\text{H}_2\text{L-Br}$, $\text{H}_2\text{L-NO}_2$ et $\text{H}_2\text{L-H}$ sont jugée plus nucléophile que $\text{H}_2\text{L-F}$ qui est un électrophile fort.

Le moment dipolaire est une propriété importante qui résulte de la répartition non uniforme des charges sur les différents atomes dans une molécule. Dans un composé, plus la valeur du moment dipolaire est grande, plus il est polaire. Donc le $\text{H}_2\text{L-NO}_2$ est plus polaire que les trois autres dérivés.

III.7.2. Surfaces du potentiel électrostatique moléculaire (MEP)

Le potentiel électrostatique moléculaire (MEP) fournit des informations sur les sites actifs responsables aux attaques électrophiles et nucléophiles. Le MEP s'est révélé être un outil très utile pour étudier la corrélation entre la structure moléculaire et la relation entre les propriétés physico-chimiques des molécules, y compris les biomolécules et les médicaments [63]. Les différentes valeurs du MEP à la surface des molécules étudiées apparaissent avec les différentes couleurs (figure III.22).

En général, les régions de la molécule chargée négativement sont colorées en rouge alors que celles qui ont une charge positive sont colorées en bleu. Les régions de potentiel intermédiaire, jaune et verte, et les plus petites régions ou pas de potentiel extrême, rouge et bleu, correspondent à la surface de potentiel électrostatique neutre.

Les résultats du MEP montrent que les potentiels négatifs sont présentés par les atomes d'oxygène électronégatifs, alors que les potentiels positifs sont présentés par

les atomes d'hydrogène dans tous les composés. Enfin, pour la couleur verte située entre les régions rouge et bleue, elle correspond à la surface de potentiel électrostatique neutre.

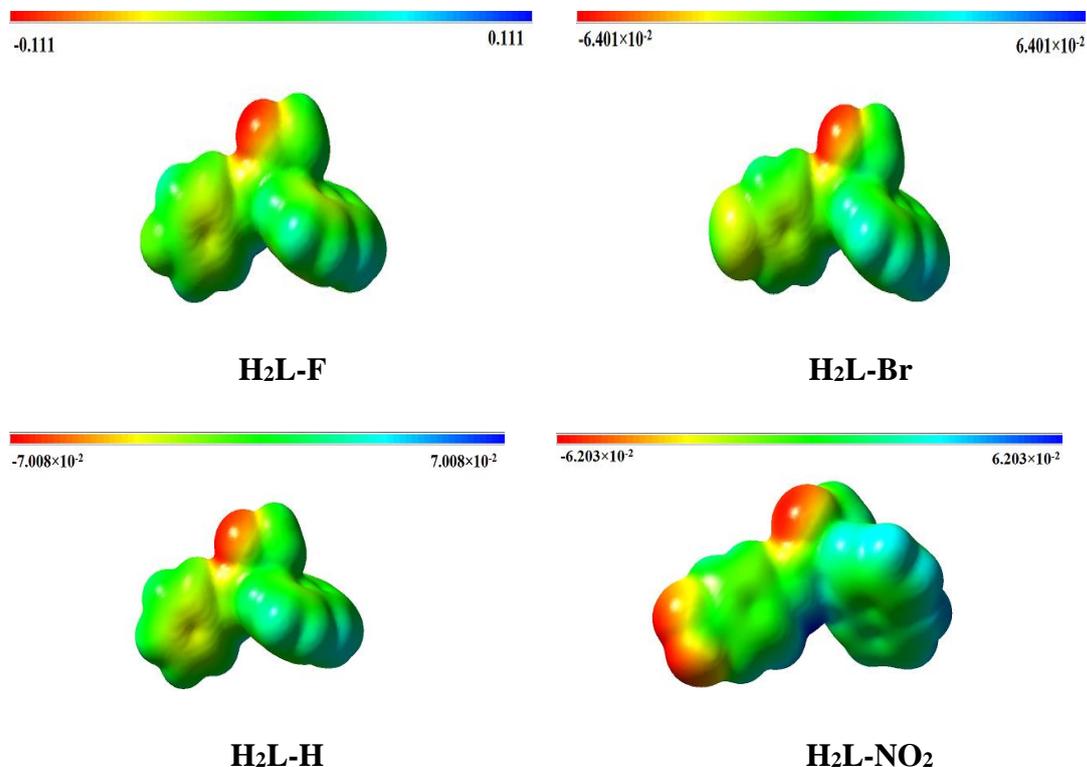


Figure III. 22. Potentiel électrostatique moléculaire MEP des molécules H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂

III.7.3. Charges atomiques de Mulliken

Le calcul des charges atomiques de Mulliken joue un rôle important dans l'application du calcul chimique quantique du système moléculaire. Les charges atomiques affectent le moment dipolaire, la polarisabilité, la structure électronique et d'autres propriétés du système moléculaire [64]. Les charges de Mulliken des atomes sont consignées dans le tableau III.15.

On peut observer que les charges les plus négatives se trouvent sur les atomes 3N, 11N, 15N et 16O pour H₂L-H et H₂L-Br et H₂L-F. Pour le composé H₂L-NO₂, les charges les plus négatives se trouvent sur les atomes 4C, 5C, 7C, 10C, 11N, 15N, 17C, 19C, 20C, 22C, 23C. Cependant, tous les atomes d'hydrogène dans les quatre dérivés sont électropositifs avec des charges atomiques dans la gamme de 0.134032-

0.338054. Il a été rapporté que les sites atomiques chargés négativement (O, N et C) sont plus susceptibles d'interagir avec les parties positives du récepteur. En revanche, les atomes les plus positivement chargés (H) interagiront plus facilement avec la partie du récepteur chargée négativement. Ces interactions peuvent jouer un rôle crucial dans la bioactivité des molécules étudiées [65].

Tableau III.15. Charges atomiques de Mulliken des molécules H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂ calculées par B3LYP/6-31G (d,p).

H ₂ L-NO ₂		H ₂ L-H		H ₂ L-Br		H ₂ L-F	
Atome	Charge de Mulliken	Atome	Charge de Mulliken	Atome	Charge de Mulliken	Atome	Charge de Mulliken
1 C	-0.178726	1 C	0.2260400	1 C	0.2275050	1 C	0.2267460
2 C	0.474475	2 C	-0.0160040	2 C	-0.0167140	2 C	-0.0164370
3 N	-0.088891	3 N	-0.6368720	3 N	-0.6382340	3 N	-0.6376150
4 C	-0.316428	4 C	-0.0645910	4 C	-0.0640640	4 C	-0.0643320
5 C	-0.367367	5 C	0.1453480	5 C	0.1460220	5 C	0.1456620
6 C	-0.164547	6 C	-0.2247510	6 C	-0.2247200	6 C	-0.2247820
7 C	-0.371420	7 C	-0.2128410	7 C	-0.2119030	7 C	-0.2121080
8 C	-0.205361	8 C	-0.1337690	8 C	-0.1345880	8 C	-0.1343300
9 C	0.378086	9 C	0.3095950	9 C	0.3057660	9 C	0.3078690
10 C	-0.439317	10 C	-0.1568360	10 C	-0.1552950	10 C	-0.1561440
11 N	-0.509280	11 N	-0.8138950	11 N	-0.8127190	11 N	-0.8132340
12 C	-0.041508	12 C	0.3237380	12 C	0.3301190	12 C	0.3254850
13 C	0.165487	13 C	0.5270490	13 C	0.5264890	13 C	0.5268260
14 N	0.067571	14 N	-0.1779410	14 N	-0.1835560	14 N	-0.1826380
15 N	-0.431396	15 N	-0.5652780	15 N	-0.5674050	15 N	-0.5640160
16 O	-0.214333	16 O	-0.4166560	16 O	-0.5205090	16 O	-0.5236210
17 C	-0.710934	17 C	-0.5242860	17 C	-0.4174380	17 C	-0.4169820
18 C	0.472063	18 C	0.3457620	18 C	0.3466550	18 C	0.3276280
19 C	-0.322795	19 C	-0.1769070	19 C	-0.1700740	19 C	-0.1600740
20 C	-0.318091	20 C	-0.1363270	20 C	-0.1099870	20 C	-0.2071900

21 C	0.362593	21 C	-0.1722320	21 C	-0.0582670	21 C	0.4243290
22 C	-0.382065	22 C	-0.1932570	22 C	-0.1875060	22 C	-0.1778580
23 C	-0.320059	23 C	-0.1339070	23 C	-0.1076980	23 C	-0.2049070
24 N	0.066640	24 H	0.1451330	24 Br	-0.1281280	24 F	-0.3953000
25 O	-0.247467	25 H	0.1699930	25 H	0.1711660	25 H	0.1705710
26 O	-0.252676	26 H	0.1571160	26 H	0.1582580	26 H	0.1576430
27 H	0.244888	27 H	0.1652790	27 H	0.1665310	27 H	0.1659070
28 H	0.243142	28H	0.1796280	28H	0.1791170	28 H	0.1794520
29 H	0.230395	29 H	0.1609320	29 H	0.1622140	29 H	0.1613990
30 H	0.257198	30 H	0.1547720	30 H	0.1563500	30 H	0.1555220
31 H	0.227370	31 H	0.3370890	31 H	0.3380540	31 H	0.3372640
32 H	0.234221	32 H	0.3259180	32 H	0.3282050	32 H	0.3255670
33 H	0.349938	33 H	0.1327610	33 H	0.1340320	33 H	0.1334200
34 H	0.307345	34 H	0.1597120	34 H	0.1616920	34 H	0.1606810
35 H	0.222556	35 H	0.1476670	35 H	0.1489470	35 H	0.1480780
36 H	0.246848	36 H	0.1975700	36 H	0.2085240	36 H	0.2083540
37 H	0.244224	37 H	0.1521400	37 H	0.1799840	37 H	0.1753190
38 H	0.293065	38 H	0.1488900	38 H	0.1562420	38 H	0.1558060
39 H	0.283670	39 H	0.1442180	39 H	0.1769350	39 H	0.1720400
40 H	0.228559	-	-	-	-	-	-
41 H	0.282327	-	-	-	-	-	-

Références bibliographiques

- [1] M. Al-Noaimi, O.S. Abdel-Rahman, I.I. Fafous, M. El-Khateeb, F.F. Awwadi, I. Warad, Ruthenium (II) bipyridine complexes bearing quinoline–azoimine (NN' N ") tridentate ligands: Synthesis, spectral characterization, electrochemical properties and single-crystal X-ray structure analysis, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 125 (2014) 375–383.
- [2] S. Nishaa, M. Vishnupriya, J.M. Sasikumar, P.C. Hephzibah, V.K. Gopalakrishnan, Antioxidant activity of ethanolic extract of *Maranta arundinacea* L. tuberous rhizomes, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 5 (2012) 85–88.
- [3] C. da Silva, R.S. Herdeiro, C.J. Mathias, A.D. Panek, C.S. Silveira, V.P. Rodrigues, M.N. Rennó, D.Q. Falcão, D.M. Cerqueira, A.B.M. Minto, Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants, *Pharmacological Research*. 52 (2005) 229–233.
- [4] C. Sarikurkcu, B. Tepe, M. Yamac, Evaluation of the antioxidant activity of four edible mushrooms from the Central Anatolia, Eskisehir–Turkey: *Lactarius deterrimus*, *Suillus collitinus*, *Boletus edulis*, *Xerocomus chrysenteron*, *Bioresource Technology*. 99 (2008) 6651–6655.
- [5] D. Prakash, S. Suri, G. Upadhyay, B.N. Singh, Total phenol, antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 58 (2007) 18–28.
- [6] S.H. Benabadji, R. Wen, J.B. Zheng, X.C. Dong, S.G. Yuan, Anticarcinogenic and antioxidant activity of diindolylmethane derivatives, *Acta Pharmacologica Sinica*. 25 (2004) 666–671.
- [7] I.C. Ferreira, M.-J.R. Queiroz, M. Vilas-Boas, L.M. Estevinho, A. Begouin, G. Kirsch, Evaluation of the antioxidant properties of diarylamines in the benzo [b] thiophene series by free radical scavenging activity and reducing power, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 16 (2006) 1384–1387.
- [8] F.C. Torres, N. Brucker, S. Fernandes Andrade, D. Fabio Kawano, S. Cristina Garcia, G. Lino von Poser, V. Lucia Eifler-Lima, New insights into the chemistry and antioxidant activity of coumarins, *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 14 (2014) 2600–2623.

- [9] I.F. Benzie, J.J. Strain, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay, *Analytical Biochemistry*. 239 (1996) 70–76.
- [10] H.-B. Li, C.-C. Wong, K.-W. Cheng, F. Chen, Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants, *LWT-Food Science and Technology*. 41 (2008) 385–390.
- [11] E. Souri, G. Amin, H. Farsam, T.M. Barazandeh, Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts, (2008).
- [12] J.-S. Kim, Preliminary evaluation for comparative antioxidant activity in the water and ethanol extracts of dried citrus fruit (*Citrus unshiu*) peel using chemical and biochemical in vitro assays, (2013).
- [13] M.H. Gordon, The mechanism of antioxidant action in vitro, in: *Food Antioxidants*, Springer, 1990: pp. 1–18.
- [14] S. Soleimani-Amiri, Z. Hossaini, M. Arabkhazaeli, H. Karami, S. Afshari Sharif Abad, Green synthesis of pyrimido-isoquinolines and pyrimido-quinoline using ZnO nanorods as an efficient catalyst: Study of antioxidant activity, *Journal of the Chinese Chemical Society*. 66 (2019) 438–445.
- [15] R. Diwan, A. Shinde, N. Malpathak, Phytochemical composition and antioxidant potential of *Ruta graveolens* L. in vitro culture lines, *Journal of Botany*. 2012 (2012).
- [16] N. Blanc, D. Hauchard, L. Audibert, E.A. Gall, Radical-scavenging capacity of phenol fractions in the brown seaweed *Ascophyllum nodosum*: An electrochemical approach, *Talanta*. 84 (2011) 513–518.
- [17] G.-C. Zhao, J.-J. Zhu, J.-J. Zhang, H.-Y. Chen, Voltammetric studies of the interaction of methylene blue with DNA by means of β -cyclodextrin, *Analytica Chimica Acta*. 394 (1999) 337–344.
- [18] N. Duganath, S.R. Kumar, R. Kumanan, K.N. Jayaveera, Activity of traditionally used medicinal plants, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 1 (2010) 2.
- [19] F. Alhakmani, S. Kumar, S.A. Khan, Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 3 (2013) 623.

- [20] M. Hussein, A.-H. Kafafy, S. Abdel-Moty, O. Abou-Ghadir, Synthesis and biological activities of new substituted thiazoline-quinoline derivatives, *Acta Pharmaceutica*. 59 (2009) 365–382.
- [21] G. Dannhardt, W. Kiefer, G. Krämer, S. Maehrlein, U. Nowe, B. Fiebich, The pyrrole moiety as a template for COX-1/COX-2 inhibitors, *European Journal of Medicinal Chemistry*. 35 (2000) 499–510.
- [22] X. Wen, S.-B. Wang, D.-C. Liu, G.-H. Gong, Z.-S. Quan, Synthesis and evaluation of the anti-inflammatory activity of quinoline derivatives, *Medicinal Chemistry Research*. 24 (2015) 2591–2603.
- [23] Y.M. Bagad, A.R. Umkar, A.U. Tatiya, S.J. Surana, Investigation of anti-inflammatory and analgesic activity of *Bridelia airyshawii* (Euphorbiaceae), *J Pharm Res*. 4 (2011) 1132–1326.
- [24] S. Chandra, P. Chatterjee, P. Dey, S. Bhattacharya, Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2 (2012) S178–S180.
- [25] S. Kumar, S. Bawa, S. Drabu, B.P. Panda, Design and synthesis of 2-chloroquinoline derivatives as non-azoles antimycotic agents, *Medicinal Chemistry Research*. 20 (2011) 1340–1348.
- [26] Z. Yu, G. Shi, Q. Sun, H. Jin, Y. Teng, K. Tao, G. Zhou, W. Liu, F. Wen, T. Hou, Design, synthesis and in vitro antibacterial/antifungal evaluation of novel 1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7 (1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid derivatives, *European Journal of Medicinal Chemistry*. 44 (2009) 4726–4733.
- [27] X. Ma, W. Zhou, R. Brun, Synthesis, in vitro antitrypanosomal and antibacterial activity of phenoxy, phenylthio or benzyloxy substituted quinolones, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 19 (2009) 986–989.
- [28] A.V. Hirapara, S.H. Baluja, Antimicrobial activity of some novel triazoloquinoline derivatives, *World Scientific News*. 117 (2019) 102–121.
- [29] D. Insuasty, O. Vidal, A. Bernal, E. Marquez, J. Guzman, B. Insuasty, J. Quiroga, L. Svetaz, S. Zacchino, G. Puerto, Antimicrobial Activity of Quinoline-Based Hydroxyimidazolium Hybrids, *Antibiotics*. 8 (2019) 239.
- [30] E. Umapathy, E.J. Ndebia, A. Meeme, B. Adam, P. Menziwa, B.N. Nkeh-Chungag, J.E. Iputo, An experimental evaluation of *Albuca setosa* aqueous extract on membrane stabilization, protein denaturation and white blood cell migration

- during acute inflammation, *Journal of Medicinal Plants Research*. 4 (2010) 789–795.
- [31] M.G. Malakyan, S.A. Badzhinyan, L.A. Vardevanyan, D.S. Grigoryan, D.E. Egiazaryan, A.A. Avetisyan, I.L. Aleksanyan, L.P. Ambartsumyan, K.S. Sargsyan, Studies of the antioxidant and antihemolytic activity of quinoline derivatives in a model of oxidative damage to erythrocyte membranes, *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 43 (2009) 7–10.
- [32] H. van de Waterbeemd, S. Rose, Quantitative approaches to structure–activity relationships, in: *The Practice of Medicinal Chemistry*, Elsevier, 2008: pp. 491–513.
- [33] A.K. Debnath, Quantitative structure-activity relationship (QSAR) paradigm–Hansch era to new millennium., *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 1 (2001) 187.
- [34] S. Rekkab, “ Drug Design” et synthèse de nouveaux calix [8] arènes sulfoniques flexibles à activités anticorrosive et anticoagulante, (2014).
- [35] C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Advanced Drug Delivery Reviews*. 23 (1997) 3–25.
- [36] P. Ertl, B. Rohde, P. Selzer, Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties, *Journal of Medicinal Chemistry*. 43 (2000) 3714–3717.
- [37] R. Cecchelli, V. Berezowski, S. Lundquist, M. Culot, M. Renftel, M.-P. Dehouck, L. Fenart, Modelling of the blood–brain barrier in drug discovery and development, *Nature Reviews Drug Discovery*. 6 (2007) 650–661.
- [38] R. Mannhold, G.I. Poda, C. Ostermann, I.V. Tetko, Calculation of molecular lipophilicity: State-of-the-art and comparison of log P methods on more than 96,000 compounds, *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 98 (2009) 861–893.
- [39] D.F. Veber, S.R. Johnson, H.-Y. Cheng, B.R. Smith, K.W. Ward, K.D. Kopple, Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates, *Journal of Medicinal Chemistry*. 45 (2002) 2615–2623.
- [40] A.M. Alafeefy, S.I. Alqasoumi, A.E. Ashour, V. Masand, N.A. Al-Jaber, T.B. Hadda, M.A. Mohamed, Quinazoline–tyrphostin as a new class of antitumor

- agents, molecular properties prediction, synthesis and biological testing, *European Journal of Medicinal Chemistry*. 53 (2012) 133–140.
- [41] Z.H. Chohan, S.H. Sumrra, M.H. Youssoufi, T.B. Hadda, Metal based biologically active compounds: Design, synthesis, and antibacterial/antifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium (IV) complexes, *European Journal of Medicinal Chemistry*. 45 (2010) 2739–2747.
- [42] A. Hellal, Synthèse d'une nouvelle génération de phosphonates à base des dérivés aminophénols applications: études des propriétés biologiques des composés obtenus et de leurs complexes, PhD Thesis, 2018.
- [43] W. Bououden, Y. Benguerba, Designing, Cytotoxic Evaluation, Molecular Docking and in Silico Pharmacokinetic Prediction of New Hydrocortisone Derivatives as Anti-Asthmatic Drugs, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 10 (2020) 8–16.
- [44] C. Passeleu-Le Bourdonnec, P.-A. Carrupt, J.M. Scherrmann, S. Martel, Methodologies to assess drug permeation through the blood–brain barrier for pharmaceutical research, *Pharmaceutical Research*. 30 (2013) 2729–2756.
- [45] V. Srimai, M. Ramesh, K.S. Parameshwar, T. Parthasarathy, Computer-aided design of selective Cytochrome P450 inhibitors and docking studies of alkyl resorcinol derivatives, *Medicinal Chemistry Research*. 22 (2013) 5314–5323.
- [46] D.J. Abraham, *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery (Vol I: drug discovery)*, Wiley-Interscience, 2015.
- [47] M. Rashid, Design, synthesis and ADMET prediction of bis-benzimidazole as anticancer agent, *Bioorganic Chemistry*. 96 (2020) 103576.
- [48] E. Deconinck, H. Ates, N. Callebaut, E. Van Gyseghem, Y. Vander Heyden, Evaluation of chromatographic descriptors for the prediction of gastro-intestinal absorption of drugs, *Journal of Chromatography A*. 1138 (2007) 190–202.
- [49] C.S. Sharma, T. Verma, H.P. Singh, N. Kumar, Synthesis, characterization and preliminary anticonvulsant evaluation of some flavanone incorporated semicarbazides, *Medicinal Chemistry Research*. 23 (2014) 4814–4824.
- [50] A.R. Bhat, Petra, osiris and molinspiration: A computational bioinformatic platform for experimental in vitro antibacterial activity of annulated uracil derivatives, *Quarterly Journal of Iranian Chemical Communication*. 6 (2018) 114–124.

- [51] M. Hassan, Z. Ashraf, Q. Abbas, H. Raza, S.-Y. Seo, Exploration of novel human tyrosinase inhibitors by molecular modeling, docking and simulation studies, *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*. 10 (2018) 68–80.
- [52] A. Joshi, R. Kumar, A. Sharma, Molecular Docking Studies, Bioactivity Score Prediction, Drug Likeness Analysis of GSK-3 β Inhibitors: A Target Protein Involved in Alzheimer's Disease, *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 15 (2018) 455–467.
- [53] S. Jamuna, A. Rathinavel, S.S.M. Sadullah, S.N. Devaraj, In silico approach to study the metabolism and biological activities of oligomeric proanthocyanidin complexes, *Indian Journal of Pharmacology*. 50 (2018) 242.
- [54] A. Parvez, J. Meshram, V. Tiwari, J. Sheik, R. Dongre, M.H. Youssoufi, T.B. Hadda, Pharmacophores modeling in terms of prediction of theoretical physico-chemical properties and verification by experimental correlations of novel coumarin derivatives produced via Betti's protocol, *European Journal of Medicinal Chemistry*. 45 (2010) 4370–4378.
- [55] S. Tian, J. Wang, Y. Li, D. Li, L. Xu, T. Hou, The application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research, *Advanced Drug Delivery Reviews*. 86 (2015) 2–10.
- [56] C. Pisani, R. Dovesi, C. Roetti, Hartree-Fock ab initio treatment of crystalline systems, Springer Science & Business Media, 2012.
- [57] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density, *Physical Review B*. 37 (1988) 785.
- [58] A.D. Becke, Density-functional thermochemistry. IV. A new dynamical correlation functional and implications for exact-exchange mixing, *The Journal of Chemical Physics*. 104 (1996) 1040–1046.
- [59] W. Kohn, L.J. Sham, Quantum density oscillations in an inhomogeneous electron gas, *Physical Review*. 137 (1965) A1697.
- [60] M.S. Masoud, A.E. Ali, M.A. Shaker, G.S. Elsalala, Synthesis, computational, spectroscopic, thermal and antimicrobial activity studies on some metal–urate complexes, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 90 (2012) 93–108.

- [61] A. Hellal, S. Chafaa, N. Chafai, L. Touafri, Synthesis, antibacterial screening and DFT studies of series of α -amino-phosphonates derivatives from aminophenols, *Journal of Molecular Structure*. 1134 (2017) 217–225.
- [62] P.K. Chattaraj, B. Maiti, HSAB principle applied to the time evolution of chemical reactions, *Journal of the American Chemical Society*. 125 (2003) 2705–2710.
- [63] K.B. Benzon, H.T. Varghese, C.Y. Panicker, K. Pradhan, B.K. Tiwary, A.K. Nanda, C. Van Alsenoy, Spectroscopic and theoretical characterization of 2-(4-methoxyphenyl)-4, 5-dimethyl-1H-imidazole 3-oxide, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 151 (2015) 965–979.
- [64] R.S. Mulliken, *Spectroscopy, molecular orbitals, and chemical bonding*, Norstedt, 1967.
- [65] Y.N. Mabkhot, F.D. Aldawsari, S.S. Al-Showiman, A. Barakat, S.M. Soliman, M.I. Choudhary, S. Yousuf, M.S. Mubarak, T.B. Hadda, Novel enaminone derived from thieno [2, 3-b] thiene: Synthesis, x-ray crystal structure, HOMO, LUMO, NBO analyses and biological activity, *Chemistry Central Journal*. 9 (2015) 24.

**Chap.VI : Mécanisme
d'interaction quinoléines-
ADN et BSA**

La compréhension de mécanisme par lequel les dérivés de la quinoléine interagissent avec les acides nucléiques, les protéines et leur corrélation avec les effets biologiques est l'un des premiers objectifs du présent travail. Les résultats de l'interaction des quatre dérivés de la quinoléine H₂L-H, H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂ avec l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'albumine du sérum bovin (BSA) par voltampérométrie cyclique, UV-vis et par amarrage moléculaire sont rapportés dans ce chapitre, les paramètres de liaison et la nature des interactions mises en jeu sont ainsi démontrés.

IV.1. Interaction avec l'ADN

IV.1.1. Quantification et analyse de la pureté des échantillons d'ADN

Les acides nucléiques ont un spectre d'absorption mettant en évidence une large bande d'absorption dans l'UV, avec un maximum à 260 nm. Le ratio DO₂₆₀/DO₂₈₀ renseigne sur le degré de la pureté de l'ADN et sa contamination éventuelle par des protéines. La pureté d'une solution d'ADN est considérée comme acceptable lorsque ce ratio est compris entre 1.7– 2.0 [1].

La concentration d'ADN est estimée à 260 nm selon La loi de Beer Lambert (équation IV.1) en utilisant le coefficient d'extinction molaire $\epsilon=6600 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ [2].

$$A = \epsilon l C \quad \text{IV.1}$$

Où A est l'absorbance à 260 nm, C est la concentration d'acide nucléique en mol. L⁻¹, ϵ est le coefficient d'extinction molaire, et *l* est le trajet optique en cm.

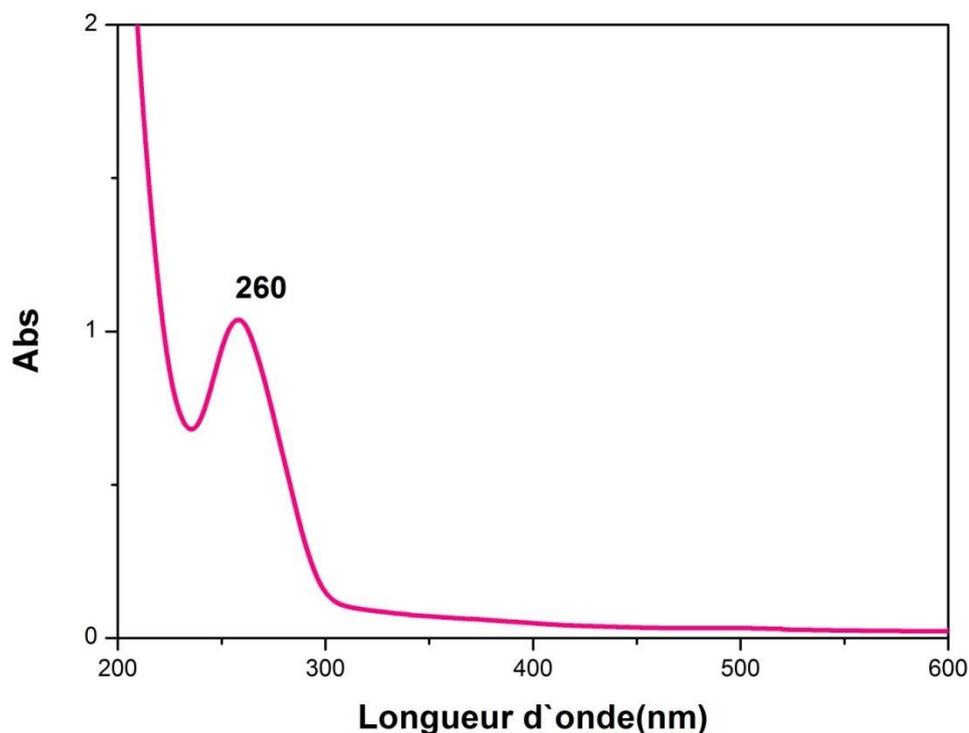


Figure IV. 1. Spectre d'absorption de l'ADN extrait des cellules d'oignons

Le tableau IV.1 représente les résultats des rapports des densités optiques DO_{260}/DO_{280} de l'échantillon d'ADN extrait à partir des cellules d'oignons.

Tableau IV.1. Rapport des densités optiques de l'échantillon d'ADN extrait à partir des cellules d'oignons.

Longueur d'onde λ (nm)	Densité optique d'ADN
260	1.025
280	0.566
Ratio DO_{260}/DO_{280}	1.82

IV.1.1. Etude de l'interaction ADN-Drogue par spectroscopie électronique

La spectroscopie électronique est couramment utilisée pour l'étude de la stabilité d'ADN et la formation des complexes ADN-ligand, en effet, si une molécule interagit avec l'ADN, l'absorbance et la longueur d'onde de celle ci subit un

changement suite à l'addition de l'ADN. La variation d'absorbance et de la longueur d'onde sont utilisées pour l'évaluation des constantes de liaison et l'énergie libre de liaison ΔG des adduits formés ligand-ADN.

Pour les molécules qui interagissent avec l'ADN, les paramètres de liaison sont déterminés par spectrophotométrie d'après l'équation de Benesi-Hildebrand [3,4] :

$$\frac{A_0}{A-A_0} = \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G} - \epsilon_G} + \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G} - \epsilon_G} \frac{1}{k_b [DNA]} \quad \text{IV.2}$$

Où A_0 et A sont les absorbances du composé libre et de l'adduit respectivement, ϵ_G et ϵ_{H-G} sont respectivement leurs coefficients d'extinction molaire.

La constante de liaison k_b est évaluée à partir du rapport pente/intersection du tracé du terme $\frac{A_0}{A-A_0}$ de l'équation (2) et $1/[ADN]$.

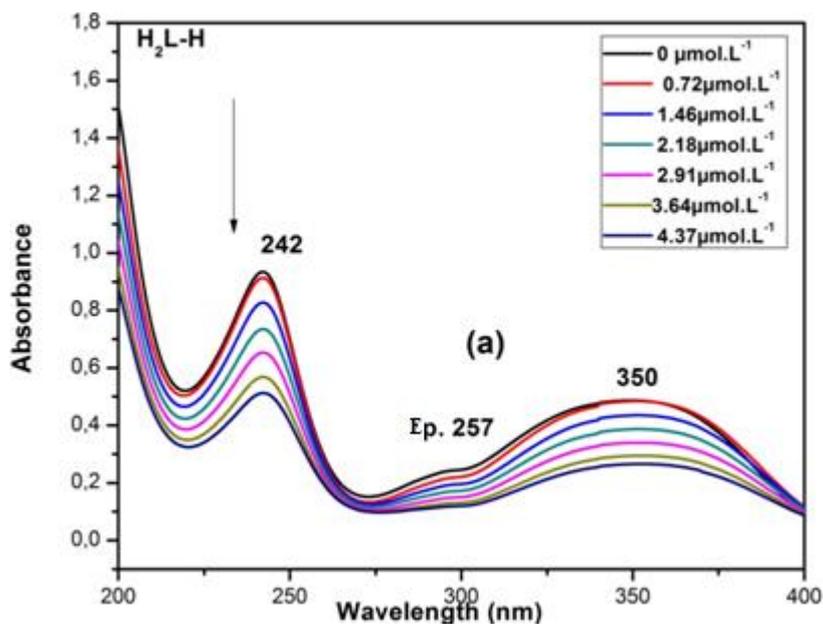
L'énergie libre de liaison ΔG est calculée à partir de l'équation (3) [5]:

$$\Delta G = -RT \ln k_b \quad \text{IV.3}$$

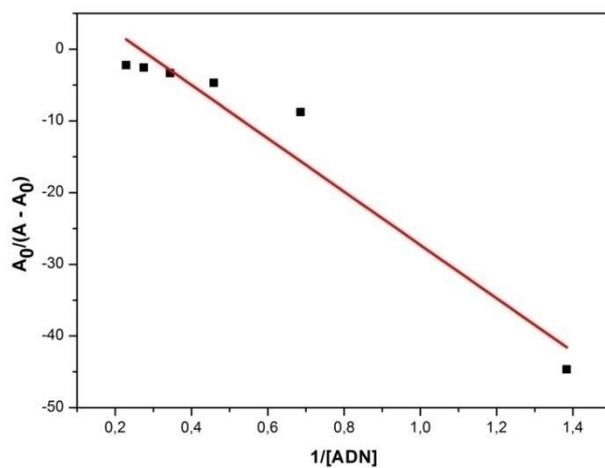
Où R est la constante des gaz parfait, T est la température en kelvin.

IV.1.1.1. Étude spectroscopique UV-vis de l'interaction des dérivés d'amino quinoléine avec l'ADN

L'interaction des dérivés H_2L-H , H_2L-F , H_2L-Br et H_2L-NO_2 avec l'ADN est étudiée par titrage d'absorption UV-vis à pH physiologique (7.2) et à la température du corps ($37^\circ C$). Les titrages spectroscopiques sont effectués dans un solvant mixte d'acétonitrile et de tampon phosphate (pH = 7.2) (9:1) tout en maintenant constant la concentration de la solution des composés étudiés ($10 \mu mol.L^{-1}$) et en variant la concentration d'ADN de 0 à $4.37 \mu mol.L^{-1}$. Les spectres électroniques des dérivés ont été enregistrés avant et après chaque ajout de la solution d'ADN (Figure IV.1).

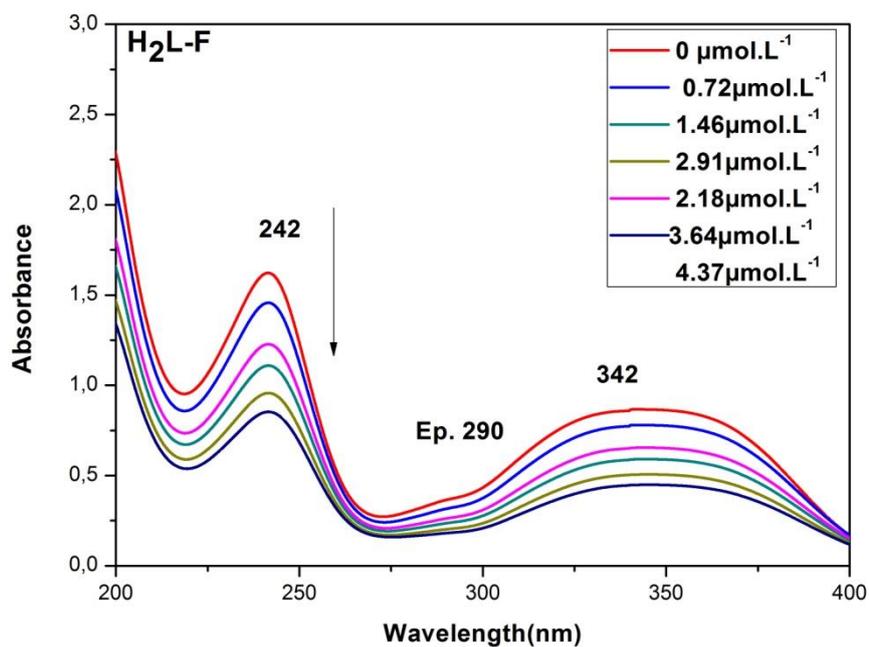


(a)

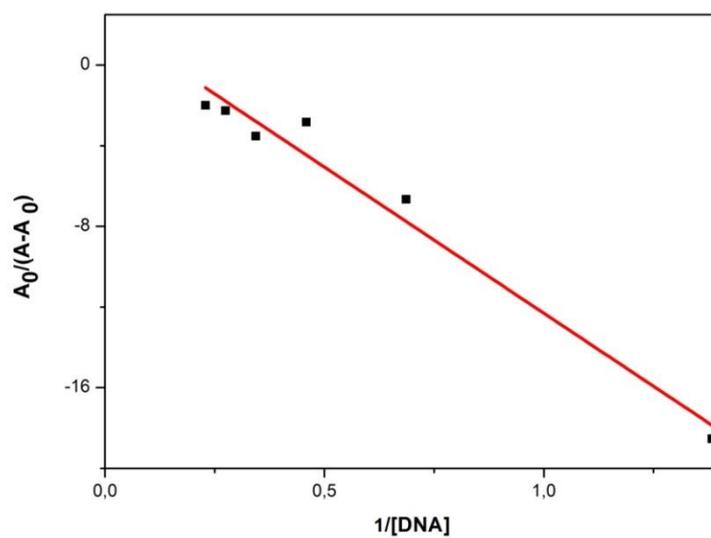


(b)

Figure IV. 2. (a) Spectres d'absorption électronique de la molécule H_2L-H ($10 \mu\text{mol.L}^{-1}$) en présence d'ADN ($0-4.37 \mu\text{M}$), dans l'acétonitrile/phosphate tampon à $\text{pH} = 7.2$ ($9:1;v:v$) et 37°C . (b) tracé de $A_0/(A - A_0)$ en fonction de $1/[ADN]$.

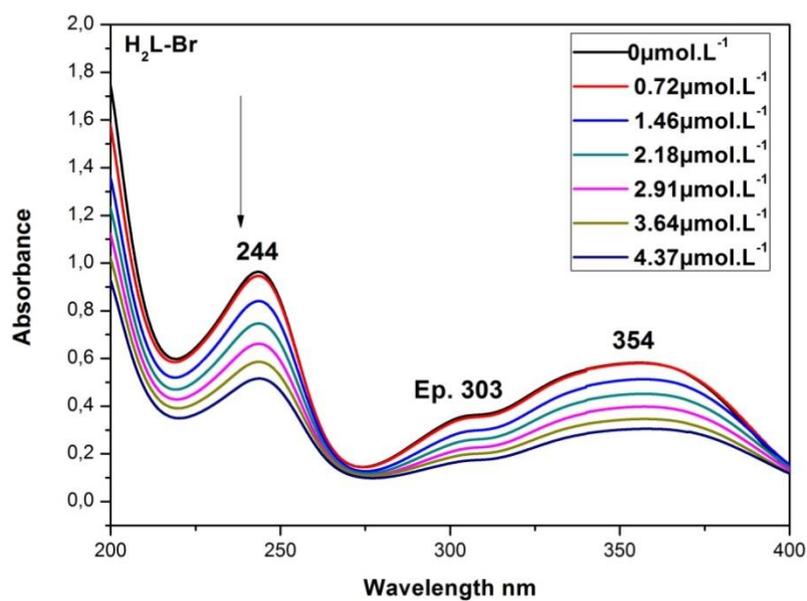


(a)

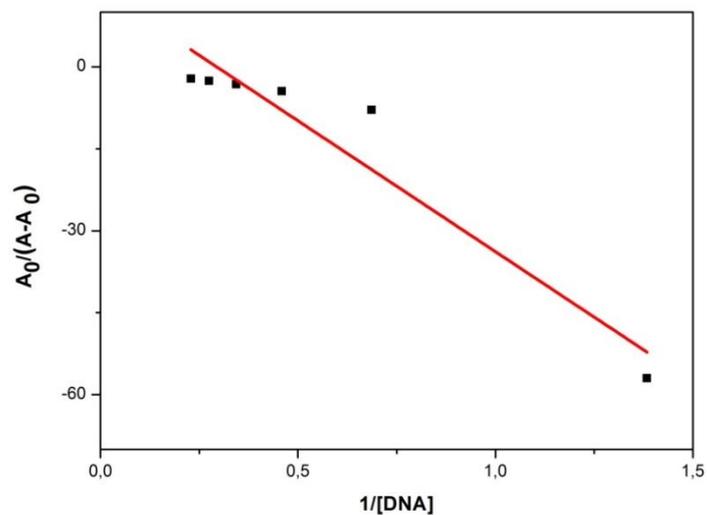


(b)

Figure IV. 3. (a) Spectres d'absorption électronique de la molécule H₂L-F (10 μmol.L⁻¹) en présence d'ADN (0-4.37 μM), dans l'acétonitrile/phosphate tampon à pH = 7.2 (9:1;v:v) et 37°C. (b) tracé de $A_0/(A - A_0)$ en fonction de $1/[ADN]$.

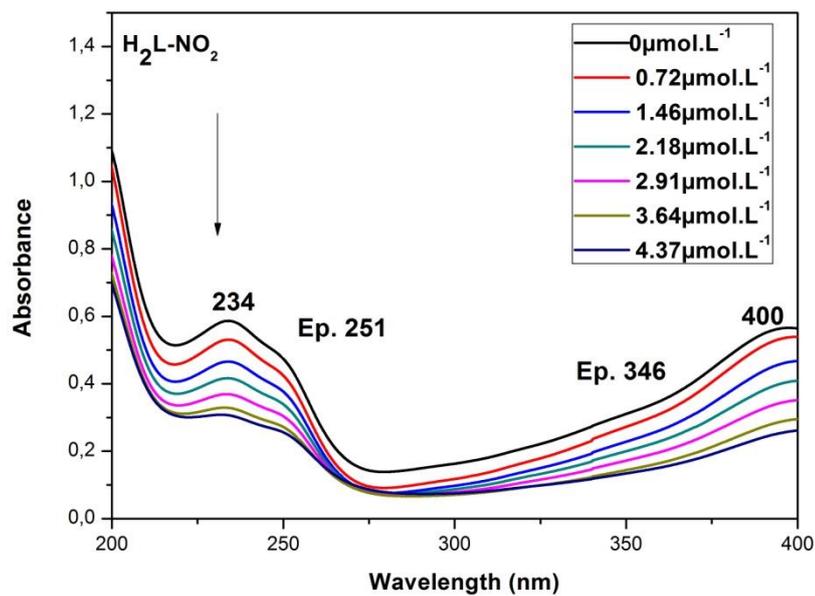


(a)

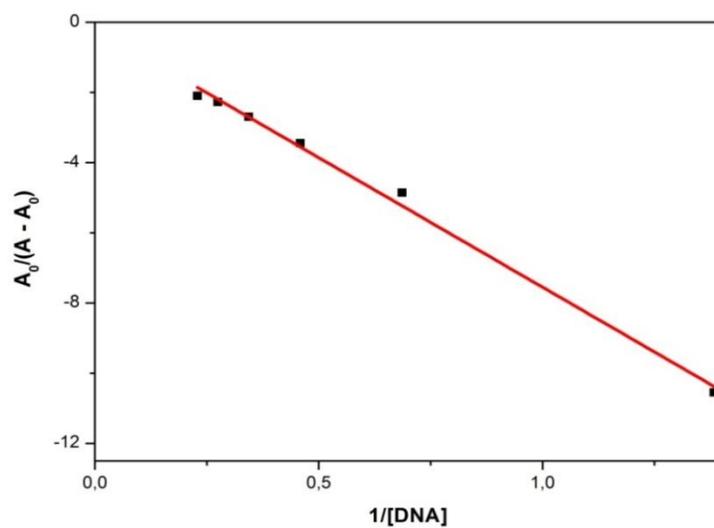


(b)

Figure IV. 4. (a) Spectres d'absorption électronique de la molécule H₂L-Br (10 μmol.L⁻¹) en présence d'ADN (0-4.37 μM), dans l'acétonitrile/phosphate tampon à pH = 7.2 (9:1;v:v) et 37°C. (b) tracé de A₀/(A - A₀) en fonction de 1/[ADN]



(a)



(b)

Figure IV. 5. (a) Spectres d'absorption électronique de la molécule H_2L-NO_2 ($10\mu\text{mol.L}^{-1}$) en présence d'ADN (0-4.37 μM), dans l'acétonitrile/phosphate tampon à pH = 7.2 (9:1;v:v) et 37°C. (b) tracé de $A_0/(A - A_0)$ en fonction de $1/[\text{ADN}]$

Le spectre d'absorption électronique de la molécule H₂L-H présente deux bandes d'absorption de λ_{max} : 242 et 351 nm et un épaulement vers λ_{max} : 297 nm.

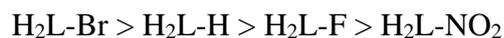
Le spectre UV-vis de la molécule H₂L-F est caractérisé par les bandes de λ_{max} : 242 et 344 nm et un épaulement vers λ_{max} : 290 nm.

Le spectre d'absorption électronique de la molécule H₂L-Br présente deux bandes d'absorption de λ_{max} : 244 et 354 nm et un épaulement vers λ_{max} : 302 nm.

L'allure du spectre d'absorption de la molécule H₂L-NO₂ est un peu différente des trois autres molécules, elle est caractérisée par deux bandes d'absorption apparues à λ_{max} : 234 et 400 nm et deux épaulements d'intensité faible vers λ_{max} : 251 et 344 nm.

Les figures IV.2 à IV.5 montrent que la position du pic de 10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ des dérivés H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂ est légèrement déplacée bathochromiquement de 2 nm par l'ajout de 4.37 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ d'ADN, accompagné de passage de l'hypochromie de 45 % pour H₂L-H, 50 % pour H₂L-F, 46 % pour H₂L-Br et 47 % pour H₂L-NO₂. Ces caractéristiques spectrales remarquables suggèrent que l'intercalation est le principal mode d'interaction entre les quatre dérivés de la quinoléine étudiés et l'ADN [6–8]. En se basant sur la diminution de l'absorbance des composés suite à l'ajout de différentes concentrations d'ADN, les paramètres de liaison sont évalués selon les équations IV.2 et IV.3. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau IV. 2.

Les valeurs des constantes de liaison k_b suggèrent que ces composés avaient une affinité de liaison forte pour l'ADN. On peut donc résumer l'ordre décroissant des dérivés H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂ testés en terme d'affinité de liaison pour l'ADN comme suit :



L'énergie de liaison ΔG est évaluée comme étant négative, ce qui met en évidence la spontanéité de l'interaction des quatre molécules avec l'ADN [9].

Tableau IV. 2. Paramètres de liaison des molécules H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂.

Adduit	1/[ADN]	A ₀ /(A-A ₀)	k _b (L.M ⁻¹)	ΔG (KJ.mol ⁻¹)
H₂L-H-ADN	1.38341288	-44.650718	2.65×10 ⁵	-32.16
	0.6863418	-8.7542214		
	0.4587156	-4.6988922		
	0.34364261	-3.3304782		
	0.27453672	-2.5588155		
	0.2287806	-2.2182077		
H₂L-Br-ADN	1.38341288	-6.99408284	2.93×10 ⁵	-32.42
	0.6863418	-7.869281046		
	0.4587156	-4.457195743		
	0.34364261	-3.197875166		
	0.27453672	-2.554229647		
	0.2287806	-2.153846154		
H₂L-F-ADN	1.38341288	-18.5372973	1.53×10 ⁵	-30.75
	0.6863418	-6.659029126		
	0.4587156	-3.52022172		
	0.34364261	-2.831406869		
	0.27453672	-2.262435678		
	0.2287806	-1.989903679		
H₂L-NO₂-ADN	1.38341288	-10.54856115	0.22×10 ⁴	-25.80
	0.6863418	-4.85915493		
	0.4587156	-3.447971781		
	0.34364261	-2.6953125		
	0.27453672	-2.273255814		
	0.2287806	-2.0961401		

IV.1.2 Etude de l'interaction ADN-drogue par voltampérométrie cyclique

Dans la voltampérométrie cyclique, le potentiel du pic et la densité de courant de pic du composé étudié varient en présence d'ADN, si ce dernier interagit avec l'acide nucléique.

La variation de la hauteur de pic (I_p) de la molécule après l'ajout d'ADN est utilisée pour déterminer la constante de liaison k_b de l'adduit drogue-ADN et la taille des sites de liaison s , le déplacement du potentiel de pic peut être utilisé pour exploiter le mode d'interaction mis en jeu.

La décroissance du courant de pic anodique des dérivés amino quinoléine suite à l'addition de différentes concentrations d'ADN est utilisée pour quantifier la constante de liaison en utilisant l'équation IV.4 [10]:

$$\log \frac{1}{[DNA]} = \log k_b + \log \frac{i}{i_0 - i} \quad \text{IV.4}$$

Où k_b est la constante de liaison, i_0 et i sont les densités de courant anodique en absence et en présence d'ADN, respectivement.

L'énergie libre de liaison est calculée à partir de l'équation IV.3 citée précédemment.

La taille des sites de liaison s des dérivés de la quinoléine avec l'ADN sont obtenus à partir des données électrochimiques en utilisant l'équation IV.5 [4]:

$$\frac{C_b}{C_f} = k_b \left\{ \left[\frac{\text{free base pairs}}{s} \right] \right\} \quad \text{IV.5}$$

Où s est la taille de site de liaison en termes de paires de bases, C_f est C_b sont les concentrations de l'espèce libre liée à l'ADN, respectivement, k_b est la constante de liaison.

La concentration des paires de base peut être exprimée en tant que $[ADN]/2$, l'équation IV.5 peut être écrite comme suit :

$$\frac{C_b}{C_f} = k_b \left\{ \left[\frac{DNA}{2s} \right] \right\}$$

Le rapport des concentrations $\frac{c_b}{c_f}$ est déterminé à partir de l'équation IV.6 [11]:

$$\frac{c_b}{c_f} = \frac{i_0 - i}{i} \quad \text{IV.6}$$

La taille de site de liaison s est déterminée à partir de la pente de tracé de terme $\frac{c_b}{c_f}$ en fonction de la concentration d'ADN, [ADN], tout en maintenant constant la valeur de k_b .

Le mode d'interaction H₂L-R-ADN peut être évalué à partir de la variation du potentiel formel. En général, le déplacement du potentiel anodique ou cathodique est causé soit par l'intercalation de la molécule étudiée avec la double hélice de l'ADN ou par l'interaction électrostatique du composé cationique étudié avec le phosphate anionique du squelette d'ADN [12–14]. Le rapport des constantes de liaison K_{red}/K_{ox} est obtenu en appliquant l'équation IV.7 [15]:

$$\Delta E^0 = E_b^0 - E_f^0 = 0,059 \log \frac{K_{red}}{K_{ox}} \quad \text{IV.7}$$

Où E_f^0 est le potentiel formel de la forme H₂L-R libre, E_b^0 est le potentiel formel de la forme H₂L-R-ADN, K_{red} et K_{ox} sont les constantes de liaison de la forme réduite et oxydée.

IV.1.2.1 Étude de l'interaction des dérivés amino quinoléine avec l'ADN par voltampérométrie cyclique

L'étude de comportement électrochimique de 10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ de H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂ en présence d'ADN est réalisé par voltampérométrie cyclique à 37°C, dans une solution d'acétonitrile/tampon phosphate pH = 7.2 (9:1; v:v), la fenêtre du potentiel était de 0 à 900 mV avec une vitesse de balayage de 100 mV/s. Les voltampérogrammes cycliques en présence de différentes concentrations d'ADN sont représentés sur les Figures (VI.6 à IV.9).

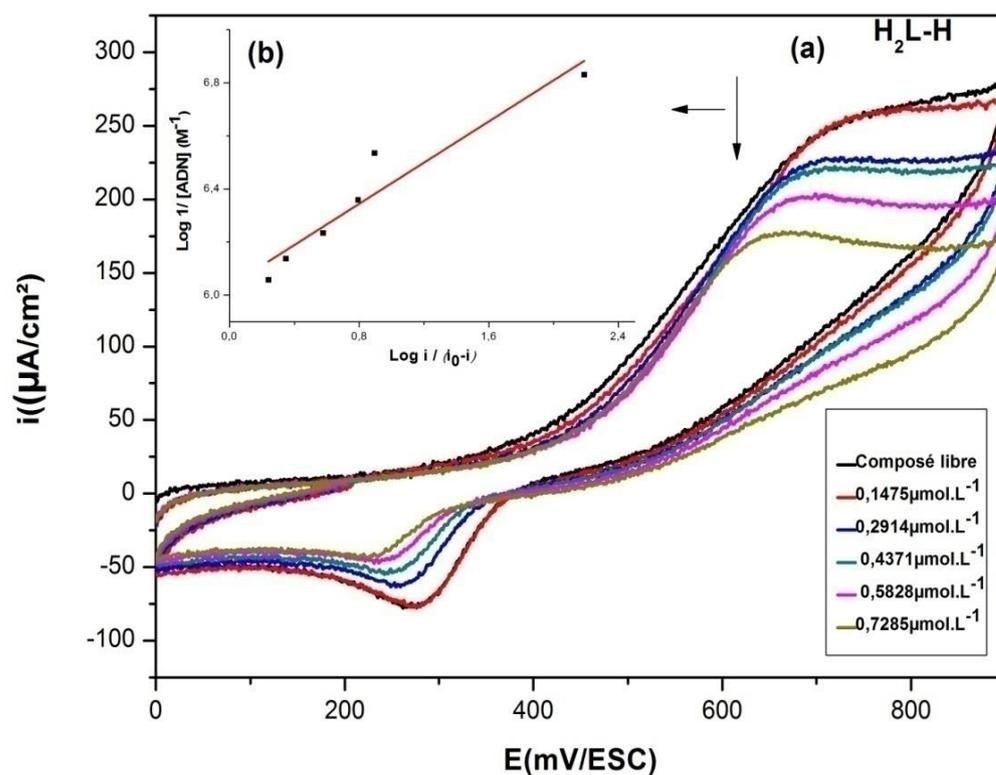


Figure IV. 6. Comportement électrochimique de $\text{H}_2\text{L-H}$ ($10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$): (a) Voltamogrammes cycliques enregistrés à une vitesse de balayage de 0.1 V s^{-1} en absence et en présence de différentes concentrations d'ADN, dans une solution 90% acétonitrile/tampon phosphate de $\text{pH} = 7.2$ (9:1;v:v) et 37°C ; (b) tracé du $\text{log } 1/[\text{ADN}]$ en fonction de $\text{log } \frac{i}{i_0 - i}$.

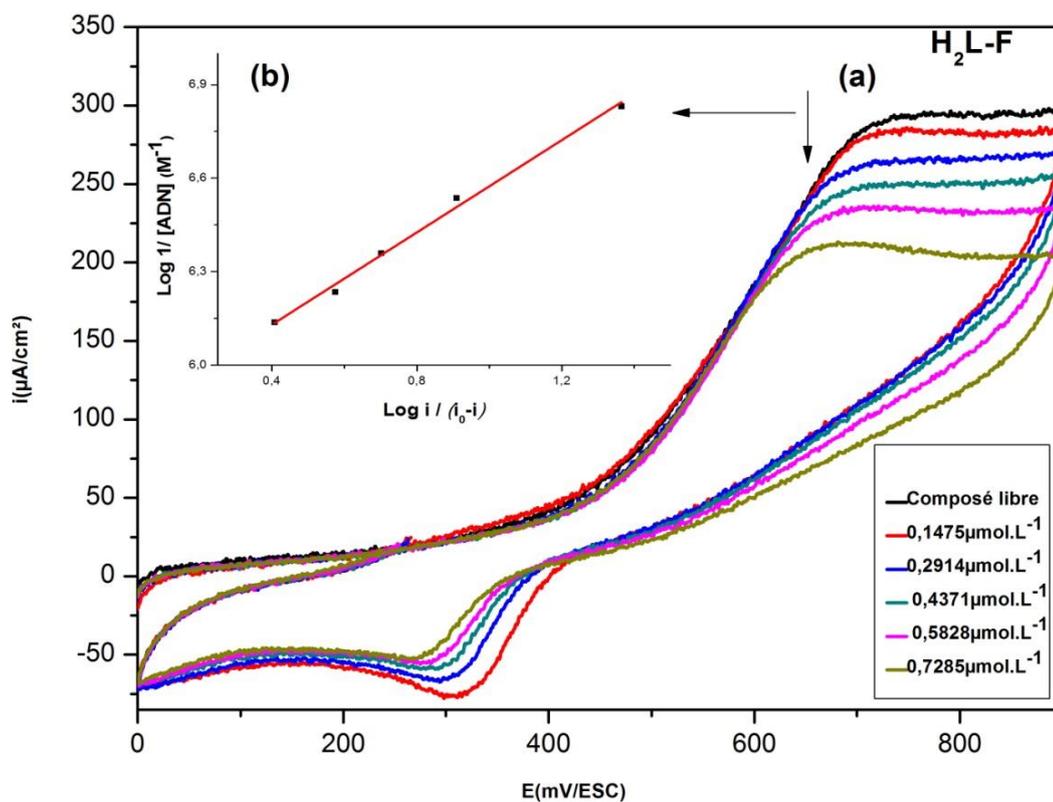


Figure IV. 7. Comportement électrochimique de $\text{H}_2\text{L-F}$ ($10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$): (a) Voltammogrammes cycliques enregistrés à une vitesse de balayage de 0.1 V s^{-1} en absence et en présence de différentes concentrations d'ADN, dans une solution 90% acétonitrile/tampon phosphate de $\text{pH} = 7.2$ (9:1;v:v) et 37°C ; (b) tracé du $\log 1/[\text{ADN}]$ en fonction de $\log \frac{i}{i_0 - i}$

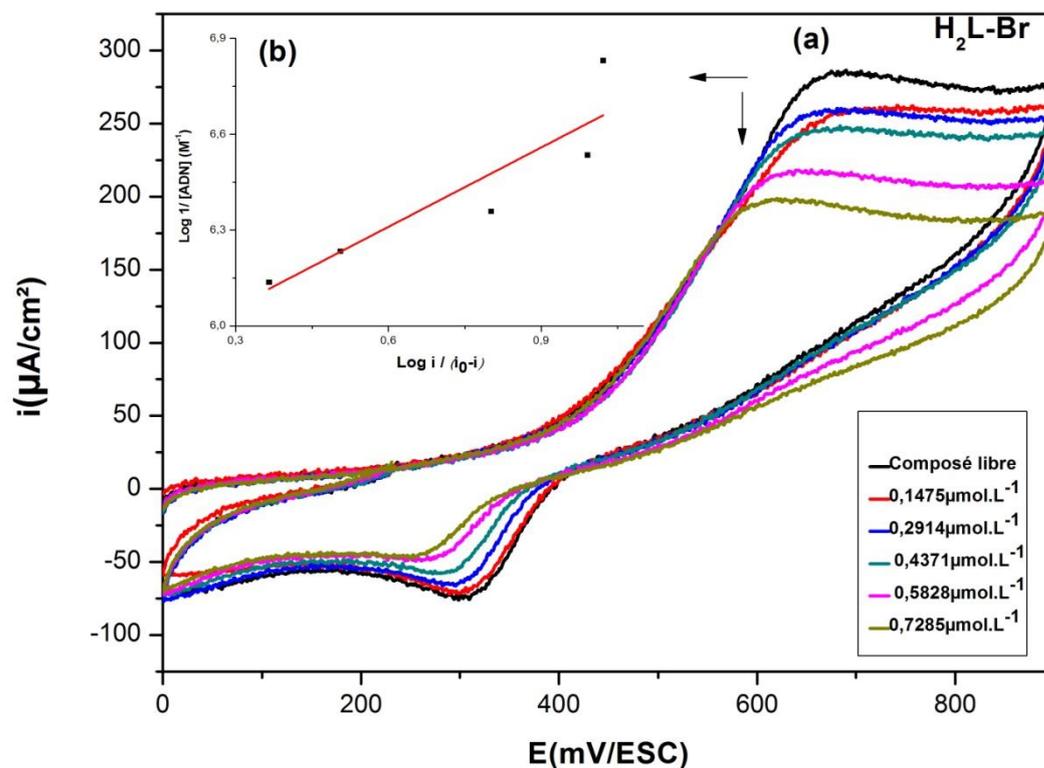


Figure IV. 8. Comportement électrochimique de $\text{H}_2\text{L-Br}$ ($10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$): (a) Voltamogrammes cycliques enregistrés à une vitesse de balayage de 0.1 V s^{-1} en absence et en présence de différentes concentrations d'ADN, dans une solution 90% acétonitrile/tampon phosphate de $\text{pH} = 7.2$ (9:1;v:v) et 37°C ; (b) tracé du $\text{log } 1/[\text{ADN}]$ en fonction de $\text{log } \frac{i}{i_0 - i}$

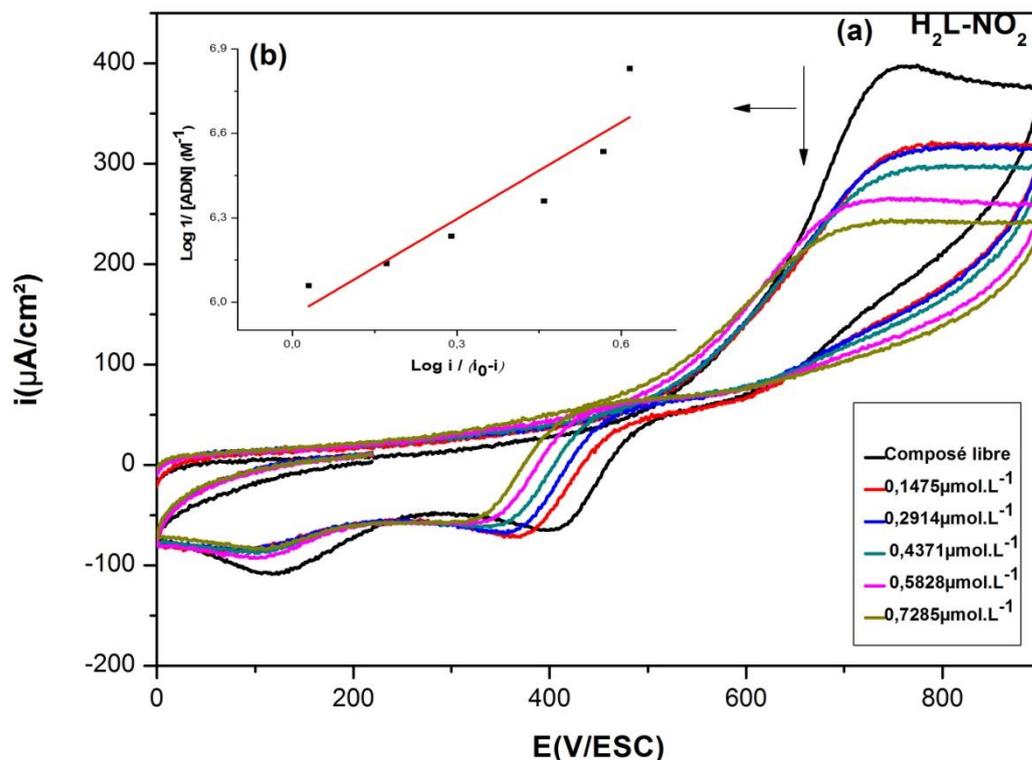


Figure IV. 9. Comportement électrochimique de $\text{H}_2\text{L-NO}_2$ ($10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) (a) Voltammogrammes cycliques enregistrés à une vitesse de balayage de 0.1 V s^{-1} en absence et en présence de différentes concentrations d'ADN, dans une solution 90% acétonitrile/tampon phosphate de $\text{pH} = 7.2$ (9:1; v:v) et 37°C ; (b) tracé du $\log 1/[\text{ADN}]$ en fonction de $\log \frac{i}{i_0 - i}$

Les résultats de la voltampérométrie cyclique, montrent que les composés $\text{H}_2\text{L-H}$, $\text{H}_2\text{L-Br}$ et $\text{H}_2\text{L-F}$ sont caractérisés, dans le domaine du potentiel étudié, par un couple redox bien défini. Les pics de potentiel anodique sont apparus respectivement à 251, 282 et 288 mV, les pics de potentiel cathodiques sont observés respectivement à 270, 304 et 307 mV. Pour $\text{H}_2\text{L-NO}_2$, il exhibe un pic d'oxydation situé à 393 mV et deux pics de réduction qui sont apparus à 404 et 115 mV.

L'addition d'ADN provoque une diminution de la densité du courant des pics anodiques et cathodiques i_{pa} et i_{pc} accompagné d'un déplacement du potentiel des deux pics vers les valeurs les plus faibles pour tous les dérivés étudiés. La diminution

considérable de la densité du courant est due à la diminution de la concentration du composé libre responsable du transfert du courant et ceci par formation d'un complexe H₂L-R- ADN qui se diffuse plus lentement que le composé libre [16,17].

En se basant sur la décroissance du courant de pic anodique des composés suite à l'addition de différentes concentrations d'ADN, les paramètres de liaison sont quantifiés en utilisant les équations IV.3 et IV.4. Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau IV. 3.

Tableau IV. 3. Paramètres de liaison des molécules H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L- NO₂ calculées à partir du tracé log i/ [ADN] en fonction de log i/ (i₀ -i).

Adduit	log i/ [ADN]	Log i/ (i ₀ -i)	k _b (L/mol)	ΔG (KJ.mol ⁻¹)
H₂L-H-ADN	6.83120798	2.188001934	1.07×10 ⁵	-35.42
	6.53551045	0.893930571		
	6.35941919	0.791884549		
	6.23448046	0.575313163		
	6.13757044	0.346759991		
	6.0583892	0.239562201		
H₂L-F-ADN	6.83120798	1.364489901	0.86×10 ⁵	-35.34
	6.53551045	0.9091951		
	6.35941919	0.701823109		
	6.23448046	0.574416385		
	6.13757044	0.407104901		
H₂L-Br-ADN	6.83120798	1.021071779	6.19×10 ⁵	-35.80
	6.53551045	0.990324661		
	6.35941919	0.80111779		
	6.23448046	0.504896491		
	6.13757044	0.36533004		
H₂L-NO₂-ADN	6.83120798	0.615285866	8.93×10 ⁴	-34.36
	6.53551045	0.567155165		
	6.35941919	0.458926429		
	6.23448046	0.289748985		
	6.13757044	0.171841366		
	6.0583892	0.029388662		

Les paramètres électrochimiques obtenus à partir des voltampérogrammes cycliques tabulés dans le tableau IV. 3 révèlent que les constantes de liaison pour les quatre dérivés varient dans l'ordre suivant :



Les valeurs élevées de k_b des dérivés étudiés suggèrent leur candidature comme des potentiels agents anticancéreux. Les valeurs de l'énergie libre de liaison varient dans le même ordre que celle de la constante de liaison, le signe négatif indique la spontanéité de l'interaction de l'ADN avec les quatre dérivés de la quinoléine.

La taille de site de liaison s est déterminée à partir de la pente de tracé de terme $\frac{C_b}{C_f}$ en fonction de la concentration d'ADN, [ADN], Figures (IV. 10 à IV. 13).

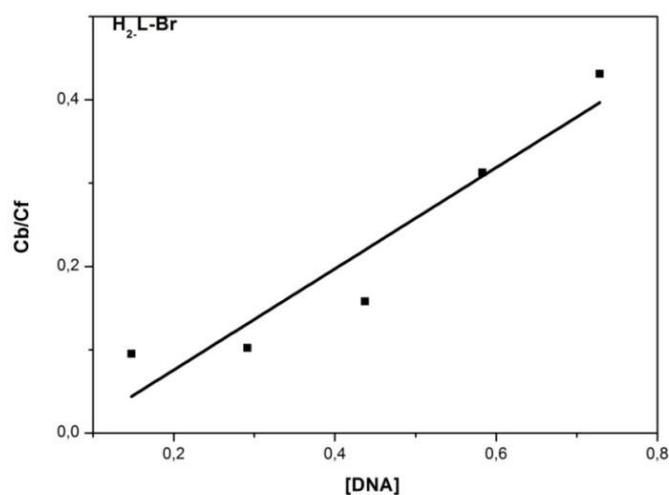


Figure IV.10. Tracé de la molécule **H₂L-Br**, $C_b/C_f = f$ [ADN]

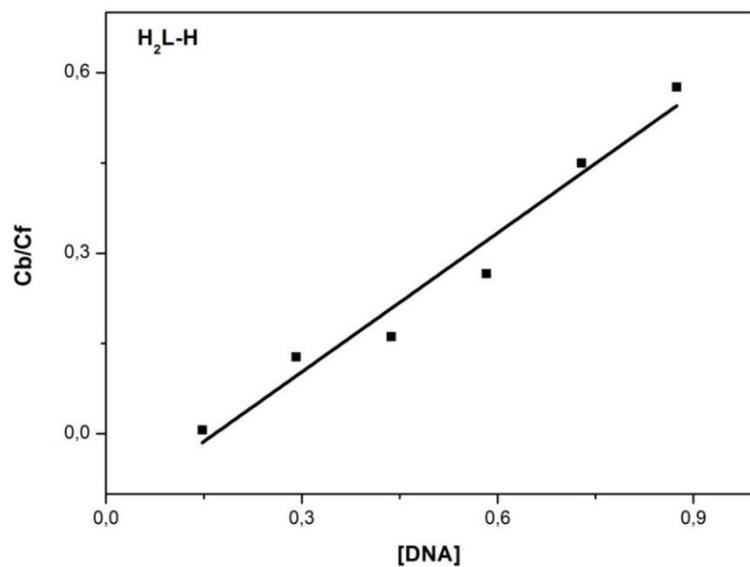


Figure IV.11. Tracé C_b/C_f de la molécule **H₂L-H**, $C_b/C_f = f$ [ADN]

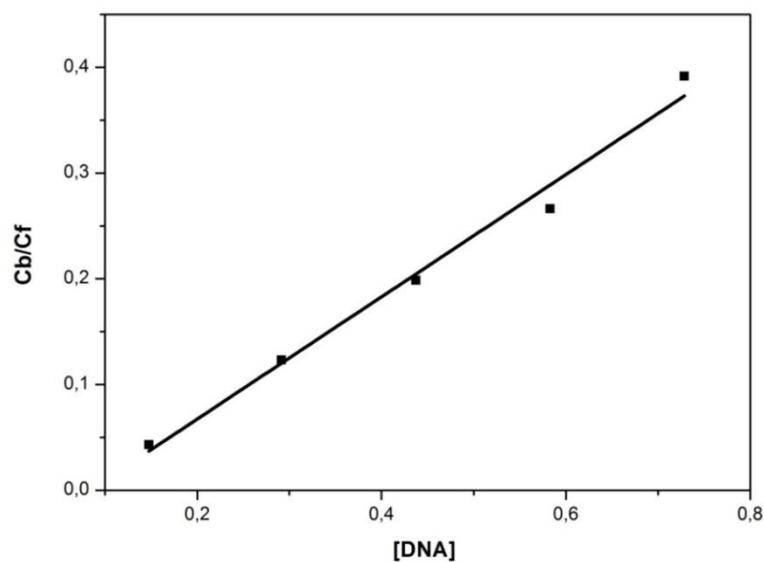


Figure IV.12. Tracé C_b/C_f de la molécule **H₂L-F**, $C_b/C_f = f$ [ADN]

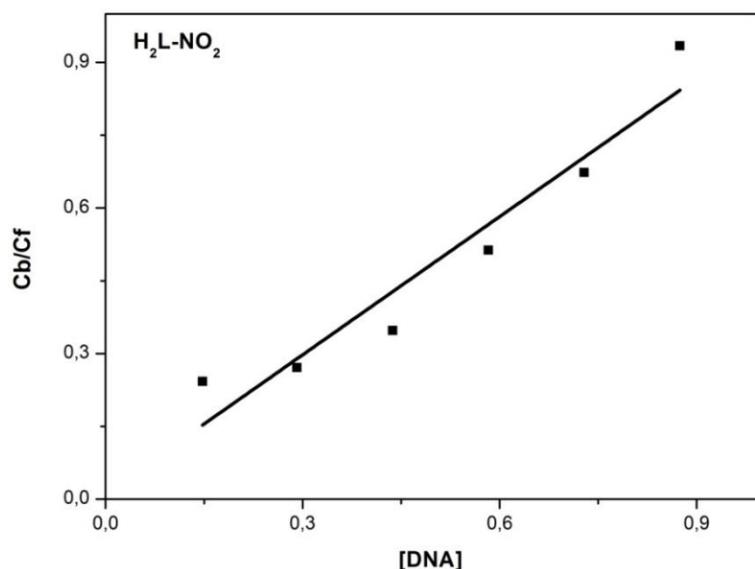


Figure IV.13. Tracé Cb/Cf de la molécule H_2L-NO_2 , $Cb/Cf = f [ADN]$

Le tableau IV. 4 regroupe les valeurs obtenues des tailles de site de liaison s résultantes de l'interaction de l'ADN avec les quatre dérivés étudiés.

Tableau IV. 4. Valeurs de la taille de site de liaison s des molécules étudiées

Composé	Equation	s (bp)
H_2L-H	$y = 0.77x - 0.128$	0.694
H_2L-Br	$y = 0.607x - 0.045$	0.680
H_2L-F	$y = 0.578x - 0.048$	0.588
H_2L-NO_2	$y = 0.949x + 0.012$	0.470

L'analyse du tableau IV.4 révèle que les valeurs de s décroissent dans l'ordre suivant :

$$s: H_2L-H > H_2L-Br > H_2L-F > H_2L-NO_2.$$

Les faibles valeurs de s impliquent qu'environ deux molécules du dérivé H_2L-R couvrent une paire de bases lorsqu'elles s'intercalent dans l'ADN [11].

La variation du potentiel formel peut juger le mode d'interaction $H_2L-R-ADN$. Le rapport K_{red}/K_{ox} est obtenu en appliquant l'équation IV.7, les paramètres

électrochimiques des molécules étudiées en absence et en présence de $0.7285 \mu\text{mol.L}^{-1}$ d'ADN ainsi que les rapports K_{red}/K_{ox} ont été également calculés, les résultats sont regroupés dans le tableau IV. 5.

Tableau IV. 5. Données électrochimiques de la forme libre de H₂L-R et de l'adduit H₂L-R –ADN.

Composé	$EP_a(\text{V})$	$EP_c(\text{V})$	$E^0(\text{V})$	$\Delta E^0(\text{V})$	K_{red}/K_{ox}
H ₂ L-H	0.68	0.29	0.45	-	-
H ₂ L-H -ADN	0.66	0.23	0.44	0.04	4.62
H ₂ L-Br	0.69	0.30	0.50	-	-
H ₂ L-Br -ADN	0.60	0.26	0.43	0.06	11.47
H ₂ L-F	0.71	0.31	0.51	-	-
H ₂ L-F -ADN	0.67	0.27	0.47	0.04	4.60
H ₂ L-NO ₂	0.74	0.4	0.73	-	-
H ₂ L-NO ₂ -ADN	0.71	0.32	0.51	0.05	8.07

EP_c : potentiel cathodique; EP_a : potentiel anodique; $E^0 = \frac{EP_a + EP_c}{2}$;

$\Delta E^0 = E^0(\text{H}_2\text{L-R-ADN}) - E^0(\text{H}_2\text{L-R})$.

Les valeurs du rapport Kr/Ko pour les composés H₂L-H, H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-NO₂ sont respectivement 4.62, 11.47, 4.6 et 8.07. Ces valeurs indiquent que la forme réduite du composé étudié réagit plus quantitativement avec l'ADN que la forme oxydée.

IV.1.3. Étude de l'interaction ADN-Drogue par amarrage moléculaire

La découverte et l'évaluation de nouveaux médicaments thérapeutiques pour le traitement de diverses maladies émergentes sans aucun effet secondaire est l'objectif le plus vital du monde médical moderne. Les résultats obtenus de l'étude spectroscopique et électrochimique ont permis de comprendre le mode d'interaction du complexe ADN-H₂L-R. Afin de mieux visualiser les interactions mises en jeu, une étude *in silico* a été également effectuée. L'amarrage moléculaire prédit le site de liaison sélectionné ainsi que la meilleure configuration d'une molécule à l'intérieur de l'AND[18-20].

IV.1.3.1. Amarrage moléculaire

L'étude d'amarrage moléculaire des molécules H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-H et H₂L-NO₂ avec l'ADN a été réalisée à l'aide du logiciel d'amarrage AutoDock 4.2 sur un micro-ordinateur Pentium 2,20 GHz et RAM 4,00 Go avec un système d'exploitation Windows 10. Les structures chimiques des molécules H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-H et H₂L-NO₂ ont été optimisées à l'aide du logiciel Gaussian 09 en utilisant la fonction DFT / B3LYP / 6-311G++(d,p). La structure d'ADN (PDB ID: 1BNK), sélectionnée de la banque de données des protéines (<http://www.rcsb.org./pdb>), a été choisie comme récepteur pour l'étude de l'interaction [21]. La longueur de la structure d'ADN est de 13 nucléotides avec un poids théorique égal à 31.86 KDa et un séquençage dont l'ordre :

Chain D : 5'-D(*Gp*Ap*Cp*Ap*Tp*Gp*YRRp*Tp*Tp*Gp*Cp*Cp*T) -3'.

Chain E : 5'-D(*Gp*Gp*Cp*Ap*Ap*Tp*Cp*Ap*Tp*Gp*Tp*Cp*A) -3'

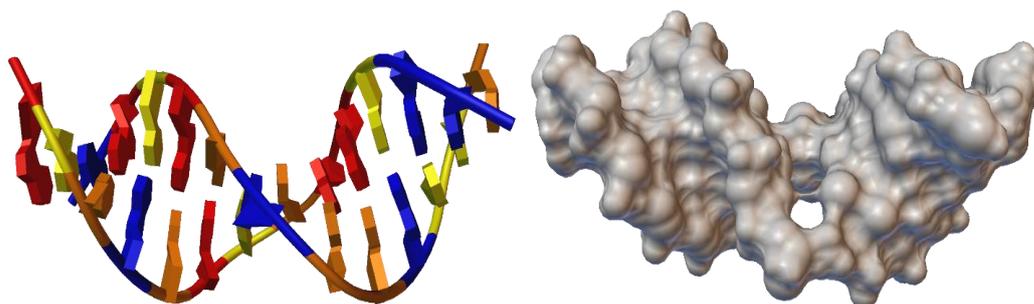


Figure IV. 14. Structure cristalline d'ADN (PDB ID : 1BNK).

Afin de réaliser l'amarrage moléculaire, la structure d'ADN a été soumise à un prétraitement en utilisant une interface graphique appelée AutoDockTools (ADT). A la fin des essais d'amarrage, diverses énergies de liaison des ligands ont été obtenues avec leurs conformations respectives; la conformation stable qui correspond à l'énergie de liaison la plus basse a été choisie comme meilleure pose et a été utilisée dans l'analyse d'amarrage [22]. L'énergie de liaison des molécules H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-H et H₂L-NO₂ avec l'ADN était respectivement -34.73, -33.26, -33.81 et -32.44KJ/mol. Les valeurs de l'énergie de liaison calculées indiquent une affinité de liaison élevée entre l'ADN et les composés (Tableau IV.6).

Tableau IV. 6. Energie libre de liaison et constants de liaisons des complexes H₂L-Br-ADN, H₂L-F-ADN, H₂L-H-ADN et H₂L-NO₂-ADN obtenues par Docking moléculaire.

Adduits	H ₂ L-Br-ADN	H ₂ L-F-ADN	H ₂ L-H-ADN	H ₂ L-NO ₂ -ADN
$-\Delta G$ (KJ mol ⁻¹)	34.73	33.26	33.81	32.44
K (L.mol ⁻¹)	1.21×10^6	6.69×10^5	8.36×10^5	4.81×10^5

La vue de surface des conformations ancrées des dérivés obtenues à partir de l'analyse d'amarrage des adduits a montré que tous les ligands étudiés sont placés dans le petit sillon de la structure de l'ADN (figure IV. 15).

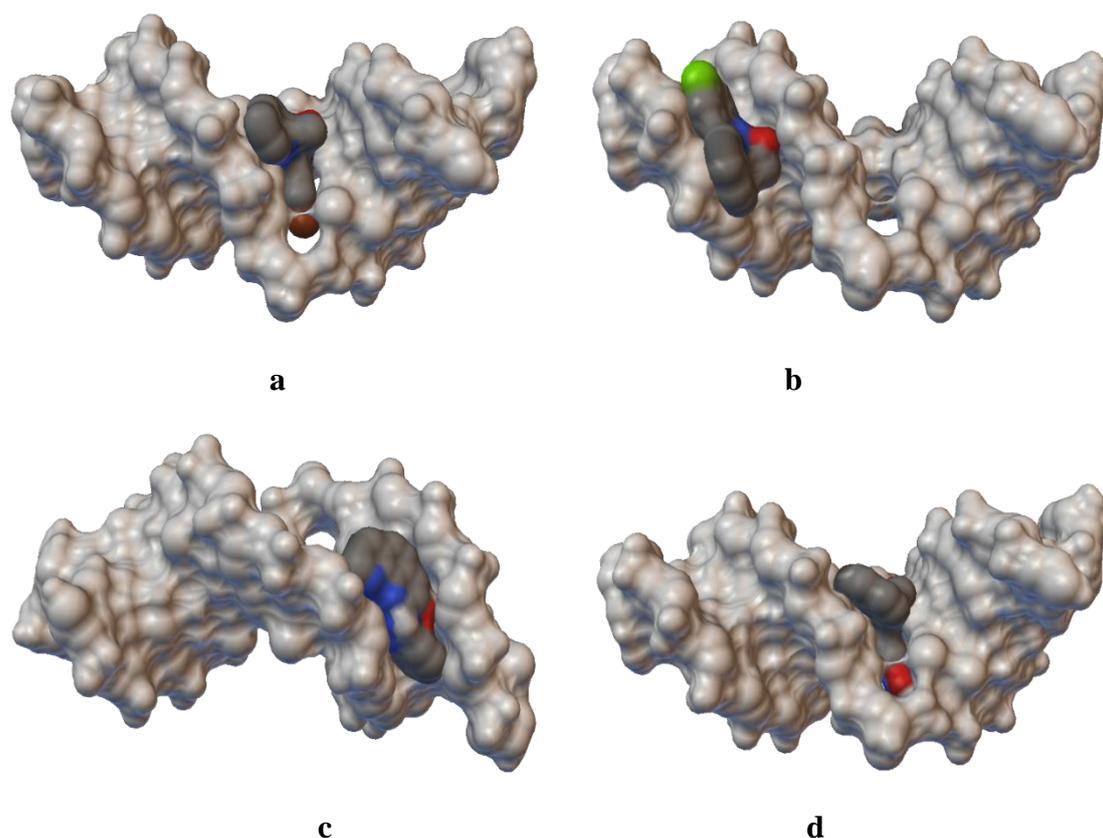


Figure IV. 15. Poses d'amarrage de H₂L-Br (a), H₂L-F (b), H₂L-H (c) et H₂L-NO₂ (d) illustrant l'emplacement des ligands au petit sillon

Les résultats obtenus par amarrage moléculaire indiquent que tous les dérivés interagissent avec l'ADN par la formation d'au moins deux liaisons hydrogène. La distance de ces liaisons avec leurs énergies correspondantes sont résumées dans le tableau IV. 7.

Tableau IV. 7. Longueur et énergie des liaisons hydrogène formées entre les ligands H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-H et H₂L-NO₂ et les nucléotides d'ADN

Adduits	Liaisons	Longueurs (Å)	Energies (Kcal)
H ₂ L-Br-ADN	DT19_H ₂ N	2.001	-5.449
	DG6_H ₂ N	2.024	-4.064
	DA18_O	1.183	-6.225
H ₂ L-F-ADN	DA4_O	1.74	-6.703
	DG23_N	2.003	-6.306
H ₂ L-H-ADN	DG10_O	2.102	-4.971
	DA18_N	1.844	-1.203
	DA17_N	2.236	-2.684
H ₂ L-NO ₂ -ADN	DA18_O	1.994	-5.345
	DG6_N	1.847	-5.314
	DT8_HO	1.809	-5.224
	DT19_N	2.189	-3.968

La figure IV. 16 montre la vue rapprochée des atomes de nucléotides d'ADN interagissant avec la surface des molécules H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-H et H₂L-NO₂.

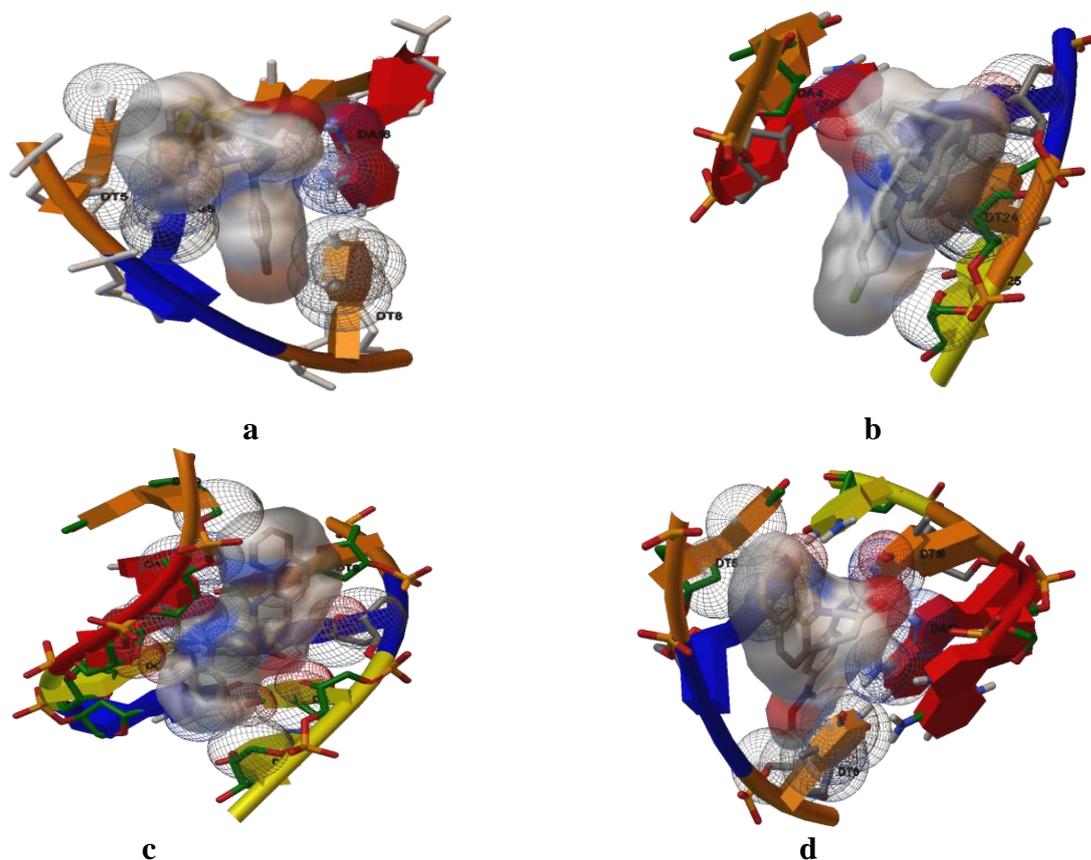
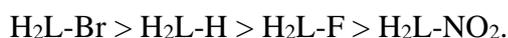


Figure IV. 16. Représentation tridimensionnelle des interactions des molécules H₂L-Br (a), H₂L-F (b), H₂L-H (c) et H₂L-NO₂ (d) avec l'ADN.

En conclusion, les résultats de l'étude spectroscopique UV-vis et électrochimique de l'interaction des quatre dérivés amino quinoléine avec l'ADN étaient en bon accord avec ceux obtenus par amarrage moléculaire. Cependant, les quatre molécules étudiées ont révélé une activité anticancérogène en se liant par des liaisons intercalaires à l'ADN, le dérivé H₂L-Br présente la plus grande affinité de liaison comparant avec celle des autres dérivés. L'ordre décroissant des composés H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂ testés en termes d'affinité de liaison pour l'ADN est comme suit :



IV.2. Interaction avec l'albumine du sérum bovin (BSA)

L'albumine sérique est la protéine la plus importante du plasma sanguin et joue un rôle essentiel dans le transport et la distribution des acides gras, des hormones, et rend les toxines inoffensives en les transportant vers les sites d'élimination.

L'étude des interactions de la BSA avec les petites molécules est une analyse importante en chimie médicinale et en médecine clinique, elle est couramment utilisée comme étape préliminaire dans la construction de médicaments, elle permet de mieux comprendre la façon dont les médicaments ciblent et lient les récepteurs, elle aide également à comprendre la toxicité, la pharmacocinétique, la biochimie, la pharmacodynamique et la distribution des molécules dans l'organisme [23–26].

En raison des facteurs mentionnés ci-dessus, on s'est orienté vers l'étude de l'interaction de quatre nouvelles molécules dérivées de la quinoléine avec la BSA, en utilisant des techniques voltampérométriques et spectroscopiques.

IV.2.1. Etude de l'interaction BSA-drogue par spectroscopie électronique

L'efficacité d'un médicament est considérablement influencée par le degré de son affinité de se lier à un site actif sur les récepteurs des protéines du plasma sanguin. La spectroscopie d'absorption UV-vis est un outil important pour explorer les changements structuraux et la formation des complexes protéine-ligand [27]. La BSA présente un faible pic d'absorption qui apparaît à environ 279 nm et qui est due aux acides aminés aromatiques (Trp, Tyr et Phe). L'interaction des molécules H₂L-H,

H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂ avec la BSA est également étudiée par spectroscopie d'absorption UV-vis à pH physiologique (7.2) et à la température du corps (37°C). Les titrages spectroscopiques sont réalisés dans une solution d'acétonitrile et de tampon phosphate (pH = 7.2) (9:1) tout en maintenant constant la concentration de la solution de BSA (12 µmol.L⁻¹) et en variant la concentration des dérivés étudiés de 0 à 12 µmol.L⁻¹. Les titrages ont été effectués manuellement en utilisant une micropipette. La modification de l'absorbance de la bande caractéristique de la BSA à λ_{max} = 279 nm est enregistrée après chaque addition de composé étudié. Les résultats sont illustrés par les Figures (IV. 17 à IV. 20).

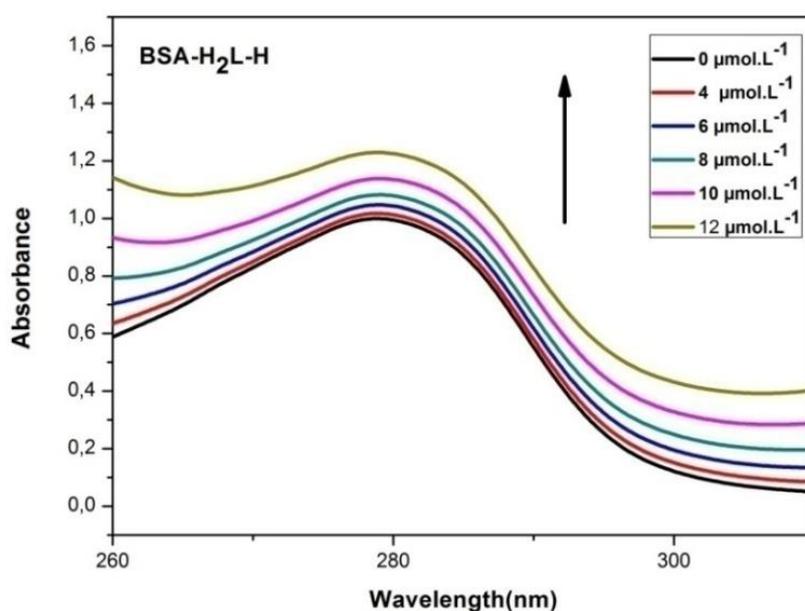


Figure IV. 17. Evolution des spectres d'absorption électronique de la BSA en absence et en présence de différentes concentrations des composés H₂L-H, [BSA] = 12 µmol.L⁻¹, [H₂L-H] = (0, 4, 6, 8, 10, 12 µmol.L⁻¹).

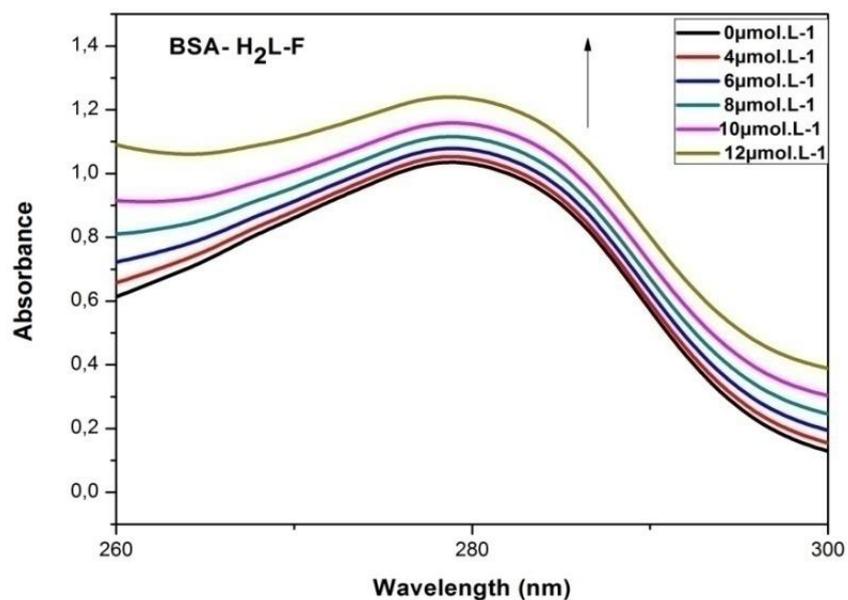


Figure IV. 18. Evolution des spectres d'absorption électronique de la BSA en absence et en présence de différentes concentrations des composés H₂L-F, [BSA] = 12 μmol.L⁻¹, [H₂L-F] = (0, 4, 6, 8, 10, 12 μmol.L⁻¹).

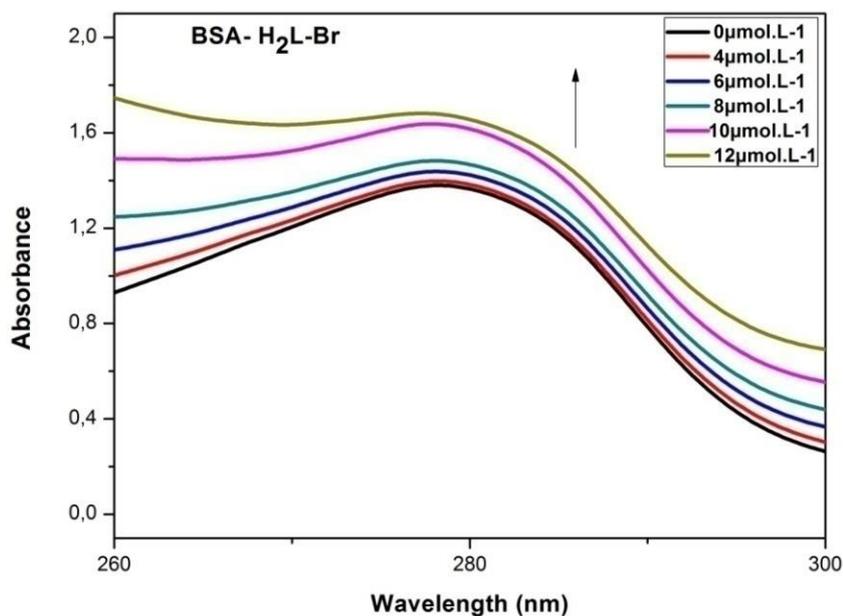


Figure IV. 19. Evolution des spectres d'absorption électronique de la BSA en absence et en présence de différentes concentrations des composés H₂L-Br, [BSA] = 12 μmol.L⁻¹, [H₂L-Br] = (0, 4, 6, 8, 10, 12 μmol.L⁻¹).

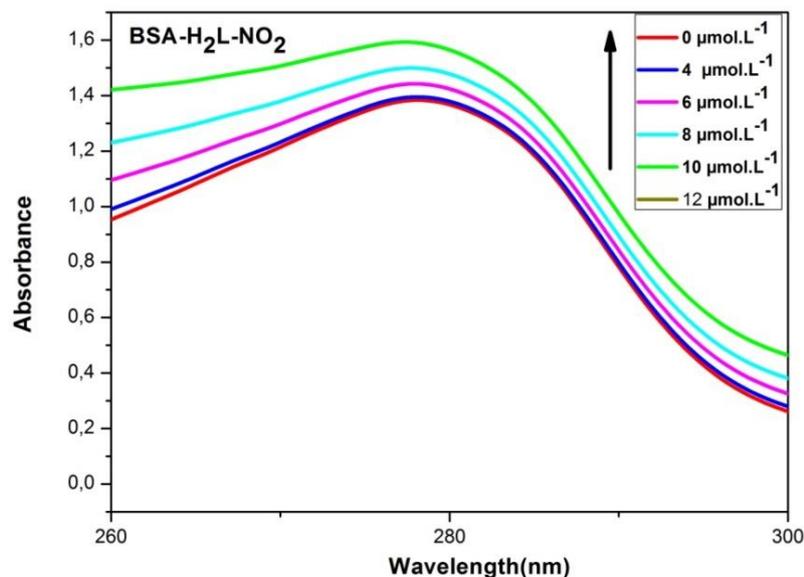


Figure IV. 20. Evolution des spectres d'absorption électronique de la BSA en absence et en présence de différentes concentrations des composés H₂L-NO₂, [BSA] = 12 µmol.L⁻¹, [H₂L-NO₂] = (0, 4, 6, 8, 10, 12 µmol.L⁻¹).

Il ressort clairement des figures (IV.17 à IV.20) qu'avec l'augmentation de la concentration des dérivés H₂L-R à la solution de BSA, l'intensité d'absorption de cette bande augmente sans déplacement évident de sa longueur d'onde (déplacement hyperchrome). Cette observation confirme que cette série de dérivés amino quinoléine interagit avec la BSA et modifie également la polarité du microenvironnement autour des résidus de tyrosine et de tryptophane de la BSA [28–30].

La constante de liaison k_b est évaluée à partir du rapport *pente/intersection* du tracé du terme $\frac{A_0}{A-A_0}$ et $1/[H_2L-BR]$ où A_0 est l'absorbance initiale de la BSA libre à 279 nm, et A est l'absorbance de BSA en présence de différentes concentrations du composé (Figure IV.21).

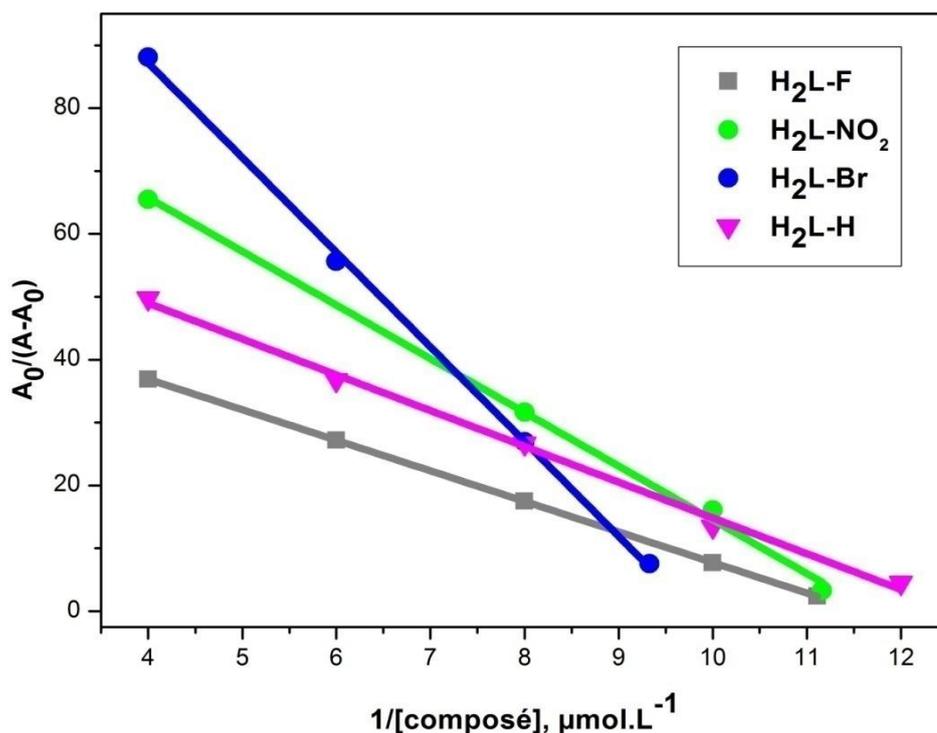


Figure IV.21. Tracés de $A_0/(A_0-A)$ en fonction de $1/[\text{composé}]$ utilisés pour calculer les constantes de liaison des complexes BSA- H₂L-Br, BSA- H₂L-F, BSA- H₂L-NO₂ et BSA- H₂L-H.

Les valeurs de la constante de liaison k_b pour les composés H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-NO₂ et H₂L-H se sont avérées être de 5.87, 1.32, 2.56 et 7.60 $\times 10^4$ L. mol⁻¹. Ces résultats révèlent que les quatre molécules étudiées possèdent une grande affinité pour l'albumine du sérum bovin. Par conséquent, la BSA peut être considérée comme un bon véhicule pour le transfert de ces composés in vivo [31].

IV.2.2. Etude de l'interaction BSA-drogue par voltampérométrie cyclique

Les techniques électrochimiques sont largement utilisées pour analyser directement l'interaction des macromolécules avec les petites molécules dans des conditions physiologiques et pour confirmer le mode de liaison suggéré par la caractérisation spectroscopique [32].

L'interaction des molécules H_2L-H , H_2L-F , H_2L-Br et H_2L-NO_2 avec la BSA est effectuée par voltampérométrie cyclique dans l'acétonitrile/ tampon phosphate (pH = 7.2). À la solution de 20 ml de chaque molécule de concentration $100 \mu\text{mol.L}^{-1}$, sont ajoutées diverses concentrations de BSA, les voltampérogrammes ont été enregistrés à 37°C dans la plage de potentiel allant de 0 à 0.9 V. Les résultats sont présentés sur les figures (VI.22 à IV.25).

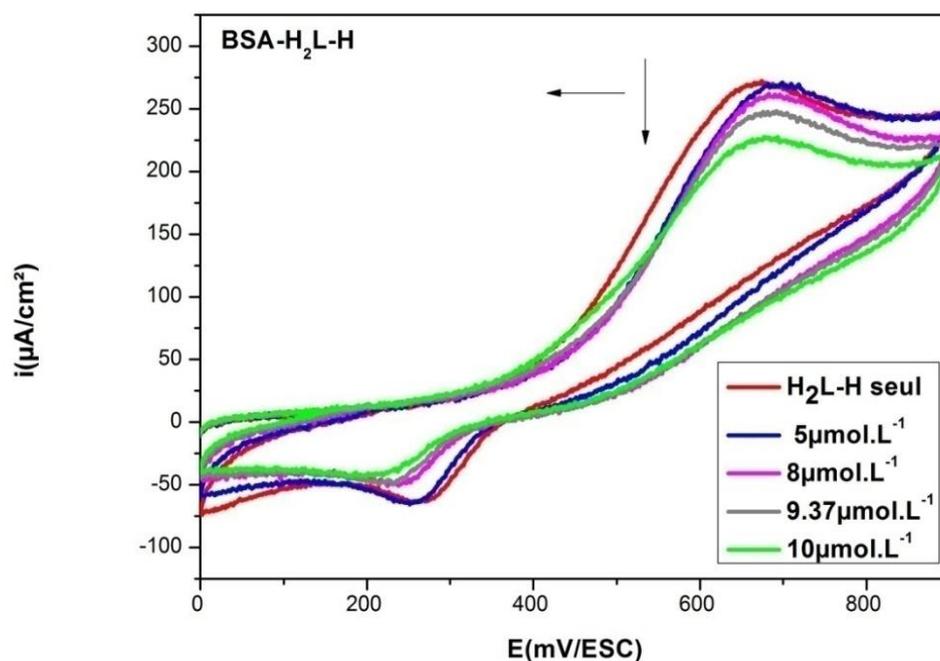


Figure IV. 22. Voltampérogrammes cycliques des complexes BSA- H_2L-H , enregistrés en acétonitrile/ tampon phosphate, pH = 7.2 à une vitesse de balayage de 100mV/s et à 37°C

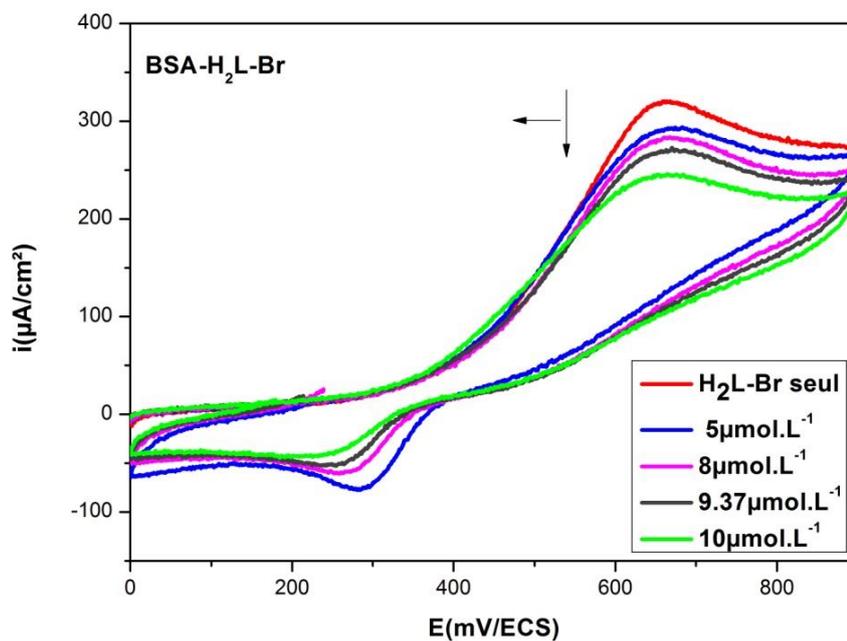


Figure IV. 23. Voltampérogrammes cycliques des complexes BSA- H₂L-Br, enregistrés en acétonitrile/ tampon phosphate, pH = 7.2 à une vitesse de balayage de 100mV/s et à 37°C

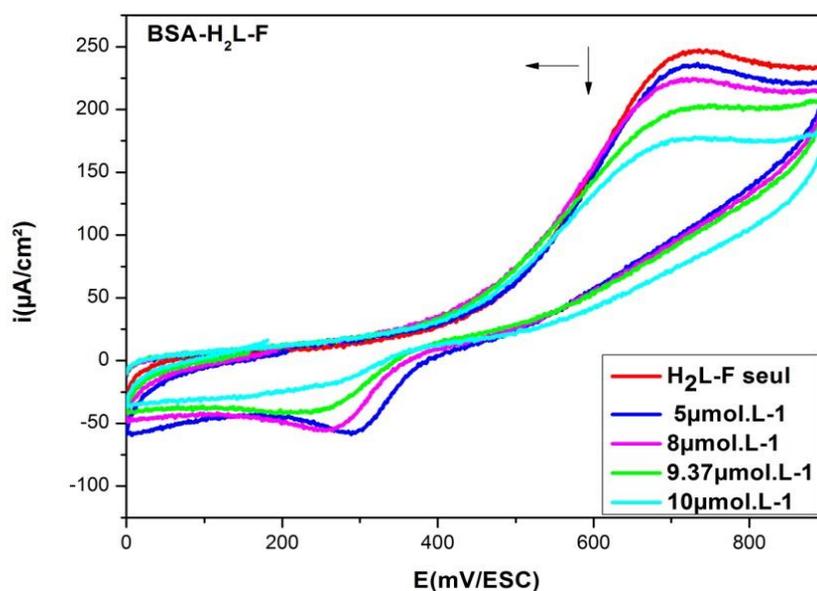


Figure IV. 24. Voltampérogrammes cycliques des complexes BSA- H₂L-F, enregistrés en acétonitrile/ tampon phosphate, pH = 7.2 à une vitesse de balayage de 100mV/s et à 37°C

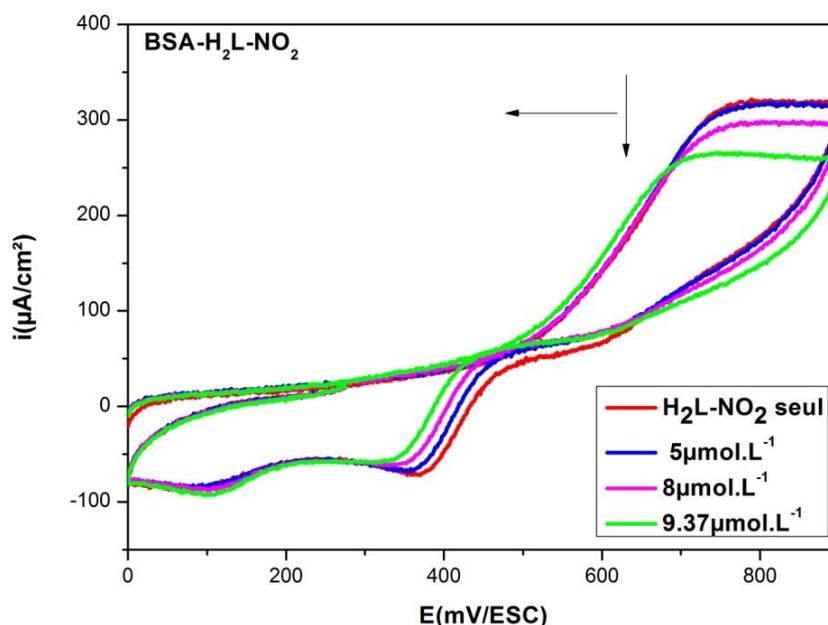


Figure IV. 25. Voltampérogrammes cycliques des complexes BSA- H₂L-NO₂, enregistrés en acétonitrile/ tampon phosphate, pH = 7.2 à une vitesse de balayage de 100mV/s et à 37°C

D'après les résultats obtenus, on peut remarquer que l'ajout d'une quantité croissante de la solution de BSA entraîne une diminution de la hauteur du courant de pic avec un déplacement de la position du potentiel de pic vers les valeurs les plus faibles. La diminution de la hauteur du courant de pic anodique suggère qu'un complexe non électroactif composé de la BSA et les molécules étudiées s'est formé (BSA- H₂L-R). Le déplacement négatif du potentiel de pic reflète l'interaction électrostatique entre la BSA et les quatre dérivés de la quinoléine étudiés [33,34]. La diminution de la densité de courant du pic est exploitée pour calculer la constante de liaison k_b selon l'équation IV.9 [35]:

$$\log \frac{1}{[\text{BSA}]} = \log k_b + \log \frac{i}{i_0 - i} \quad \text{IV.8}$$

De toute évidence, k_b est déterminée à partir de l'interception du tracé du $\log \frac{1}{[\text{BSA}]}$ par rapport au $\log \frac{i}{i_0 - i}$. La Figure IV.26 représente les tracés du $\log \frac{1}{[\text{BSA}]}$ par rapport au $\log \frac{i}{i_0 - i}$ des quatre molécules étudiées.

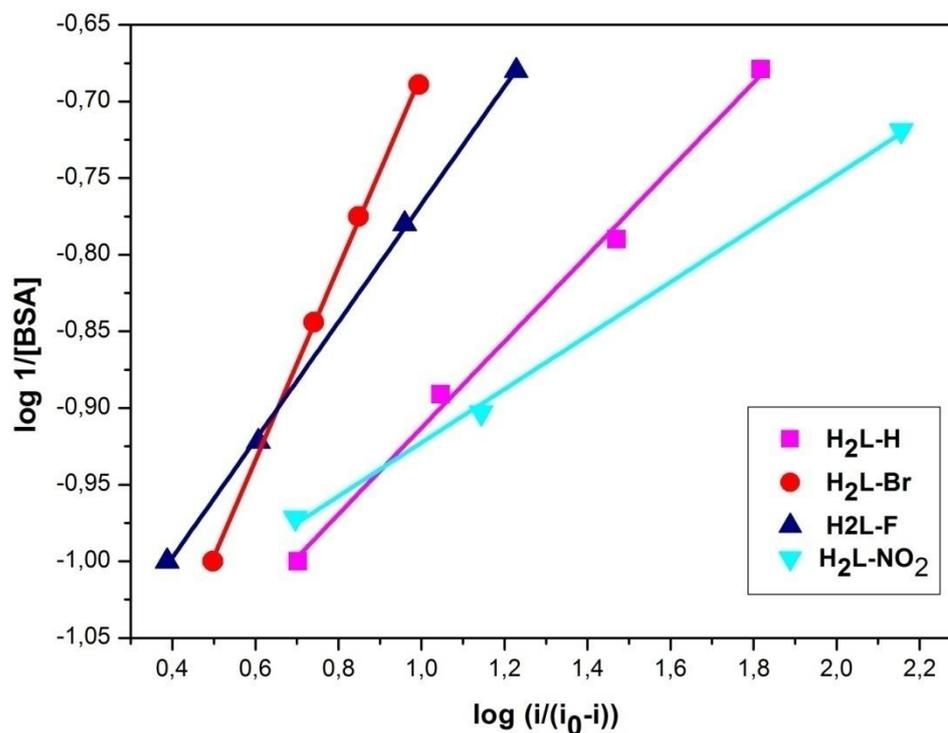


Figure IV.26. Tracé du $\log \frac{1}{[BSA]}$ en fonction du $\log \frac{i}{i_0-i}$, utilisé pour calculer les constantes de liaison des molécules H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-NO₂ et H₂L-H.

Les valeurs de la constante de liaison k_b pour les composés H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-NO₂ et H₂L-H se sont avérées être de 4.14, 2.50, 4.16 et 5×10^4 L.mol⁻¹. Ces valeurs sont en bon accord avec celles obtenues par spectroscopie UV-vis.

IV.2.4. Etude de l'interaction BSA-drogue par amarrage moléculaire

Afin de déterminer plus précisément les sites de liaison préférés des quatre dérivés sur la BSA, l'interaction des molécules H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-NO₂ et H₂L-H avec la BSA a été simulée par des techniques moléculaires d'ancrage mise en œuvre dans AutoDock 4.2 [36-37].

IV.2.4.1. Amarrage moléculaire

La structure cristalline de la BSA présentée dans la figure IV.27 (PDB ID : 4F5S), sélectionnée de la banque de données des protéines

(<http://www.rcsb.org./pdb>), a été choisi comme molécule réceptrice pour l'étude de l'interaction[38].

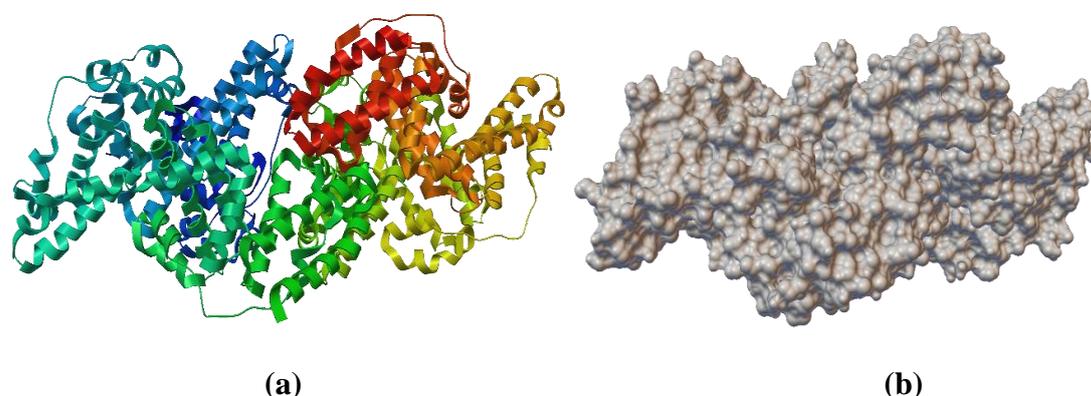


Figure IV. 27. Structure cristalline de l'albumine du sérum bovin (BSA), (a) présentation cartoon, (b) vue d'espace (PDB ID: 4F5S).

Les structures chimiques des quatre dérivés H_2L-Br , H_2L-F , H_2L-H et H_2L-NO_2 ont été optimisées par la méthode de la théorie fonctionnelle de la densité (TFD) mise en œuvre dans le logiciel Gaussian 09 au niveau B3LYP/6-311G++(d,p). Pour réaliser l'amarrage moléculaire, la structure de BSA a été soumise à un prétraitement comme suit : tous les atomes d'hydrogène et les charges des atomes ont été additionnées au BSA; ensuite, les atomes d'hydrogène non polaires ont été fusionnés. Pour les calculs d'amarrage, la taille de la grille a été fixée à $126 \times 126 \times 126 \text{ \AA}$ avec un point séparé par 1 \AA . Les autres paramètres ont été laissés à leurs valeurs par défaut [39]. A la fin des essais d'amarrage, diverses énergies de liaison des molécules ont été obtenues avec leurs conformations respectives; la conformation stable qui correspond à l'énergie de liaison la plus basse a été choisie comme meilleure pose et a été utilisée dans l'analyse d'amarrage [40].

Les résultats d'amarrage moléculaire suggèrent que les quatre dérivés interagissent avec la BSA par la formation d'au moins une liaison hydrogène. La distance de ces liaisons avec leurs énergies correspondantes sont résumées dans le tableau IV.8.

Tableau IV. 8. Longueur et énergie des liaisons hydrogène formées entre les molécules H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-H et H₂L-NO₂ et les acides aminés de la BSA

Adduits	Liaisons	Longueurs (Å)	Energies (Kcal)
H ₂ L-Br-BSA	Lys533-O	2.013	-5.883
H ₂ L-F-BSA	Lys350-O	2.444	-4.965
H ₂ L-H-BSA	Arg144-N	2.594	-5.326
H ₂ L-NO ₂ -BSA	Lys533-O	2.083	-4.932
	Val497-HO	2.154	-3.362

Les composés H₂L-Br, H₂L-F et H₂L-H ont formé une seule liaison hydrogène entre les résidus d'acides aminés Lys-533, Lys350 et Arg144 respectivement. En outre, le composé H₂L-NO₂ a formé deux liaisons liaison hydrogène entre les résidus Lys-533 et Val-497. La vue de surface des conformations ancrées des ligands obtenues à partir de l'analyse d'amarrage des adduits a montré que tous les molécules étudiées sont placés dans le petit sillon de la structure de BSA (figure IV. 28).

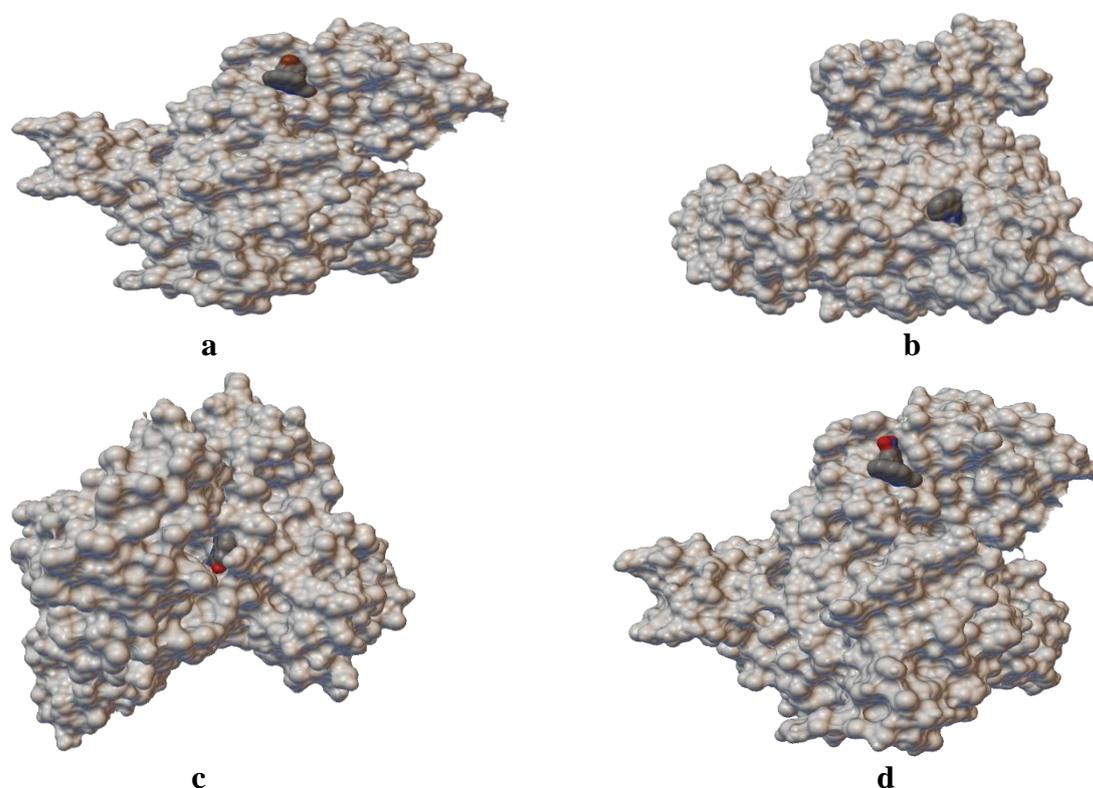


Figure IV. 28. Poses d'amarrage de H₂L-Br (a), H₂L-F (b), H₂L-H (c) et H₂L-NO₂ (d) illustrant la liaison de tous les composés avec la BSA

L'énergie libre de liaison de la structure ancrée des composés H₂L-Br, H₂L-F, H₂L-H et H₂L-NO₂ avec la BSA s'est avérée être de -26.84, -21.57, -27.46 et -23.37KJ/mol respectivement. Les valeurs de l'énergie calculées indiquent une affinité de liaison élevée entre la BSA et les molécules étudiées (Tableau IV. 9).

Tableau IV. 9. Valeurs d'énergie libre de liaison et des constantes des liaisons des complexes H₂L-Br-BSA, H₂L-F-BSA, H₂L-H-BSA et H₂L-NO₂-BSA obtenues par Docking moléculaire.

Adduits	H ₂ L-Br-BSA	H ₂ L-F-BSA	H ₂ L-H-BSA	H ₂ L-NO ₂ -BSA
-ΔG (KJ mol⁻¹)	26.84	21.57	27.46	23.37
K(L.mol⁻¹)	5.03 × 10 ⁴	6 × 10 ³	6.46 × 10 ⁴	1.24 × 10 ⁴

Ces résultats sont étayés par les expériences de la spectroscopie d'absorption et de la voltampérométrie cyclique. Dans l'ensemble, les résultats de l'amarrage moléculaire sont en bon accord avec les données obtenues par les essais expérimentaux.

En conclusion, ces résultats fourniront des données précieuses pour promouvoir le développement des sciences biologiques et pharmacologiques, et constitueront des bases solides pour la poursuite des recherches sur l'interaction entre les petites molécules et les macromolécules.

Références bibliographiques

- [1] J.A. Glasel, Validity of nucleic acid purities monitored by 260nm/280nm absorbance ratios, *Biotechniques*. 18 (1995) 62–63.
- [2] M.E. Reichmann, S.A. Rice, C.A. Thomas, P. Doty, A further examination of the molecular weight and size of desoxypentose nucleic acid, *Journal of the American Chemical Society*. 76 (1954) 3047–3053.
- [3] S.I. Farooqi, N. Arshad, P.A. Channar, F. Perveen, A. Saeed, F.A. Larik, A. Javeed, Synthesis, theoretical, spectroscopic and electrochemical DNA binding investigations of 1, 3, 4-thiadiazole derivatives of ibuprofen and ciprofloxacin: cancer cell line studies, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 189 (2018) 104–118.
- [4] M. Aslanoğlu, N. Öge, Voltammetric, UV absorption and viscometric studies of the interaction of norepinephrine with DNA, *Turkish Journal of Chemistry*. 29 (2005) 477–485.
- [5] T. Lanez, H. Benaïcha, E. Lanez, M. Saidi, Electrochemical, spectroscopic and molecular docking studies of 4-methyl-5-((phenylimino) methyl)-3H-and 5-(4-fluorophenyl)-3H-1, 2-dithiole-3-thione interacting with DNA, *Journal of Sulfur Chemistry*. 39 (2018) 76–88.
- [6] D.-D. Li, F.-P. Huang, G.-J. Chen, C.-Y. Gao, J.-L. Tian, W. Gu, X. Liu, S.-P. Yan, Four new copper (II) complexes with 1, 3-tpbd ligand: Synthesis, crystal structures, magnetism, oxidative and hydrolytic cleavage of pBR322 DNA, *Journal of Inorganic Biochemistry*. 104 (2010) 431–441.
- [7] L.Z. Zhang, G.-Q. Tang, The binding properties of photosensitizer methylene blue to herring sperm DNA: a spectroscopic study, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 74 (2004) 119–125.
- [8] G.-J. Yang, J.-J. Xu, H.-Y. Chen, Z.-Z. Leng, Studies on the interaction between rutin and DNA in the absence and presence of β -cyclodextrin by electrochemical and spectroscopic methods, *Chinese Journal of Chemistry*. 22 (2004) 1325–1329.

- [9] J.-H. Shi, D.-Q. Pan, K.-L. Zhou, Y.-Y. Lou, Exploring the binding interaction between herring sperm DNA and sunitinib: insights from spectroscopic and molecular docking approaches, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 37 (2019) 837–845.
- [10] Q. Feng, N.-Q. Li, Y.-Y. Jiang, Electrochemical studies of porphyrin interacting with DNA and determination of DNA, *Analytica Chimica Acta*. 344 (1997) 97–104.
- [11] N. Arshad, S.I. Farooqi, F. Perveen, P.A. Channar, A. Saeed, A. Javed, T. Hökelek, U. Flörke, Structure and Surface Analysis of Ibuprofen-Organotin Conjugate: Potential Anti-Cancer Drug Candidacy of the Compound is Proven by In-Vitro DNA Binding and Cytotoxicity Studies, Available at SSRN 3686524. (n.d.).
- [12] X. Lu, K. Zhu, M. Zhang, H. Liu, J. Kang, Voltammetric studies of the interaction of transition-metal complexes with DNA, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 52 (2002) 189–200.
- [13] M. Aslanoglu, Electrochemical and spectroscopic studies of the interaction of proflavine with DNA, *Analytical Sciences*. 22 (2006) 439–443.
- [14] N. Li, Y. Ma, C. Yang, L. Guo, X. Yang, Interaction of anticancer drug mitoxantrone with DNA analyzed by electrochemical and spectroscopic methods, *Biophysical Chemistry*. 116 (2005) 199–205.
- [15] M. Aslanoglu, G. Ayne, Voltammetric studies of the interaction of quinacrine with DNA, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 380 (2004) 658–663.
- [16] T.W. Welch, H.H. Thorp, Distribution of metal complexes bound to DNA determined by normal pulse voltammetry, *The Journal of Physical Chemistry*. 100 (1996) 13829–13836.
- [17] A. Shah, Redox Behavior and DNA Binding Studies of Some Electroactive Compounds, PhD Thesis, Quaid-i-Azam University Islamabad, 2010.
- [18] A. Subastri, C.H. Ramamurthy, A. Suyavaran, R. Mareeswaran, P.L. Rao, M. Harikrishna, M.S. Kumar, V. Sujatha, C. Thirunavukkarasu, Spectroscopic and

- molecular docking studies on the interaction of troxerutin with DNA, *International Journal of Biological Macromolecules*. 78 (2015) 122–129.
- [19] P. Ghorai, R. Saha, S. Bhuiya, S. Das, P. Brandão, D. Ghosh, T. Bhaumik, P. Bandyopadhyay, D. Chattopadhyay, A. Saha, Syntheses of Zn (II) and Cu (II) Schiff base complexes using N, O donor Schiff base ligand: crystal structure, DNA binding, DNA cleavage, docking and DFT study, *Polyhedron*. 141 (2018) 153–163.
- [20] F. Perveen, R. Qureshi, F.L. Ansari, S. Kalsoom, S. Ahmed, Investigations of drug–DNA interactions using molecular docking, cyclic voltammetry and UV–Vis spectroscopy, *Journal of Molecular Structure*. 1004 (2011) 67–73.
- [21] A.Y. Lau, O.D. Schärer, L. Samson, G.L. Verdine, T. Ellenberger, Crystal structure of a human alkylbase-DNA repair enzyme complexed to DNA: mechanisms for nucleotide flipping and base excision, *Cell*. 95 (1998) 249–258
- [22] N. Shahabadi, S.M. Fili, F. Kheiridoosh, Study on the interaction of the drug mesalamine with calf thymus DNA using molecular docking and spectroscopic techniques, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 128 (2013) 20–26.
- [23] J. Yu, J.-Y. Liu, W.-M. Xiong, X.-Y. Zhang, Y. Zheng, Binding interaction of sodium benzoate food additive with bovine serum albumin: multi-spectroscopy and molecular docking studies, *BMC Chemistry*. 13 (2019) 95.
- [24] Q. Zhang, Y. Ni, Comparative studies on the interaction of nitrofurantoin antibiotics with bovine serum albumin, *Rsc Advances*. 7 (2017) 39833–39841.
- [25] L. Zhang, Q.-Y. Cai, Z.-X. Cai, Y. Fang, C.-S. Zheng, L.-L. Wang, S. Lin, D.-X. Chen, J. Peng, Interactions of bovine serum albumin with anti-cancer compounds using a Proteon XPR36 array biosensor and molecular docking, *Molecules*. 21 (2016) 1706.
- [26] T. Topală, A. Bodoki, L. Oprean, R. Oprean, Bovine serum albumin interactions with metal complexes, *Clujul Medical*. 87 (2014) 215.
- [27] P. Kalaivani, R. Prabhakaran, F. Dallemer, K. Natarajan, Photophysical properties and in vitro cytotoxicity studies of new Ru (II) carbonyl complexes and

- mixed geometrical Ru (II)–Ni (II) complex in HS-DNA/BSA protein and human lung (A549) and liver (HepG2) cells, *RSC Advances*. 4 (2014) 51850–51864.
- [28] M. Anjomshoa, S.J. Fatemi, M. Torkzadeh-Mahani, H. Hadadzadeh, DNA-and BSA-binding studies and anticancer activity against human breast cancer cells (MCF-7) of the zinc (II) complex coordinated by 5, 6-diphenyl-3-(2-pyridyl)-1, 2, 4-triazine, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 127 (2014) 511–520.
- [29] A. Sułkowska, Interaction of drugs with bovine and human serum albumin, *Journal of Molecular Structure*. 614 (2002) 227–232.
- [30] A.B. Khan, J.M. Khan, M.S. Ali, R.H. Khan, Interaction of amphiphilic drugs with human and bovine serum albumins, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 97 (2012) 119–124.
- [31] M. Anjomshoa, H. Hadadzadeh, S.J. Fatemi, M. Torkzadeh-Mahani, A mononuclear Ni (II) complex with 5, 6-diphenyl-3-(2-pyridyl)-1, 2, 4-triazine: DNA-and BSA-binding and anticancer activity against human breast carcinoma cells, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 136 (2015) 205–215.
- [32] N. Hui, X.-L. Niu, J.-Y. Han, W. Sun, K. Jiao, Voltammetric investigation on interaction of protein with chromotrope 2R and its analytical application, *Amino Acids*. 38 (2010) 711–719.
- [33] J. Wu, S.-Y. Bi, X.-Y. Sun, R. Zhao, J.-H. Wang, H.-F. Zhou, Study on the interaction of fisetholz with BSA/HSA by multi-spectroscopic, cyclic voltammetric, and molecular docking technique, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 37 (2019) 3496–3505.
- [34] C.-Q. Xiao, F.-L. Jiang, B. Zhou, R. Li, Y. Liu, Interaction between a cationic porphyrin and bovine serum albumin studied by surface plasmon resonance, fluorescence spectroscopy and cyclic voltammetry, *Photochemical & Photobiological Sciences*. 10 (2011) 1110–1117.

- [35] H. Benamara, T. Lanez, E. Lanez, BSA-binding studies of 2-and 4-ferrocenylbenzotrile: voltammetric, spectroscopic and molecular docking investigations, *Journal of Electrochemical Science and Engineering*. 10 (2020) 335–346.
- [36] J. Shi, D. Pan, M. Jiang, T.-T. Liu, Q. Wang, Binding interaction of ramipril with bovine serum albumin (BSA): insights from multi-spectroscopy and molecular docking methods, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 164 (2016) 103–111.
- [37] F.-F. Tian, F.-L. Jiang, X.-L. Han, C. Xiang, Y.-S. Ge, J.-H. Li, Y. Zhang, R. Li, X.-L. Ding, Y. Liu, Synthesis of a novel hydrazone derivative and biophysical studies of its interactions with bovine serum albumin by spectroscopic, electrochemical, and molecular docking methods, *The Journal of Physical Chemistry B*. 114 (2010) 14842–14853.
- [38] A. Bujacz, Structures of bovine, equine and leporine serum albumin, *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*. 68 (2012) 1278–1289.
- [39] Y.-Y. Lou, K.-L. Zhou, D.-Q. Pan, J.-L. Shen, J.-H. Shi, Spectroscopic and molecular docking approaches for investigating conformation and binding characteristics of clonazepam with bovine serum albumin (BSA), *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 167 (2017) 158–167.
- [40] G.-F. Shen, T.-T. Liu, Q. Wang, M. Jiang, J.-H. Shi, Spectroscopic and molecular docking studies of binding interaction of gefitinib, lapatinib and sunitinib with bovine serum albumin (BSA), *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 153 (2015) 380–390.

Conclusion générale

Conclusion générale

Conformément à ce que nous avons fixé comme objectifs à réaliser, ce travail nous a conduit à valoriser l'activité biologique des bases de Schiff dérivées quinoléique nommées

- ✚ (1Z)-2-oxo-N'-phényl-N-quinoléine-8-ylpropanehydrazonamide (**H₂L-H**).
- ✚ (1Z)-N'-(4-bromophényl)-2-oxo-N-quinoléine-8-ylpropanehydrazonamide (**H₂L-Br**).
- ✚ (Z)-N'-(4-fluorophényl)-2-oxo-N-quinoléine-8-ylpropanehydrazonamide (**H₂L-F**).
- ✚ (Z)-N'-(4-nitrophenyl)-2-oxo-N-quinoléine-8-ylpropanehydrazonamide (**H₂L-NO₂**).

Ces composés ne présentent pratiquement aucune toxicité.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des molécules a été réalisée par trois techniques chimiques classiques: le piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium et la capacité antioxydante totale (CAT), et par voie électrochimique, la voltampérométrie cyclique (CV).

Les résultats obtenus par les techniques chimiques révèlent clairement que tous les composés testés sont des puissants agents piégeurs des radicaux libres et qu'ils exercent un effet antioxydant supérieur à celle du standard, l'acide ascorbique.

La voltampérométrie cyclique montre que les quatre dérivés exhibent un excellent effet de piégeage de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$, ceci est traduit par des valeurs élevées des constantes de liaison (k_b) et des valeurs négatives des énergies libres ΔG° .

L'effet de différents produits sur la dénaturation thermique de l'albumine du sérum bovin (BSA) évalué *in vitro*, montre que tous les composés possèdent une activité antiinflammatoire comparable à celle du diclofenac, et que la présence d'halogènes (le brome et le fluore) présente un effet important dans le renforcement de l'activité antiinflammatoire.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des molécules testées à une concentration de 1.5µg/disque, révèle que tous les dérivés d'amino-quinoléine engendrent des niveaux d'efficacité moyens vis-à-vis des bactéries et des champignons testés.

Le potentiel hémolytique utilisé pour évaluer la biocompatibilité des quatre dérivés de la quinoléine, nous a permis de constater que ces composés ont un effet hémolytique très faible, avec un taux d'hémolyse qui ne dépasse pas les 27 % à une concentration de 2 mg/ml.

Une analyse de relation structure-activité et de prédiction de la similarité de nos composés avec les médicaments à travers le concept Drug-likeness et Drug-score, a été menée à bien en utilisant des logiciels spécialisés.

Les résultats de calcul obtenus montrent que tous les composés sont en accord avec la règle de cinq de Lipinski ce qui suggère qu'ils sont susceptibles d'être actifs par voie orale.

Le composé H₂L-F présente une bonne valeur de scores de médicament (DS) ce qui le rend, le composé optimal pour le développement de futurs médicaments prometteurs.

Les paramètres ω , E_{LUMO} , E_{HOMO} , η et A obtenus par la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) sont en très bon accord et se corrélient avec les valeurs des résultats expérimentaux.

Les résultats de l'étude d'interaction des composés avec l'ADN par spectroscopie UV-vis, voltampérométrie cyclique et par amarrage moléculaire suggèrent que:

- ✚ L'intercalation est le principal mode d'interaction
- ✚ Les valeurs des constantes de liaison k_b révèlent que ces composés ont une affinité de liaison forte pour l'ADN.
- ✚ Le signe négatif de l'énergie de liaison ΔG met en évidence la spontanéité de l'interaction des quatre molécules avec l'ADN.
- ✚ Les valeurs élevées de k_b et ΔG des dérivés étudiés suggèrent leur candidature comme des potentiels agents anticancéreux

✚ Les faibles valeurs de taille de site de liaison s impliquent qu'environ deux molécules du dérivé H₂L-R couvrent une paire de bases lorsqu'elles s'intercalent dans l'ADN.

Les résultats des deux méthodes expérimentales se convergent et se confirment par les résultats de l'amarrage moléculaire.

Les résultats de l'étude de l'interaction des quatre composés avec la BSA par spectroscopie UV-vis montrent que les quatre molécules étudiées possèdent une grande affinité pour la BSA, ils interagissent avec cette protéine en modifiant également la polarité du microenvironnement autour des résidus de tyrosine et de tryptophane de la BSA.

L'interaction des molécules: H₂L-H, H₂L-F, H₂L-Br et H₂L-NO₂ avec la BSA effectuée par voltampérométrie cyclique (VC) révèle la dominance de l'interaction électrostatique entre la BSA et ces molécules.

Les trois méthodes se confirment l'une avec l'autre.

Enfin, afin de poursuivre notre chemin de recherche, ce travail offre des perspectives diverses, dont:

- ✚ Synthèse de nouvelles molécules de même catégorie.
- ✚ Elargissement du panel des tests d'activité biologiques par l'utilisation d'autres méthodes d'évaluation in vitro et in vivo.
- ✚ Elargissement de l'étude de la cytotoxicité de ces molécules plus d'informations pharmaceutiques.
- ✚ La poursuite des investigations en modélisation moléculaires.
- ✚ L'utilisation d'autres techniques telle que le dichroïsme circulaire, la dénaturation thermique, les mesures de viscosité qui permettront de calculer d'autres paramètres qui peuvent préciser aux mieux le type d'interaction entre ces molécules et les deux macromolécules; l'ADN et la BSA.

ملخص

استهدف هذا العمل تحضير و استغلال أربع مشتقات من الكينولين. و قد تم من جهة، تقييم الفعالية المضادة للأكسدة لهذه المركبات و فعاليتها المضادة للالتهابات ، و نشاطها المضاد للبكتيريا و الفطريات و كذا نشاطها الانحلالي. من جهة أخرى، تم دراسة تداخل هذه المركبات مع الحمض النووي و زلال المصل البقري، بطريقة كهروكيميائية و طيفية. كما تم استعمال برامج خاصة لدراسة إمكانية صلاحية مشتقات الكينولين المحضرة، لان تكون أدوية، و خضعت من جهة ثانية لدراسات نظرية، بغية معرفة مدى فعاليتها الكيميائية، وإنشاء علاقة توافق بين البنى الجزيئية و الفعالية البيولوجية. النتائج التي تم الحصول عليها مشجعة و واعدة، و بينت أن هذه الجزيئات نشطة بيولوجياً، ويمكن استخدامها لاحقاً في تطبيقات أخرى.

الكلمات المفتاحية : مشتقات الكينولين، مضادة الأكسدة، مضادة الالتهاب ، مضاد البكتيريا و الفطريات، الحمض النووي، زلال المصل البقري.

Abstract

This work focused on the preparation and the valorization of four quinoline derivative Schiff bases. First, we evaluated *in vitro* their antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial and antihemolytic properties. The interaction between the H₂L-R quinoline derivatives and deoxyribonucleic acid (DNA) and bovine serum albumin (BSA) was also studied by UV-vis and cyclic voltammetry. A QSAR structure-activity relationship analysis and prediction of the similarity of our compounds with drugs was performed using specialized software. A quantum study by DFT method is performed in order to know the properties of chemical reactivity and to establish a correlation between molecular structures and biological activity. The results obtained are very encouraging and show that these molecules are biologically active and can be used later in other applications.

Key words: quinoline derivative Schiff bases, antioxidants, anti-inflammatory, antimicrobial, antihemolytic, DNA, BSA.

Résumé

Ce travail a visé la préparation et la valorisation de quatre bases de Schiff dérivées quinoléique. Dans un premier temps, nous avons évalué *in vitro* leurs pouvoirs antioxydants, antiinflammatoires, antimicrobiens et antihémolytique. L'interaction entre les dérivés quinoléiques H₂L-R et l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'albumine du sérum bovin (BSA) a été également étudiée par UV-vis et voltampérométrie cyclique. Une analyse de relation structure-activité QSAR et de prédiction de la similarité de nos composés avec les médicaments a été menée à bien en utilisant des logiciels spécialisés. Une étude quantique par la méthode DFT est effectuée afin de connaître les propriétés de réactivité chimique et d'établir une corrélation entre les structures moléculaires et l'activité biologique. Les résultats obtenus sont très encourageants et montrent que ces molécules sont biologiquement actives et peuvent être utilisées ultérieurement dans d'autres applications.

Mots clés : bases de Schiff dérivées quinoléique, antioxydants, antiinflammatoires, antimicrobiens, antihémolytique, ADN, BSA.