

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 Pharmaceutique

Par

M^{me} TLIDJANE Hamida

THÈME

**Synthèse, propriétés spectroscopiques et étude théorique d'une
série de nouvelles molécules organophosphorées à effet
pharmaceutique**

Soutenue le/...../2022 devant le Jury:			
MERBAH-ELKOLLI Meriem	Professeur	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Présidente
CHAFAI Nadjib	MCA	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Directeur de thèse
HARKAT Hassina	Professeur	Univ. Hadj Lakhdar Batna 2	Examinatrice
SOBHI Widad	MCA	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Examinatrice
BELHOCINE Youghourta	MCA	Univ. 20 Aout 1955 Skikda	Examineur
CHAFAA Salah	Professeur	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Invité

Dédicace

Je dédie ce travail, tout d'abord, à mes parents qui m'ont beaucoup soutenue tout au long de mes études.

A mes frères et à mes sœurs.

A mon mari qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études.

A ma petite chère et adorable fille « Abrar » et à Houssam.

A toute ma famille, tous mes amis et mes collègues.

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail.

Hamida TLIDJANE

Remerciements

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

Cette thèse de doctorat a été réalisée au laboratoire d'Electrochimie des Matériaux Moléculaires et des Complexes (LEMMC) de l'université Farhat ABBAS Sétif-1 sous la direction du Dr. N. CHAFAI

Je tiens à remercier le Professeur CHAFAA Salah de m'avoir accueilli dans son laboratoire et d'avoir proposé ce sujet de thèse. L'intérêt qu'il a porté à mon travail et pour sa disponibilité et pour ces précieux conseils.

Je tiens tout particulièrement à exprimer mes remerciements au Dr .CHAFAI Nadjib pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'accordé m'ont permet de réaliser ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements au Pr. MERBAH-ELKOLLI Meriem, professeur à l'université Ferhat Abbas pour avoir accepté de présider ce jury.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements au Pr. HARKAT Hassina, professeur à l'université Hadj LAKHEDAR Batna 2 pour l'honneur qu'elle a fait en acceptant de contribuer à l'évaluation de mon travail de thèse.

J'exprime toute ma gratitude Dr. SOBHI Widad, maitres de conférences à l'université Ferhat Abbas Sétif-1, qui a accepté de participer à l'examination et l'enrichissement des travaux de thèse.

J'exprime mes vifs remerciements au Dr. TABTI salima, maitre de conférences à l'université El Bachir El Ibrahimy de Bordj Bou

Arréridj, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de faire partie du jury.

Nous remercions chaleureusement les ingénieurs de laboratoire M^{me} S. RECHIDI et M^{me} F. BOUDJEMAA pour la prise en charge des analyses physicochimiques.

Mes remerciements sont adressés également aux Dr. C. BENSUICI et Dr. A. DEPPI et Houđa du centre de recherche en biotechnologie (CRBT) de Constantine pour avoir m'aidé à la réalisation de l'étude biologique présentée dans ce travail.

Un grand merci à tous les chercheurs de notre laboratoire avec qui j'ai partagé paillasse, matériel, conseils techniques et discussions pendant des durées variables.

Je remercie toute ma famille pour leur soutiens durant ce la réalisation de ce travail.

Je remercie en fin, toute personne qui m'a aidé de près ou de loin.

...HAMIDA

SOMMAIRE

SOMMAIRE	I
LISTE DES FIGURES	V
LISTE DES SCHEMAS	IX
LISTE DES TABLEAUX	X
LISTE DES ABREVIATIONS	XII
INTRODUCTION GENERALE	01
CHAPITRE I : Etude Bibliographique	
I.1. Introduction	7
I.2. Le rayonnement électromagnétique	7
I.3. Générateurs des micro-ondes	8
I.4. Effet thermique des micro-ondes	8
I.5. Appareillage	10
I.5.1. Les réacteurs monomodes	10
I.5.2. Les réacteurs multi-modes	10
I.6. Utilisation des micro-ondes dans la synthèse organique	10
I.7. Comparaison entre l'irradiation par micro-ondes et le chauffage classique	11
I.8. Interaction champ électrique-matière	11
I.8.1. Réactions en présence du solvant	12
I.8.2. Les réactions sans solvant	12
I.9. Limitations	13
I.10. Composés organophosphorés	13
I.10.1. Les phosphonates	14
I.10.1.1. Les dérivés des phosphonates	14

I.10.3. Les α -aminophosphonates et les acides α -aminophosphoniques	15
I.10.4. Synthèse des α -aminophosphonates	16
I.10.4.1. La condensation de type Mannich	16
I.10.4.2. La réaction de Pudovick	17
I.10.4.3. Réaction de Kabachnik-Fields	13
I.10.4.4. Réaction de Mitsunobu	19
I.10.4.5. Autre réactions	19
I.11. Domaines d'applications des phosphonates	25
I.11.1. Dans la biologie et la médecine	25
I.11.2. Dans l'agriculture	27
I.11.3. Dans la corrosion	28
I.11.4. Industrie	30
I.11. Conclusion	31
Références bibliographique	32
CHAPITRE II : Matériel et méthodes	
II.1. Introduction	36
II.2. Méthodes de caractérisation physicochimiques et spectrales	36
II.2.1. Chromatographie sur coche mince CCM	36
II.2.2. Mesure de la température de fusion	36
II.2.3. Caractérisation spectroscopique	37
II.2.3.1 Spectrophotométrie UV-Visible	37
II.2.3.2. La spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier	39
II.2.3.3. Résonance magnétique nucléaire (RMN)	40
II.3. Méthodes d'évaluation des activités biologiques	40
II.3.1. Réactifs et solvants	40
II.3.2. Activité antioxydante	41

II.3.2.1. Méthode de DPPH	41
II.3.2.2. Méthode d'ABTS scavenging	42
II.3.2.3. La méthode de Phenantroline	43
II.3.3. Activité antifongique	43
II.3.3.1. Choix des souches fongiques étudiées	44
II.3.3.2. Préparation du milieu de culture	44
II.3. 3.3. Préparation des produits et autoclavage de milieu de culture	45
II.3.3.4. Dépôt des disques	45
II.3.3.5. Incubation et lecture	46
Références bibliographique	47

CHAPITRE III : Synthèse et caractérisation

III.1. Introduction	51
III.2. Les réactifs utilisés	51
III.3. Protocol de synthèse des acides synthétisé	52
III.4. Mécanisme réactionnel	53
III.5. Rendements de synthèse sous irradiations micro-onde	54
III.6. Caractérisation des acides α -aminophosphoniques synthétisés	56
III.6.1. Propriétés physicochimiques	56
III.6.1.1. Aspect et couleur	56
III.6.1.2. Solubilité	56
III.6.1.3. Point de fusion	56
III.6.1.4. Autres propriétés physico-chimiques calculées par ChemSketch	57
III.6.2. Caractérisation par CCM	59
III.6.3. Caractérisation spectrale	59
III.6.3.1. Caractérisations par spectroscopie UV-Vis	59

III.6.3.2. Caractérisations par spectroscopie IR-TF	63
III.6.3.3. Caractérisation par spectroscopies RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P	66
III.7. Conclusion	75
Références bibliographiques	76

CHAPITRE IV : Les activités biologiques des α -aminophosphonates

IV.1. Introduction	80
IV.2. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante	80
IV.2.1. Activité de piégeage du radical libre DPPH	80
IV.2.1.1. Détermination d' IC_{50}	83
IV.2.2. Activité de piégeage du radical ABTS	83
IV.2.2. 1. Détermination d' IC_{50}	85
IV.2.3. Test de Phenantroline	86
V.2.3.1. Détermination de l' $\text{A}_{0,5}$	87
IV.3. Evaluation de l'activité antifongique	89
IV.4. Conclusion	93
Références bibliographique	94

CHAPITRE V : Modélisation moléculaire

IV.1. Introduction	96
IV.2. Les calculs de chimie quantique	96
IV.2.1. Théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)	96
V.2.2. Structures moléculaires optimisées des molécules synthétisées	96
V.2.3. Orbitales moléculaires HOMO et LUMO	97
V.2.4. Les charges atomiques de Mulliken	100
V.2.5. Contours du potentiel électrostatique (ESP)	102
V.2.6. Données structurales des géométries optimisées des acides synthétisés	103

V.3. Evaluation <i>in silico</i> de l'activité inhibitrice des molécules synthétisées vis-à-vis la protéase principale du SARS-CoV-2	107
V.4. Etude ADME des molécules synthétisées	113
V.4.1. Radar de la biodisponibilité	113
V.4.2. Analyse des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et Drug-like	115
V.4. Conclusion	117
Références bibliographique	119
Conclusion générale	122

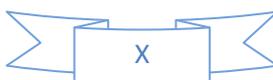
LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Représentation d'une onde électromagnétique.....	6
Figure I.2 : Spectre électromagnétique.....	7
Figure I.3 : Comportement des dipôles vis-à-vis du champ électrique.....	8
Figure I.4 : structure générale des phosphonates.....	13
Figure I.5 : Structure chimique de l'acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP).....	14
Figure I.6 : Structures des phosphosphingolipides (a) et les phosphoglycerides (b)....	15
Figure I.7 : Structure de l'acide phosphonique naturelle (-)-1-amino-2-(4-hydroxy-phenyl)ethylphosphonique.....	15
Figure I.8 : Similitude entre les acides α -aminophosphoniques et les acides α -aminés.....	15
Figure I.9: Structure générale des α -aminophosphonates.....	16
Figure I.10: Structures chimiques des anti-inflammatoires contenant le motif phosphonates.....	24
Figure I.11 : Structure de bisphosphonates.....	25
Figure I.12 : Structures chimiques des bisphosphonates utilisés dans le traitement l'ostéoporose.....	25
Figure I.13 : Structure chimique du nucléoside 5- phosphonate.....	26
Figure I.14 : Structures chimiques des pesticides à base des aminophosphonates.....	27
Figure I.15 : Structure d'aminophosphonates cycliques et acycliques utilisés comme herbicides.....	27
Figure I.16 : Structure de l'acide polyéthylèneimineméthylène phosphonique.....	28
Figure I.17 : Structure chimique de l'inhibiteur 4-(2{[ethoxy(hydroxy)phosphonyl] (3-nitrophenyl) methyl} hydrazinyl) benzoïque.....	29
Figure I.18 : Structure chimique de l'inhibiteur (α -ADP).....	29
Figure II.1 : les niveaux d'énergie et les transitions.....	39
Figure II.2 : le spectre électromagnétique avec les longueurs d'onde.....	41
Figure II.3 : Aspect de deux souches fongiques à droite : <i>A.alternata</i> , à gauche : <i>F.oxysporum</i>	45

Figure II.4 : représentation photographique du différent étape du protocole expérimentale de l'activité anti fongique.....	46
Figure III.1 : Séquence réactionnel de synthèse de l'acide 5N2TPA.....	52
Figure III.2 : Séquence réactionnel de synthèse de l'acide 5N3TPA.....	53
Figure III.3 : Séquence réactionnel de synthèse de l'acid4M3TPA.....	53
Figure III.4 : Séquence réactionnel de synthèse de l'acide 5M3TPA.....	54
Figure III.5 : Mécanisme réactionnel proposé.....	54
Figure III.6 : Représentation photographique de l'aspect des produits synthétisés.....	56
Figure III.7 : Spectres UV-Vis de l'acide 5N2TPA et de l'amine 2-amino-5-nitrophénol enregistrés danl'éthanol.....	61
Figure III.8 : Spectres UV-Vis de 5N3TPA et 2-amino-5-nitrophénol enregistrés dans l'éthanol.....	61
Figure III.9 : Spectres UV-Vis de 4M3TPA et 2-amino-4-méthylphénol enregistrés dans l'éthanol.....	62
Figure III.10 : Spectres UV-Vis de 5M3TPA et 2-amino -5-méthylphénol enregistrés dans l'éthanol.....	62
Figure III.11 : Spectres UV-Vis des quatre acides α -aminophosphoniques synthétisés.....	63
Figure III.12 : Spectres IR de l'acide 5N2TPA et son produit de départ le 2-amino-5-nitrophénol.....	65
Figure III.13 : Spectres IR de l'acide 5N3TPA et de l'amine 2-amino-5-nitrophénol.....	65
Figure III.14 : Spectres IR de l'acide 4M3TPA et de l'amine 2-amino-4-méthylphénol....	66
Figure III.15 : Spectres de l'acide 5M3TPA et de l'amine 2-amino-5-méthylphénol.....	66
Figure III.16 : Spectres IR superposés des quatre produits synthétisés.....	67
Figure III.17 : Spectre RMN ^1H du solvant DMSO- d_6	69
Figure III.18 : Spectre RMN ^{13}C du solvant DMSO- d_6	69

Figure III.19 : Spectre RMN ^1H de la molécule 5N2TPA	70
Figure III.20 : Spectre RMN ^{13}C de la molécule 5N2TPA	70
Figure III.21 : Spectre RMN ^{31}P de la molécule 5N2TPA	71
Figure III.22 : Spectre RMN ^1H de la molécule 5N3TPA	72
Figure III.23 : Spectre RMN ^{13}C de la molécule 5N3TPA	72
Figure III.24 : Spectre RMN ^{31}P de la molécule 5N3TPA	73
Figure III.25 : Spectre RMN ^1H de la molécule 4M3TPA	74
Figure III.26 : Spectre RMN ^{13}C de la molécule 4M3TPA	74
Figure III.27 : Spectre RMN ^{31}P de la molécule 4M3TPA	75
Figure III.28 : Spectre RMN ^1H de la molécule 5M3TPA	76
Figure III.29 : Spectre RMN ^{13}C de la molécule 5M3TPA	76
Figure III.30 : Spectre RMN ^{31}P de la molécule 5M3TPA .	
Figure IV.1 : Représentation photographique de la réduction de radical DPPH en présence des acides α -aminophosphonique.....	81
Figure IV.2 : Variation de l'absorbance de DPPH en fonction des concentrations des molécules testées et celle des standards (BHT et BHA).....	81
Figure IV.3 : Activité anti-radicalaire (I%) des acides α -aminophosphonique et de standards (chaque valeur représente la moyenne des trois essais \pm SD).....	82
Figure IV.4 : Histogramme des valeurs de l'IC ₅₀ des molécules synthétisée et des standards.....	83
Figure IV.5 : Représentation photographique de la réduction de radical ABTS en présence des acides α -aminophosphonique.....	84
Figure IV.6 : Variation de l'absorbance d'ABTS en fonction des concentrations des molécules testées et celle des standards (BHT et BHA).....	84
Figure IV.7 : Activité anti-radicalaire des molécules synthétisés et des antioxydants standards vis-à-vis du radical ABTS.....	85

Figure IV.8: Histogramme des valeurs de l'IC ₅₀ des molécules synthétisée et des standards.....	86
Figure IV.9: Représentation photographique de test Phenantroline en présence des acides α -aminophosphonique.....	86
Figure IV.10: Variation de l'absorbance en fonction des concentrations des molécules testées et celle des standards (BHT et BHA).....	87
Figure IV.11: Histogramme des valeurs d'A _{0,5} des molécules synthétisée et des standards.....	88
Figure IV.12 : Représentation photographique des boites de pétrie et les différents diamètres de zone d'inhibition de C+, C- et des molécules testé contre deux souches fongiques (<i>F. oxysporum</i> et <i>A. Alternata</i>).....	91
Figure IV.13: Histogramme représente l'activité antifongique des quatre acides phosphonique testé avec (<i>F.oxysporum</i> et <i>A.alternata</i>).....	93
Figure V.1 : Les structures optimisées et les la distribution électronique dans les orbitales moléculaire (HOMO) et (LUMO) calculé par la méthode DFT avec la corrélation B3LYP et la base 6-31G (d, p) des acides synthétisées.....	97
Figure V.2 : Représentation 3D des orbitales moléculaire (HOMO) et (LUMO) calculé par la méthode DFT avec la corrélation B3LYP et la base 6-31G (d, p) des quatre acides synthétisées.....	98
Figure V.3 : Les Charges de Mulliken calculé par DFT à la base 6-31 G (d, p).....	102
Figure V.4 : Les cartographies 2D des contours du ESP des molécules étudiées : (a) 5N2TPA, (b) 5N3TPA, (c) 4M3TPA et (d) 5M3TPA	103
Figure V.5 : les meilleures poses visualisées du acides α -aminophosphonique avec SARS-CoV-2 main protéase: (a) 5N2T, (b) 5N3T, (c) 4M3T and (d) 5M3T.....	108
Figure V.6 : a gauche: représentation 3D des diagramme des interactions des inhibiteurs étudié avec SARS-CoV-2 main protéase (a) 5N2T, (b) 5N3T, (c) 4M3T and (d) 5M3T. À droite: les sites d'interactions intérieur.....	109
Figure V.7 : diagramme des interactions 2D des inhibiteurs étudié avec SARS-CoV-2 main protéase (a) 5N2T, (b) 5N3T, (c) 4M3T and (d) 5M3T.....	111
Figure V.8: Radars de biodisponibilité des composés étudiés obtenus par Swiss.....	114



LISTE DES SCHEMAS

Schéma I.1 : La réaction de Moedritzer et Irani	16
Schéma I.2 : Réaction de Pudovick catalysée par CdI_2	17
Schéma I.3 : Réaction de Kabachnik-Fields	17
Schéma I.4 : Mécanismes proposé pour la réaction de <i>Kabachnik-Fields</i>	18
Schéma I.5 : La réaction de Mitsunobu	19
Schéma I.6 : Synthèse de l'analogue de l'acide aminé phenylalanine par Kosolappof et al.....	19
Schéma I.7 : Synthèse d'une nouvelle série d' α -aminophosphonates en présence de tetramethylguanidine selon M.V. Narayana Reddy et al.....	20
Schéma I.8 : Synthèse one-pot d'anilinobenzylphosphonates.....	20
Schéma I.9 : Synthèse d'un diéthylester selon [65].....	21
Schéma I.10 : Synthèse des α -aminophosphonates assistée par la micro-onde.....	22
Schéma I.11 : Synthèse des α -aminophosphonates selon Daamiche et al.....	23
Schéma I.12 : Méthode de synthèse des α -aminophosphonates developée par Boughaba et al en présence du $\text{H}_6\text{P}_2\text{W}_{18}\text{O}_6 \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ comme catalyseur.....	23
Schéma I.13 : Synthèse des α -aminophosphonates à effet antimicrobien et antioxydant selon Alahari Janarhan Rao et al.....	24
Schéma I.14 : Synthèse des esters phosphonamidates (inhibiteurs de l'HIV-protéase).....	26
Schéma III.1 : Séquence réactionnel de synthèse de l'acide 5N2TPA.....	53
Schéma III.2 : Séquence réactionnel de synthèse de l'acide 5N3TPA.....	54
Schéma III.3 : Séquence réactionnel de synthèse de l'acide 4M3TPA.....	54
Schéma III.4 : Séquence réactionnel de synthèse de l'acide 5M3TPA.....	55
Schéma III.5 : Mécanisme réactionnel proposé.....	55
Schémas IV.1 : Réaction du DPPH Avec un antioxydant.....	81
Schéma IV.2 : la structure chimique de la molécule ABTS.....	84

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1: Phénomène de sur-ébullition de certains solvants.....	11
TableauxII.1: Les trois bandes d'ultraviolet avec leurs longueurs d'ondes correspondantes	38
Tableau II.2 : les types de transitions des énergies dans chaque région dans le spectre électromagnétique.....	39
Tableau III.1 : Propriétés physicochimiques des réactifs utilisés.....	50
Tableau III.2 : Rendements et temps de synthèse des α -aminophosphonates (5N2TPA, 5N3TPA, 4M3TPA et 5M3TPA) sous irradiations micro-onde.....	55
Tableau III.3 : l'aspect et couleur des composé synthétisées.....	56
Tableau III.4 : test de solubilité des quatre acides synthétisé dans quelque solvant.....	57
Tableau III.5 : La température de fusion de produits de départ et synthétisées.....	58
Tableau III.6 : Quelque propriété physicochimique théorique de quatre acides étudiés donnée par le logiciel ChemSketch.....	58
Tableau III.7 : Les rapports frontaux des molécules synthétisé (5N2TPA, 5N3TPA, 4M3TPA et 5M3TPA).....	60
Tableau III.8 : Les longueurs d'onde maximale des produits étudiés.....	61
Tableau III.9 : Fréquences vibrationnelles des pics caractéristiques des principaux groupements fonctionnels des produits synthétisés.....	61
Tableau IV.1 : Valeurs d'IC ₅₀ et d'A _{0.5} des molécules synthétisées obtenues par les trois méthodes : DPPH, ABTS ⁺ et Phenantroline.....	88
Tableau IV.2 : Diamètre de zone d'inhibions en (mm) des acides α -aminophosphonique testé contre <i>F. oxysporum</i> et <i>A. alternata</i>	91
Tableau IV.3 : Pourcentage d'inhibition (I%) à 100 μ g/ml des acides α -aminophosphoniques testés contre <i>F. oxysporum</i> et <i>A. alternata</i>	92
Tableau V.1 : Les paramètres de chimie quantique des molécules étudié.....	103

Tableau V.2 : Données de la structure géométrique optimisée de l'acide 5N2TPA.....	108
Tableau V.3 : Données de la structure géométrique optimisée de l'acide 5N3TPA.....	109
Tableau V.4 : Données de la structure géométrique optimisée de l'acide 4M3TPA.....	110
Tableau V.5 : Données de la structure géométrique optimisée de l'acide 5M3TPA.....	111
Tableau V.6 : les résultats de <i>Molecular docking</i> et les interactions des inhibiteurs avec SARS-CoV-2 main protéase.....	118
Tableau V.7 : distribution d'énergie des inhibiteurs étudiées entre les forces de van der Waals, liaisons hydrogène et les interactions électrostatique.....	119
Tableau V.8 : Les valeurs des axes de radar de la biodisponibilité des molécules étudiées.....	122
Tableau V.9 : Propriétés physicochimiques prédites des acides α -aminophosphoniques étudiés.....	123
Tableau V.10 : Prédiction pharmacocinétique et ressemblance à la drogue.....	123

LISTE DES ABREVIATIONS

CCM : chromatographie sur couche mince

DMSO-d₆: diméthylesulfoxyde deutér

MHz : mégahertz

AEP : aminoethanephosphonique

ADN : acide désoxyribonucléique

ADME : **A**bsorption, **D**istribution, **M**etabolism et **E**xcretion.

AFM : le microscope à force atomique

Ar : aromatique

ATR : réflexion totale atténuée

A. alternata: Alternaria alternata

BHT : hydroxytoluène butylé

BHA :butylhydroxytoluène

C- : contrôle négative

C+ : contrôle positive

°C : Degré Celsius

DFT : théorie de densité fonctionnelle

DPPH : 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle

ABTS : 2,2'-Azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-acide sulfonique)

d : doublet

ESP : potentiel électrostatique

GI : l'absorption gastro-intestinale

FMOs : Les orbitales moléculaires frontières

TPSA : topological polar surface area

M^{pro} : main protéase

PEIMA : polyethyleneiminemethylene phosphonique

MEB : la microscopie électronique à balayage

ROS : les espèces réactives oxygénées

RNS : les espèces réactives azotées

EtOH : éthanol

s : singulet

t : triplet

E_{HOMO} : Energie de la plus haute orbitale moléculaire occupée

E_{LUMO} : Energie de la plus basse orbitale moléculaire inoccupée.

Hz :Hertz

I% : Pourcentage d'inhibition

IC₅₀ : Concentration d'un antioxydant nécessaire pour neutraliser 50% du radical libre DPPH

m : Multiplet

nm : nanomètre.

ppm : Parti par million

IR : infrarouge

RMN ¹H : Résonance magnétique nucléaire d'hydrogène

RMN ¹³C : Résonance magnétique nucléaire de carbone

RMN ³¹P : Résonance magnétique nucléaire de phosphore

T_f : point de fusion

TMS : Tetraméthyle silane

UV-vis : Ultraviolet visible

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

λ_{max} : Longueurs d'onde

ν̄: Nombre d'onde

δ : Déplacement chimique

ΔE gap : Gap énergétique

η : Durté globale

μ : Moment dipolaire

σ : Déplacement chimique

S : Mollesse globale

χ : Électronégativité absolue

ω : Indice globale d'électrophilicité

5N2TPA: {[(2-hydroxy-4-nitrophenyl) amino] (thiophen-2-yl) methyl} phosphonic acid

5N3TPA: {[(2-hydroxy-4-nitrophenyl) amino] (thiophen-3-yl) methyl} phosphonic acid

4M3TPA: {[(2-hydroxy-5-methylphenyl) amino] (thiophen-3-yl) methyl} phosphonic acid

5M3TPA: {[(2-hydroxy-4-methylphenyl) amino] (thiophen-3-yl) methyl} phosphonic acid

Da : dalton

μg : microgramme

ml: millilitre

PDA: Potato Dextrose Agar

F . Oxysporum: Fusarium oxysporum

SD : standard déviation (l'écart type)

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

En 1946, l'ingénieur Percy Spencer, alors qu'il passait à proximité d'un magnétron en activité, il a également remarqué qu'une barre de chocolat qui était dans sa poche avait fondu, il a déduit que les micro-ondes pouvaient faire cuire ou réchauffer des aliments [1]. Après quelque mois, la société Raytheon breveta le procédé de cuisson par micro-onde et en 1947 elle construisit le premier four à micro-ondes qu'elle commercialisa, le Radrage. Il mesurait 1.8 mètre de haut pour un poids de 340 kilogrammes. Il était refroidit par un système à base d'eau, avait une puissance de 3000 watts et produisait trois fois plus de radiation parasite qu'un four à micro-ondes actuel [2].

En outre, la chimie assistée par micro-ondes a connu un essor considérable avec l'arrivée d'appareillages spécifiquement adaptés pour la synthèse. Ces nouveaux réacteurs favorisent une meilleure reproductibilité des réactions et permettent actuellement une production quasi-industrielle. Les radiations micro-ondes ont un effet avantageux sur des réactions qui nécessitent des températures élevées et les temps de réaction impliqués sont également plus courts que par la voie traditionnelle (chauffages par bain d'huile ou métallique) couronnent très souvent à des rendements supérieurs [3,4].

Depuis l'apparition des premiers articles concernant l'application des micro-ondes en synthèse organique [5] surtout les travaux de pionniers de Gedye [6] et Giguere [7] en 1986 qui ont montré la faisabilité de réaction en synthèse organique, cette technique a été utilisée pour de nombreuses et diverses réactions organiques, on dénombre plus de 2000 articles [8] cependant seules quelques dizaine d'article sont recensés dans le domaine de la chimie des composés organophosphorés.

En outre, la synthèse classique des composés organophosphorés comporte certains désavantages comme le long temps de réaction, pollution de l'environnement à cause de l'utilisation des solvants organiques, l'utilisation des catalyseurs coûteux, multiplicité des étapes... etc, qui nécessite l'exploitation d'autres méthodes vertes, économiques et environnementales.

Les premières réactions des α -aminophosphonate sous micro-ondes ont été rapportées en 1955, où ils ont synthétisé des acides phosphoniques via la réaction de Wittig [9]. Ensuite, certains auteurs ont rapporté la synthèse des phosphonates sous micro-ondes en utilisant des réactions de type Arbuzov [10-12].

Parmi les composés organophosphorés, les α -aminophosphonates qui ont attiré beaucoup d'attention en raison de leurs activités biologiques et pharmaceutiques importantes.

INTRODUCTION GENERALE

Ils sont structurellement comparables aux acides aminés [13], ce qui donne l'avantage à ces molécules d'agir comme des inhibiteurs de synthèse [14], HIV protéase [15], rénin [16], PTPases [17], et agents antiviraux [18,19]. Les α -aminophosphonates sont utilisés aussi en agriculture comme herbicides [20], fongicides [21] et régulateurs de croissance des plantes [22]. En outre, ces molécules se comportent en tant qu'agents chélateurs efficaces des métaux de transitions et lourds [23].

Récemment, la tendance des chercheurs a été orientée vers le développement de diverses méthodologies pour la synthèse des α -aminophosphonates en utilisant des catalyseurs comme FeCl_3 [24], $\text{TaCl}_5\text{-SiO}_2$ [25], InCl_3 [26], TiO_2 [27], acide sulfurique, Amberlite-IR 120 et les heteropolyacides...etc.

En raison de l'importance primordiale des α -aminophosphonates, les chercheurs de notre laboratoire (LEMMC) ont été orientées vers la synthèse de nouvelles dérivées phosphonates [28] et l'étude de leurs activités biologiques [29-31], leurs propriétés complexantes et leurs éventuelles application dans la lutte contre la corrosion [32-35].

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail vise d'une part à la synthèse d'une nouvelle série d'acides α -aminophosphoniques en utilisant une méthode verte et économique et l'évaluation de leur activité biologique, et d'autre part l'étude théorique des propriétés structurales et électroniques des composés synthétisés par la méthode DFT. En plus, nous avons intéressé au sujet actuel c'est le confinement de COVID-19. De ce fait, on a évalué l'activité inhibitrice des composés synthétisés vis-à-vis la protéase principale du SARS-CoV-2 en utilisant le Docking Moléculaire. En fin, on a introduit le calcul ADME (adsorption, distribution, métabolisme et excrétion) qu'est important pour estimer la pharmacodynamique des composés synthétisés, qui pourraient être des agents candidats dans les études de conception et de découverte de médicaments.

Le manuscrit de thèse est subdivisé en cinq chapitres :

Dans le premier chapitre, nous exposons un aperçu général sur les irradiations micro-ondes et leur utilisation dans la synthèse organique, ainsi sur les α -aminophosphonates, leurs méthodes de synthèse et leurs domaines d'applications.

Le second chapitre décrit les méthodes expérimentales utilisées dans la caractérisation physicochimique et structurale des acides α -aminophosphoniques synthétisés, ainsi que dans l'évaluation des activités biologiques des molécules obtenues.

Le troisième chapitre détaille la synthèse et la caractérisation physicochimique et structurale de quatre nouveaux acides α -aminophosphoniques synthétisés sous irradiations micro-ondes.

INTRODUCTION GENERALE

Le quatrième chapitre regroupe les résultats et la discussion des applications biologiques des molécules étudiées y compris l'activité antioxydante et l'activité antifongique.

Dans le dernier chapitre nous avons exposé les résultats et discussions des calculs de chimie quantique obtenus par la méthode DFT, les résultats du docking moléculaire de l'activité inhibitrice de la protéase principale du SARS-CoV-2, et les résultats des calculs ADME des molécules synthétisées.

Enfin, nous terminons notre thèse par une conclusion générale qui résumera l'ensemble des résultats obtenus et proposera quelques perspectives.

Références Bibliographiques

- [1] [https://www.le four à micro-onde sur industrie-thechno.com](https://www.le-four-a-micro-onde-sur-industrie-thechno.com) (2008).
- [2] [https://www.raytheon Technology leadership sur raytheon.com](https://www.raytheon.com) (2012).
- [3] C. O. Kappe , pour une revue récente, *Angew. Chem. Int Ed* 43 (2004) 6250-6284.
- [4] T. Besson, C. Brain, in “Hétérocyclic chemistry using microwaves assisted approaches CHAP 3” *Microwave Assisted Organic Synthesis*, Tiernay J. P Lidstrom. P. Eds. Blackwell Publishing (2005).
- [5] T. Morita, Y. Okamoto, H. Sakurai, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 54 (1981) 267-273.
- [6] R. Gedye, F. Smith , K. C. Westaway, H. Ali , L. Baldisera, L. Laberge, J. Roussel, *Tetrahedron Lett* 27(1986) 279.
- [7] R. Giguere, J. Bray, T. I. Duncan, S. M Majetich, G. *Tetrahedron Lett* 27 (1986) 4945.
- [8] M. Lecouvey, I. Mallard, T. Bailly, R. Burgada, Y. Leroux, *Tetrahedron letters* 42 (2001) 8475-8478.
- [9] E. Guénin, E. Deguache, J. Liquier, M. Lecouvey, *European journal of organic chemistry* 2004 2983-2987
- [10] E. Migianu, I. Mallard, N. Bouchemal, M. Lecouvey, *Tetrahedron Letters* 45 (2004) 4511-4513.
- [11] E. Migianu E. Guénin M. Lecouvey, *Synlett* 3 (2005) 425-428
- [12] R. Chiarizia, A. Herlinger, A. W. Horwitz, *Solvent extraction and ion exchange* 15 (1997) 417-431.
- [13] a) S. C. Fields, *Tetrahedron* 55 (1999) 12237. b) D. J. Redmore, *Org. Chem.* 43 (1978) 992.
- [14] J. A. Sikorski, M. J. Miller, D. S. Braccolino, D. G. Cleary, S. D. Corey, J. E. Ream, D. Schnur, A. Shah, M. C. Walker, *Phosphorus. Sulfur. Silicon* 76 (1993) 375.
- [15] B. Stowasser, K. H. Budt, L. Jain-Qi, A. Peyman, D. Ruppert, *Tetrahedron Lett.* 33 (1992) 6625.
- [16] D. V. Patel, K. Reilly-Gauvin, D. E. Ryono, *Tetrahedron Lett.* 31 (1990) 5587.

INTRODUCTION GENERALE

- [17] A. Bruke, T. R. Jr. George, C. Wolf, G. Shoelson, S. E. Yan, X. J. Med.Chem. Biophys. Res. Commun 38 (1995) 1386.
- [18] J. Liu, S. Yang, X. Li, H. Fun, P. Bhadury, W. Xu, J.Wu, Z. Wan, Molecules. 15 (2010) 5112-5123.
- [19] J. Huang, R. Chen, Heteroatom, Chem. 11 (2000) 480-492.
- [20] Allen, M.C. Fuher, W. Tuck, B. Wade, R. Wood, J. Med. Chem. 32 (1989) 1652.
- [21] Kafarski, P. Lejczak, B. Phosphorus Sulfur Silicon Rel. Elements 63 (1991)193.
- [22] N. Ohno, K. Fujimimoto, Y. Mizutani et al, A New Class of Pyrethroidal Insecticides Substituted Phenylacetic Acid Esters, Agric. Boil. Chem. 38 (1974) 881.
- [23] N. Aliouane et al, sulfur and silicon and the related elements. Vol. 186 (2010) 354-364.
- [24] Rezaei, Z. Frouzabadi, H. Irarpoor, N. Ghaderi, A. Jafari, M.R. Zare, HR. Design and one pot synthesis of α -aminophosphonates and bis (α -aminophosphonates) by iron(III) and cytotoxic activity, Eur. J. Med. Chem. 44 (2009) 4266-4275.
- [25] S. Chandrasekhar, S. J. Prakash, V. Jagadeshwar, Ch. Narsihmulu, Three components coupling catalyzed by TaCl₅-SiO₂: synthesis of aminophosphonates, Tetrahedron. Lett. 42 (2001) 5561.
- [26] B. C. Ranu, A. Hajra, U. Jana. General Procedure for the Synthesis of α -aminophosphonate from Aldehydes and Ketones Using Indium (III) Chloride as a Catalyst, Org. Lett. 1 (1999) 1141.
- [27] H. Sarvari, TiO₂ as a new and reusable catalyst for one-pot three-component syntheses of α -aminophosphonates in solvent-free conditions, Tetrahedron. 64 (2008) 5459-5466.
- [28] S. Chafaa, J. Meullemeeste, M. J. Schwing-weill, F. Vierling, W. Bohmer, W. Vogt (o-Hydroxyphenyl) Methylphosphonic acids: Synthesis and potentiometric determination of their pKa values, Helvetica. Chimica. Acta 76 (1993) 139-149.
- [29] A. Hellal, S. Chafaa, N. Chafai, Synthesis, characterization and computational studies of three α -amino-phosphonic acids derivatives from Meta, Ortho and Para aminophenol, J. Mol. Struct. 1103 (2016) 110-124.
- [30] M. Mehri, N. Chafai, L. Ouksel, K. Benbouguerra, A. Hellal, S. Chafaa, Synthesis, electrochemical and classical evaluation of the antioxidant activity of three α -

INTRODUCTION GENERALE

aminophosphonic acids: Experimental and theoretical investigation, J. Mol. Struct. 1171 (2018) 179-189.

[31] N. Chafai, S. Chafaa, K. Benbouguerra, A. Hellal, M. Mehri, Synthesis, spectral analysis, anti-corrosive activity and theoretical study of an aromatic hydrazone derivative, J. Mol. Struct. 1181 (2019) 83-92.

[32] N. Chafai, S. Chafaa, K. Benbouguerra, D. Daoud, A. Hellal, M. Mehri, Synthesis, characterization and the inhibition activity of a new α -aminophosphonic derivative on the corrosion of XC48 carbon steel in 0.5 M H₂SO₄: Experimental and theoretical studies, J. Taiwan Inst. Chem. Eng. 70 (2017) 331-344.

[33] M. Djenane, S. Chafaa, N. Chafai, R. Kerkour, A. Hellal, Synthesis, spectral properties and corrosion inhibition efficiency of new ethylhydrogen[(methoxyphenyl)(6ethyl amino)methyl]phosphonate derivatives: Experimental and theoretical investigation, J. Mol. Struct. 1175 (2018) 398-413.

[34] O. Moumeni, S. Chafaa, R. Kerkour, K. Benbouguerra, N. Chafai, Synthesis, structural and anticorrosion properties of diethyl(phenylamino)methyl phosphonate derivatives: Experimental and theoretical study, J. Mol. Struct. 1206 (2020) 127693.

[35] K. Benbouguerra, S. Chafaa, N. Chafai, M. Mehri, O. Moumeni, A. Hellal, Synthesis, spectroscopic characterization and a comparative study of the corrosion inhibitive efficiency of an α -aminophosphonate and Schiff base derivatives: Experimental and theoretical investigations, J. Mol. Struct. 1157 (2018) 165-176.

CHAPITRE I :

RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Introduction

Dans ce chapitre nous présentons, dans un premier temps des généralités sur la synthèse assistée par micro-ondes, comparaison entre le chauffage conventionnel et le chauffage par micro-ondes. En outre, en exposant les différentes méthodes de synthèse des phosphonates citées dans la littérature et leurs applications dans les différents domaines notamment médicale, industriel et agricole.

I.2. Le rayonnement électromagnétique

Une onde électromagnétique (Figure I.1) peut être assimilée à un flux de photons. Ces derniers se déplacent à la vitesse de lumière (C_0), cette onde est caractérisée par la distance qu'elle parcourt à chaque oscillation, c'est-à-dire sa longueur d'onde ou par sa fréquence, la relation entre la longueur d'onde et la fréquence est décrite par l'équation suivante :

$$\lambda = C_0 / f = 2\pi C_0 / \omega \quad (I.1)$$

λ (m) : Longueur d'onde

C_0 (m.s⁻¹) : Célérité de lumière

f (s⁻¹ ou Hz) : Fréquence

ω (rad.s⁻¹) : Pulsation

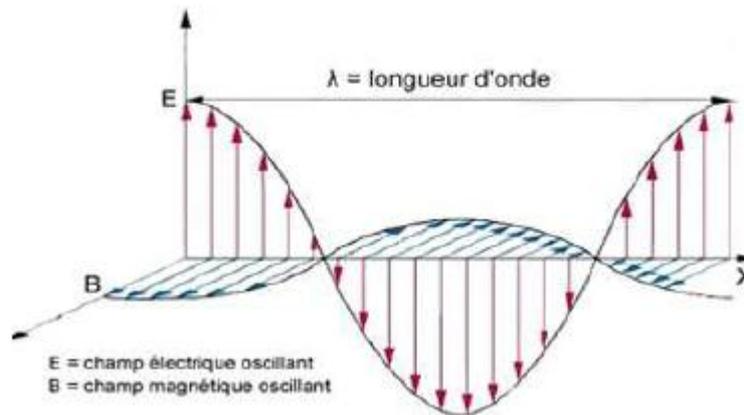


Figure I.1 : Représentation d'une onde électromagnétique.

Des règles d'utilisations par la législation internationale limitent l'emploi des gammes de fréquences, les principales bandes utilisables pour le chauffage micro-ondes sont centrées sur 28 GHz, 2.45 GHz, 915 MHz et 434 MHz (Figure I.2). La majorité des recherches sur le chauffage par micro-ondes sont réalisées à 2.45 ± 0.5 GHz soit une longueur d'onde λ de 12.2 cm [1].

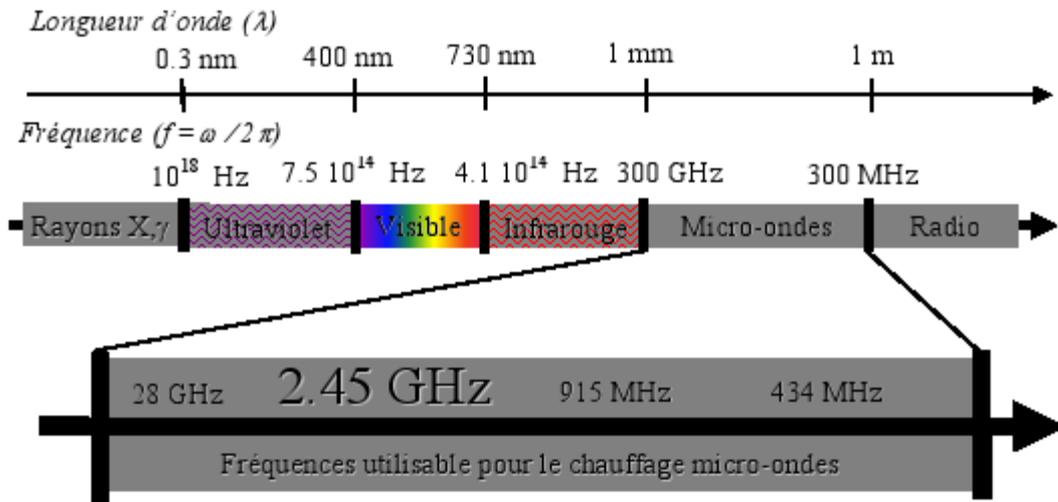


Figure I.2 : Spectre électromagnétique.

I.3. Générateurs des micro-ondes

Il existe de nombreux moyens de production des micro-ondes comme le magnétron, Klystron et Gyrotron, mais le magnétron est le plus utilisé dans le domaine des fours micro-ondes. En effet, l'utilisation des magnétrons est le plus pratique et de plus le cout d'achat et d'utilisation d'un magnétron est bien plus faible que celui des autres dispositifs.

Le magnétron se compose d'un cylindre creux, fermé par deux aimants permanents à l'intérieur du cylindre, on distingue la cathode, constitué d'un filament hélicoïdal en tungstène, de l'anode, qui comprend plusieurs cavités résonantes. Ces cavités peuvent présenter diverses formes. L'espace (quelque mm) entre la cathode et l'anode servant d'espace d'interaction, il y règne un vide très poussé.

I.4. Effet thermique des micro-ondes

L'effet thermique des micro-ondes résulte du phénomène de la polarisation des molécules. Cette polarisation est en fonction de deux mécanismes :

Le premier étant la polarisation des molécules par leurs moments dipolaires et le second par leur conduction ionique.

✓ **La polarisation :**

Si des molécules polaires sont soumises à un courant alternatif à haute fréquence, l'orientation de ces dipoles change à chaque alternance, par exemple à 2.45 GHz les dipoles changent d'orientation $2.45 \cdot 10^9$ fois par seconde (Figure I.3). Cette agitation provoque la friction des molécules et cause un échauffement interne qui peut être très intense ($10^\circ\text{C}/\text{sec}$)⁹.

La capacité de transformer l'énergie électromagnétique en énergie thermique repose sur la propriété diélectrique de chaque substance [2] cette capacité est caractérisée par le rapport :

$$\text{Tang } \delta = \varepsilon''/\varepsilon' \quad (1.2)$$

Ou :

ε'' : Coefficient de perte diélectrique.

ε' : Permittivité du milieu.

L'interaction des dipôles se produits avec les molécules polaires ces dernière ont la tendance de s'aligner et osciller en synchronisme avec les oscillations du champ électrique des micro-ondes. Collisions et frottement entre les molécules en mouvement provoquent le chauffage. Plus les molécules sont polaires plus l'interaction onde-matière est meilleure.

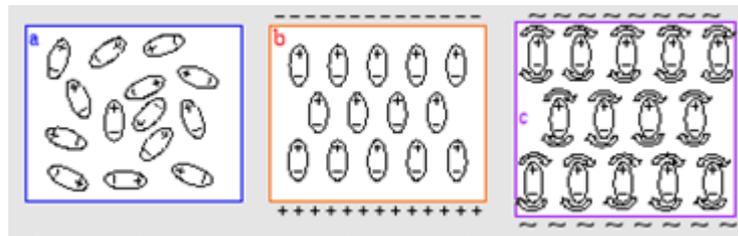


Figure I.3 : Comportement des dipôles vis-à-vis du champ électrique.

a : Sans champ électromagnétique, les dipôles s'orientent aléatoirement.

b : Avec un champ électromagnétique continue, les dipôles s'orientent dans le sens du champ.

c : Avec un champ électromagnétique alternatif, les dipôles changent d'orientation à chaque alternance du champ.

✓ **La conduction ionique**

La conduction ionique représente le deuxième mécanisme de transformation de l'énergie des micro-ondes en chaleur [3,4]. Les ions en solutions n'ont pas de moment dipolaire, ce sont des espèces chargées et peuvent coupler avec les oscillations du champ électrique de la micro-onde, ce mécanisme apparait lorsque le matériau contient des électrons de conduction libres, ce phénomène est essentiel lors du chauffage de certains métaux ou oxydes minéraux.

Donc, ce dégagement de chaleur fait intervenir un mécanisme propre à la gamme de fréquence considérée, les phénomènes de conduction, convection et rayonnement ne jouent qu'un rôle secondaire d'équilibre de température.

I.5. Appareillage

Le réacteur à micro-ondes est constitué d'un magnétron, d'un guide d'onde et d'une cavité [5] et les fours micro-ondes actuels sont classés en deux catégories :

I.5.1. Les réacteurs monomodes

Les ondes sont focalisées à l'aide du guide d'onde. La distribution du champ électrique est homogène.

Dans les produits à chauffer comme dans le guide. Ces réacteurs sont utilisés avec une moindre puissance émise (30-300 Watts), ainsi la stabilité thermique des produits est préservée, les rendements sont alors plus élevés [6,7-10].

I.5.2. Les réacteurs multi-modes

C'est le cas des fours micro-ondes domestique, la répartition du champ électrique sous forme d'énergie provient de la réflexion des ondes électromagnétiques sur les parois métalliques de la cavité. Une hétérogénéité de champ électrique apparait et le chauffage des produits n'est pas homogène.

Les fours dotés d'un plateau tournant permettent une meilleure homogénéité du chauffage. En général, les fours domestiques peuvent être utilisés pour la synthèse à l'échelle de laboratoire mais pour les applications industrielles ou des études cinétiques, des appareils spécifiques est généralement plus sophistiqués et très coûteux, sont très répondus.

I.6. Utilisation des micro-ondes dans la synthèse organique

Les micro-ondes ont été utilisées pour la première fois en 1986 dans le domaine de la synthèse organique, la synthèse assistée par micro-ondes est de plus en plus utilisée dans les stratégies de synthèse chimique modernes. Elle rencontre un intérêt croissant tout particulièrement en raison de sa grande efficacité et de son extrême rentabilité.

La technologie micro-ondes sera par la suite utilisée dans différents domaines comme l'analyse, la minéralisation, le séchage et le traitement des déchets.

I.7. Comparaison entre l'irradiation par micro-ondes et le chauffage classique.

Le chauffage traditionnel présente l'inconvénient d'être lent et inhomogène, seul la surface au contact de la source de chaleur (bain d'huile ou autre) est chauffée au départ, la chaleur se propage ensuite progressivement à l'ensemble de la solution. Ainsi des phénomènes de surchauffes (points chauds) peuvent se produire sur les parois du récipient conduisant à une dégradation des réactifs et ou des produits formés. Grace à l'utilisation d'un réacteur micro-ondes la solution est chauffée de façon homogène, au même moment dans tout le volume, sans surchauffe superficielle. Il a été montré dans de nombreuses études que

L'utilisation des micro-ondes permet d'améliorer considérablement les cinétiques de certaines réactions chimiques, les temps de réaction sont beaucoup plus courts et dans certain cas des rendements plus importants ont été observés et reportés [11-13], cette technique a donc été appliquée avec succès à de nombreuses réactions avec ou sans solvant [14].

Les interactions rayonnement électromagnétique-matière se traduisent par un échauffement des molécules polaires constituant le milieu réactionnel, ensuite cette chaleur se transmet à l'intégralité du milieu en réalisant un gradient de température allant de cœur du milieu vers les parois du réacteur. Les profils de montée en température traduisent l'intérêt qu'apporte l'utilisation des micro-ondes comparée au chauffage classique, ils permettent un chauffage nettement plus rapide [15].

I.8. Interaction champ électrique-matière

Au niveau microscopique, les entités dipolaires, ioniques et électroniques sont sensibles au champ électrique et réagissent en effectuant des mouvements (rotation, translation) limités par les forces de liaisons du milieu. Ces mécanismes conduisent à l'échauffement du matériau.

La propagation d'une onde électromagnétique dans un milieu peut conduire à un transfert d'énergie. Ainsi l'application d'un champ alternatif fait osciller ces charges qui peuvent suivant les fréquences du champ appliqué il y a alors un déphasage entre le champ d'excitation et la réponse. C'est ce déphasage qui va être à l'origine de l'absorption de l'énergie engendrant le chauffage.

Sous irradiation micro-ondes, les réactions chimiques peuvent être réalisées en présence ou en absence de solvant et dans des récipients ouverts ou fermés. Elles peuvent être effectuées aussi à reflux dans des fours domestiques modifiés ou dans des réacteurs monomodes adéquats [16,17].

I.8.1. Réactions en présence du solvant

De nombreux solvants atteignent, sous irradiation micro-ondes, des températures supérieures à leur point d'ébullition. Il s'agit du phénomène de sur-ébullition (Tableau I.1). Ce phénomène de sur-ébullition serait responsable de l'élévation des rendements de certaines réactions organiques [18].

Tableau I.1 : Phénomène de sur-ébullition de certains solvants.

Solvant	Conditions normales (°C)	Sous micro-ondes (°C)	Différence (°C)

Eau	100	105	5
Méthanol	65	84	19
Ethanol	78	103	25
Butanol	117	138	21
Pentanol	136	157	21
Acétonitrile	82	120	38
Acétate d'éthyle	77	102	25
Acétone	56	89	33
Ether diéthyl	35	60	25
THF	67	103	36
Chloroforme	61	89	28

I.8.2. Les réactions sans solvant

Les réactions sans solvants sont économiques et ont des hauts rendements. Les réactifs sont imprégnés sur un support solide selon deux voies :

- ✓ L'irradiation directe des réactifs polaires sur un support inerte (alumine, silice...)
- ✓ L'irradiation des réactifs non polaires sur des supports actifs sous micro-ondes. Les réactions sans solvants et/ou milieu hétérogène, présentent plusieurs avantages qui justifient leurs applications dans diverses et nombreuses réactions chimiques [19-24].

I.9. Limitations

Les points d'ébullitions des solvants sont atteints très rapidement, posant des problèmes de sécurité (explosions fréquentes). Pour contourner cet inconvénient majeur, les réactions doivent être menées dans des systèmes fermés (généralement dans des récipients en téflon), transparents aux micro-ondes et résistant jusqu'à des températures de 250 °C. Il est aussi vivement conseillé de n'opérer que sur des petites quantités de produits, n'occupant qu'environ 1/10 du volume total. Tout ceci constitue toute évidence une limitation sérieuse en matière de sécurité et de montée en échelle des expériences.

Un autre inconvénient majeur est lié aux difficultés de mesurer et contrôler la température. Toutefois, ces limitations peuvent être levées moyennant deux adaptations du procédé :

- Réaliser les réactions sans solvant ;

- Opérer avec un réacteur chimique adapté tout particulièrement à la chimie permettant une homogénéité du champ électrique et de la température, ceci étant possible grâce à des guides d'ondes (système monomodes), il convient aussi d'avoir une évaluation sur de la température (par fibre optique ou détection infrarouge) et son asservissement par la puissance émise par le magnétron tout au long d'une réaction chimique.

I.10. Composés organophosphorés

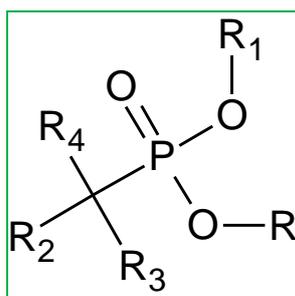
Les composés organophosphorés sont des composés organiques comprenant au moins un atome de phosphore lié directement à un atome de carbone. Ils ont d'une importance capitale notamment en biochimie car un très grand nombre des composés d'intérêts biologiques sont des composés organophosphorés : l'ADN, l'ARN et les nucléotides, les composés organophosphorés se répartissent en différentes classes selon le degré d'oxydation du phosphore (numéro de coordination 1 à 6) et la nature des substituants, notamment la présence d'un atome d'oxygène ou d'un autre chalcogène. Par conséquent, il existe une grande variété des composés organophosphorés.

Dans la seconde guerre mondiale les pesticides organophosphorés comme le Malathion, le Roundup se sont substitués aux organochlorés dans les années 1970 et ils sont utilisés comme gaz de combat.

L'utilisation des composés organophosphorés n'est pas limitée dans l'agriculture comme herbicides ou insecticides. En effet, les composés organophosphorés sont utilisés actuellement dans la composition des médicaments, détergents, additifs aux dentifrices, huiles additives et agents complexants [25].

I.10.1. Les phosphonates

Les phosphonates sont des composés organophosphorés, qui porte une liaison C-P et le groupe fonctionnelle $\text{RPO}(\text{OR}_1)(\text{OR}_2)$ (figure I.4).



R, R₁, R₂, R₃, R₄ : H, alkyle ou aryle

Figure I.4 : structure générale des phosphonates.

I.10.1.1. Les dérivés des phosphonates

Les phosphonates sont classés en six groupes :

- Les α -hydroxyphosphonates ;
- Les bisphosphonates ;
- Les nucléosides phosphonates ;
- Les alkyles-phosphonates et les aryles-phosphonates ;
- Les polyphosphonates ;
- Les α -aminophosphonates.

I.10.2. Les aminophosphonates naturels

Chavane a considéré que les aminophosphonates sont des constituants de la matière vivante dans le début de 1940 [26] mais l'isolation réel d'une source naturelle n'est pas été accompli jusqu'à 1959 lorsque Horiguchi et Kandatsu ont découvert l'acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP) dans le protozoaire du rumen des moutons ciliés et il été nommé ciliatine [27]. Par ailleurs, la ciliatine a été isolé par Kittredge et al dans les animaux marins [28], En outre l'isolation de l'acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP) et d'autre aminophosphonates a été continué dans des différents organismes vivants comme les bactéries, protozoaire, les invertébrés, humains... [29].

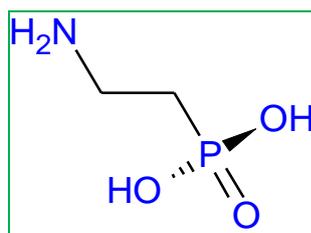


Figure I.5 : Structure chimique de l'acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP).

Les lipides composés d'aminophosphonates sont nommés phosphonolipides [30,31] et chaque phospholipide naturel est constitué d'un acide phosphonique. Ils existent deux groupes des phosphonolipides naturel ; les phosphosphingolipides (Figure I.6(a)) et les phosphoglycerides (Figure I.6(b)), qui sont représenté dans la figure suivante :

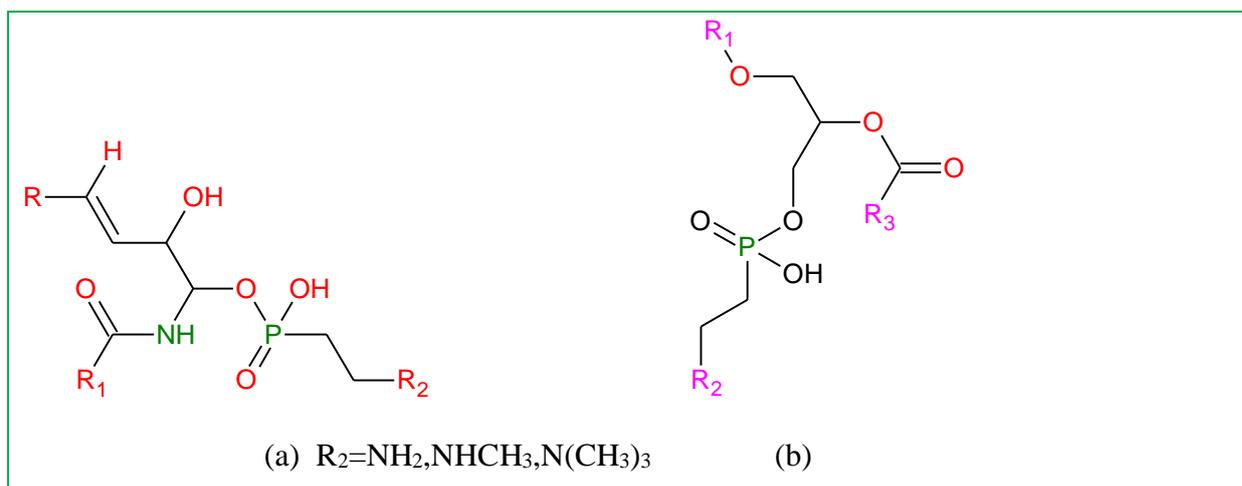


Figure I.6 : Structures des phosphosphingolipides (a) et les phosphoglycerides (b).

L'organisme *tetrahymena thermophila* contient un pourcentage important de phosphonates, la culture de cet organisme est facile sous conditions de laboratoire bien contrôlé qui mène à des études extensives en biochimie des phosphonates et des phosphonolipides. Concernant les acides aminophosphoniques, à ce jour nous avons un seul acide aminophosphonique naturel découvert c'est le (-) -1-amino-2-(4-hydroxy-phenyl)ethylphosphonique (Figure I.7).

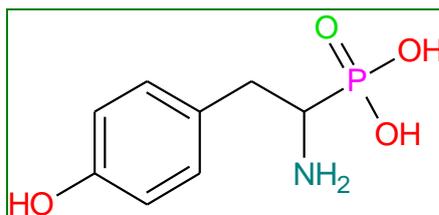


Figure I.7 : Structure de l'acide phosphonique naturelle (-)-1-amino-2-(4-hydroxy-phenyl)ethylphosphonique.

I.10.3. Les α -aminophosphonates et les acides α -aminophosphoniques

Les α -aminophosphonates constituent des motifs importants dans la chimie médicinale en raison de leurs ressemblances avec les acides α -aminés [32].

Leur toxicité négligeable vis-à-vis des mammifères rend ces composés extrêmement importants dans la médecine humaine et vétérinaire [33].

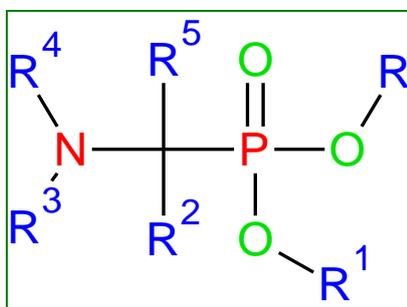
De sorte que la présence de l'atome d'azote dans les α -aminophosphonates augmente leur pouvoir chélatant vis-à-vis des métaux, ainsi que les complexes formés sont plus stables [34- 36].

Acide α - aminophosphoniqueAcides α - aminés

R : H alkyle ou aryle.

Figure I.8 : Similitude entre les acides α -aminophosphoniques et les acides α -aminés.

Les α -aminophosphonates ont trouvés une large gamme d'applications dans les domaines médécinale, chimie industriel et agricole, ils servent comme inhibiteurs enzymatiques [37] agents atibactériens [38] agents antifongiques [39] antioxydants [40] anti-cancer... [41-42].



R, R¹, R², R³, R⁴ : H, alkyle ou aryle

Figure I.9: Structure générale des α -aminophosphonates.

I.10.4. Synthèse des α -aminophosphonates

La grande variété des structures des aldehydes et des cétones, leur confèrent les substrats (produits de départ), les plus connus pour la préparation des α -aminophosphonates et phosphinates. Environ de 50 % des publications de synthèses de ces composés décrit l'utilisation des aldehydes et des cétones comme substrats.

Plusieurs méthodes synthétiques d' α -aminophosphonates ont été rapportées dans la littérature comme la synthèse à trois composants (one-pot) [43], synthèse par étapes [44], la synthèse sous micro-ondes [45], la synthèse sous ultra-sons [46] et la synthèse par liquides ioniques [47].

En plus, grâce à l'importance primordiale des α -aminophosphonates, les chercheurs ont été orientés vers la découverte, la conception et la synthèse de celle-ci avec nombreuses approches et la littérature est riche de ces travaux, nous citerons quelques-uns :

I.10.4.1. La condensation de type Mannich

La réaction de type **Mannich** consiste à réagir une amine, un aldéhyde avec l'acide phosphoreux ou hypophosphoreux, l'utilisation d'une amine avec le formaldéhyde et l'acide phosphoreux c'est une procédure utile pour la préparation des acides N-substitués aminométhane phosphoniques, cette réaction est introduit par **Moedritzer et Irani**, qui est applicable pour des variétés des amines aliphatiques primaires et secondaires [48].

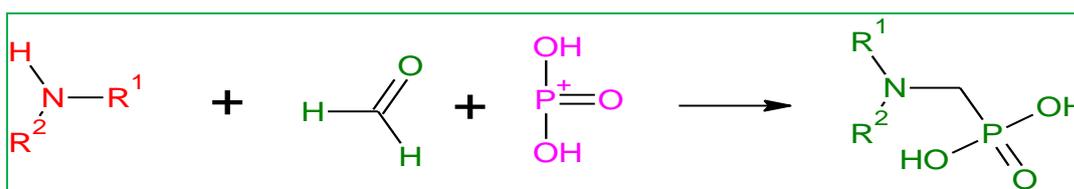


Schéma I.1: La réaction de **Moedritzer et Irani**.

I.10.4.2. La réaction de Pudovick

Dans la réaction de **Pudovick** les α -aminophosphonates sont obtenues par l'insertion directe d'un di ou trialkylphosphite (phosphite) à la liaison C=N d'imine. La réaction de **Pudovick** peut être activée par un acide de **Lewis** comme $ZnCl_2$, $PdCl_2$, $AlCl_3$, CdI_2 ...

Kabachnik et al ont synthétisés une série de différents α -aminophosphonates par une réaction de type **Pudovick** catalysée par de l'iodure de cadmium [49].

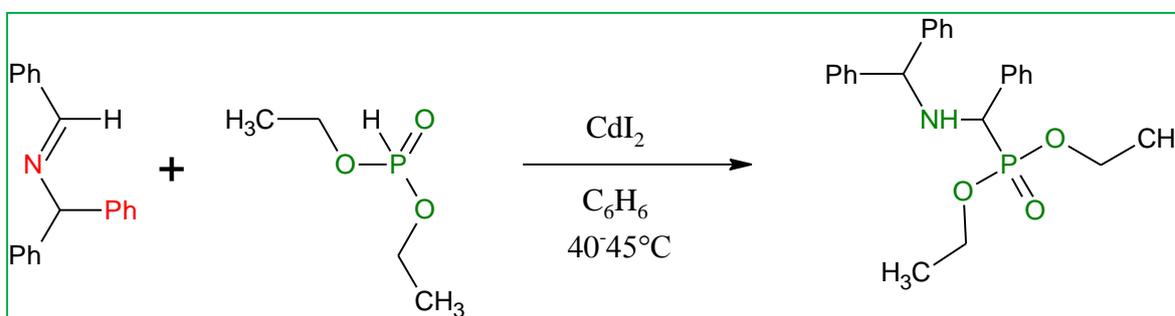
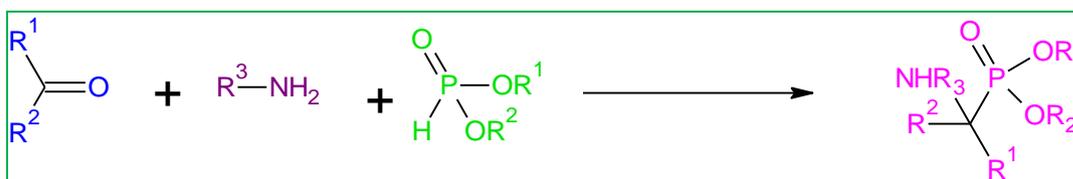


Schéma I.2 : Réaction de Pudovick catalysée par CdI_2 .

I.10.4.3. Réaction de Kabachnik-Fields

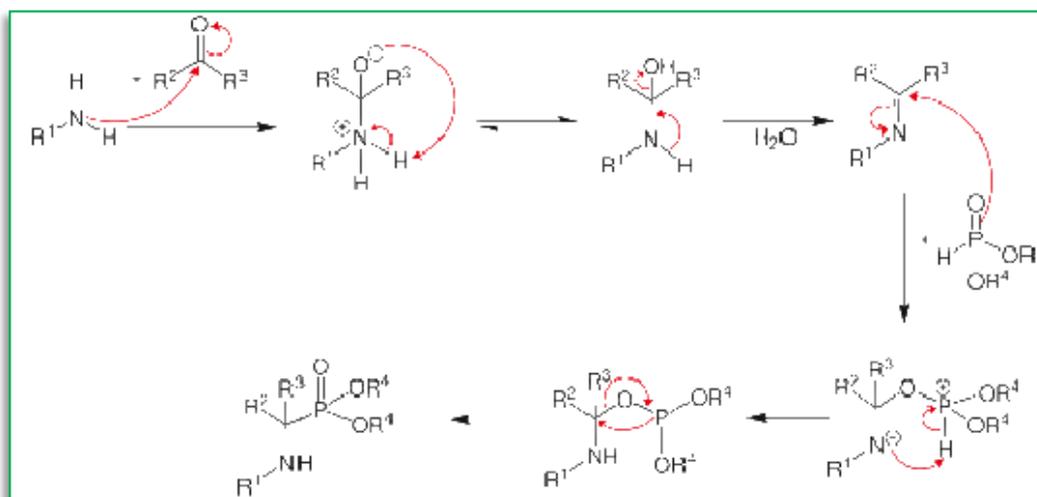
Au début des années 1950, **Kabachnik** [50] et **Fields** [51] ont montré indépendamment que la réaction d'une amine, d'un composé carbonylé et d'un dialkyle phosphite mène à la formation des dérivés α -aminophosphonates, cela été fait par l'utilisation des acides de **Lewis** comme catalyseurs dans la plupart des cas.

Schéma I.3: Réaction de **Kabachnik-Fields**.

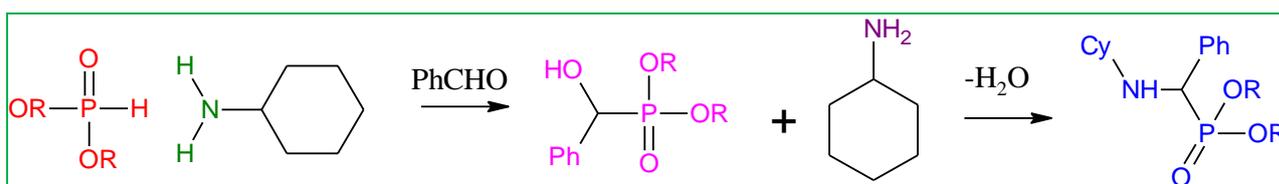
Cette réaction est réalisée dans certain cas sans catalyseur [52] mais dans la plupart des cas l'utilisation des acides de Lewis est nécessaire pour accélérer la réaction comme le SnCl_4 [53], BF_3OEt_2 [54], ZrCl_4 [55], acide hypophosphoreux, hétéropoly-acides, Yb (PFO) 3...etc.

Cette réaction se fait en plusieurs étapes via un mécanisme complexe appelant la réaction de **Mannich**, deux mécanismes les plus répandus dans la littérature sont les suivants :

Voie (a) :



Voie (b) :

Schéma I.4: Mécanismes proposé pour la réaction de *Kabachnik-Fields*.

Il y a nombreuses hypothèses sur le mécanisme réactionnel de la réaction de **Kabachnik-Fields** les chercheurs ont montrés que la nature de l'aldéhyde [56], l'activateur [57], le solvant [58] et le pK_b de l'amine [59] peut influencer sur ce mécanisme. Il est supposé le plus souvent que la réaction se produit par génération de l'imine à partir de la condensation

du composé carbonyle avec l'amine, suivi par l'attaque nucléophile du composé hydrophosphoryl dans un processus de type **Pudovick**.

Par ailleurs, **Petrov** et al ont suggérés que le mécanisme réactionnel de la réaction de **Kabachnik-Fields** dépend de la basicité de l'amine. Les amines faiblement basiques tels que les anilines, favorisent la formation d'une imine (voie a) tandis que les alkylamines comme la cyclohexamine ne forment pas d'imine (voie b) [60].

I.10.4.4. Réaction de Mitsunobu

La réaction de **Mitsunobu** sert à l'amination nucléophile d'un hydroxyphosphonate, soit une réaction one-pot entre un alcool, un azodicarboxylate, de la triphénylphosphine et un nucléophile (ici HN_3) [61].

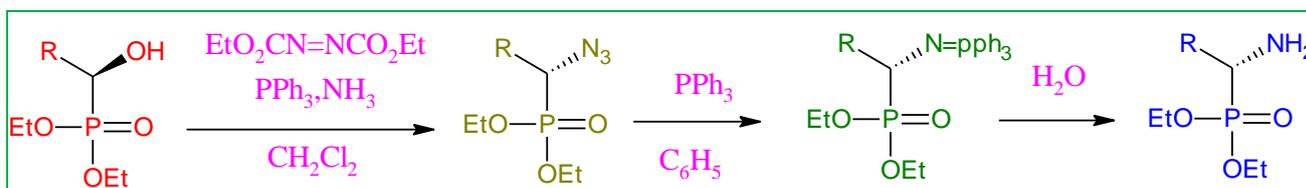


Schéma I.5 : La réaction de Mitsunobu.

I.10.4.5. Autre réactions

L'acide 1-amino-2-phényléthylphosphonique, c'est l'analogue de l'acide aminé phénylalanine qui synthétisé pour la première fois par **Kosolappof** et al par la réaction de 2-phénylacétaldéhyde, ammonia et diéthyl H-phosphonate suivi par l'hydrolyse avec l'HCl [62].

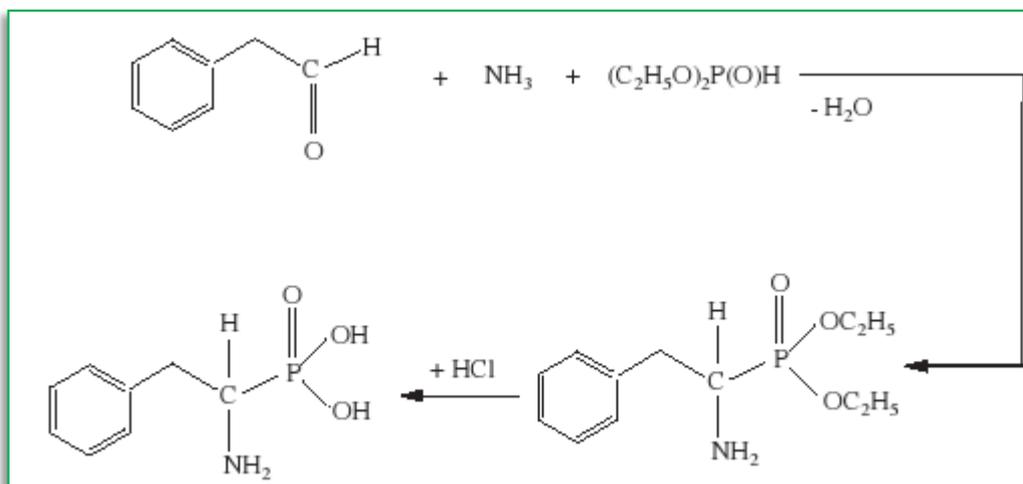


Schéma I.6 : Synthèse de l'analogue de l'acide aminé phénylalanine par **Kosolappof** et al.

M.V. Narayana Reddy et al ont synthétisé une nouvelle série d' α -aminophosphonates avec un bon rendement selon la réaction de **Kabachnik-Fields** (one-pot) en utilisant l'indole-3-carboxaldehyde, dialkyl ou diphenyle phosphite et différent amines primaires en présence de tetramethylguanidine (10 mole%) comme catalyseur dans le toluène a reflux. La réaction de cette synthèse est figurée dans le schéma suivant :

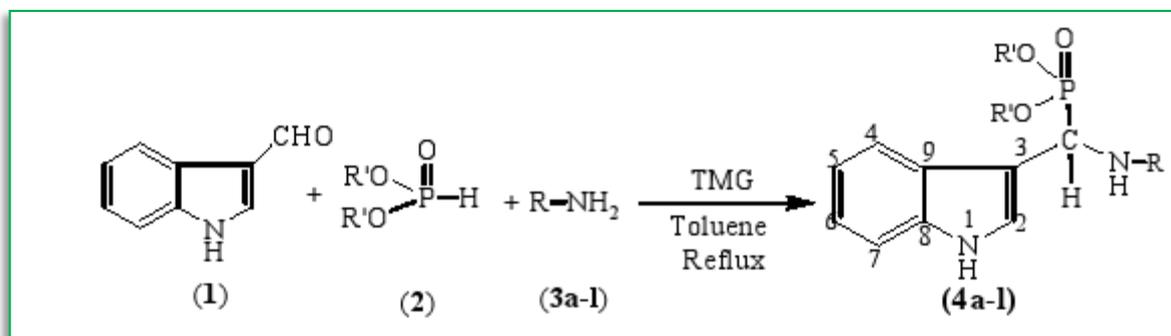


Schéma I.7 : Synthèse d'une nouvelle série d' α -aminophosphonates en présence de tetramethylguanidine selon M.V. Narayana Reddy et al.

Une synthèse one-pot de anilinobenzylphosphonates, qui est produit par la réaction d'une aniline, benzaldéhyde et dialcyle H-phosphonates en présence de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ comme catalyseur qui permet d'accélérer la réaction et de donné un bon rendement de réaction, [63] selon la séquence réactionnelle suivante :

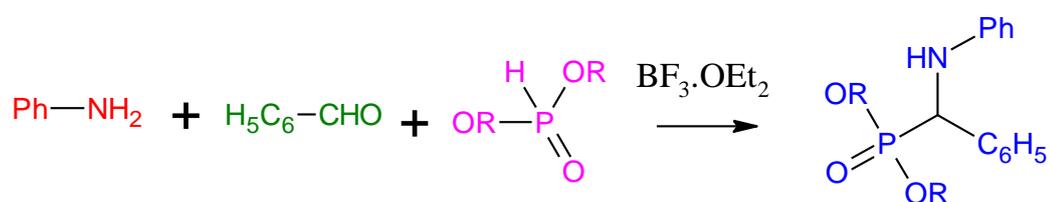


Schéma I.8 : Synthèse one-pot d'anilinobenzylphosphonates.

La meilleur méthode pour la synthèse des divers pyridines aminophosphonates c'est l'addition thermique de diéthyl phosphonate à des imines pyridiniques. Les pyridinealdehydes réagis facilement avec les amines aliphatiques et aromatiques dans le toluène pour former les imines correspondants. Les imines obtenues sont réagis *in situ* avec le diéthyl H-phosphonate pour donner le diéthylester [64].

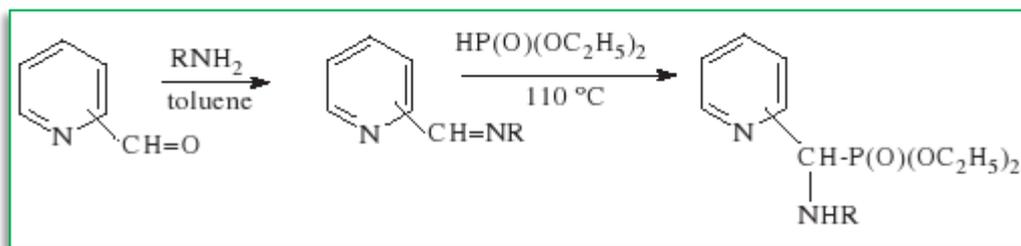


Schéma I.9: Synthèse d'un diéthylester selon [64].

Une méthode efficace pour la synthèse d'aminophosphonates avec un bon rendement 98% en absence du solvant et du catalyseur et en utilisant la micro-onde selon la réaction de Kabachik-Fields à trois composants : le benzalaldéhyde, l'aniline et le diméthyl phosphite [65].

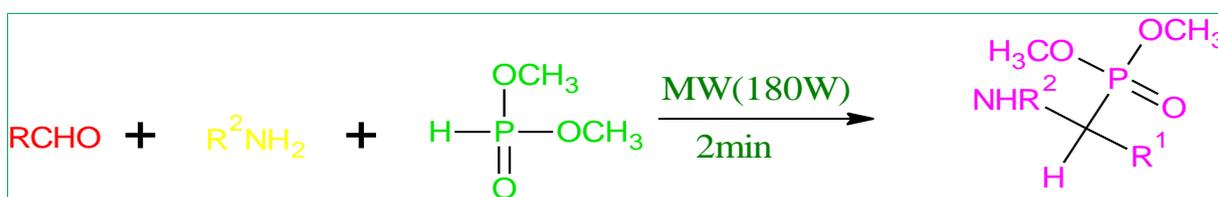


Schéma I.10 : Synthèse des α -aminophosphonates assistée par la micro-onde.

En 2016, **Daamiche** et al ont synthétisé une nouvelle série d' α -aminophosphonates à partir de propylamine et de para-aminopyridine en toluène et le diéthylphosphite sans catalyseurs avec un bon rendement (85-95%). Les résultats expérimentaux révèlent que ces molécules possèdent des activités anti-oxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne importantes [66]. La séquence réactionnelle suivie est la suivante :

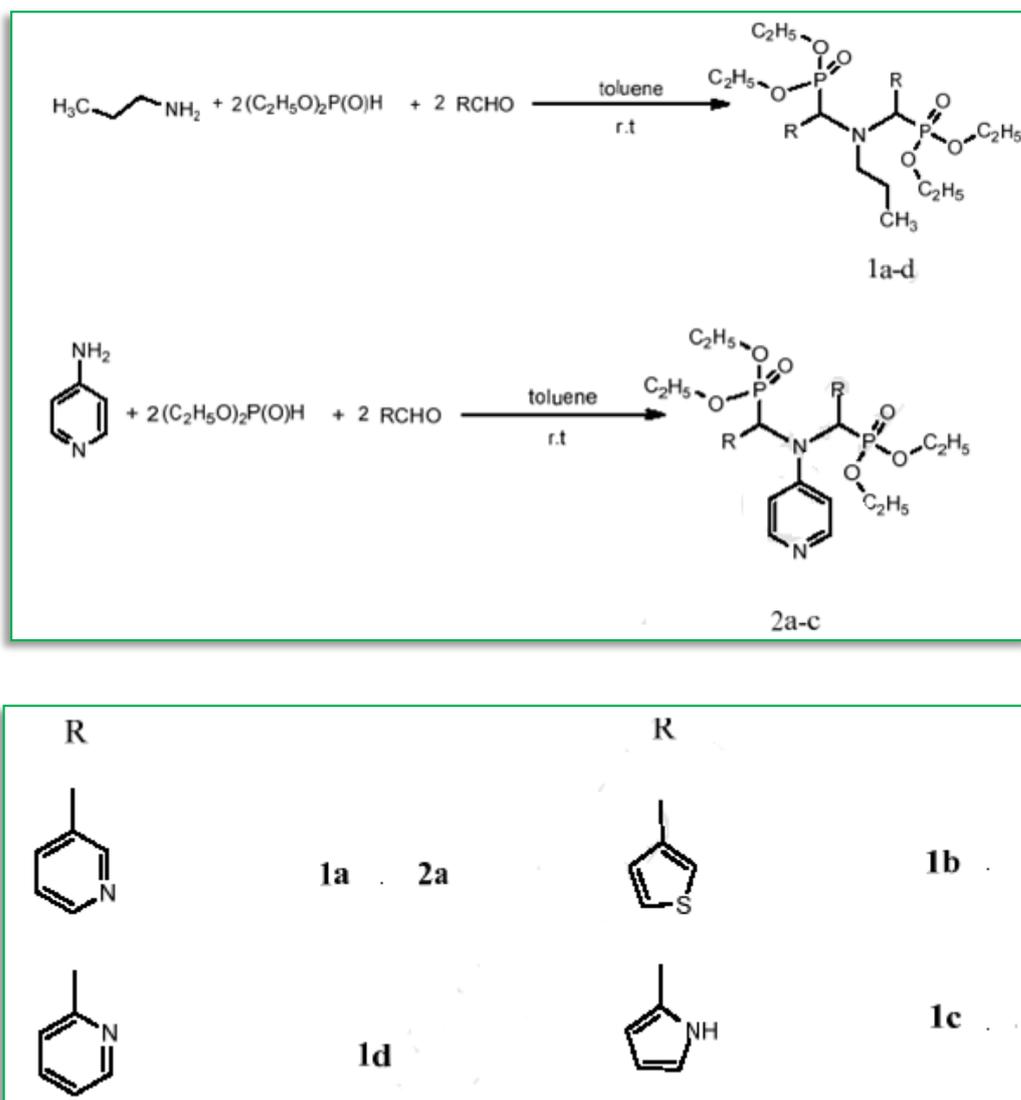


Schéma I.11 : Synthèse des α -aminophosphonates selon **Daamiche** et al.

En 2018, **S. Boughaba** et al ont développé une nouvelle méthode pour la synthèse des α -aminophosphonates catalysée par le $\text{H}_6\text{P}_2\text{W}_{18}\text{O}_{66}\cdot 14\text{H}_2\text{O}$ à partir de la condensation de 2-aminothiazole par un aldéhyde aromatique (benzaldehyde) et en présence du triethylphosphite sans solvant avec un rendement allat de 54-95% [67].

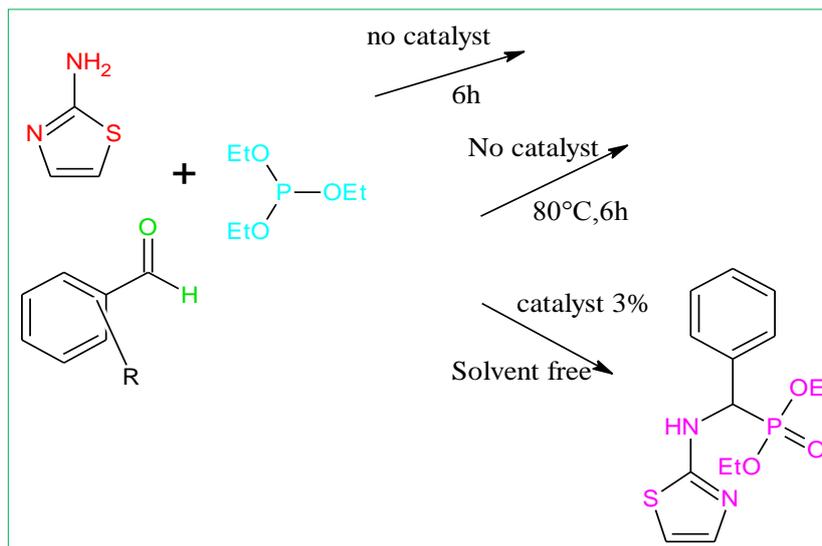


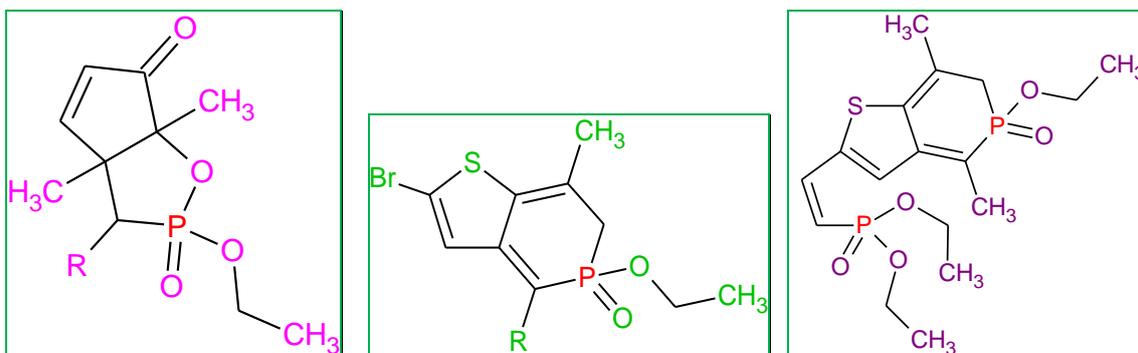
Schéma I.12: Méthode de synthèse des α -aminophosphonates développée par **Boughaba** et al en présence du $\text{H}_6\text{P}_2\text{W}_{18}\text{O}_6 \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ comme catalyseur.

I.11. Domaines d'applications des phosphonates

I.11.1. Dans la biologie et la médecine

Au cours de la dernière décennie, les phosphonates ont fait l'objet de recherche accrues dans les domaines de la médecine et de la chimie grâce à leurs diverses activités biologiques et pharmaceutiques. Les phosphonates agissent comme des agents neuroactifs, inhibiteurs des enzymes [68], inhibiteurs de la collagénase, mimétiques peptidiques [69] agents pharmacologiques et antibiotiques [70].

Des composés phosphorés contenant des hétérocycles tel que : les Oxaphosphole, l'oxaphosphinine et le vinyloxaphosphinine phosphonates ont été décrits comme des anti-inflammatoires [71-72].



Oxaphosphole

oxaphosphinine

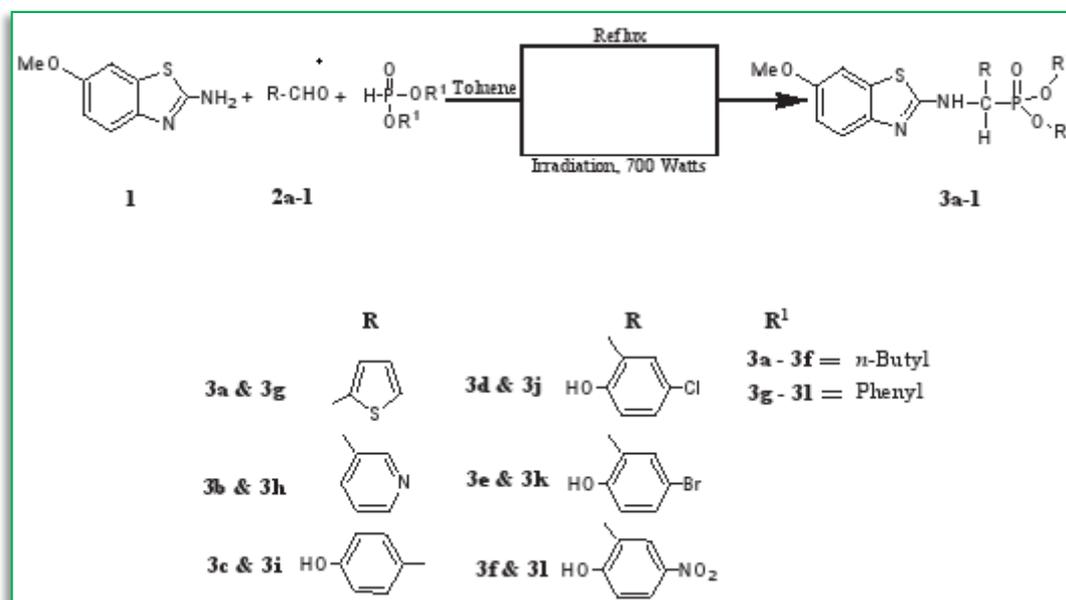
vinyloxaphosphinine

R: CN

R: CN

R: CO₂R: CO₂MeR: CO₂EtR: CO₂Et**Figure I.10:** Structures chimiques des anti-inflammatoires contenant le motif phosphonates.

Alahari Janarhan Rao et al ont synthétisé une série d' α -aminophosphonates (3a-I), à base des aldehydes aromatiques et hétérocycliques substitués avec le 2-amino-6-méthoxy-benzothiazole et le dibutyl/diphényl phosphite sous irradiation micro-ondes sans catalyseur. Les molécules obtenues présentent des activités antimicrobiennes prometteuses contre des bactéries à gram positive *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et des bactéries à gramme négative *Echerichia coli* et *Klebsiella pneumonia*. Aussi ces molécules présentent une activité antioxydante remarquable [73].

**Schéma I.13 :** Synthèse des α -aminophosphonates à effet antimicrobien et antioxydant selon

Alahari Janarhan Rao et al.

Aujourd'hui, le marché est riche en médicaments préparés à partir des phosphonates et leurs dérivés, qui sont largement appliqués dans le traitement des maladies osseuses.

Le premier bisphosphonates (diphosphonate) est synthétisé dans le 19^{ème} siècle. Le bisphosphonate géminale est métaboliquement stable, c'est un analogue de pyrophosphate naturel dont la liaison P-O-P de pyrophosphate est remplacée par P-C-P.

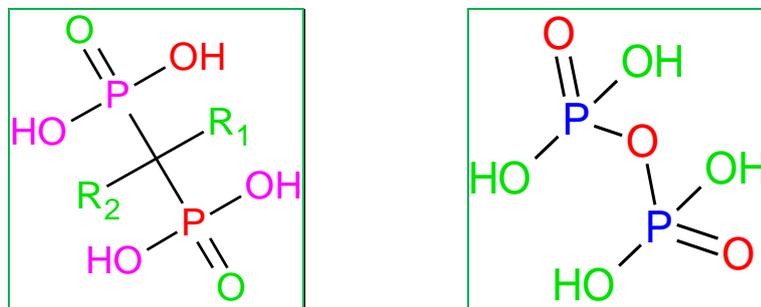


Figure I.11 : Structure de bisphosphonates.

Les bisphosphonates comme l'acide zolidronique et la pamidronate ne sont pas toxiques pour les organes et permet la diminution de la prolifération cellulaire et induire l'apoptose.

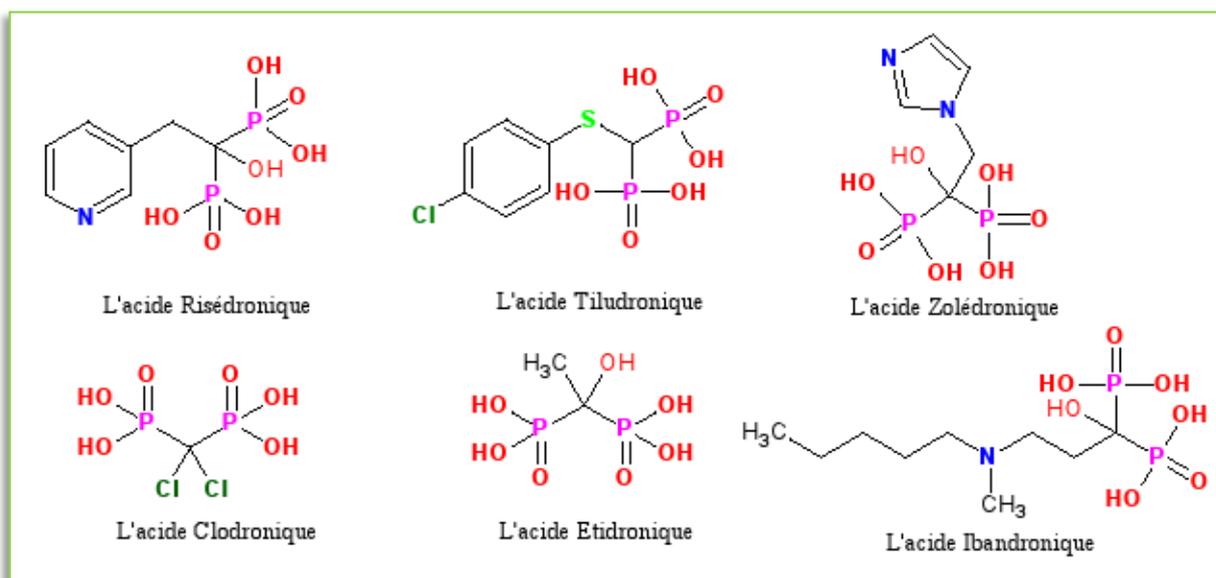


Figure I.12 : Structures chimiques des bisphosphonates utilisés dans le traitement l'ostéoporose.

Les bisphosphonates sont utilisés dans les dentifrice, rince-bouche [74], des médicaments de la polyarthrite rhumatoïde [75], traitement du cancer du sein anti-rhumatismal [76]. Les bisphosphonates géminale et les acides bisphosphonique géminale

forment des complexes avec le calcium et le magnésium qui sont essentielles dans la préparation des médicaments [77].

L'ester phosphonoamide synthétisée par McLeod et al [78] est un inhibiteur de l'HIV-protéase. La synthèse commence par le phosphonate (5) qui est obtenu par la méthode de Fields [79]. L'acide dimethylesterphosphonique (5) est protégé par le trifluoracetyl et convertie à l'acide phosphonique monoester chlorés, ensuite il est couplé avec l'amide phenylalanine ou l'amide proline pour avoir les esters phosphonamidates (7) et (8). La séquence réactionnelle et les structures des deux esters sont représentés dans le schéma suivant :

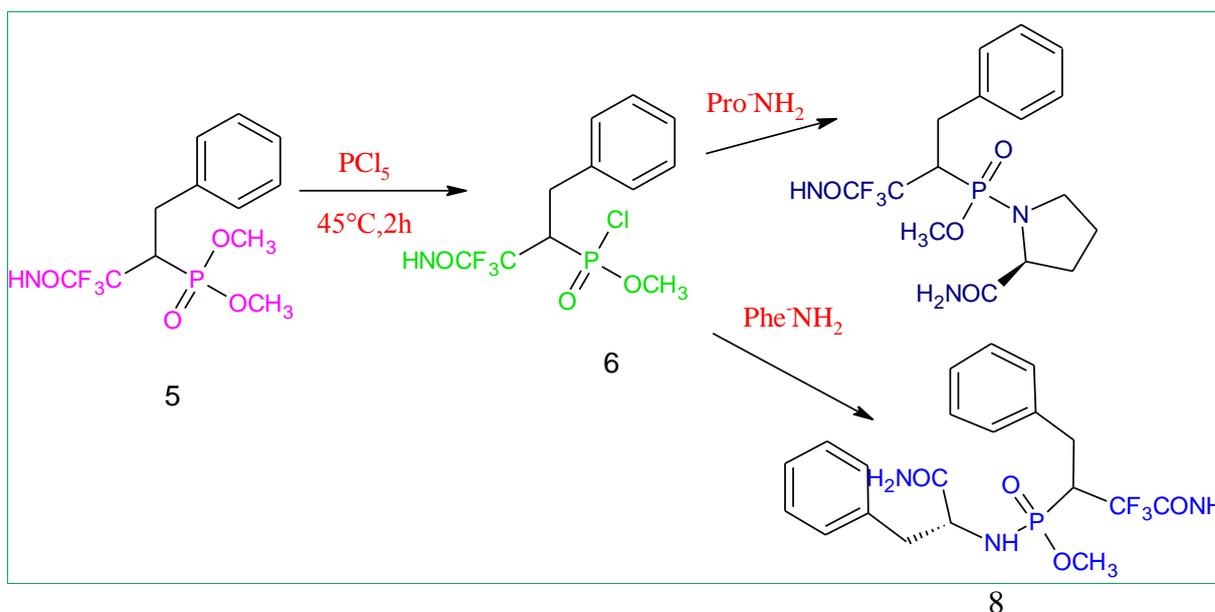


Schéma I.14 : Synthèse des esters phosphonamidates (inhibiteurs de l'HIV-protéase).

En plus, le nucléoside 5-phosphonate (Figure I.13) possède une activité anti-HIV et améliorer la pénétration de la barrière hémato-encéphalique et permet aussi d'améliorer l'administration des médicaments.

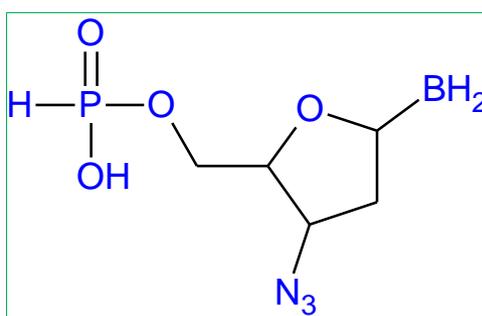


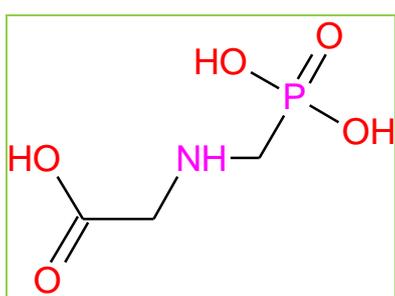
Figure I.13 : Structure chimique du nucléoside 5-phosphonate.

I.11.2. Dans l'agriculture

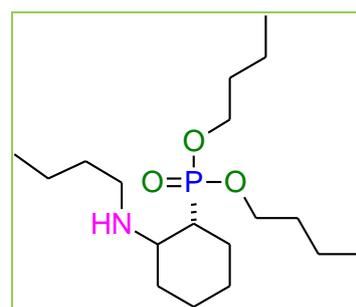
Les phosphonates possèdent une efficacité fongicide, qui a été démontrée dans de nombreux pays et leur mode d'action est :

- L'inhibition de développement des champignons dans les plantes par une action directe ;
- Ils renforcent les défenses naturelles de la plante d'une manière indirecte.

Le Buminafos est utilisé comme régulateur de la croissance des plantes dans l'industrie de l'agrochimie. En outre, le glyphosate est l'un des pesticides les plus utilisés dans le monde.



Glyphosate (Round up)



Buminafos

Figure I.14 : Structures chimiques des pesticides à base des aminophosphonates.

Janusz sarapuk et al ont synthétisé une série d' α -aminophosphonates cycliques et acycliques, ces molécules sont des herbicides puissants. Les auteurs ont conclu que leur l'activité est proportionnelle avec la lipophilicite. En plus, l'isopropyle attaché avec l'atome du phosphore augmente l'activité biologique ainsi les molécules cycliques possèdent une activité herbicide supérieur que celle des acycliques [80]. Les structures générales de ces molécules sont représentées dans la figure suivante :

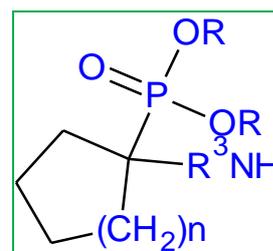
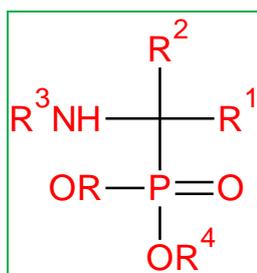


Figure I.15 : Structure d'aminophosphonates cycliques et acycliques utilisés comme herbicides.

I.11.3. Dans la corrosion

L'utilisation des composés organophosphorés comme des inhibiteurs de corrosion des métaux et des alliages est largement appliquée en raison de leur faible toxicité, de leur haute stabilité et leur adsorption sur la surface du métal. Ces composés permet l'élimination des risques de dépôt de CaCO_3 sur la surface d'un acier dans des conditions de milieu peu corrosif $\text{pH} > 8$. L'utilisation des phosphonates pour la protection de l'acier au carbone contre la corrosion dans les différents milieux a été étudiée par plusieurs chercheurs [81-85].

S. Merah et al ont été étudié une nouvelle classe d'inhibiteurs de corrosion polymérique l'action inhibitrice de l'acide synthétisé polyéthylèneimineméthylène phosphonique (PEIMA) la corrosion de l'acier au carbone C38 en milieu HCl 1M à 30°C a été examinée par la méthode de mesure de perte de masse, la microscopie électronique à balayage (MEB) les résultats de cette étude révèlent que le PEIMPA agir comme un inhibiteur de type mixte et les images MEB obtenus confirment la formation d'un film protecteur du (PEIMPA) sur la surface de l'acier au carbone [86].

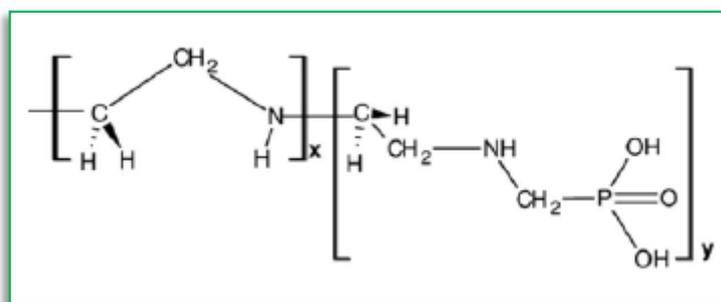


Figure I.16 : Structure de l'acide polyéthylèneimineméthylène phosphonique

Récemment en 2017, **chafai et al** ont synthétisé une nouvelle molécule mixte acide/ ester α -aminophosphonique à partir d'une hydrazine aromatique c'est l'acide 4-(2{[ethoxy(hydroxy)phosphonyl] (3- nitrophenyl) methyl} hydrazinyl) benzoïque, en outre les auteurs ont évalué l'activité inhibitrice de corrosion de la molécule synthétisée vis-à-vis l'acier au carbone XC48 en milieu H_2SO_4 0.5M en utilisant les méthodes gravimétriques, électrochimique et le microscope à force atomique (AFM). Les résultats obtenus montrent que la molécule étudié présente une activité inhibitrice de corrosion importante [87].

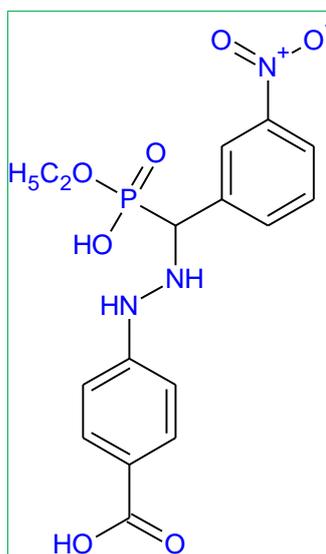


Figure I.17 : Structure chimique de l'inhibiteur 4-(2{[ethoxy(hydroxy)phosphonyl] (3-nitrophenyl) methyl} hydrazinyl) benzoïque.

K. benbougerra et al ont synthétisé une nouvelle molécules α -aminophosponates (α -ADP). La capacité inhibitrice de corrosion a été étudiée sur l'acier au carbone XC48 en milieu H_2SO_4 0.5M en utilisant la spectroscopie d'impédances électrochimiques et le microscope à force atomique (AFM). Les résultats obtenue indiquent que ces molécules sont des inhibiteurs mixte et efficaces qui suit l'isotherme de langmuir. Le (α -ADP) est représenté dans la figure suivante [88].

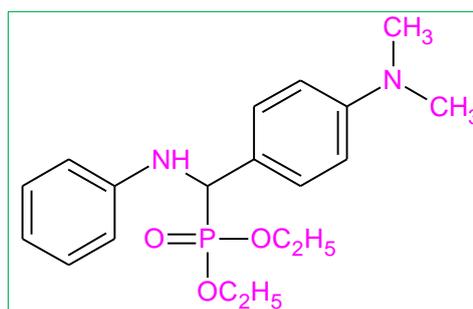


Figure I.18 : Structure chimique de l'inhibiteur (α -ADP).

I.11.4. Industrie

- **Détergent :** Les phosphonates sont utilisés dans l'industrie des détergents comme agents séquestrants de calcaire.
- **Traitement des eaux :** les phosphonates agissent comme agents chélates où ils retardent ou empêchent la précipitation du carbonate de calcium.

En outre, les dérivés des phosphonates sont utilisés dans l'industrie nucléaire [89], retardent de flamme, dans la fabrication des pates et papier et dans l'industrie textile.

I.11. Conclusion

A partir de cette étude bibliographique qu'on a effectuée sur les phosphonates et leurs dérivés, notamment leurs procédures de synthèse et leurs applications prometteuses, on peut dire que cette famille de composés montre une importance primordiale dans les différents domaines. En plus la synthèse par micro-ondes est considérée comme une méthode verte, rapide et efficace. Ceci nous a permis de penser à synthétiser de nouveaux dérivés α -aminophosphonates et de caractériser ces nouvelles molécules par les méthodes physicochimiques et spectroscopiques, qui seront présentés dans le chapitre suivant.

Références bibliographique

- [1] A. Loupy, A. Haudrechy, Effets de milieu en Synthèse Organique. Ed. MASSON. (2006) 277-283.
- [2] D.V. Kuznets, V. A. Reav, R. R. Kostikov, R. R. Kuranov, G. L. Arapov, O.V, Russian Journal of Chemistry. 41 (2005) 1719-1747.
- [3] N. E. Leadbeater, Torenius H. M, J. Org. Chem. 67 (2002) 3145.
- [4] S. Zijlstra, T. J. De Groot, L. P. Kok, G. M. Visser, W. Vaalburg, J. Org. Chem. 58 (1993) 1643.
- [5] T. H. Siddal, Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry. 25 (1963) 883-892.
- [6] O. T. Quimby, J. D. Curry, D. Allan Nicholson, J. B. Prentice, C. H. Roy, J. Organomet. Chem. 13 (1986) 199-207.
- [7] A.W. Herlinger, J. R. Ferraro, R. Chiarizia, E. P. Horwitz, Polyhedron. 16 (1997) 1843-1854.
- [8] M. Jamil, P. Z. Nedden, G. Duyckaerts, Analytica Chimica Acta. 55 (1971) 145-151.
- [9] X. Chen, R. Huang, R. Pelton, Industrial & Engineering Chemistry Research. 44 (2005) 2078-2085.
- [10] T. N. Van der Walt, P. Fourie, J. International Journal of Radiation Applications and Instrumentation Part A Applied Radiation and Isotopes. 38 (1987) 158-159.
- [11] R. L. Carroll, R. R. Irani, Inorganic. Chemistry. 6 (1967) 1994-1998.
- [12] M. A. Didi, A. Elias, D. Villemin, Solvent Extraction and Ion Exchange. 20 (2002) 407.
- [13] O. T. Quimby, J. D. Curry, A. Nicholson, D. Pretice, J. B. Roy, C. H. J. Organomet. Chem. 13 (1986) 199-207
- [14] M. I. Kabachnick, T.Y. Medved, N. M. Dyatlova, M.V. Rudomino, Russian Chemical Reviews 43 (1974) 733-744.
- [15] Kappe, C.O Curr, Opin. Chem. Biol 6 (2002) 314.
- [16] G. M. Kosalapoff, L. Maier, Eds Wiley Intersciences. Ed. New York. Vol 6 (1973) 222.
- [17] R. S. Cooper, A. D. Urfer, Journal of the American Oil Chemists. 41 (1964) 337.
- [18] D. Miller, E. M. Wiener, A. Turowski, C. Thunig, H. Hoffmann, Colloids and surfaces a physicochemical and engineering aspects 152 (1999) 155-160.

- [19] S. Caddick, R. Itzmaurice, *Tetrahedron* (2009).
- [20] D. Michael, A. Loupy, P. Mingos, D.R. Baghurst. *Chem. Soc. Rev.* 20 (1991) 1.
- [21] T. Matsumura-Inoue, M. Tanabe, T. Minami, T. Ohashi, *Chem. Lett.* (1994) 2443.
- [22] A. Acosta, P. De Miguel, A. Loupy et al. *Tetrahedron. Letters.* 36 (1995) 2165.
- [23] J. P. Barnier, A. Loupy, P. Pigeon, M. Ramdai, P. Jacquault, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.* 1 (1993) 397.
- [24] O. C. Kappe, *Angew. Chem.* 43 (2004) 6250-6284.
- [25] J. J. Defrank, T.C. Cheng, *Bacteriol.* 173 (1991) 1938-1943.
- [26] V. Chavane, *general Ann. chim.* 4 (1949) 352-364.
- [27] M. Horiguchi, M. Kandatsu, *Nature.* 184 (1959) 901-902.
- [28] J. S. Kittredge, E. Roberts, D. G. Simonsen. *Biochemistry.* 1 (1962) 624-628.
- [29] E. Roberts, J. S. Kittredge, *Science.* 164 (1969) 37-42.
- [30] T. Hori, Y. Nozawa, *Phospholipids in J. N. Hawthorne, G. B. Ansell (Eds) Biomedical Press New York* (1982) 95-128.
- [31] E. Baer, N. Z. Stanacev, *J. Biol. Chem* 239 (1964) 3209-3214.
- [32] S. C. Fields, *Synthesis of natural products containing a C-P bond, Tetrahedron.* 55 (1999) 12237.
- [33] Du, S. Faiger, H. Belkhov, V. Baasov, T. Towards, the development of novel antibiotics: synthesis and evaluation of a mechanism-based inhibitor of Kdo8P synthase, *Bioorg. Med. Chem.* 7(1999) 2671-2682.
- [34] T. Kiss, I. Lazar, in: V.P. Kukhar, H. R Hudson (Eds). *Aminophosphinic and Aminophosphonic Acids, Chemistry and Biological Activity.* Chichester John Wiley & Sons Ltd (2000) 285.
- [35] S. Lacour, V. Deluchat, J-C. Bollinger, B. Serpaud, *Complexation of some trivalent cations A(III), Cr (III), Fe(III) with two phosphonic acids in the PH-range of fresh waters.* *Talanta.* 46 (1998) 999-100.
- [36] K. Popov, H. Ronkkomaki, L. H. J Lajunen, *Critical evaluation of stability constants of phosphonic acids.* *Pure Appl Chem.* 63 (2001) 1641-77.
- [37] F. R. Atherton, C. H. Hassal, R.W. Lambert, *J. Med. Chem,* vol 29 (1986) 29.

- [38] Kafarski, P. Lejczak, B. Phosphorus Sulfur Silicon Rel. 63 (1991)193.
- [39] N. Aliouane et al, Sulfur and Silicon and the Related Elements.186 (2011) 354-364.
- [40] S. Zaout, S. Chafaa, A. Hellal, O. Boukhmis, L. Khattabi, H. Merazig, N. Chafai, C. Bensouici, L. Benjeddou, Hydroxyphenylamine phosphonate derivatives : Synthesis, X-ray crystallographic analysis, and evaluation of their anti-Alzheimer effects and anti-oxidant activities, J. Mol. Struct. 1225 (2021) 121-129.
- [41] J. Z. Liu, B. A Song, H.T. Fan, P. S. Bhadury, W.T. Wan, S. Yang, W. M. Xu, J. Wu, L. H Jin, X. Wei, D.Y. Hu, S. Zeng, Eur. J. Med. Chem. 45 (2010) 5108-5112.
- [42] E. D. Naydenova, P. T. Todorov, M. N. Topashka-Ancheva, G.T. Momekov, T. Z. Yordanova, S.M. Konstantinov, K.D. Troev, Eur. J. Med. Chem. 43 (2008) 1199-1205.
- [43] B. C. Ranu, A. Hajra, Green. Chem. 4 (2002) 551.
- [44] M. M. Kabachnik, E.V. Zobnina, I. P. Beletskaya, Russ J. Org. Chem. 41 (2005) 5054.
- [45] L. Tusek-Bozik, M. Juribasic, M. Komac et al Let. Org. Chem. 4 (2007) 332.
- [46] B. A. Song, G.P. Zhang, S. Yang et al Ultrason. Sonochem. 13 (2006) 139.
- [47] P. P. Sun, X. Yang, Z. X. Hu, J. Chem. Res-s. 4 (2006) 240
- [48] K. Moedritzer, R. R. Irani, J. Org Chem. 31 (1966) 1603-1607.
- [49] M. M. Kabachnik, T. N. Ternovskaya, E.V. Zobnina, I. Beletskaya, P. Russ J. Org Chem. 38 4 (2002) 480-483.
- [50] M. I. Kabachnik, T.Y. Medved Dokl. Akad. Nauk. R. Vol 83 (1952) 689.
- [51] E. K. Fields, J. Am. Chem. Soc. 74 (1952) 1528-1531.
- [52] H. Takahashi, M. Yoshioka, N. Imai, K. Onimura, S. Kobayashi. Simple and improved preparation of α -aminophosphonic acid derivatives, key building blocks of phosphonopeptides, Synthesis. 8 (1994) 763.
- [53] S. Laschat, H. Kunz, Carbohydrates as chiral templates stereoselective of (R) and (S) α -aminophosphonic acid derivatives synthesis (1992) 90-95.
- [54] H. J. Ha, G.S. Nam, An efficient synthesis of anti-linobenzylphosphonates. Synth. Commun 22 (1992)1143-1148.
- [55] J. S. Yadav, B.V. S Reddy, S. Raj, K.B. Reddy, A.R. Prasad, Zr⁴⁺ Catalyzed efficient synthesis of aminophosphonates synthesis (2001) 2277-2280.
- [56] R. Gancarz , I. Gansarz. Tetrahedron Lett. 34 (1993) 145.

- [57] V. I. Krutikov, E. V. Sukhanovskaya, Tsarkova I. A. Russ. J. Gen. Chem.62 (1992) 2708.
- [58] R. A. Cherkasov et al. Russ. J. Gen. Chem. 41 (2005) 1481.
- [59] V. I. Krutikov Lavernt'ev, A. N. Sukhanovskaya E.V. Russ. J. Gen. Chem. 61(1991) 1321.
- [60] R. A. Cherkasov, Russ. Chem. Rev. 67. 10 (1998) 857-882.
- [61] T. Gajda, M. Matusiak, Synth Commun. 22. 15 (1992) 2193-2203.
- [62] M. E. Chalmers, G. M. Kosolappoff, J. Am. Chem. Soc 75 (1953) 5278.
- [63] H. J. Ha, G. S Nam, Synth. Comm. 22 (1992) 1143.
- [64] B. Boduszek, Tetrahedron. 52 (1996) 12483.
- [65] X. J. Mu, M.Y. Lei, J. P. Zou, W. Zhang, Tetr. Lett 47 (2006) 1125.
- [66] R. Daamiche, S. Chafaa, Synthesis of ne bioactive aminophosphonates and study of their antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities as well the assessment of their toxicological activity, J. Mol. Struc (2016) 1009-1017.
- [67] S. Boughaba, S. Bouacida, Z. Aouf, O. Bechiri, N. Aouf, $H_6P_2W_{18}O_{62}.14H_2O$ Catalyzed Synthesis, Spectral Characterization and X-ray Study of Aminophosphonates Containing Aminothiazole Moity, Current Organic Chemistry 22 (2018) 1-7.
- [68] S. De Lombaert, L. Blanchard, J. Tan, Y. Sakane, C. Berry, R.D. Ghai, Non-peptidic inhibitors of neutral endopeptidase 24.11 1. Discovery and optimization of potency, Bioorg. Med. Chem. Lett. 5 (1995) 145-150.
- [69] Kafarski, P. Lejczak, B. Phosphorus Sulfur Silicon Rel. 63 (1991) 193.
- [70] F. R. Atherton, C. H. Hassall, R.W. Lambert, J. Med. Chem 29 (1986) 29.
- [71] B. M. Teresa, P. A. M. Faisca Tetrahedron Asymmetry Vol 21 (2010) 2746-2752.
- [72] S. Kirkiacharian, Guide de chimie médicinale et médicament, édition TEC & DOC, Paris. Lovoisier (2010).
- [73] A. Janarhan Rao, P. Visweswara Rao, V. Koteswara Rao, C. Mohan, C. Naga Raju, C. Suresh Reddy, Microwave Assisted One pot Synthesis of Novel α -aminophosphonates and Their Biological Activity, Bull Korean. Chem. Soc. 31 (2010) 1865.
- [74] U. S. Pat. 3 988 (1976) 443.
- [75] M. Nakamura, T. Ando, M. Abe, K. Kumagai, Y. Endo ,B. R. J. Pharmacol. 119 (1996) 205

- [76] Eur. Pat. 100(1983) 718; C. A. 100(1984) 192078 j
- [77] H. Fliesh, I.N. Handbook of Experimental Pharmacology (ed P.F. Baker) Springer. Berlin. 83 (1988) 455.
- [78] D. A. McLeod, R. I. Brinkworth, J. A. Ashley, K. D. Janda, P. Wirsching. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1(1991) 653-658.
- [79] E. K. Fields, J. Am. Chem. Soc. 74 (1952) 1528-1531.
- [80] J. Sarapuk, D. bonarska Kujaa-Kbielecki, A. Dudra E. Grzys Z. Trela H. Kleszczyrska New Aminophosphonates Assessment of Biological Activity, Electronic J. of Polish Agri. Univer. (EJPAU) 12 4 (2009) 30.
- [81] M. J. Schwing-Weil, S. Chafaa, J. Meullemeestre, F. S. Vierling, Journal of Chemical Research Synopes. 6 (1995) 258-259.
- [82] N. Aliouane, S. Chafaa, T. Douadi, J. J. Helesbeux, M. A. Khan, G. Bouet, O. Duval, Heteroatom Chemistry. 21 (2010) 51-62.
- [83] O. Moumeni, S. Chafaa, R. Kerkour, K. Benbouguerra, N. Chafai, Synthesis, structural and anticorrosion properties of diethyl(phenylamino)methyl phosphonate derivatives: Experimental and theoretical study, J. Mol. Struct. 1206 (2020) 127-693.
- [84] M. Djenane, S. Chafaa, N. Chafai, R. Kerkour, A. Hellal, Synthesis, spectral properties and corrosion inhibition efficiency of new ethylhydrogen[(methoxyphenyl)(35ethyl amino)methyl]phosphonate derivatives: Experimental and theoretical investigation, J. Mol. Struct. [1175](#) (2018) 398-413.
- [85] N. Chafai, S. Chafaa, K. Benbouguerra, A. Hellal, M. Mehri, Synthesis, spectral analysis, anti-corrosive activity and theoretical study of an aromatic hydrazone derivative, J. Mol. Struct. 1181 (2019) 83-92.
- [86] S. Merah, L. Larabi, O. Abderrahim, Y. Harek, Study of corrosion inhibition of C38 steel in 1M HCl solution by polyethyleneiminemethylene phosphonic acid. Int. J. Ind. Chem 8 (2017) 263-272.
- [87] N. Chafai, S. Chafaa, K. Benbouguerra, D. Daoud, A. Hellal, M. Mehri, Synthesis, characterization and the inhibition activity of a new α -aminophosphonic derivative on the corrosion of XC48 carbon steel in 0.5 M H₂SO₄: Experimental and theoretical studies, J. Taiwan Inst. Chem. Eng. 70 (2017) 331-344.

[88] K. Benbouguerra, S. Chafaa, N. Chafai, M. Mehri, O. Moumeni, A. Hellal, Synthesis, spectroscopic characterization and a comparative study of the corrosion inhibitive efficiency of an α -aminophosphonate and Schiff base derivatives: Experimental and theoretical investigations, J. Mol. Struct. 1157 (2018) 165-176.

[89] D. C. Stepinski, D.W. Nelson, P. R. Zalupski, A.W. Herlinger, Tetrahedron. 57 (2001) 8637.

CHAPITRE II :
MATERIELS ET METHODES

II.1. Introduction

Ce chapitre regroupe le matériel, les réactifs, et l'ensemble des méthodes d'analyses physicochimiques et spectrales utilisées dans la synthèse et la caractérisation des acides aminophosphoniques ciblés dans ce travail.

II.2. La synthèse sous micro-onde

Dans une réaction chimique les liaisons des réactifs soient fragilisées pour être en mesure de se rompre et ainsi être à même d'établir d'autres liaisons

Le chauffage par micro-onde provoque une rotation ordonnée des molécules, ce qui correspond à une diminution d'entropie et donc une diminution de l'énergie d'activation, la réaction est donc facilitée par ce mode de chauffage.

L'échauffement du milieu réactionnel résulte du couplage des micro-ondes soit avec le solvant organique soit avec les réactifs (dissous dans un solvant non polaire)

La micro-onde utilisée est une micro-onde domestique multimode MWO720CR6S (IRIS) avec un plateau tournant à une fréquence faible (100 W) en présence d'un solvant polaire (éthanol).

II.2. Méthodes de caractérisation physicochimiques et spectrales

II.2.1. Chromatographie sur couche mince CCM

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

$$R_f = d_{\text{substance}} / d_{\text{solvant}} \quad (\text{II.1})$$

Avec : $d_{\text{substance}}$ est la distance parcourue par la substance et d_{solvant} est la distance parcourue par le solvant.

L'évolution des réactions de synthèse au cours du temps a été suivie par chromatographie sur couche mince CCM, en utilisant des plaques de silice GF254 Merck.

II.2.2. Mesure de la température de fusion

Le point de fusion est la température à laquelle un corps passe de l'état solide à l'état liquide. Plus les forces d'attraction entre les particules sont fortes, plus il faut d'énergie pour les surmonter. Plus il faut d'énergie, plus le point de fusion est élevé. Le point de fusion est souvent utilisé pour caractériser les composés cristallins organiques et inorganiques et vérifier leurs puretés. Les substances pures fondent à une température nette et bien défini.

La mesure du point de fusion est généralement réalisée dans des tubes capillaires fins en verre d'un diamètre interne de 1 mm et d'une épaisseur de paroi de 0.1 à 0.2 mm. L'échantillon finement broyé est placé dans le tube capillaire jusqu'à un niveau de remplissage de 2 à 3 mm, puis introduit dans un support chauffé (bain liquide ou bloc métallique) à proximité immédiate d'un thermomètre haute précision. La température du support est augmentée à une vitesse fixe programmable par l'utilisateur. Le processus de fusion est inspecté visuellement afin de déterminer le point de fusion de l'échantillon.

Les points de fusion des molécules synthétisées ont été déterminés à l'aide d'un Fusiomètre BUCHI Melting point B-540 avec un gradient de température, varie de 40°C à 999°C.

II.2.3. Caractérisation spectroscopique

Les méthodes spectroscopiques utilisées pour caractériser les acides α -aminophosphoniques synthétisés sont : la Spectrophotométrie UV-Visible, la spectroscopie infrarouge à transformé de Fourier (IR-TF) et la résonance magnétique nucléaire (RMN).

II.2.3.1 Spectrophotométrie UV-Visible

Un rayon ultraviolet (UV) est un rayonnement électromagnétique de même nature que la lumière visible mais dans les longueurs d'ondes inférieurs et donc non perceptible par l'œil. Leur faible longueur d'onde leurs confère une plus forte énergie que la lumière allant jusqu'à provoquer des brûlures sur le corps humain.

Le spectre des UV est subdivisé en trois bandes appelées UVA, UVB et UVC ([tableau II.1](#)). La tranche 200-320 nm, utilisé dans le domaine de la photogravure est appelée UV actiniques.

Tableaux II.1. Les trois bandes d'ultraviolet avec leurs longueurs d'ondes correspondantes.

Noms	Longueur d'onde
UVA	320-400 nm
UVB	290-320nm

UVC	100-280nm
-----	-----------

La spectrophotométrie UV-Vis est une technique spectroscopique qui consiste à mesurer l'absorbance (ou densité optique) d'une substance chimique en solution liquide dans les longueurs d'ondes se trouvent dans l'ultra violet (200-400 nm) ou dans le visible (400-750 nm). L'absorption d'un photon d'énergie $h\nu$ permet le passage d'un électron d'un niveau d'énergie à un autre c'est la transition électronique. Lorsqu'un atome est exposé à une lumière un de ces électrons de sa couche périphérique (ou plus rarement des couches internes) passe du niveau fondamental à un niveau d'énergie supérieur appelé niveau d'état excité. Ce phénomène s'appelle l'absorption. L'absorption provient d'une transition énergétique entre deux niveaux électroniques. Lorsque l'électron redescend, il émet de l'énergie sous forme lumineuse (photon) : c'est l'émission. Ces deux phénomènes peuvent être exploités pour servir des méthodes d'identification.

Tableau II.2 : Types de transitions des énergies dans chaque région dans le spectre électromagnétique.

Région de spectre	Transition d'énergie
Rayon X	Clivages de liaison
Ultraviolet-visible	Electronique
Infrarouge	Vibrationnelle
Micro-onde	Rotationnelle
Fréquence radio	Spin nucléaire

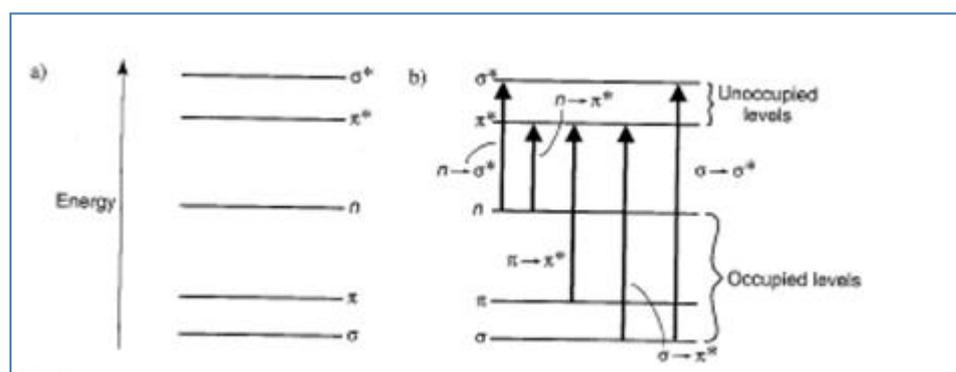


Figure II.1 : Niveaux d'énergie et transitions électroniques.

La relation entre la concentration d'un composé et son absorbance dans le domaine d'UV-Vis est exprimée par la loi de *Beer-Lambert*:

$$A = \epsilon cl = \log I_0/I \quad (\text{II.2})$$

Avec **A**: absorbance.

ϵ : Coefficient d'extinction molaire.

c: Concentration de la solution en mol/l.

l: L'épaisseur de la cuve.

I_0 : Intensité de la lumière incidente.

I: Intensité de la lumière transmise.

Les solutions étudiées doit être diluées et le solvant utilisé doit être convenable car elle peut influencer les valeurs de λ_{\max} et ϵ_{\max} [1].

Les spectres UV-Vis des molécules étudiés ont été obtenus dans la région 190-800 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis double faisceau type JASCO V-650 en utilisant la cuve en quartz avec un trajet optique de 1 cm. Les produits à analyser ont été dissous dans l'éthanol et les spectres obtenus ont été exploité par le logiciel ORIGINE 6.0.

II.2.3.2. La spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier

Une molécule illuminée par des radiations dans l'infrarouge peut absorber d'entre elles à des longueurs d'ondes qui correspondent aux fréquences de vibration des groupements chimiques qui le constituent. La mesure de l'intensité de lumière absorbée à chaque longueur d'onde (λ) conduit à un spectre caractéristique du produit étudié. Les analyses sont le plus souvent effectuées en transmission. Le spectre infrarouge obtenu représenté en transmittance $I/I_0=f(\bar{\nu})$ avec I c'est l'intensité et I_0 c'est l'intensité initiale en fonction du nombre d'onde (inverse de longueur d'onde), $\bar{\nu}$ nombre d'onde $=1/\lambda$ exprime en cm^{-1} . Ces techniques sont basées sur le fait que chaque liaison chimique dans un échantillon absorbe les radiations infrarouges à des fréquences caractéristiques.

La lumière infrarouge (IR) est une radiation de nature électromagnétique situé dans le domaine de nombre d'onde inférieur à 1250 cm^{-1} est sous divisé en trois catégories :

$1250\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$: Proche IR

$4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$: IR Moyen

Inférieur à 400 cm^{-1} : IR lointain

Les radiations IR provoquent la vibration des liaisons entre deux atomes dans une molécule organique. Pour interpréter le spectre IR on utilise des tableaux indiquant les plages d'absorption caractéristiques de différentes fonctions chimiques. Pour le domaine IR les transitions d'énergie sont de type vibrationnelle ou rotationnelle. On peut diviser le spectre IR en trois zones principales :

Zone des fonctions (4000-1500) : les pics dans cette zone correspondant aux transitions vibrationnelles d'élongation.

Empreinte digitale (1500-1000) : c'est une région complexe comporte plusieurs petits pics correspondant notamment aux transitions vibrationnelles de déformation.

Région de faible énergie (1000-400) : cette partie correspond aux transitions vibrationnelles de déformation hors du plan.

Les spectres infrarouges (ATR/FTIR) des quatre acides α -aminophosphoniques synthétisés ont été enregistrés entre 500 et 4000 cm^{-1} à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge de type JASCO 4200 à l'état solide. Les spectres obtenus ont été traités par le logiciel ORIGINE 6.0.

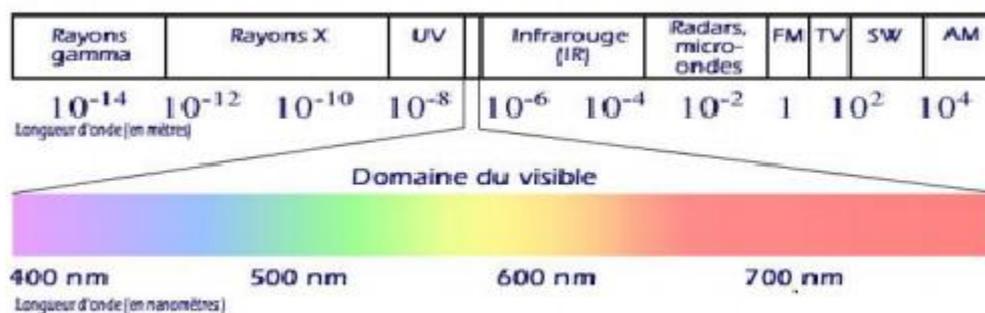


Figure II.2 : Spectre électromagnétique avec les longueurs d'ondes.

II.2.3.3. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une méthode spectroscopique permettant l'identification des structures chimiques de certains composés organiques et certains matériaux inorganiques.

La résonance magnétique nucléaire en milieu liquide est une technique puissante non destructive permettant de déterminer la structure des molécules chimiques. Elle est basée sur la propriété magnétique de certains atomes (ou noyaux) comme le proton (^1H), le carbone (^{13}C) et le phosphore (^{31}P).

Les spectres RMN du proton ^1H , du carbone ^{13}C et du phosphore ^{31}P ont été enregistrés sur un appareil Bruker 400MHz en utilisant le DMSO- d_6 comme solvant et le tétraméthyle silane (TMS) comme référence, les déplacements chimiques en partie par million (ppm), la multiplicité des signaux a été rapportée par des abréviations comme : (s) singulet, (d) doublet, (t) triplet, (q) quadruplet, (m) multiplet. Les données ont été exploitées avec le logiciel MestReNova.

II.3. Méthodes d'évaluation des activités biologiques

II.3. 1. Réactifs et solvants

Tous les produits chimiques utilisés dans le présent travail sont de marque Sigma-Aldrich et Fluka.

➤ Solvants

Ils sont utilisés sans purification préalable.

Méthanol (CH₃OH 99.8%) T_{éb}=64.7

Ethanol (C₂H₅OH) T_{éb}=78

DMSO (diméthylsulfoxyde C₂H₆OS) T_{éb}=64.7

➤ Réactifs

- DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl);
- ABTS (acide 2,2'-Azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-acide sulfonique)) ;
- BHA (Hydroxyanisole butylé) ;
- BHT (Hydroxytoluène butylé) ;
- K₂S₂O₈ (persulfate de potassium) ;
- FeCl₃ (Chlorure de fer) ;
- 1,10-Phenanthroline ;
- Dextrose ;
- Agar agar.

II.3. 2. Activité antioxydante

Le terme antioxydant désigne toute substance qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxygène, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat [2]. Les radicaux libres comme les espèces réactives oxygénées (ROS) et les espèces réactives azotées (RNS) sont responsables sur le dommage de biomolécules cellulaires qui résulte des maladies dégénératives [3]. Les antioxydants prévenir le dommage oxydative provoqué par les ROS et donne une résistance contre le stress oxydative par l'inhibition des radicaux libres [4].

Il existe plusieurs méthodes pour l'évaluation de l'activité antioxydante, on choisi trois méthodes simples pour l'évaluation de l'activité antioxydante des molécules synthétisées : la méthode de DPPH, ABTS et Phenanthroline. Pour la lecture d'absorbance on a utilisé un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 µl pour chaque puits.

II.3. 2.1. Méthode de DPPH

La méthode de DPPH est une méthode ancienne et très populaire pour mesurer l'activité antioxydante d'un composé. Le DPPH est un radical libre à température ambiante, il reçoit un électron pour devenir une molécule diamagnétique stable, cette méthode consiste à mesurer la réduction de DPPH[•] par un antioxydant [5]. La solution méthanolique de DPPH est caractérisée par son spectre UV avec un maximum d'absorbance à 517 nm [6].

L'activité antioxydante des molécules synthétisées 5N2TPA, 5N3TPA, 4M3TPA et 5M3TPA a été déterminée par le radical stable DPPH selon la méthode de Blois et al [7]. En résumé un volume de 40 µl de différentes concentrations (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 et 3.125 µg/ml) des molécules étudiées et des standards BHT et BHA, tous ont été préparés en méthanol est ajoutée à 160 µl de la solution méthanolique de DPPH (10⁻⁴ mol. L⁻¹) en triplicata, après le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 30 min. La diminution de l'absorbance a été mesurée par rapport à un blanc (méthanol) à 517 nm.

Le DPPH est instable à la lumière c'est pourquoi les tests réalisés doivent se faire dans l'obscurité [8]. Le pourcentage d'inhibition des différentes molécules testées a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$I\% = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{échant}})/A_{\text{blanc}}] \times 100 \quad (\text{II.3})$$

Avec I% c'est le pourcentage de l'activité antioxydante des molécules, A_{blanc} est l'absorbance du contrôle négatif (contient tous les réactifs sauf la molécule testée) A_{échant} est l'absorbance d'échantillon. Les valeurs de 50 % d'inhibition de la concentration (IC₅₀) ont été calculées en utilisant la régression linéaire des spectres de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations.

Les valeurs d'IC₅₀ ont été rapportées comme moyennes SD (l'écart type (standard déviation en anglais)) des trois répétitions.

II.3. 2.2. Méthode d'ABTS scavenging

La méthode d'ABTS (acide 2,2'-Azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-acide sulfonique) est une méthode spectrophotométrique qui mesure la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cation libre ABTS^{•+}. En réagissant avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈), l'ABTS forme le radical cation ABTS^{•+} de couleur bleu (à verte). L'ajout d'un antioxydant va réduire ce radical et provoque la décoloration du mélange, cette décoloration du radical est mesurée par spectrophotométrie à 734 nm qui est proportionnelle à la concentration en antioxydant [9]. Cette méthode est développée par Miller et al [10] et adaptée par Pelligrini [11] l'avantage de cette méthode c'est la simplicité et la possibilité de l'utiliser dans les lipides (lipophile) et les phases aqueuses (hydrophile) [12], aussi cette méthode est utilisée pour tester la capacité antioxydante dans les aliments. En addition, le

radicale ABTS possède un pH stable à un long domaine qui aide à étudier l'effet du pH sur le mécanisme des antioxydants [13].

L'activité scavenger du radical ABTS des acides α -aminophosphoniques (5N2TPA, 5N3TPA, 4M3TPA et 5M3TPA) a été évaluée selon la méthode de Re et al [14]. Le radicale ABTS \cdot^+ a été préparé comme suit : un mélange de 19,2 mg (7 mM) d'ABTS et de 3,3 mg K₂S₂O₈ (2.45 mM) est préparé dans l'éthanol. Après le mélange a été sauvegardé pour 12-16 heures dans l'obscurité à température ambiante avant l'usage, cette solution est diluée avec l'éthanol pour avoir une absorbance de 0.700 ± 0.020 à 734 nm. 160 μ l de la solution d'ABTS est ajouté aux différentes concentrations des molécules étudiées et des standards (50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.78125 μ g/ml). On mesure l'absorbance après 10 min à 734 nm.

Le pourcentage d'inhibition est calculé en utilisant la même formule du test DPPH, formule (II.3).

II.3. 2.3. La méthode de Phenantroline

La méthode de Phenantroline est une méthode appliquée pour mesurer la capacité antioxydante totale des antioxydants. Cette méthode est basée sur la réduction de Fe³⁺ par un agent antioxydant pour donner l'ion Fe²⁺ qui ensuite réagit avec la Phenantroline pour donner un complexe de couleur rouge orangé et qui absorbe à 510 nm.

L'activité antioxydante des acides α -aminophosphoniques synthétisés a été déterminée avec le test phenantroline selon le protocole de Szydłowska-Czerniaka et al [15]. En bref, 50 μ l de 0.2% de FeCl₃ (0.02g de FeCl₃ dans 10 ml de H₂O) est ajoutée à 30 μ l de 0.5% de Phenanthroline (0.05g de 1,10-Phenanthroline dans 10 ml de MeOH) et mélangé ensuite avec 110 μ l de méthanol et 10 μ l des différentes concentrations des échantillons et des standards (50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.78125 μ g/ml). Le mélange final est incubé à l'obscurité pendant 20 min à 30 °C et l'absorbance a été mesurée à 510 nm.

II.3.3. Activité antifongique

L'activité antifongique des molécules étudiées a été évaluée selon la méthode de disque [16].

II.3. 3.1. Choix des souches fongiques étudiées

- *Fusarium oxysporum* : c'est un agent pathogène, responsable de la fusariose de la tomate, parasite de plante, comprenant de nombreuses *formae speciales* (f.sp) qui infecte collectivement plus de 100 hôte différent, provoquant des pertes économiques importantes chez de nombreuses plantes cultivées comme le bananier, le cotonnier, le melon, la tomate, oignon, ail, pomme de terre...etc. [17] provoque une pourriture des tissus avec apparition d'un mycélium blanc rosé à la surface.
- *Alternaria alternata* : c'est un organisme phytopathogène. Elles sont les agents habituels de la décomposition de la matière végétale. Les spores de *l'alternaria* sont aéroportées et sont trouvées dans la terre et dans l'eau ainsi qu'en environnement intérieur. *L'alternaria* se développe sur une variété de substrats, il peut croître à des températures de 2 °C à 32 °C et un pH allant de 2.7 à 8. *Alternaria alternata* est une espèce toxique et pathogène elle peut provoquer chez l'homme des affections épidermiques, des allergies respiratoires, de l'asthme, des mycoses cutanées et chez les végétaux provoque des pourritures, taches noires, rouille ...sur les différents organes de la plante.

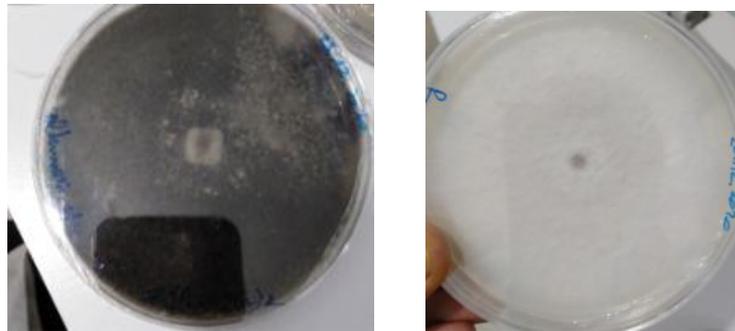


Figure II.3 : Aspect des deux souches fongiques à droite : *A.alternata*, à gauche : *F.oxysporum*.

La culture des souches a été faite trois semaines avant le test dans un milieu adéquat dans notre cas c'est le PDA, à l'aide d'une pipette pasteur en prépare des disques de 6 mm de diamètre des deux champignons.

II.3. 3.2. Préparation du milieu de culture

Le PDA (**p**otato **d**extrose **a**gar) est préparé comme suit, on prend 200 g de pomme de terre, on la peler et couper en petite morceaux, on fait bouillir les pommes de terre dans un litre d'eau distillé et après 10 mn on prend l'extrait aqueux de pomme de terre après

refroidissement on ajoute 20 g de dextrose (sucre) et 20 g d'agar agar (permet de solidifier le milieu).

II.3. 3.3. Préparation des produits et autoclavage de milieu de culture

On met 100 ml de milieu de culture dans des erlenmeyers propres, et chaque erlen donne 4 boîtes de pétrie c'est-à-dire trois répétitions pour chaque produit.

On place les erlens dans un autoclave pour la stérilisation pendant 2 h et 30 mn (figure II.4).

Les molécules testées ont été dissous dans le DMSO à différentes concentrations (50, 100 µg/ml).

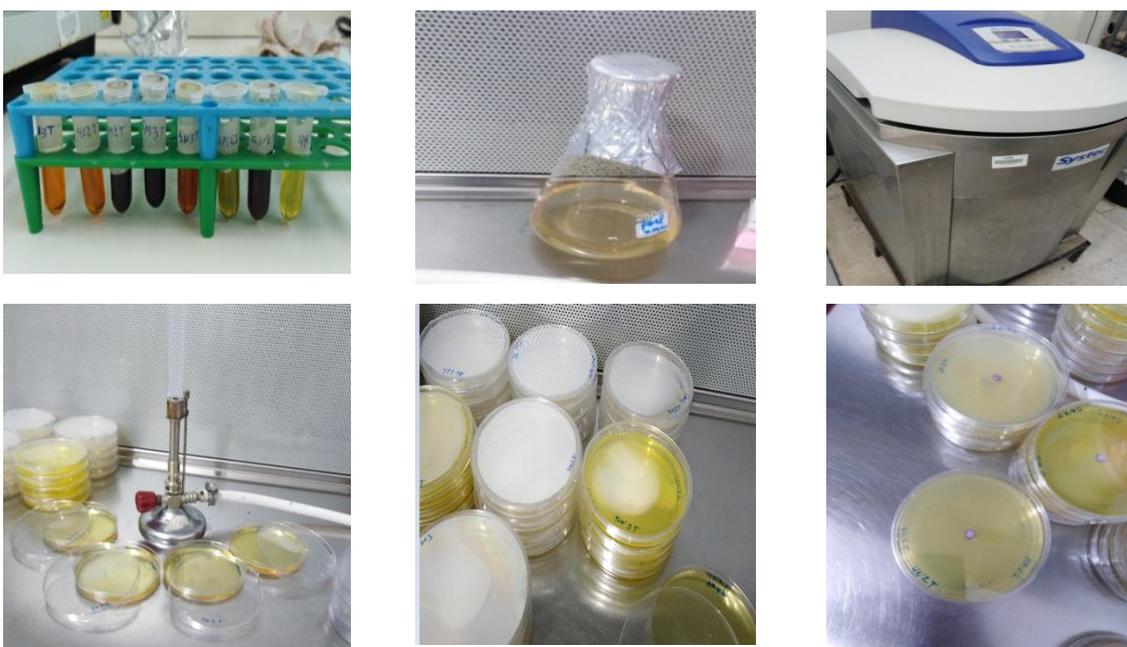


Figure II.4 : Représentation photographique des différentes étapes du protocole expérimentale de l'activité anti fongique.

II.3. 3.4. Dépôt des disques

Le milieu PDA est coulé dans des boîtes pétrie et laissé solidifier, on travaille toujours à côté d'un bec benzène pour assurer une zone stérile, laisser les boîtes 10 minutes avant de déposer les disques, pour chaque souche testée, des disques de 6 mm de souche fongique ont été déposés sur la surface de la boîte pétrie contenant des milieux PDA. D'autres disques sont placés dans les boîtes toujours contenant des milieux PDA seul qui est utilisé comme contrôle négative et pour le contrôle positif on ajoute le DMSO avec le milieu et on place les disques avec la même manière.

II.3. 3.5. Incubation et lecture

Les boîtes de pétrie sont incubées dans une étuve à 25 °C pendant 6 jours et la lecture se fait par la mesure de diamètre de zone d'inhibition à l'aide d'une règle en millimètre pour chaque boîte et chaque produit est répété trois fois.

Plus le diamètre est petit plus le produit testé est puissant d'inhiber la souche. Les résultats ont été exprimés par la mesure de diamètre de zone d'inhibition en (mm).

II.4. Conclusion

Nous avons présenté les réactifs et le matériel utilisé dans la synthèse des acides phosphoniques ainsi les différentes méthodes de caractérisation physicochimique et spectrale. Les résultats de caractérisations sont détaillés dans le chapitre suivant.

Références bibliographique

- [1] M. Chavanne, A. Jullien, E. Flamand, Chimie organique expérimentale. Beaudou 2^{ème} édition, (1998).
- [2] A. M. Pisoschi, Pop, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress. European journal of medicinal chemistry. 97(2015) 55-74.
- [3] T. A. Olaniyi, S. A. Adeniran, L. A. Adebayo, K. A. Olusegum, T. A. Oyedeji, Antioxidant and anti-lipid peroxidation potentials of the ethylacetate and chloroform extracts of basella alba leaves. Asian. J. Nat. Appl. Sci. 22 (2013).

- [4] K. Pavithra, S. Vadivukkarasi, Evaluation of free radical scavenging activity of various extracts of leaves from *kedrostis foetidissima* (Jacq) Cogn. Food. Sci. Hum. Wellness. 4 1 (2015) 42-46.
- [5] A. Favier, Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimique. l'actualité chimique. (2003)108-115.
- [6] P. Molyneux, the use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Originate article polymer chemistry. (2003) 211-219
- [7] M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature. 4617 (181) (1958)1119-1200.
- [8] E. Portes, Synthèse et Etude de Tetrahydrocuminoïdes : propriété photochimique et antioxydante, application à la préservation de matériaux d'origine naturelle. Thèse de doctorat en chimie organique, Université Bordeaux (2008).
- [9] Zaabat, N. Darbour, N. Bayet, C. Michalet, S. Doléans-Jordheim, A. Chekir-Ghedira, L. Akkal Sdijoux-Franca M. G, Etude Préliminaire de *Marrubium deserti* de Noé une Lamiaceau endémique algérienne. Phytothérapie. 8 (2010) 353-358.
- [10] N. J. Miller, Diplock, A.T. Rice-Evans, C. Davies, M.J. Gopinathan, V. Milner A. A novel method for measuring antioxidant and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science 84 (1993) 407-412.
- [11] Re. R. Pelligrini, N. Proteggente, A. Pannala, A. Yang, M. Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolouration assay. Free Radical Biology and Medicine. 26 (1999) 1231-1237.
- [12] J. K Moon, T. Shibamoto. Antioxidant assays for plant and food components. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 57 (2009) 1655-1666.
- [13] A. R. Ndhala, Moyo, M. Van, Staden, J. Natural antioxidants Fascinating or mythical biomolecules? Molecules.15 (2010) 6905-6930.
- [14] Re, R. Pellegrini, N. Proteggente, A. Pannala, A. Yang, M. Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Radical Bio. Med. 26 (1999) 1231–1237.
- [15] Szydłowska-Czerniaka, A. Dianoczki, C. Recseg , K. Karlovits, G. Szlyk, E. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. Talanta. 76 (2008) 899-905.

[16] Bauer, A.W. Kirby, M. M. Sherris, J. C. Truck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 45(1966) 493-496.

[17] Ralph dean et al, The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Molecular plant pathology. 13 (2012) 414-430.

CHAPITRE III :
SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATI

III.1. Introduction

Ce chapitre regroupe d'une part les protocoles expérimentaux de synthèse des acides α -aminophosphoniques ciblés, à savoir :

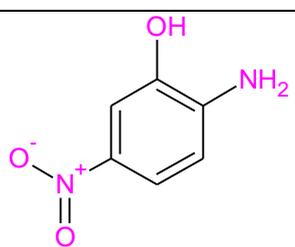
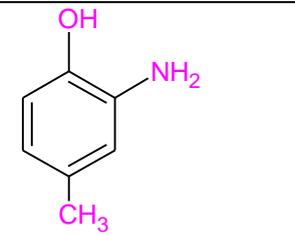
- ✓ L'acide [(2-hydroxy-4-nitrophenyl) amino] (thiophen-2-yl) méthylphosphonique (**5N2TPA**) ;
- ✓ L'acide [(2-hydroxy-4-nitrophenyl) amino] (thiophen-3-yl) méthylphosphonique (**5N3TPA**) ;
- ✓ L'acide [(2-hydroxy-5-méthylphenyl) amino] (thiophen-3-yl) méthylphosphonique (**4M3TPA**) ;
- ✓ L'acide [(2-hydroxy-4-méthylphenyl) amino] (thiophen-3-yl) méthylphosphonique (**5M3TPA**).

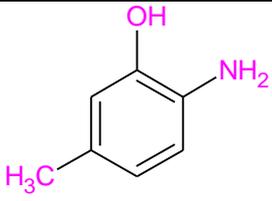
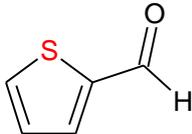
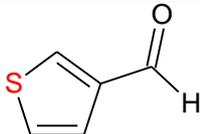
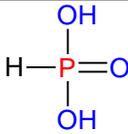
Et d'autre part, les résultats de caractérisations physicochimiques et spectroscopiques des molécules synthétisées telles que l'UV-Vis, FT-IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C et RMN ^{31}P ont été présentés dans ce chapitre.

III.2. Les réactifs utilisés

Tous les produits chimiques utilisés dans ce travail sont des produits commercialisés de type **Sigma Aldrich** ou **Fluka** ils sont utilisés sans traitement préalable.

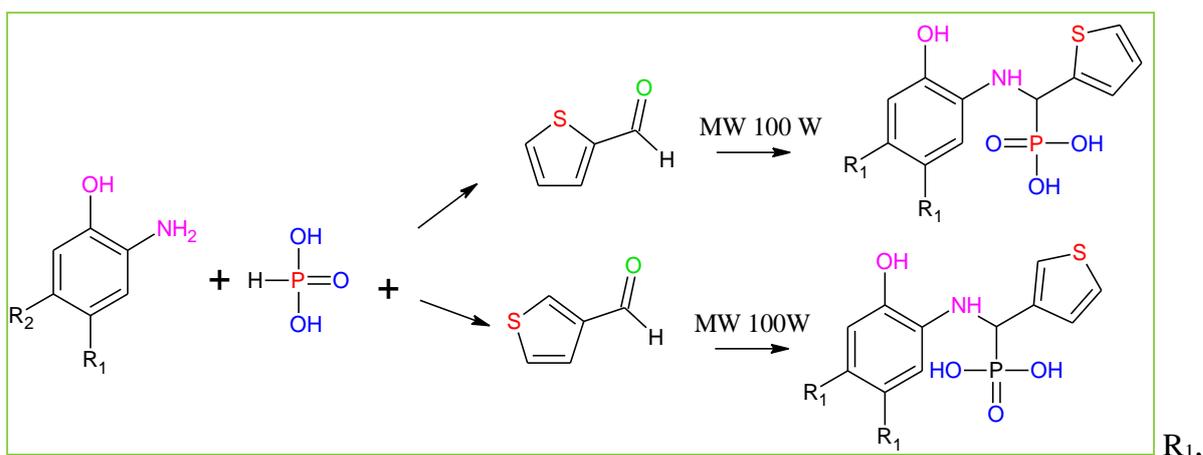
Tableau III.1 : Propriétés physicochimiques des réactifs utilisés.

Réactifs	Pureté	Formule brute	M (g/mol)	Densité	Structure chimique
2-amino-5-nitrophénol	99%	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3\text{N}_2$	154	/	
2-amino-4-méthylphénol	99%	$\text{C}_7\text{H}_9\text{ON}$	123	/	

2-amino-5-méthylphénol	99%	C ₇ H ₉ ON	123	/	
2-thiophénecarboxaldehyde	98%	C ₅ H ₄ OS	112.15	1.20	
3-thiophénecarboxaldehyde	98%	C ₅ H ₄ OS	112.15	1.28	
L'acide phosphoreux	50%	H ₃ PO ₃	82	1.65	

III. 3. Protocol générale de synthèse des acides aminophosphoniques

Pour préparer les acides aminophosphoniques, on mélange 1.0 mmol de l'amine(2-amino-5-nitrophénol (0.154 g), 2-amino-4-méthylphénol (0.123 g) et l'amine 2-amino-5-méthylphénol (0.123 g) dissout dans l'éthanol (minimum de solvant) avec 1.0 mmol d'acide phosphoreux (0.12 ml en excès) dans une erlenmeyer, ensuite on ajoute 1.0 mmol d'aldehyde le 2-thiophénecarboxaldehyde (0.091 ml) ou le 3-thiophénecarboxaldehyde (0.085ml) goutte à goutte et on place un entonnoir sur l'erlenmeyer pour éviter la perte du solvant lors de l'irradiation avec la micro-onde. Ce mélange est alors mis sous la micro-onde à une fréquence faible (100 W) pendant 3-8 min et on suit la réaction par CCM, le mélange réactionnelle est refroidit dans un bain de glace et laissé sécher à température ambiante. La séquence réactionnelle générale est représentée dans le schéma suivant :



R_2 : H, NO₂, CH₃

Schéma III.1 : Séquence réactionnelle de synthèse des acides aminophosphoniques.

III.4. Mécanisme réactionnel

Le mécanisme réactionnel proposé pour la synthèse est le suivant :

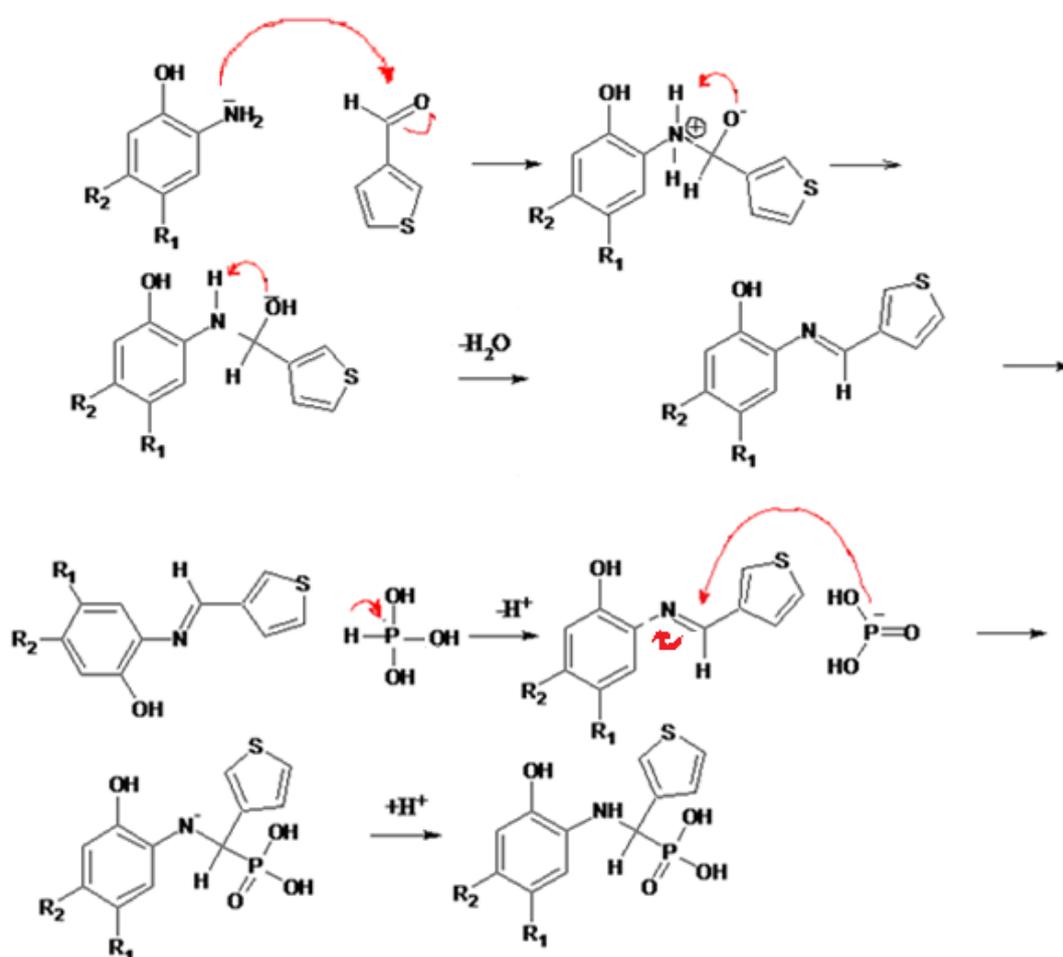


Schéma III.2 : Mécanisme réactionnel.

III.5. Rendements de synthèse sous irradiations micro-onde

L'utilisation d'irradiations micro-ondes dans le protocole de synthèse des quatre acides α -aminophosphoniques ciblés nous a permis d'obtenir des rendements très importants dans des durées très courtes (Tableau III. 2).

Tableau III.2 : Rendements et temps de synthèse des α -aminophosphonates (5N2TPA, 5N3TPA et 5M3TPA) sous irradiations micro-onde et le 4M3TPA sans micro-onde.

Molécule	R ₁	R ₂	Aldéhyde	Masse moléculaire (g/mol)	Temps (min)	Rendement (%)
5N2TPA	H	NO ₂	2-thiophène-carboxaldéhyde	330	8 min	96.96
5N3TPA	H	NO ₂	3-thiophène-carboxaldéhyde	330	4 min	95.75
4M3TPA	CH ₃	H	3-thiophène-carboxaldéhyde	299	(Instantané)	86.95
5M3TPA	H	CH ₃	3-thiophène-carboxaldéhyde	299	3 min 30s	96.98

III.6. Caractérisation des acides α -aminophosphoniques synthétisés

III.6.1. Propriétés physicochimiques

III.6.1.1. Aspect et couleur

L'aspect des molécules synthétisées est représenté dans la [figure III.1](#) et décrit dans le [tableau III. 3](#).

Tableau III.3 : L'aspect et couleurs des composés synthétisés.

Produits	Aspects
----------	---------

5N2TPA	Cristaux noir
5N3TPA	Cristaux marron rectangulaires
4M3TPA	Poudre cristalline jaune-marron brillante
5M3TPA	Poudre cristalline noir brillante

Selon le **Tableau III.3** on remarque que les deux acides 5N2TPA et 5N3TPA sont des cristaux et les acides 4M3TPA et 5M3TPA sont des poudres cristallines.

III.6.1.2. Solubilité

La solubilité est la capacité d'un soluté à se dissoudre dans un solvant, pour former un mélange homogène appelé solution.

La solubilité des quatre acides α -aminophosphoniques synthétisés a été testée dans différents solvants et les résultats obtenus sont regroupés dans le **Tableau III.4**. Généralement, la solubilité est une propriété importante qui donne une idée sur le solvant approprié pour solubiliser nos produits afin de les utiliser facilement dans la caractérisation spectrale (UV-Vis et RMN) et dans les applications biologiques.

Tableau III.4 : Tests de solubilité des quatre acides synthétisés dans quelques solvants.

Solvants	5M3TPA	5N3TPA	4M3TPA	5N2TPA
Eau	Ins	Ins	Ins	Ins
Ethanol	Très solu	Très solu	Très solu	Très solu
Méthanol	Très solu	Très solu	Très solu	Très solu
Propanol	Très solu	Très solu	Très solu	Très solu
Acétate d'éthyle	Peu solu	Peu solu	Peu solu	Peu solu
n-Hexane	Ins	Ins	Ins	Ins
DCM	Ins	Ins	Ins	Ins

DMF	Très solu	Très solu	Très solu	Très solu
Acétone	Peu solu	Peu solu	Peu solu	Peu solu
Ether de pétrole	Ins	Ins	Ins	Ins
Benzène	Ins	Ins	Ins	Ins
Toluène	Ins	Ins	Ins	Ins
DMSO	Très solu	Très solu	Très solu	Très solu

Ins : insoluble, Peu solu : peu soluble, Très solu: très soluble.

Les résultats des tests de solubilité révèlent que les acides α -aminophosphoniques synthétisés sont très solubles dans les solvants organiques polaires comme : Ethanol, méthanol, propanol, DMSO...Mais ils sont insoluble dans les solvants apolaire comme : Benzène, Toluène... et les quatre molécules synthétisées ne sont pas solubles dans l'eau.

III.6.1.3. Point de fusion

Les points de fusion des produits synthétisés et celles des produits de départ sont représentés dans le [Tableau III.5](#).

Tableau III.5 : Températures de fusion des produits de départ et des produits synthétisés.

Produits de départ	T _f (°C)	Produits synthétisé	T _f (°C)
2 amino 5-nitro phénol	198-202	5N2TPA	159 ,6
		5N3TPA	148,8
2 amino 4-méthyl phénol	133-136	4M3TPA	188
2 amino 5-méthyl phénol	159-162	5M3TPA	180

On observe que les points de fusion (T_f) des produits synthétisés sont différents aux celles des produits de départ. Ces résultats révèlent l'obtention des nouveaux produits.

III.6.1.4. Autres propriétés physico-chimiques calculées par ChemSketch

Le tableau III.6 regroupe quelques propriétés physico-chimiques des acides aminophosphoniques synthétisés calculées par ChemSketch.

Tableau III.6 : Quelques propriétés physico-chimiques théoriques des quatre acides étudiés calculées par ChemSketch.

Les propriétés	5N2TPA	5N3TPA	4M3TPA	5M3TPA
Formule chimique	C ₁₁ H ₁₁ N ₂ O ₆ PS	C ₁₁ H ₁₁ N ₂ O ₆ PS	C ₁₂ H ₁₄ NO ₄ PS	C ₁₂ H ₁₄ NO ₄ PS
Masse molaire	330.253602	330.253602	299.282622	299.282622
Composition	C(40.00%) H(3.36%) N(8.48%) O(29.07%) P(9.38%) S(9.71%)	C(40.00%) H(3.36%) N(8.48%) O(29.07%) P(9.38%) S(9.71%)	C(48.16%) H(4.71%) N(4.68%) O(21.38%) P(10.35%) S(10.71%)	C(48.16%) H(4.71%) N(4.68%) O(21.38%) P(10.35%) S(10.71%)
Réactivité molaire	77.10 ± 0.3 cm ³	77.10 ± 0.3 cm ³	75.38 ± 0.3 cm ³	75.38 ± 0.3 cm ³
Volume molaire	189.2 ± 3.0 cm ³	189.2 ± 3.0 cm ³	193.6 ± 3.0 cm ³	193.6 ± 3.0 cm ³
Parachor	596.1 ± 4.0 cm ³	596.1 ± 4.0 cm ³	578.3 ± 4.0 cm ³	578.3 ± 4.0 cm ³
Indice de réfraction	1.750 ± 0.02	1.750 ± 0.02	1.706 ± 0.02	1.706 ± 0.02
Tension de	98.4 ± 3.0			

surface	dyne/cm	98.4 ± 3.0 dyne/cm	79.5 ± 3.0 dyne/cm	79.5 ± 3.0 dyne/cm
Densité	1.745 ± 0.06 g/cm ³	1.745 ± 0.06 g/cm ³	1.545 ± 0.06 g/cm ³	1.545 ± 0.06 g/cm ³
Constant diélectrique	Pas disponible	Pas disponible	Pas disponible	Pas disponible
Polarisabilité	30.56 ± 0.5 10 ⁻²⁴ cm ³	30.56 ± 0.5 10 ⁻²⁴ cm ³	29.88 ± 0.5 10 ⁻²⁴ cm ³	29.88 ± 0.5 10 ⁻²⁴ cm ³
Masse monoisotopique	330.007542 Da	330.007542 Da	299.038114 Da	299.038114 Da
Masse Nominal	330 Da	330 Da	299 Da	299 Da
Masse moyenne	330.2536 Da	330.2536 Da	299.2826 Da	299.2826 Da

III.6.2. Caractérisation par CCM

Les rapports frontaux des molécules synthétisées avec un système d'élution contenant le Toluène/EtOH (0.5/4.5) sont exposés dans le **Tableau III.7**.

Tableau III.7 : Les rapports frontaux des molécules synthétisées.

Les produits	R _f
5N2TPA	0,5
5N3TPA	0,6
4M3TPA	0,3
5M3TPA	0,4

A partir du **Tableau III.7** on peut dire que l'acide 5N3TPA migre rapidement, par contre la molécule 4M3TPA est plus retenue.

III.6.3. Caractérisation spectrale

III.6.3.1. Caractérisations par spectroscopie UV-Vis

Les spectres d'absorption UV-Vis des molécules synthétisées ont été enregistrés dans l'éthanol à température ambiante et dans le domaine allant de 190 à 800 nm. Dans ce contexte, les spectres UV-Vis obtenus des acides α -aminophosphoniques et leurs amines de départ sont présentés par les figures III.3, III.4, III.5, III.6 et III.7.

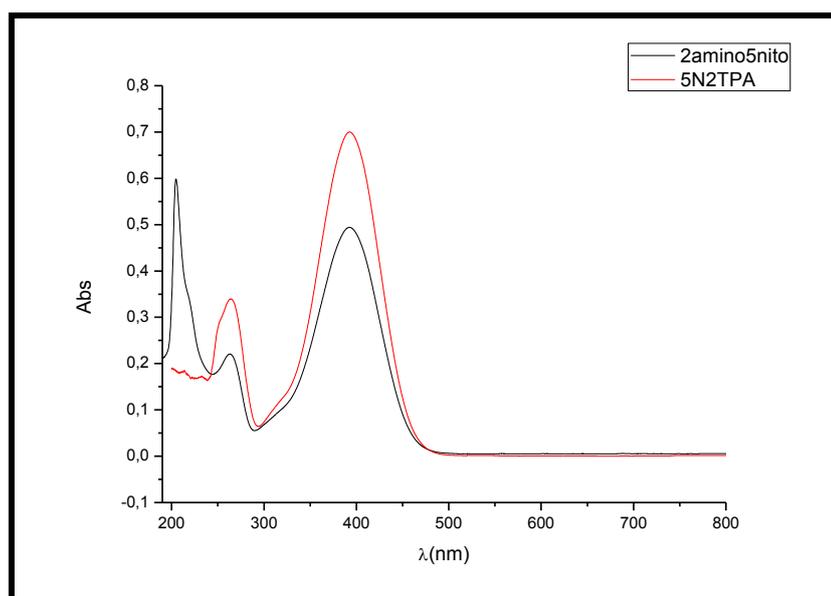


Figure III.3 : Spectres UV-Vis de l'acide 5N2TPA et de l'amine 2-amino-5-nitrophénol enregistrés dans l'éthanol.

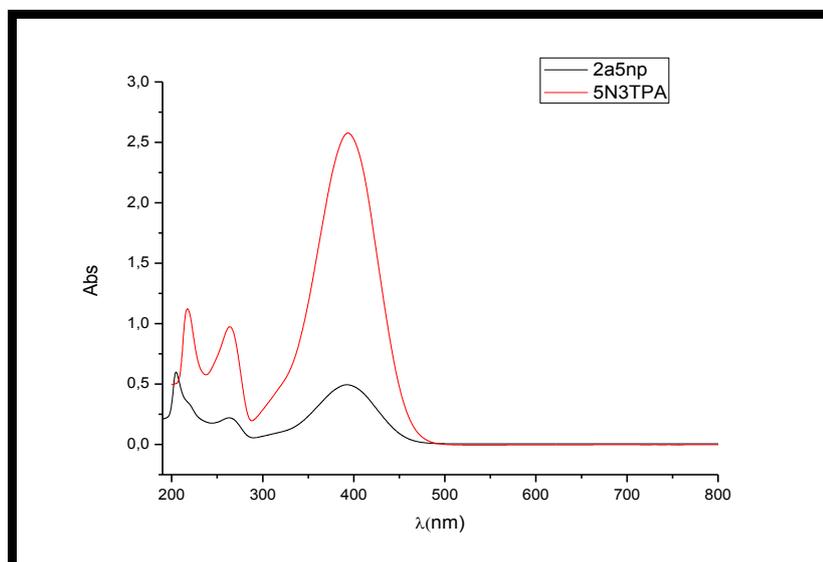


Figure III.4: Spectres UV-Vis de 5N3TPA et 2-amino-5-nitrophénol enregistrés dans l'éthanol.

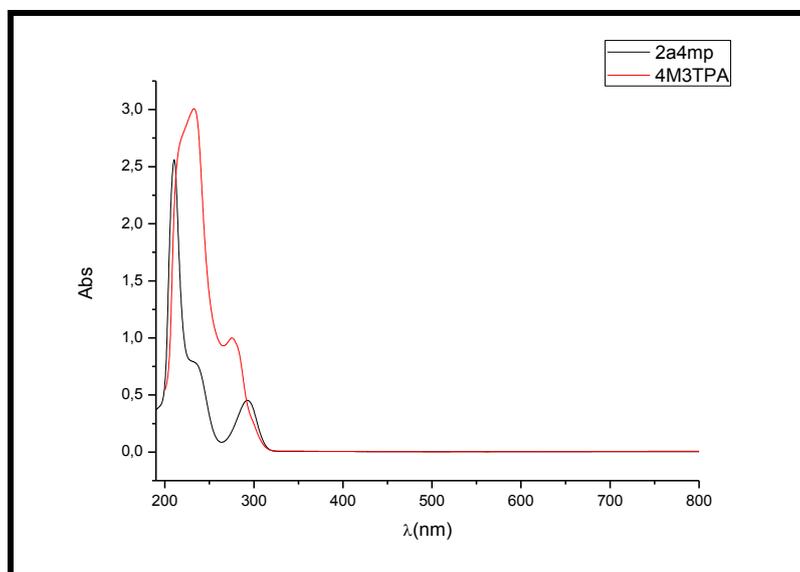


Figure III.5 : Spectres UV-Vis de 4M3TPA et 2-amino-4-méthylphénol enregistrés dans l'éthanol.

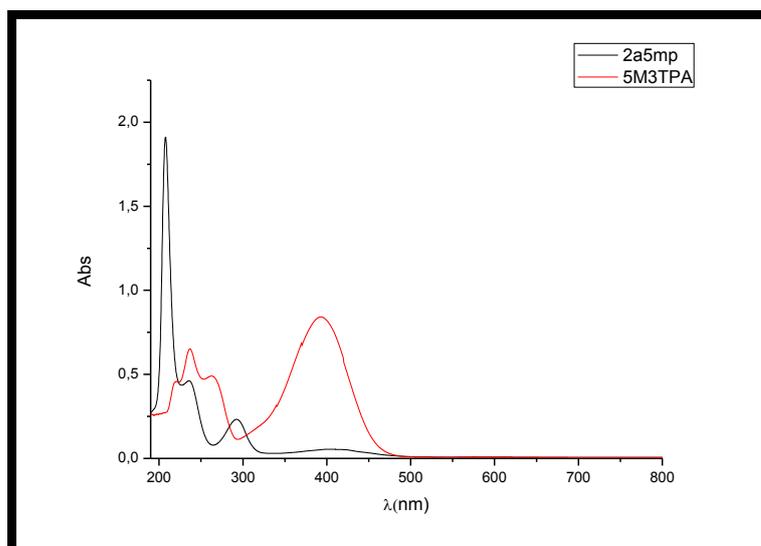


Figure III.6 : Spectres UV-Vis de 5M3TPA et 2-amino-5-méthylphénol enregistrés dans l'éthanol.

L'observation préliminaire des spectres des molécules synthétisées enregistrés à une concentration de 10^{-4} M montre qu'ils présentent un effet Hyperchrome et Bathochromes.

L'apparition de ces bandes dans la région UV correspond aux transitions électroniques $n \rightarrow \sigma^*$ due à la présence des hétéroatomes (O, N, P et S) [1].

Selon les résultats présentés dans le tableau III.8 on observe que :

- Les spectres UV-Vis des produits de départ indiquent des bandes autour de 210-390 nm correspond à la transition électronique $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$ due à une conjugaison dans un système insaturé (aminophénol) et à la présence des hétéroatomes (O et N) ;
- L'acide 5N2TPA montre deux bandes d'absorption : une bande moyenne située à $\lambda_{\max 1} = 264,05$ nm et une bande forte située à $\lambda_{\max 2} = 392,84$ nm, ces bandes caractéristiques sont correspondantes aux transitions électroniques $n \rightarrow \pi^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$, respectivement ;
- L'acide 5N3TPA présente trois bandes d'absorption : deux bandes d'intensités moyennes situées à $\lambda_{\max 1} = 217,44$ nm et $\lambda_{\max 2} = 264,05$ nm et une bande forte à $\lambda_{\max 3} = 392,84$ nm, ces trois bandes sont correspondantes aux transitions électroniques $n \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \sigma^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$, respectivement ;
- L'acide 4M3TPA indique trois bandes d'absorption : une bande forte à $\lambda_{\max 1} = 209,57$ nm et deux épaulements à $\lambda_{\max 2} = 225,13$ nm et à $\lambda_{\max 3} = 278,54$ nm, qui sont attribués aux transitions électroniques $n \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \sigma^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$, respectivement ;
- L'acide 5M3TPA présente trois bandes d'absorption ; une bande moyenne à $\lambda_{\max 1} = 218,93$ nm, un épaulement à $\lambda_{\max 2} = 236,50$ nm et une bande forte située à $\lambda_{\max 3} = 262,54$ nm qui sont affectés aux transitions électroniques $n \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \sigma^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$, respectivement.

La comparaison des spectres des produits synthétisés avec celles des produits de départ (amines), indique des déplacements bathochromes (augmentation de la longueur d'onde λ_{\max}) ces déplacements peuvent être expliqués par la présence des groupements acides phosphoniques dans les structures moléculaires des acides synthétisés (Tableau III.8).

Tableau III.8 : Les longueurs d'onde maximale des produits étudiés

Les produits	λ_{\max} nm
5N2TPA	$\lambda_{\max 1} = 264,05$
	$\lambda_{\max 2} = 392,84$
5N3TPA	$\lambda_{\max 1} = 264,05$
	$\lambda_{\max 2} = 392,84$
4M3TPA	$\lambda_{\max 1} = 209,57$
	$\lambda_{\max 2} = 225,13$

	$\lambda_{\max 3} = 278,54$
5M3TPA	$\lambda_{\max 1} = 218,93$
	$\lambda_{\max 2} = 236,50$
	$\lambda_{\max 3} = 262,54$

III.6.3.2. Caractérisations par spectroscopie IR-TF

Les figures ci-dessous illustrent les spectres IR-TF des acides α -aminophosphoniques synthétisés et leurs produits de départ.

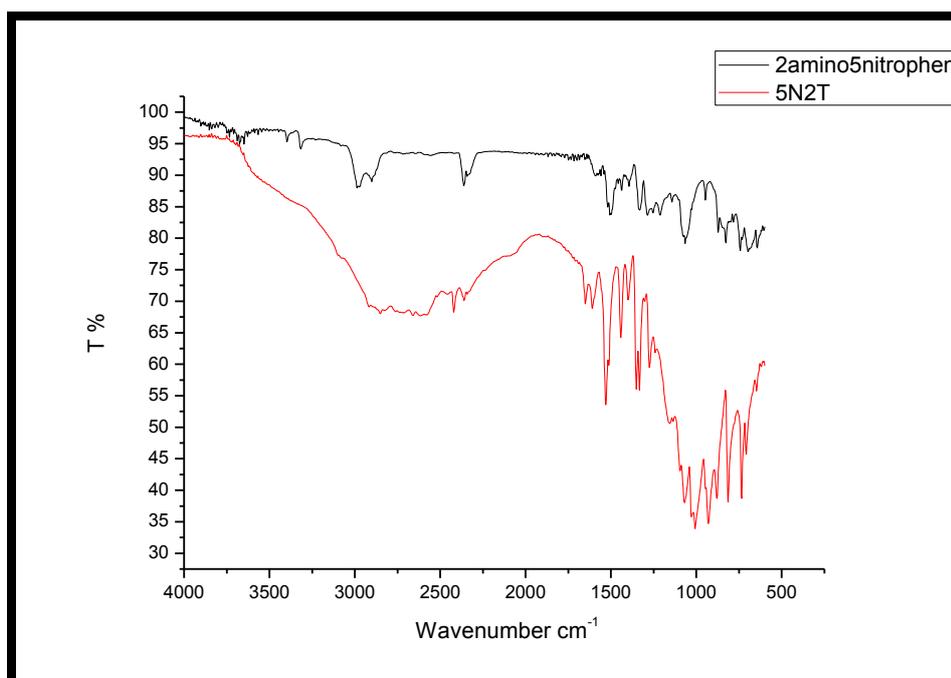


Figure III.7: Spectres IR de l'acide 5N2TPA et son produit de départ le 2-amino-5-nitrophénol.

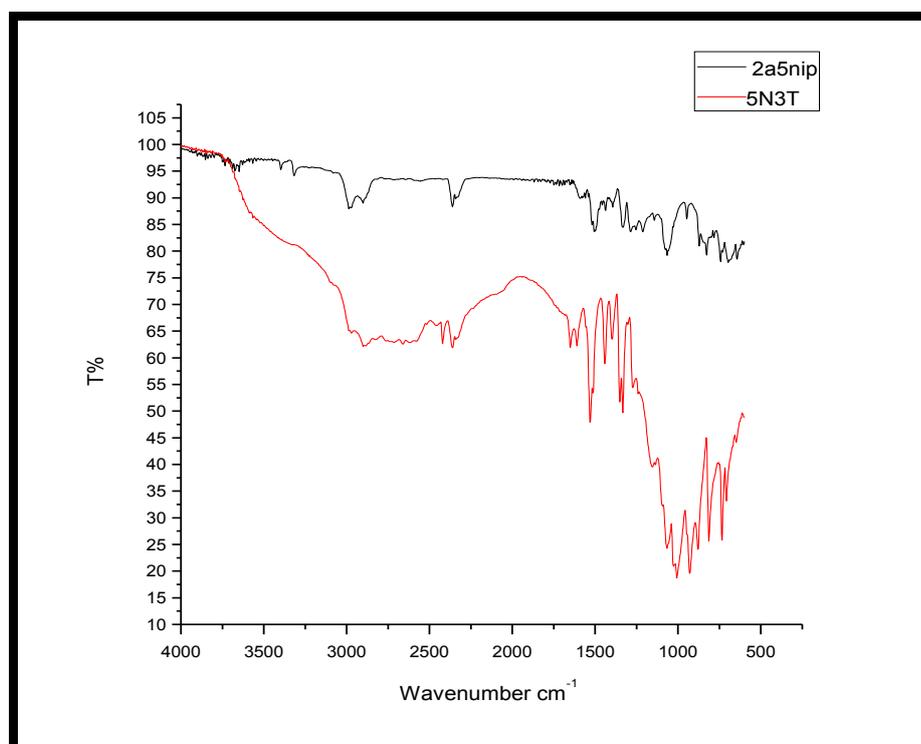


Figure III.8 : Spectres IR de l'acide 5N3TPA et de l'amine 2-amino-5-nitrophénol.

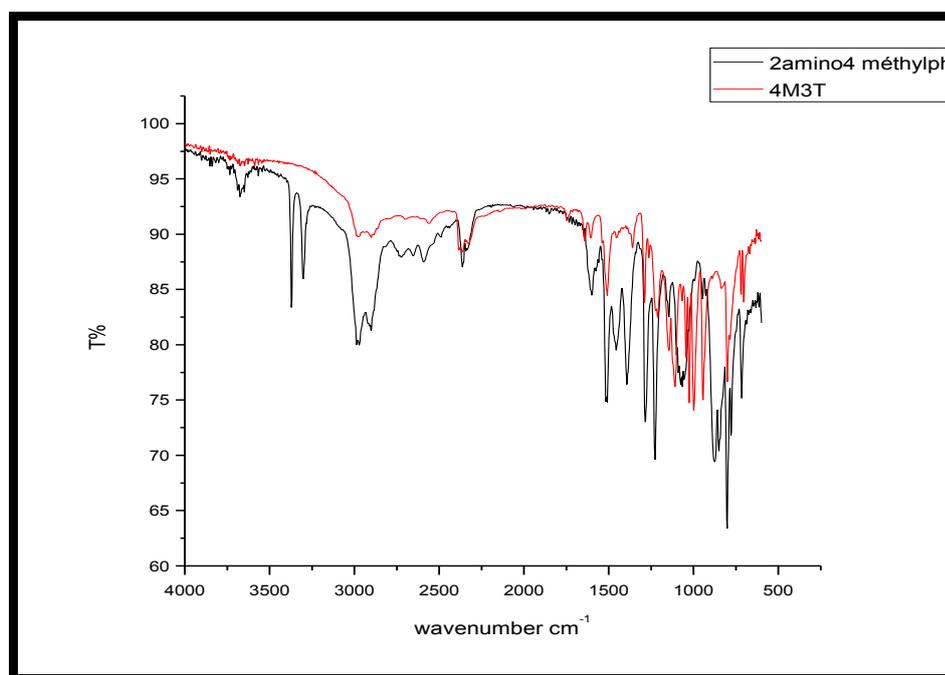


Figure III.9 : Spectres IR de l'acide 4M3TPA et de l'amine 2-amino-4-méthylphénol.

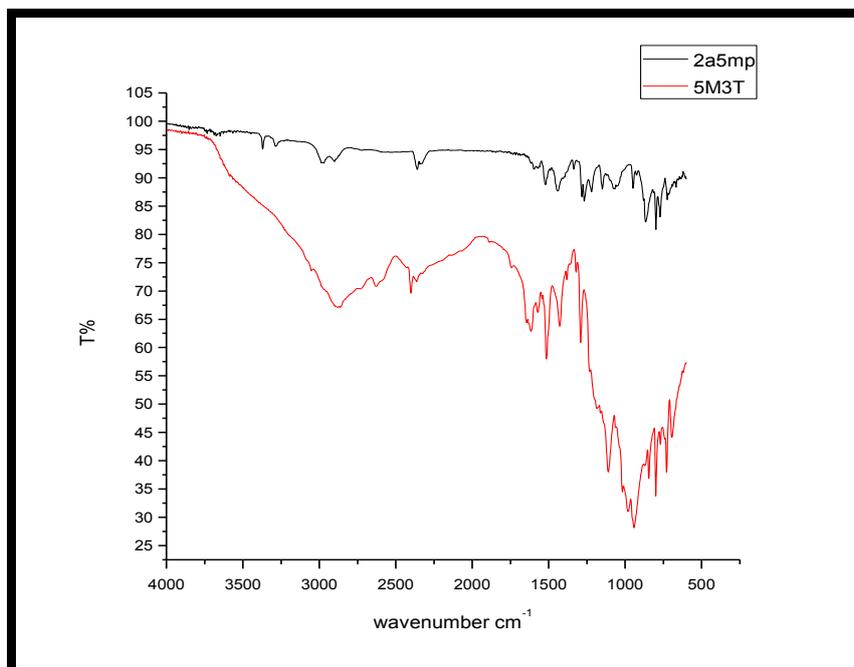


Figure III.10 : Spectres de l'acide 5M3TPA et de l'amine 2-amino-5-méthylphénol.

Les spectres IR des amines : 2-amino-5-nitrophénol, 2-amino-4-méthylphénol et 2-amino-5-méthylphénol montrent des pics caractéristiques du groupement amine primaire situés entre 3324 et 3373 cm^{-1} .

La comparaison entre les spectres des quatre acides α -aminophosphoniques synthétisés et les spectres des produits de départ montre la disparition des pics caractéristiques des amines primaires et la disparition des pics caractéristiques de la fonction aldéhyde située à environ 1720 - 1740 cm^{-1} et l'apparition des nouveaux pics caractéristiques des acides α -aminophosphoniques.

Les spectres des molécules synthétisées (5N2TPA, 5N3TPA, 4M3TPA et 5M3TPA) indiquent la présence des pics caractéristiques de la liaison P-C situés entre 720 et 749 cm^{-1} et les pics caractéristiques des groupements P=O [2] et P-O-H observés dans les intervalles 1252 - 1276 cm^{-1} et 928 - 945 cm^{-1} , respectivement. En outre, on observe des pics d'élongation vers 1508 - 1516 cm^{-1} et 1605 - 1615 cm^{-1} attribués aux doubles liaisons C=C des cycles aromatiques et des pics de déformation hors du plan du groupement =C-H situé à 735 cm^{-1} . Les fréquences vibrationnelles des pics caractéristiques des principaux groupements fonctionnels des acides α -aminophosphoniques synthétisées sont récapitulées dans le [tableau III.9](#).

Tableau III.9: Fréquences vibrationnelles des pics caractéristiques des principaux groupements fonctionnels des produits synthétisés.

Groupement	Fréquences vibrationnelle $\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)			
	5N2TPA	5N3TPA	4M3TPA	5M3TPA
C-H _{aliphatique}	2918	2902	2901	2862
C-H _{aliphatique} (groupe CH ₃)	-	-	2867	2904
C-H _{aromatique}	2918	2982	2985	2886
C-N	1015	1002	1000	1002
C-C	1400	1399	1453	1428
	1651	1650	1640	1617
C=C _{aromatique}	1510	1512	1508	1516
	1610	1606	1605	1615
P=O	1252	1276	1262	1276
P-O-H	930	928	945	943
P-C	749	742	720	742
N-O	1352	1353	-	-

III.6.3.3. Caractérisation par spectroscopies RMN ¹H, ¹³C et ³¹P

Les structures chimiques des composés synthétisés ont été confirmées sur la base de leurs données spectrales RMN. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm. Les produits synthétisés sont très solubles dans le DMSO ce qui explique notre choix d'utiliser le DMSO déterré (DMSO-*d*₆) comme solvant.

Les spectres RMN des molécules étudiées présentent une superposition de résonance de seconde ordre [3-5] due à la présence de deux aryles (phénol et thiophène).

Les deux figures III.12 et III.13 représentent le spectre RMN ¹H et ¹³C du solvant utilisé DMSO-*d*₆, qui indiquent un pic très long apparu aux environs 2.5 ppm (multiplet) pour RMN ¹H et 40 ppm (multiplet) pour ¹³C.

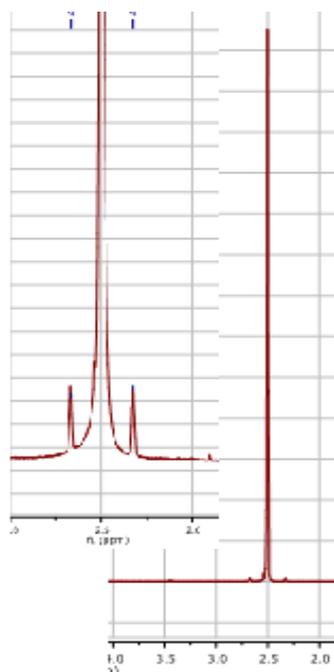


Figure III.12 : Spectre RMN ^1H du solvant DMSO- d_6 .

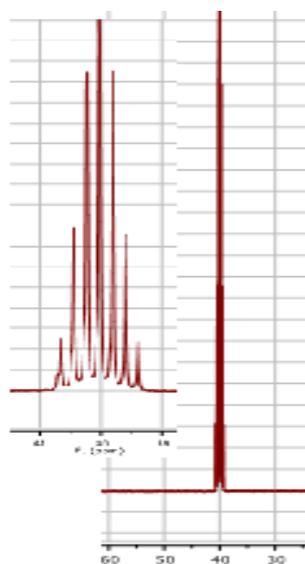


Figure III.13 : Spectre RMN ^{13}C du solvant DMSO- d_6 .

A. Acide [(2-hydroxy-4-nitrophenyl) amino] (thiophen-2-yl) methylphosphonique (5N2TPA) :

➤ RMN ^1H :

Le spectre RMN ^1H du 5N2TPA porté sur la [figure III.14](#) indique la présence des pics caractéristiques attribués aux protons des groupements fonctionnels suivants :

δ (ppm) : 1.24 (1H, d, N-CH), 5.93 (2H, s, P-O-H), 6.60-6.63 (2H, d, -CH_{Ar}-), 7.49 (1H, d, -CH_{Ar}-), 7.53(1H, s, -CH_{Ar}-), 7.59 (1H, d, -CH_{Ar}-), 7.61(1H, d, -CH_{Ar}-), 9.50 (1H, s, N-H), 9.91(1H, s, -OH).

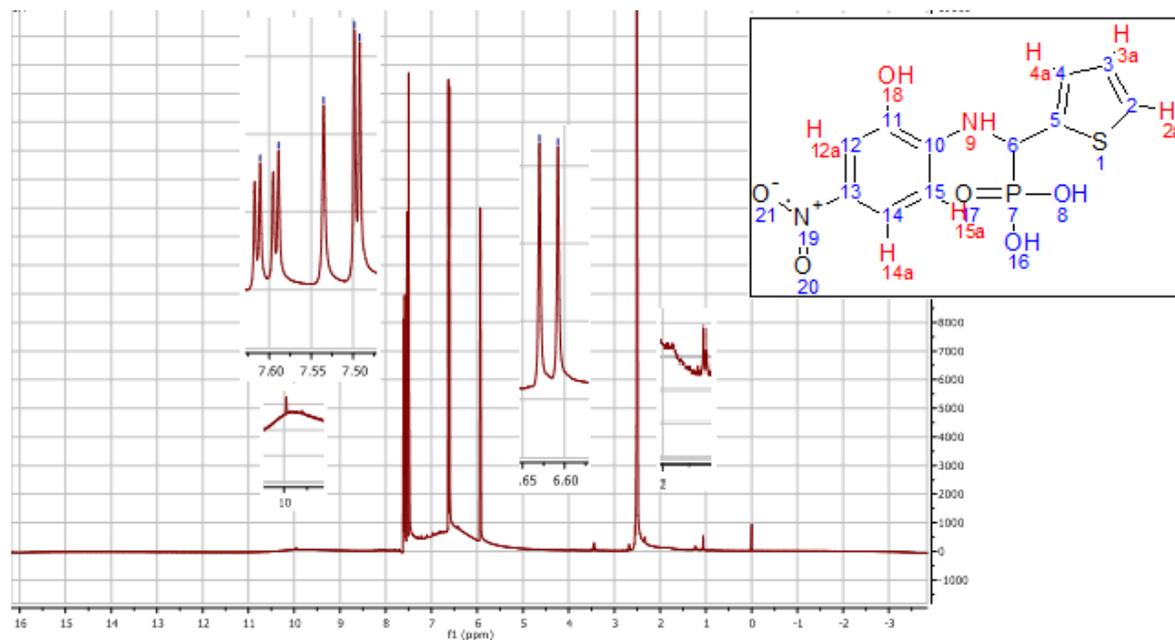


Figure III.14 : Spectre RMN ¹H de la molécule 5N2TPA.

➤ RMN ¹³C

Le spectre RMN ¹³C de l'acide 5N2TPA (Figure III.15) présente les signaux caractéristiques suivants :

δ (ppm): 109.14 (2C, -CH, -CH_{Ar}), 111.64 (2C, -CH_{Ar}), 118.76 (2C, -CH_{Ar}), 136.03 (1C, -CH_{Ar}), 142.92 (2C, -CH_{Ar}), 146.01 (2C, -CH_{Ar}).

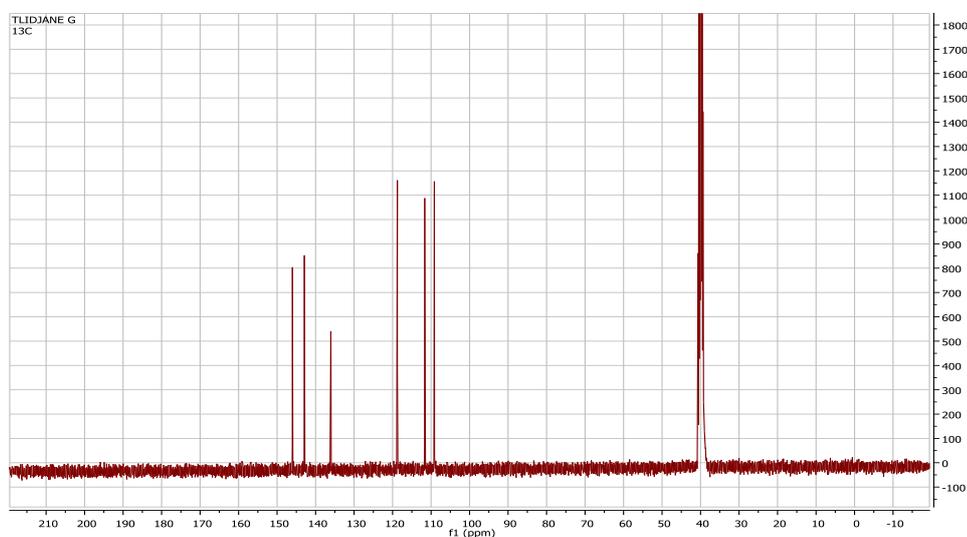


Figure III.15 : Spectre RMN ¹³C de la molécule 5N2TPA.

➤ RMN ³¹P

L'analyse du spectre RMN ^{31}P de l'acide **5N2TPA** présente un signal situé à 3.10 ppm attribué au phosphore du groupement acide phosphonique (1P, s, **P**-O-H).

Donc la structure attendue pour l'acide **5N2TPA** est confirmée par RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P .

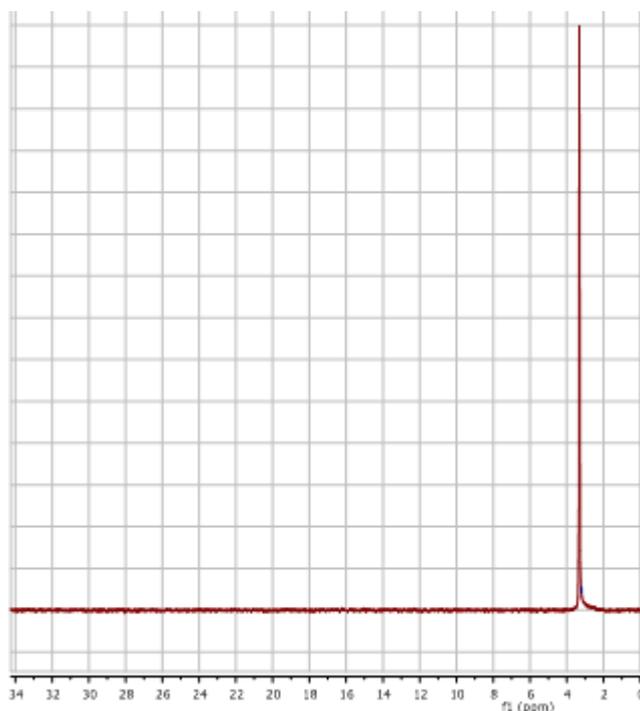


Figure III.16 : Spectre RMN ^{31}P de la molécule **5N2TPA**.

B. Acide [(2-hydroxy-4-nitrophenyl) amino] (thiophen-3-yl) methylphosphonique (5N3TPA)

➤ **RMN ^1H :**

Le spectre RMN ^1H du **5N3TPA** porté sur la **Figure III.17** indique la présence des pics caractéristiques attribués aux protons des groupements fonctionnels suivants :

δ (ppm): 1.24 (1H, d, N-**CH**), 5.92 (2H, s, P-O-**H**), 6.25 (1H, s, N-**H**), 6.60-6.62 (2H, d, -**CH**_{Ar}-), 7.48 (1H, d, -**CH**_{Ar}-), 7.53 (1H, s, -**CH**_{Ar}-), 7.58 (1H, d, -**CH**_{Ar}-), 7.60 (1H, d, -**CH**_{Ar}-), 10.01 (1H, s, -**OH**).

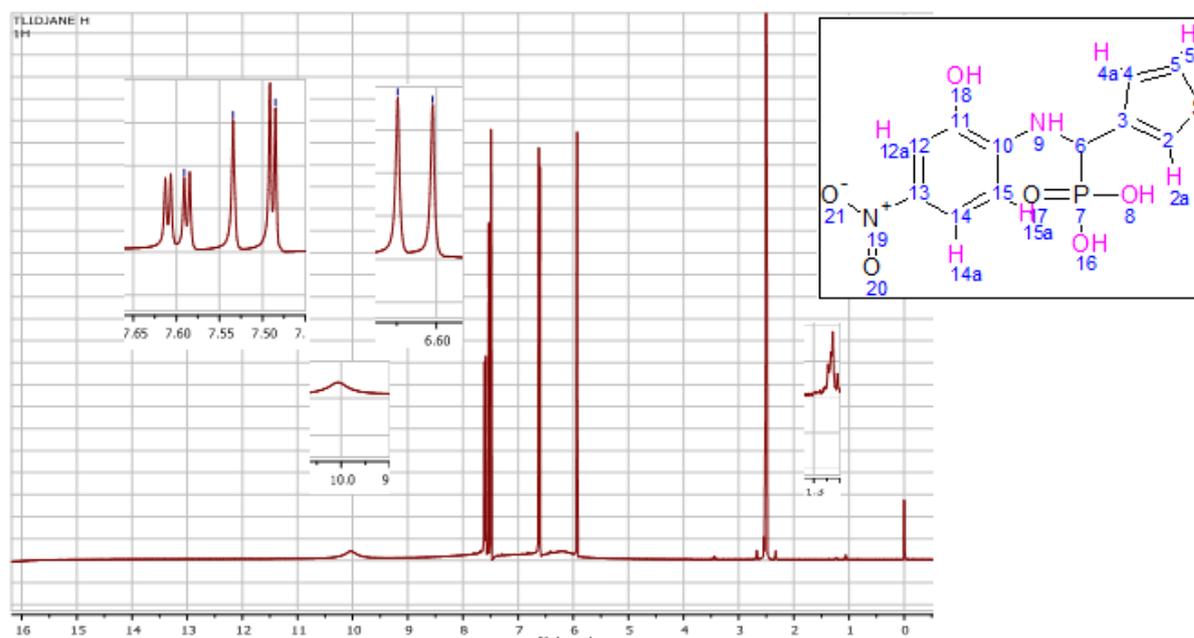


Figure III.17 : Spectre RMN ^1H de la molécule 5N3TPA.

➤ RMN ^{13}C

La Figure III.18 représente le spectre RMN ^{13}C de la molécule 5N3TPA, il est caractérisé par les déplacements chimiques suivants :

δ (ppm) : 109.14 (2C, N- $\underline{\text{C}}\text{H}$, $\underline{\text{C}}\text{H}_{\text{Ar}}$), 111.65 (2C, $\underline{\text{C}}\text{H}_{\text{Ar}}$), 118.76 (2C, $\underline{\text{C}}\text{H}_{\text{Ar}}$), 136.03 (1C, $\underline{\text{C}}\text{H}_{\text{Ar}}$), 142.91 (2C, $\underline{\text{C}}\text{H}_{\text{Ar}}$), 146.01 (2C, $\underline{\text{C}}\text{H}_{\text{Ar}}$).

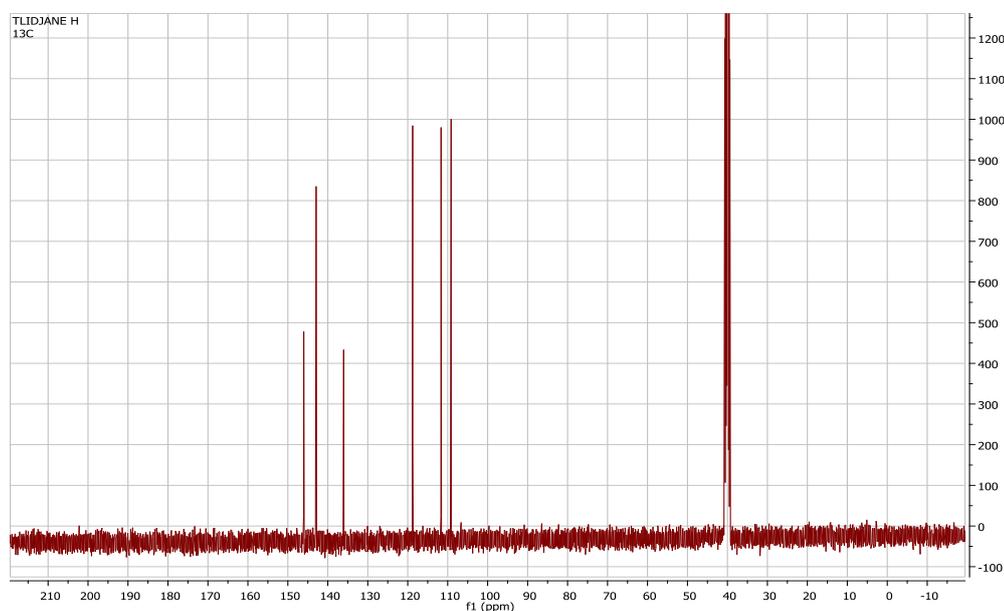


Figure III.18 : Spectre RMN ^{13}C de la molécule 5N3TPA.

➤ RMN ^{31}P

L'analyse du spectre RMN ^{31}P montre un signal situé à 3.51 ppm attribué à l'atome de phosphore du groupement acide phosphonique (1P, s, P-O-H) de la molécule **5N3TPA**. Donc la structure attendue pour l'acide **5N3TPA** est confirmée par RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P .

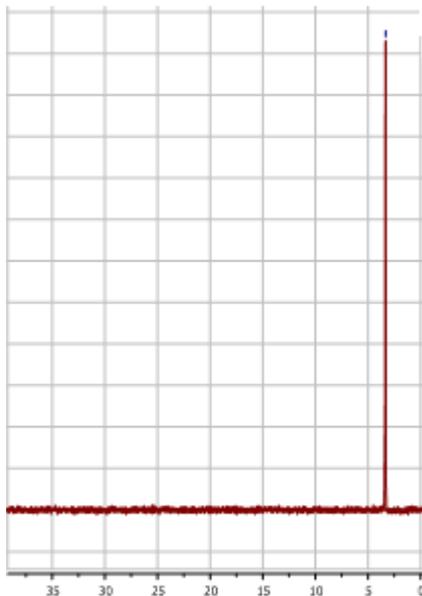


Figure III.19 : Spectre RMN ^{31}P de la molécule **5N3TPA**.

C. Acide [(2-hydroxy-5-methylphenyl) amino] (thiophen-3-yl) methylphosphonique (4M3TPA)

➤ **RMN ^1H :**

Le spectre RMN ^1H de 4M3TPA présenté par la **Figure III.20** est caractérisé par des déplacements chimiques apparaissent dans les intervalles suivants ;

δ (ppm): 1.23 (1H, d, CH -), 2.08 (3H, s, CH_3 -), 4.25 (1H, s, NH -), 5.91 (2H, s, P-O-H), 6.23(1H, d, $-\text{CH}_{\text{Ar}}$ -), 6.25 (1H, d, $-\text{CH}_{\text{Ar}}$ -), 6.43 (1H, d, $-\text{CH}_{\text{Ar}}$ -), 6.51(1H, s, $-\text{CH}_{\text{Ar}}$ -), 6.53(1H, s, $-\text{CH}_{\text{Ar}}$ -), 7.5 (1H, s, $-\text{OH}$).

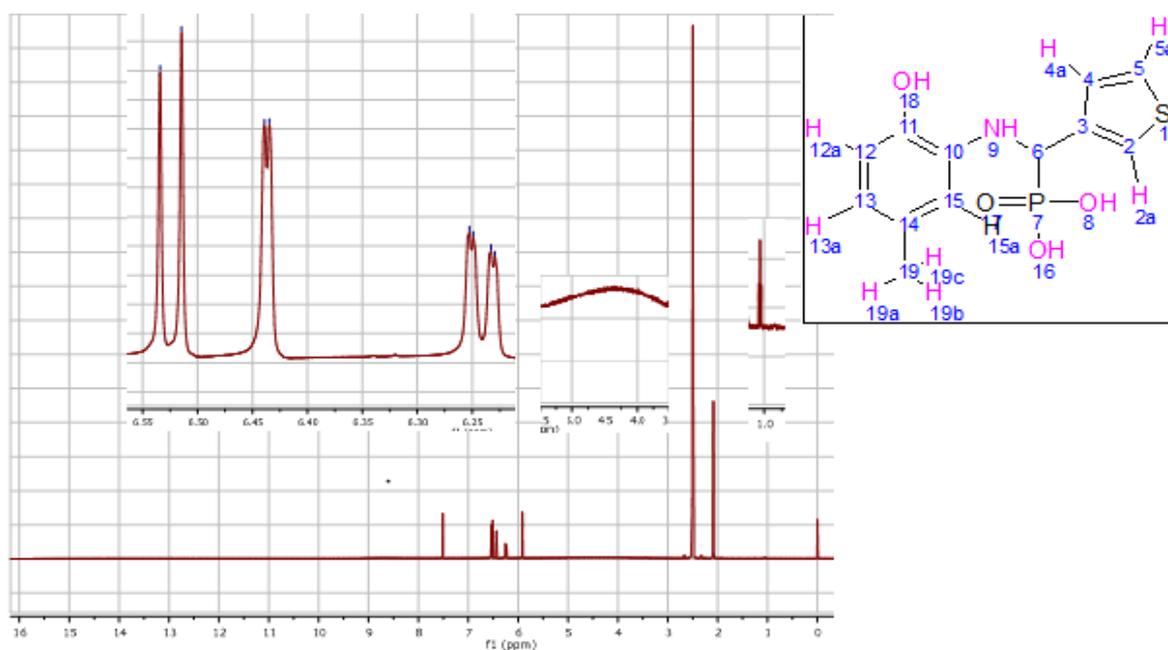


Figure III.20 : Spectre RMN ^1H de la molécule 4M3TPA.

➤ RMN ^{13}C :

La Figure III. 21 représente le spectre RMN ^{13}C de la molécule 4M3TPA, qu'est caractérisé par les déplacements chimiques suivants :

δ (ppm): 20.75 (1C, $\underline{\text{CH}}_3$), 114.86 (1C, $-\underline{\text{CH}}$, 2C $-\underline{\text{CH}}_{\text{Ar}}$), 116.33 (2C, $-\underline{\text{CH}}_{\text{Ar}}$), 118.11 (1C, $-\underline{\text{CH}}_{\text{Ar}}$), 128.31 (2C, $-\underline{\text{CH}}_{\text{Ar}}$), 135.46 (1C, $-\underline{\text{CH}}_{\text{Ar}}$), 142 (2C, $-\underline{\text{CH}}_{\text{Ar}}$).

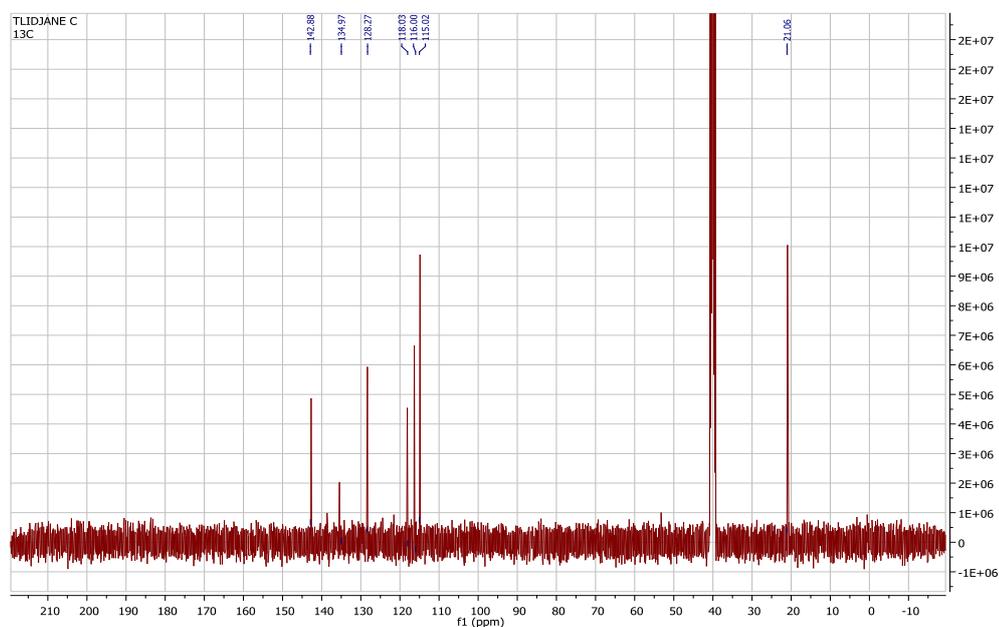


Figure III.21 : Spectre RMN ^{13}C de la molécule 4M3TPA.

➤ RMN ^{31}P

L'analyse du spectre RMN ^{31}P de l'acide **4M3TPA** montre un signal situé à 3.22 ppm attribué à l'atome de phosphore du groupement acide phosphonique (1P, s, **P**-O-H) de la molécule **4M3TPA**. Donc la structure attendue pour l'acide **4M3TPA** est confirmé par RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P .

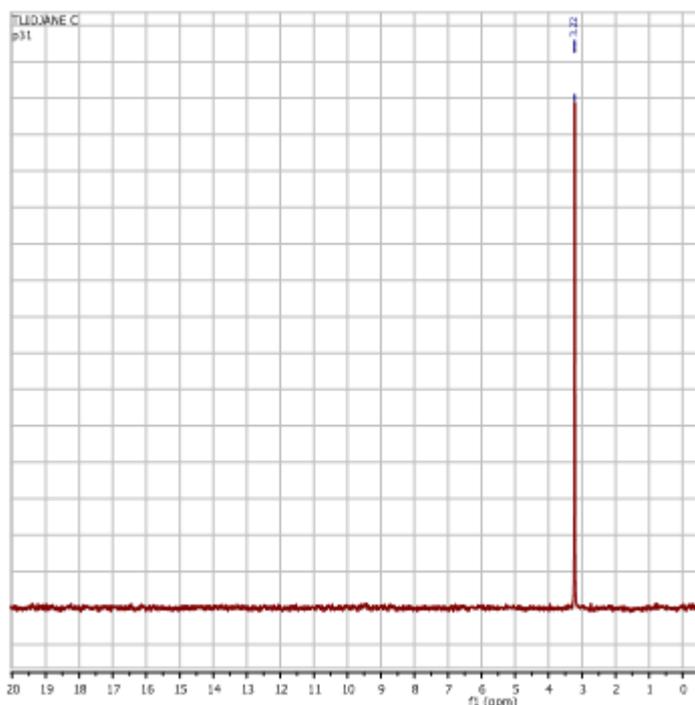


Figure III.22 : Spectre RMN ^{31}P de la molécule **4M3TPA**.

D. Acide [(2-hydroxy-4-methylphenyl) amino] (thiophen-3-yl) methylphosphonique (5M3TPA)

➤ **RMN ^1H**

Le spectre RMN ^1H du **5M3TPA** présenté par la **Figure III.23** est caractérisé par les déplacements chimiques apparaissent dans les intervalles suivants :

δ (ppm): 1.5 (1H, d, **CH**-), 2.13(3H, s, **CH**₃-), 5.91 (2H, s, P-O-**H**), 6.43(1H, d, -**CH**_{Ar}-), 6.57(1H, s, -**CH**_{Ar}-), 6.67 (1H, s, -**CH**_{Ar}-), 6.69 (1H, s, -**CH**_{Ar}-), 7.47(1H, s, -**CH**_{Ar}-), 7.50 (1H, s, N-**H**), 7.6(1H, s, -**OH**).

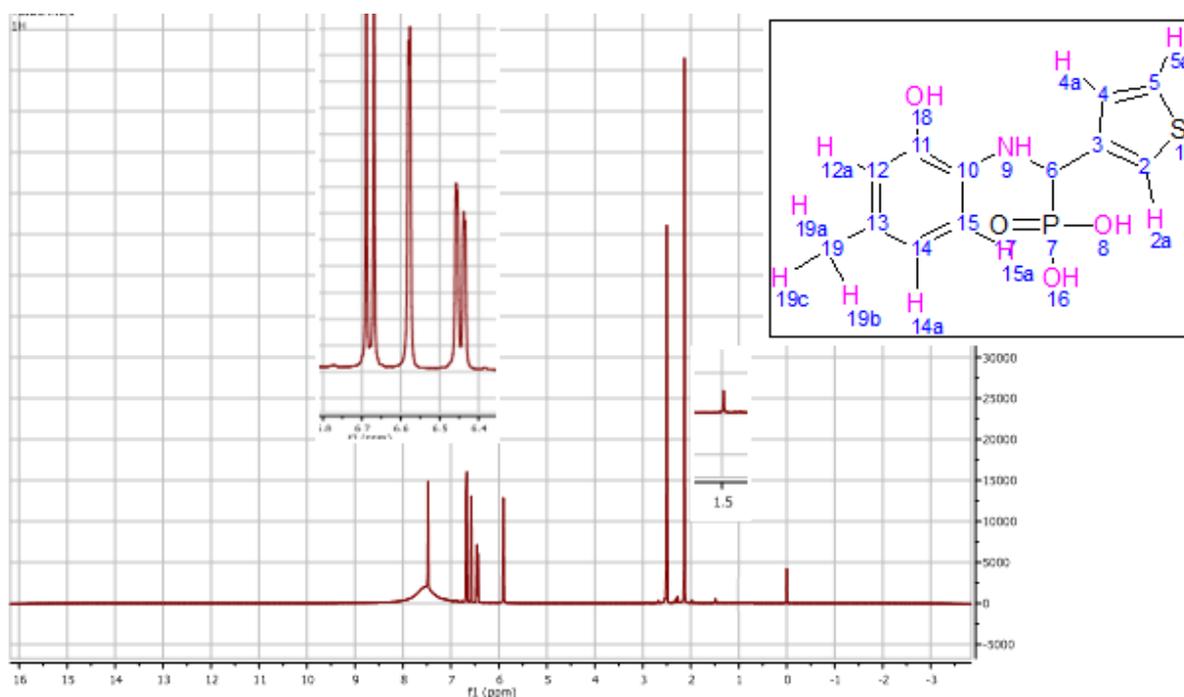


Figure III.23 : Spectre RMN ^1H de la molécule 5M3TPA.

➤ RMN ^{13}C :

La Figure III.24 représente le spectre RMN ^{13}C de la molécule 5M3TPA, qu'est caractérisé par les déplacements chimiques suivants :

δ (ppm) : 20.75 (1C, $\underline{\text{CH}}_3$), 116.01 (2C, N- $\underline{\text{CH}}$, - $\underline{\text{CH}}_{\text{Ar}}$), 117.66 (2C, - $\underline{\text{CH}}_{\text{Ar}}$), 120 (3C, - $\underline{\text{CH}}_{\text{Ar}}$), 128.77 (1C, - $\underline{\text{CH}}_{\text{Ar}}$), 129.93 (1C, - $\underline{\text{CH}}_{\text{Ar}}$), 146.57 (2C, - $\underline{\text{CH}}_{\text{Ar}}$).

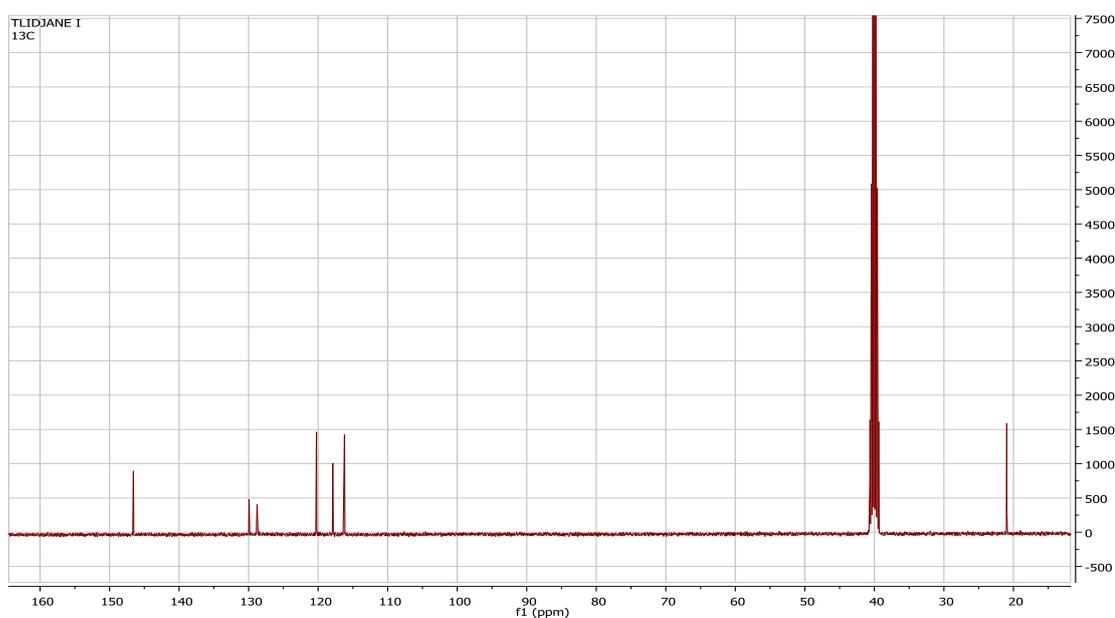


Figure III.24 : Spectre RMN ^{13}C de la molécule 5M3TPA.

➤ RMN ^{31}P

L'analyse du spectre RMN ^{31}P de l'acide **5M3TPA** indique un signal situé à 2.95 ppm attribué à l'atome de phosphore du groupement acide phosphonique (1P, s, **P**-O-H) de la molécule **5M3TPA**. Donc la structure attendue pour l'acide **5M3TPA** est confirmée par RMN ^1H , ^{13}C et ^{31}P .

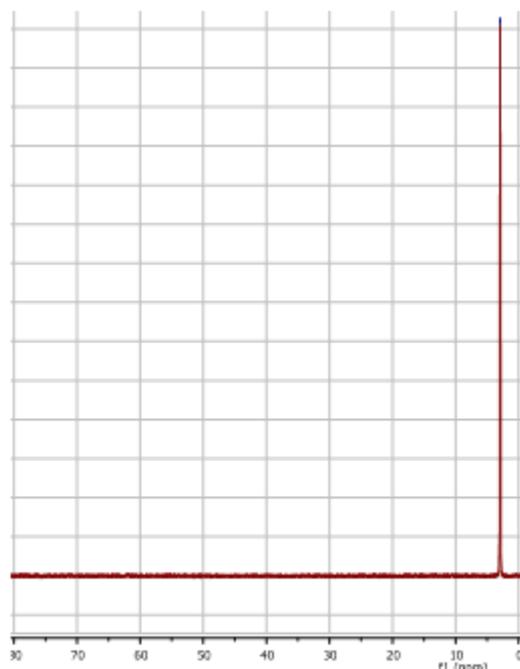


Figure III.25 : Spectre RMN ^{31}P de la molécule **5M3TPA**.

III. 9. Conclusion

Les structures chimiques des molécules synthétisées ont été confirmées par les différentes méthodes physicochimiques et spectroscopiques. Les quatre acides α -aminophosphoniques synthétisés ont subi une étude expérimentale de l'évaluation de leurs activités biologiques, notamment l'activité antioxydante et antifongique.

Références bibliographiques

- [1] R. Anderson, D. Bendell, P. Groundwater, Organic Spectroscopic Analysis, Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom. 22 (2004) 7-23.
- [2] R. M. Silverstein, G. C. Basler, T. C. Morill, Identification spectrométrique de composés organique, Paris Bruxelles (1998).
- [3] U. Gruss, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1997).
- [4] R. Spiske, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1996).
- [5] R. Olschner, forthcoming Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1999).

CHAPITRE IV:
LES ACTIVITE BIOLOGIQUE DES α -
AMINOPHOSPHONATES

IV.1. Introduction

Ce chapitre est consacré aux résultats de l'évaluation *in vitro* des activités biologiques des acides α -aminophosphoniques synthétisés. En premier temps on a évalué l'activité antioxydantes des molécules étudiées en utilisant trois méthodes :

- ✓ DPPH ;
- ✓ ABTS ;
- ✓ Phenantroline.

En suite, l'activité antifongique des acides synthétisés a été évaluée contre deux souches fongiques la *Fusarium oxysporum* et l'*Alternaria alternata* en utilisant la méthode de disque.

IV.2. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

Un antioxydant est une molécule qui ralentit ou empêche l'oxydation d'une autre substance chimique et transforme les radicaux en composés plus stables.

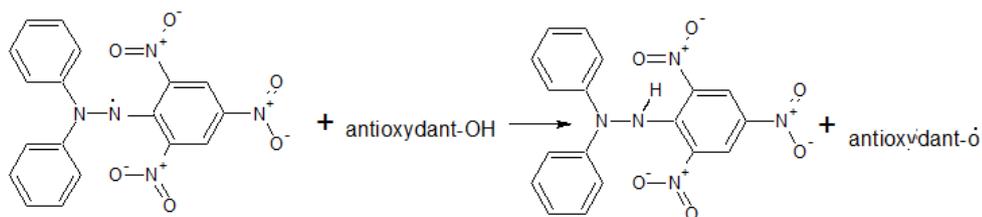
La capacité antioxydante des molécules synthétisées a été évaluée par trois méthodes complémentaires. Ces tests sont basés sur la différence de mécanisme d'action. Il est important d'utiliser plusieurs méthodes pour prouver l'efficacité d'un produit et son mécanisme d'action comme la capacité réductrice et le piégeage des radicaux libres...etc.

Pour évaluer l'activité antioxydante, on a utilisé trois méthodes comparatives, simple, rapides et productibles : la méthode DPPH, ABTS et le Phenantroline.

IV.2. 1. Activité de piégeage du radicale libre DPPH

L'activité antioxydante des molécules synthétisées 5N2TPA, 5N3TPA, 4M3TPA et 5M3TPA a été déterminée par le piégeage du radicale libre DPPH selon le protocole de Blois et al [1].

Le test DPPH (2,2 diphényl-1-picryl hydrazyl) est basé sur la capacité des substances antioxydants à donner un électron ou un atome d'hydrogène au radicale synthétique DPPH comme indique le schéma IV.1. En effet, la réduction du DPPH est facilement mesurée par spectrophotométrie à une bande d'absorption à 517 nm (λ_{\max} du DPPH) [2,3]. Cette réduction se traduit par le changement de la couleur violette de la solution méthanolique du DPPH vers une couleur jaunâtre [4,5]



radicale libre DPPH (violet)

DPPH-H forme réduite (jaune)

Schémas IV.1: Réaction du DPPH' avec un antioxydant.

La [Figure IV.1](#) représente la variation de l'absorbance du radical DPPH mesurée à 517 nm en fonction des concentrations des différentes molécules testées et des standards.

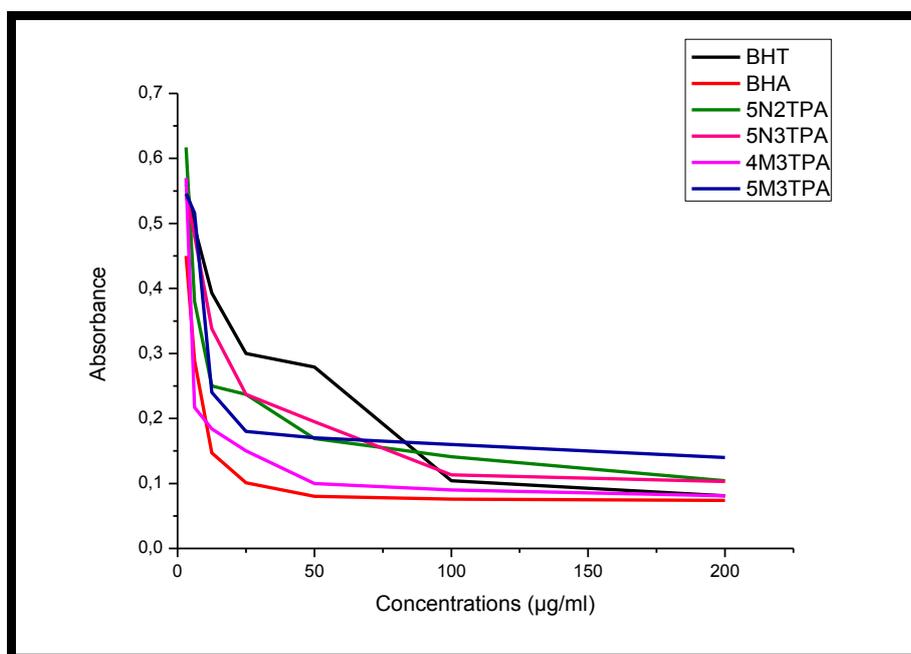


Figure IV.1: Variation de l'absorbance du DPPH en fonction de la concentration des molécules testées et celle des standards (BHT et BHA).

Selon la figure IV.1 on remarque que l'absorbance du radical libre DPPH diminue avec l'augmentation de la concentration des molécules testées (5N2TPA, 5N3TPA, 4M3TPA et 5M3TPA) et celle des standards (BHT et BHA). Cette diminution de concentration est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants donneurs d'hydrogène présent dans la molécule ([Schéma IV.1](#)).

Pour chaque test, le pourcentage d'inhibition des acides α -aminophosphoniques synthétisés et celle des standards (BHT et BHA) est calculé selon l'équation :

DES AMINOPHOSPHONATES

$$I\% = [(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}})/A_{\text{blank}}] \times 100 \quad (\text{IV.1})$$

La figure IV.2 exprime les pourcentages d'inhibitions des acides étudiés et des standards en fonction de la concentration. Selon la figure IV.3 on peut remarquer que les pourcentages d'inhibitions augmentent avec l'augmentation de la concentration et que les molécules testées présentent une activité anti-radicalaire significative. L'acide 4M3TPA a montré un pourcentage d'inhibition élevé et mieux que le BHT à faibles concentrations. À une concentration de 200 µg/ml les acides testés montrent les pourcentages d'inhibition suivante :

$I_{(5N2TPA)} = 84.57\%$, $I_{(5N3TPA)} = 83.46\%$, $I_{(4M3TPA)} = 85.81\%$ % et $I_{(5M3TPA)} = 77.16\%$ %.

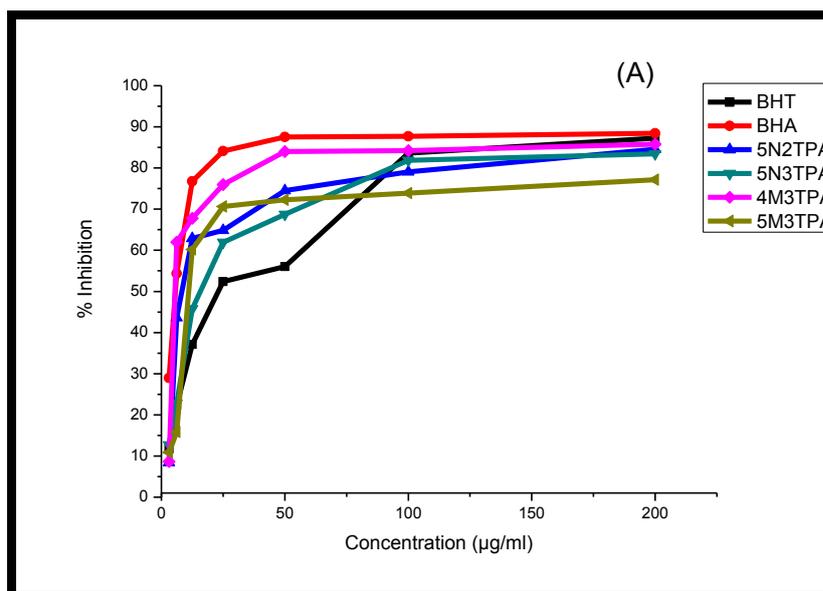


Figure IV.2: Activité anti-radicalaire (I %) des acides α -aminophosphoniques et des standards (chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm SD).

IV.2. 1.1. Détermination d'IC₅₀

La valeur de l'IC₅₀ représente la concentration de l'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % du radical libre DPPH, qui a été déterminée graphiquement en utilisant la régression linéaire du graphe du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration [6]. Plus la valeur d'IC₅₀ est faible plus l'activité est importante. Les valeurs obtenues de l'IC₅₀ pour les molécules étudiées et les standards sont représentées dans la figure IV.3. D'après les valeurs de l'IC₅₀, on observe que l'acide 5N3TPA possède l'activité anti-radicalaire la plus élevée par rapport aux autres molécules synthétisés et supérieur à celle du standard BHT avec un $IC_{50(5N3TPA)} = 16.04 \pm 2.94$ µg/ml.

Selon l'histogramme de la figure IV.3, on peut classer les molécules testées par ordre de réactivité décroissante suivant :

DES AMINOPHOSPHONATES

BHA > 5N3TPA > BHT > 5M3TPA > 4M3TPA > 5N2TPA.

Ces résultats suggèrent que les molécules étudiées sont des agents piègeurs des radicaux libres et agissant comme antioxydants, leur mécanisme d'action est supposé être dû à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons.

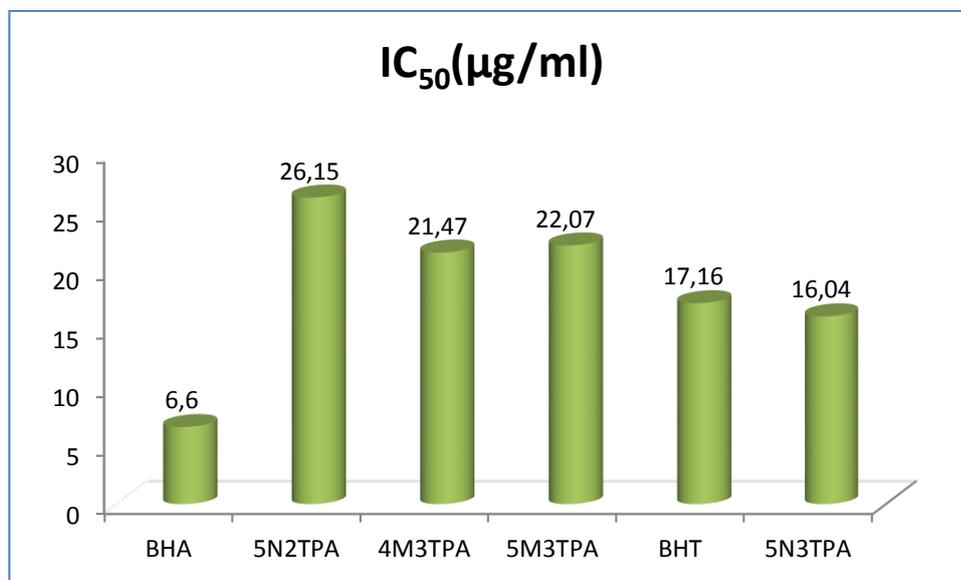


Figure IV.3: Histogramme des valeurs obtenues de l'IC₅₀ des molécules synthétisées et des standards.

IV. 2. 2. Activité de piégeage du radical ABTS

Le radical ABTS (2,2'-Azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-acide sulfonique) est utilisé pour mesurer l'activité anti-radicalaire des acides synthétisés selon le protocole de Re et al [7]. L'activité anti-radicalaire est observée par le changement de la coloration bleu-vert vers le jaune ou incolore

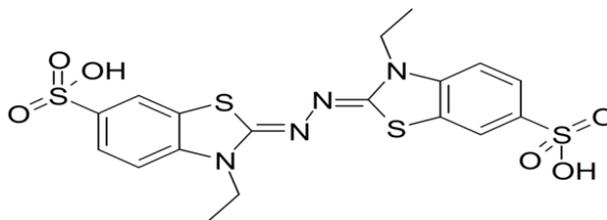


Schéma IV. 2: Structure chimique du radical ABTS.

La [Figure IV.4](#) représente la variation de l'absorbance du radical ABTS mesurée à 734 nm en fonction de la concentration.

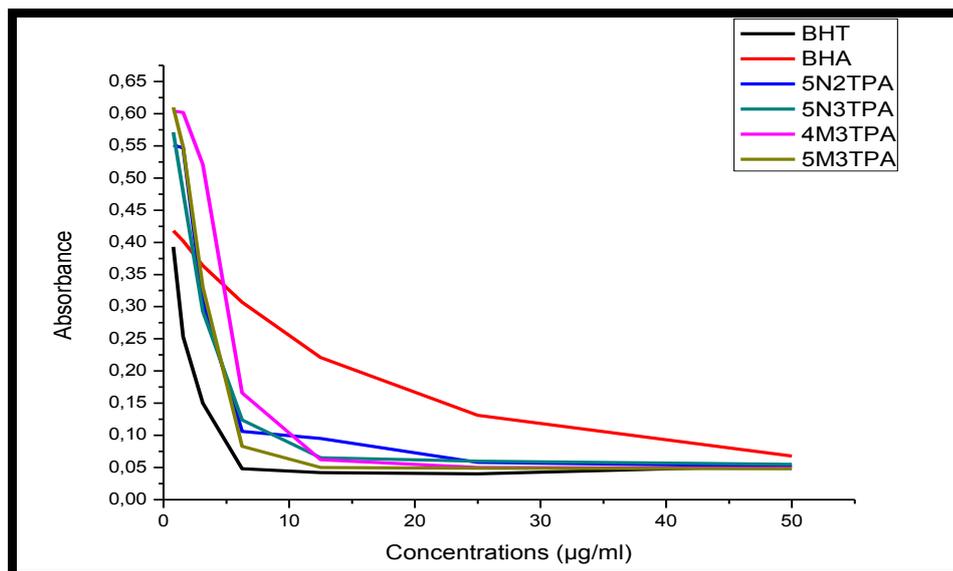


Figure IV.4: Variation de l'absorbance d'ABTS en fonction de la concentration des molécules testées et celle des standards (BHT et BHA).

Selon la [Figure IV.4](#) on remarque que l'absorbance du radical libre ABTS diminue avec l'augmentation de la concentration des molécules testées (5N2TPA, 5N3TPA, 4M3TPA et 5M3TPA) et celle des standards (BHT et BHA), cette diminution de concentration est due à la réduction de l'ABTS à une forme non radicalaire par les antioxydants donneurs d'hydrogène présent dans la molécule (phénol et thiophène) qui donne plus d'atome d'hydrogène pour stabiliser les radicaux libres [8,9].

Pour chaque test le pourcentage d'inhibition des acides α -aminophosphoniques synthétisés et celle des standards (BHT et BHA) est calculé selon l'équation IV.1 précédente.

Selon la [Figure IV.5](#) on peut observer que le pourcentage d'inhibition du radicale libre ABTS est proportionnel avec la concentration des molécules testées c'est-à-dire le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration des molécules synthétisées.

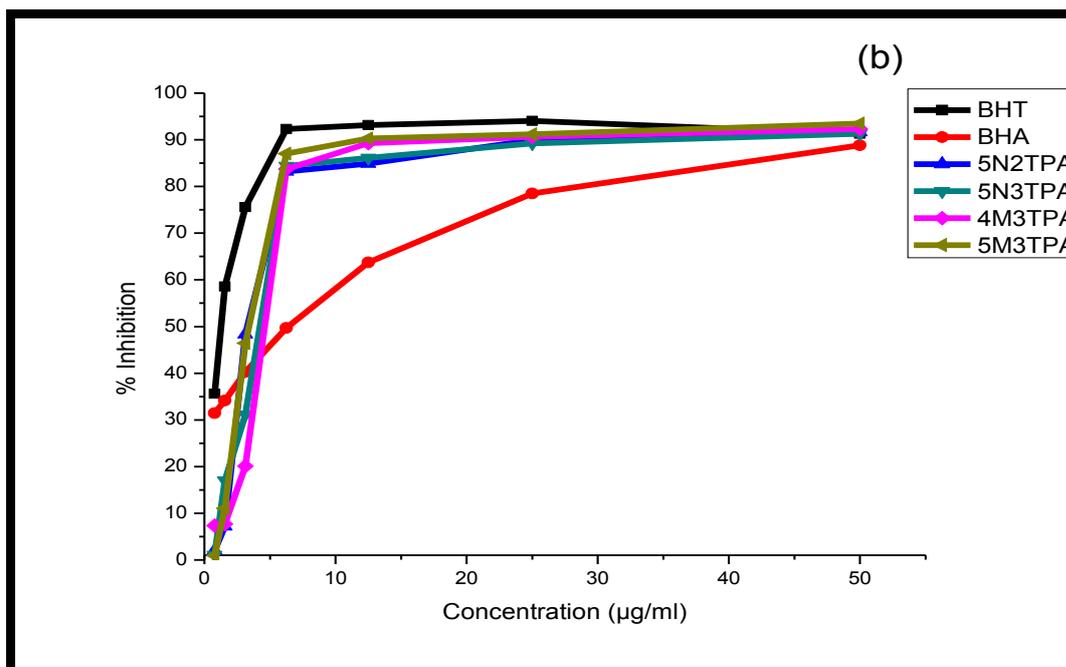


Figure IV.5: Activité anti-radicalaire des molécules synthétisées et des antioxydants standards vis-à-vis du radical ABTS.

V. 2. 2. 1. Détermination d'IC₅₀

Les valeurs de l'IC₅₀ obtenues sont représentées par l'histogramme de la [figure IV.6](#). On observe que nos produits testés montrent une activité antioxydante très élevée et comparable avec les standards. Selon ces résultats, on remarque que la molécule 5N3TPA possède une activité anti-radicalaire élevée par rapport aux autres molécules synthétisées et supérieur à celle du standard BHA avec un $IC_{50(5N3TPA)} = 04.05 \pm 1.13 \mu\text{g/ml}$.

Selon la [figure IV.6](#) on peut classer les molécules testées par ordre décroissant de réactivité : BHT > 5N3TPA > 4M3TPA > 5M3TPA > 5N2TPA > BHA.

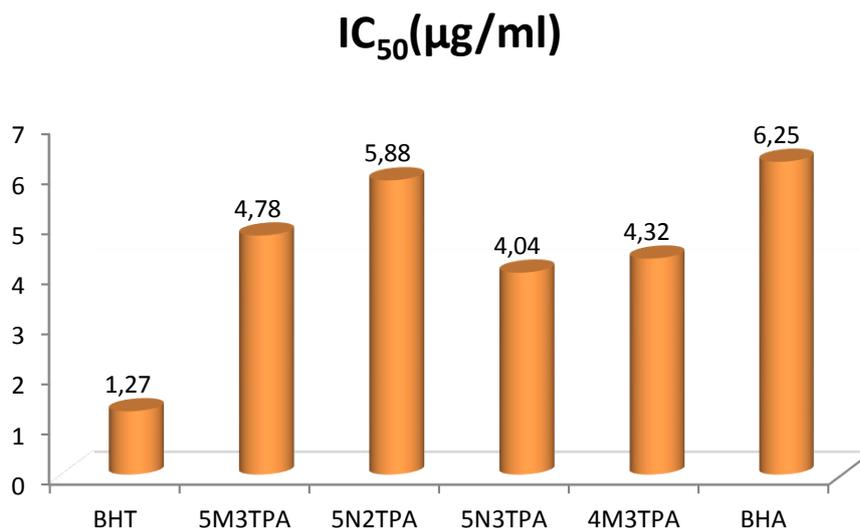


Figure IV.6: Histogramme des valeurs de l' IC_{50} des molécules synthétisées et des standards.

IV.2.3. Test de Phenantroline

Le test Phenantroline est basé sur la réduction des ions Fe^{3+} en ions Fe^{2+} par un antioxydant. L'activité antioxydante des acides α -aminophosphoniques synthétisés a été déterminée avec le test Phenantroline suivant le protocole de Szydłowska-Czerniaka et al [10]. L'activité antioxydante est caractérisée par le changement de couleur rouge brique vers le jaune clair [11] comme montre

La réduction des ions Fe^{3+} en Fe^{2+} peut être suivie par spectrophotométrie par la mesure de l'absorbance des molécules testées à 510 nm. La figure IV.7 exprime la variation de l'absorbance des acides étudiés et des standards en fonction de la concentration. Selon la figure IV.7, on peut remarquer que l'absorbance est proportionnelle avec la concentration, c'est-à-dire l'absorbance augmente avec l'augmentation de la concentration et que les molécules testées présentent une activité réductrice significative.

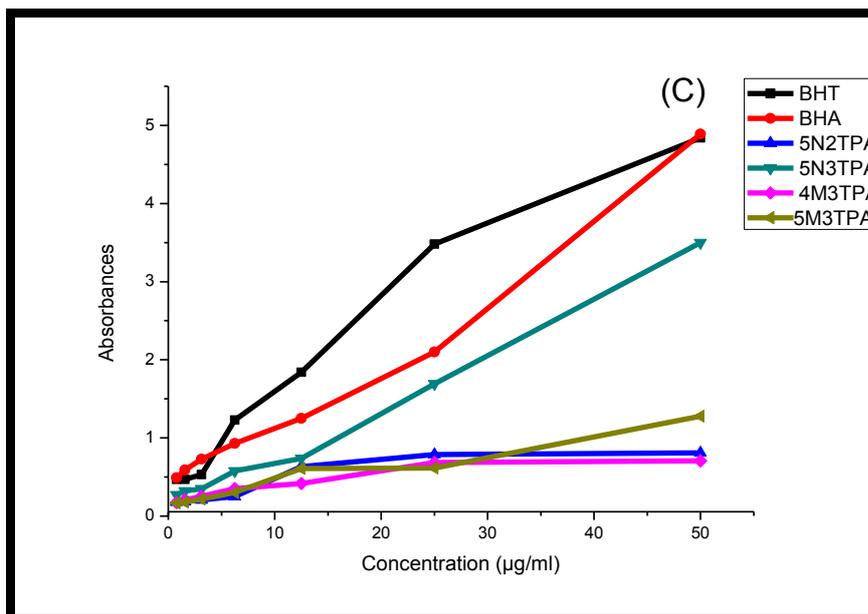


Figure IV.7: Variation de l'absorbance en fonction de la concentration des molécules testées et celle des standards (BHT et BHA).

V.2.3.1. Détermination de l' $A_{0.5}$

Les valeurs obtenues de l' $A_{0.5}$ sont représentées par l'histogramme de la figure IV.8. D'après cette figure, on remarque que l'acide 5N3TPA possède la valeur d' $A_{0.5}$ la plus faible, ce qui explique son pouvoir réducteur élevé par rapport aux autres molécules et supérieur que le standard BHA avec un $A_{0.5(5N3TPA)} = 05.57 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$. Ce résultat est expliqué par la richesse de la structure moléculaire de l'acide 5N3TPA en hétéroatomes et cycles aromatiques.

Selon les valeurs d' $A_{0.5}$ représentées dans l'histogramme IV.8 on peut classer les acides α -aminophosphoniques testés par ordre décroissant de réactivité :

$$\text{BHT} > \text{5N3TPA} > \text{BHA} > \text{4M3TPA} > \text{5M3TPA} > \text{5N2TPA}.$$

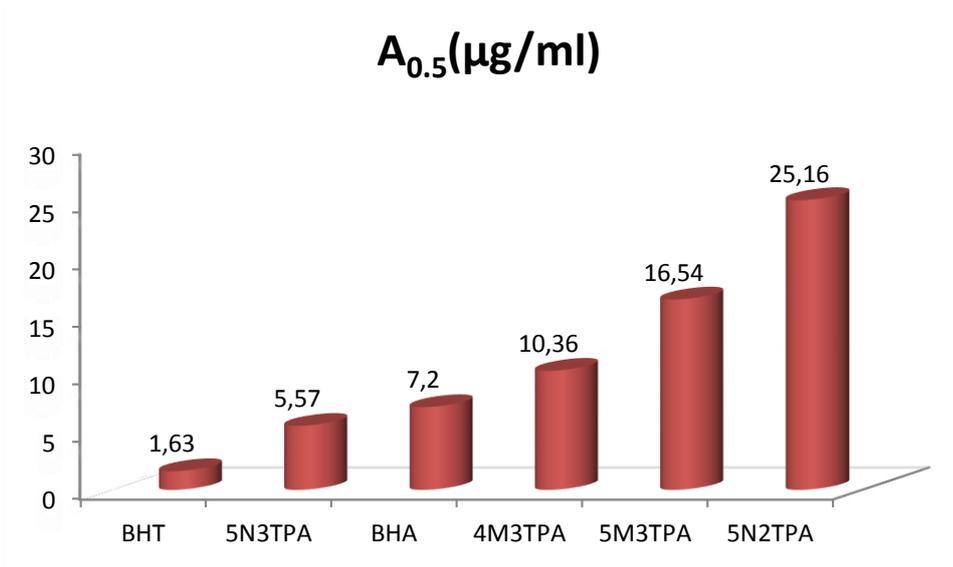


Figure IV.8: Histogramme des valeurs d' $A_{0.5}$ des molécules synthétisée et des standards.

Les valeurs d' IC_{50} et d' $A_{0.5}$ (en $\mu\text{g/ml}$) des acides α -aminophosphoniques étudiés et celles des standards (BHT et BHA) obtenues par les trois tests (DPPH, ABTS et Phenantroline) sont récapitulées dans le tableau IV.1. Dans les trois tests, on observe que l'acide 5N3TPA possède les valeurs d' IC_{50} et d' $A_{0.5}$ les plus petites, c'est-à-dire il a la meilleure activité antioxydante. Donc ces trois méthodes sont complémentaires et confirment l'activité antioxydante de nos molécules synthétisées.

Tableau IV.1 : Valeurs d' IC_{50} et d' $A_{0.5}$ des molécules synthétisées obtenues par les trois méthodes : DPPH, ABTS⁺ et Phenantroline.

Molécule	DPPH IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	ABTS ⁺ IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Phenanthroline $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/ml}$)
5N2TPA	26.15 \pm 2.02	6.88 \pm 2.13	25.16 \pm 0.001
5N3TPA	16.04 \pm 0.41	4.05 \pm 1.13	5.57 \pm 0.06
4M3TPA	21.12 \pm 0.64	4.32 \pm 2.78	10.36 \pm 0.04
5M3TPA	22.06 \pm 1.36	5.78 \pm 1.38	16.54 \pm 0.004
BHT	17.16 \pm 2.01	1.27 \pm 2.48	1.63 \pm 0.06
BHA	6.60 \pm 2.12	6.25 \pm 0.5	7.20 \pm 0.11

DES AMINOPHOSPHONATES

Dans notre étude, les deux paramètres IC_{50} et $A_{0.5}$ sont utilisés pour exprimer l'activité antioxydante de nos produits. Une molécule ayant une faible valeur d' IC_{50} ou/et d' $A_{0.5}$ elle a une forte activité antioxydante. Selon l'échelle de Fidrianny et al [12], on peut classer l'activité antioxydante suivant la séquence :

$IC_{50} (A_{0.5} \leq 50 \mu\text{g/ml})$: indique que la molécule possède une très forte activité antioxydante.

$50 \mu\text{g/ml} \leq IC_{50}(A_{0.5}) \leq 100 \mu\text{g/ml}$: activité forte.

$101 \mu\text{g/ml} \leq IC_{50}(A_{0.5}) \leq 150 \mu\text{g/ml}$: activité moyenne.

$IC_{50} (A_{0.5}) \geq 150 \mu\text{g/ml}$: activité faible.

Donc, selon l'échelle de Fidrianny et d'après les résultats du [Tableau IV.1](#), on peut conclure que les acides α -aminophosphoniques synthétisés sont des très forts antioxydants.

IV.3. Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique des quatre acides synthétisés a été évaluée selon la méthode du disque [12] à deux concentrations (50 et 100 $\mu\text{g/ml}$) contre deux souches fongiques *Fusarium oxysporum* et *Alternaria alternata*. Le PDA (**P**otato **D**extrose **A**gar) est utilisé comme milieu de culture favorable pour la poussé des deux souches fongiques et en même temps le PDA seul est utilisé comme contrôle négative (C-). Le DMSO est utilisé comme contrôle positive (C+). Des disques de 6 mm de diamètre des souches fongiques sont placés aux centres des boites pétries. Plus le diamètre est petit plus le produit testé est puissant d'inhiber la souche. Les résultats ont été exprimés par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (en mm).

Les diamètres de la zone d'inhibitions (en mm) des acides α -aminophosphoniques testés contre la *F. oxysporum* et la *A. alternata* sont calculés et représentés dans le tableau suivant

Tableau IV.2 : Diamètre de zone d'inhibitions en (mm) des acides α -aminophosphonique testé contre *F. oxysporum* et *A. alternata*.

Molécule	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	<i>F. oxysporum</i>		<i>A. alternata</i>	
	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$
5N2TPA	29.5	27.3	24	23.5
5N3TPA	39	12.3	27	26.3
4M3TPA	42	17	26	24

DES AMINOPHOSPHONATES

5M3TPA	26.5	18.9	25	15
C ⁺ DMSO		57		30
C ⁻ PDA		59		49

Les diamètres de la zone d'inhibition permet de calculer le pourcentage d'inhibition (I %) en utilisant l'équation :

$$I\% = (C - T)/C \times 100 \quad (IV.2)$$

Avec **C** : est le diamètre du control positive (DMSO dans le milieu PDA) et **T** : est le diamètre d'inhibition de la molécule testée. Les pourcentages d'inhibitions (I %) ont été exprimés dans le tableau IV.3.

Tableau IV.3 : Pourcentage d'inhibition (I%) à 100 µg/ml des acides α-aminophosphoniques testés contre *F. oxysporum* et *A. alternata*.

	Pourcentage d'inhibition (I%) à 100 µg/ml	
	<i>F. oxysporum</i>	<i>A. alternata</i>
5N2TPA	52.11	21.66
5N3TPA	78.42	12.33
4M3TPA	70.18	20.00
5M3TPA	66.84	50.00

A partir du [Tableau. IV.3](#) on peut remarquer que l'inhibition de la souche *F. oxysporum* est mieux que celle d'*A. alternata* par les différentes molécules testées. Aussi, les résultats indiquent que la molécule 5N3TPA possède un pourcentage d'inhibition (I %) le plus élevé avec I = 78.42 % contre le champignon *F.oxysporum*.

Pour mieux comparer les pourcentages d'inhibitions (I%) on a tracé un histogramme. Cet histogramme représente le pourcentage d'inhibition (%) des molécules étudiées contre le *F. oxysporum* et l'*A. alternata* à une concentration égale à 100 µg/ml. Les résultats obtenus indiquent que l'inhibition de la souche *F. oxysporum* est mieux que celle d'*A. alternata*, c'est-à-dire le champignon *A. alternata* est résistant par rapport au *F. oxysporum*. La molécule 5N3TPA possède une activité la plus élevée en comparant avec les autres molécules avec un pourcentage d'inhibition allant jusqu'au I = 78.42 % avec la souche *F. oxysporum*, d'autre part la molécule 5M3TPA permet d'inhiber 50 % de la souche *A. alternata*.

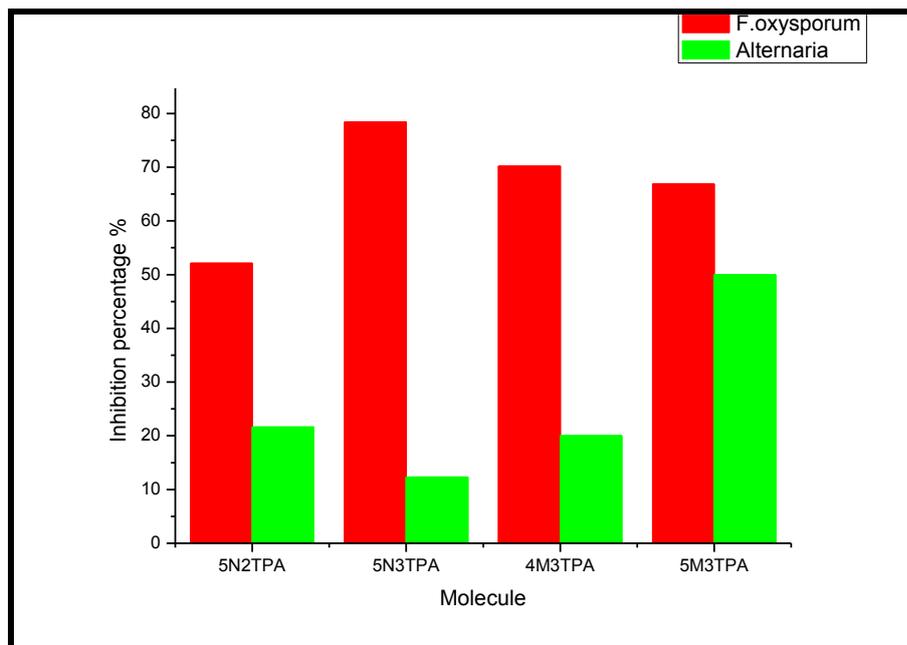


Figure IV.9: Histogramme représentant l'activité antifongique des acides α -aminophosphoniques testés vis-à-vis les deux souches *F. oxysporum* et *A. alternata*.

IV.4. Conclusion

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des molécules synthétisées effectuée par les trois méthodes DPPH, ABTS et Phenantroline, montre que les molécules testées possèdent des activités antioxydant importantes et prometteuses comparables aux celles des standards à de très faibles concentrations. Ceci peut être lié à la richesse des structures moléculaires des acides α -aminophosphoniques en hétéroatomes et cycles aromatiques.

Enfin, la différence significative de l'activité antioxydante et l'antifongique des molécules synthétisées, peut être attribuée aux positions du cycle thiophène (ortho ou para) et de la nature de la position du substituant sur le cycle aromatique (méthyle ou nitro).

Références bibliographique:

- [1] M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical, *Nature*. 4617 (181) (1958)1119-1200.
- [2] C. DA Silva et al, Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants, *Pharmacological Research*. 52 (2005) 229–233.
- [3] 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.
- [4] A. Shirwaiker, K. S. Prabhu, I. S. R. Punitha, In vitro antioxidant studies of *Sphaeranthus indicus* (Linn), *Indian journal of experimental biology*. 44 (2006) 993-996.
- [5] İ. Gülçin, Antioxidant activity of food constituents: An overview *Archive of toxicology*. 86 (2012) 345-391.
- [6] S. Y. Qusti, A. N. Abo-khatwa, M. A. Bin lahwa, Screening of antioxidant activity and phenolic content of selected food items cited in the Holly Quran, *European journal of biological sciences*. 2 (2010) 40-51.
- [7] Re, R. Pellegrini, N. Proteggente, A. Pannala, A. Yang, M. Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Bio. Med*. 26 (1999) 1231–1237.
- [8] A. Soyoun, K. Asres, F.K El-fiky, *Phytochemistry*. (2006) 67-2058.
- [9] T. A De Pinedo, P. Pen Alver, J.C. Morales, *Food Chem*. (2007) 10-355.
- [10] Szydłowska-Czerniaka, A. Dianoczki, C. Recseg , K. Karlovits, G. Szlyk, E, Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods, *Talanta*. 76 (2008) 899-905.
- [11] F. Tian, B. Li, B. Ji, J. Yang, G. Zhang, Y. Chen, Y. Lue, Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinesis*: The polarity affects the bioactivities, *food chemistry*. 113(2009) 173-179.

DES AMINOPHOSPHONATES

[12] I. Fidrianny, K. R. Wirasutisna, A. S. Windyaswari, Antioxidant capacities of various leaves extract from five colors varieties of sweet potatoes tubers using ABTS, DPPH assays and correlation with total flavonoid, phenolic, carotenoid content, Res. J. Med. Plant. 73 (2013) 1819-3455.

[13] Bauer, A.W. Kirby, M. M. Sherris, J. C. Truck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, Am. J. Clin. Pathol. 45 (1966) 493-496.

CHAPITRE V:
MODELISATION MOLECULAIRE

V.1. Introduction

La modélisation moléculaire a pour but de prévoir la relation entre la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules. Dans ce contexte, ce chapitre regroupe les résultats de la modélisation moléculaire des molécules synthétisées, notamment les calculs de chimie quantique par la méthode DFT, le docking moléculaire pour étudier l'inhibition de la protéase principale du SARS-CoV-2 et les propriétés ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion).

V.2. Calculs de chimie quantique

Les méthodes quantiques sont basées sur le calcul des orbitales moléculaires et leur complexité augmente rapidement avec le nombre d'électrons.

V.2.1. Théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)

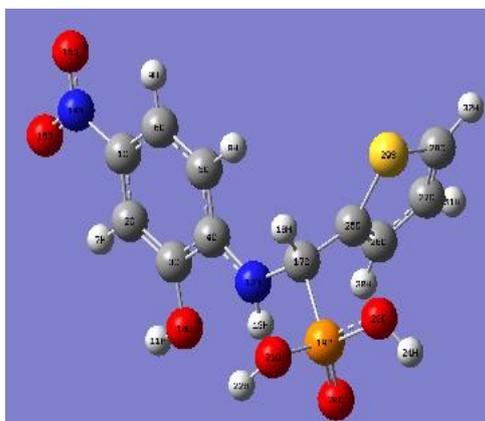
Dans la théorie de la fonctionnelle de la densité, les propriétés de l'état fondamental d'un système de particules interagissant entre-elles sont exprimés en fonction de la densité électronique.

Historiquement les premières idées de la théorie de la fonctionnelle de la densité furent introduite dans les travaux de Thomas [1] et fermi [2] en 1927, notons cependant que la DFT a été réellement établie avec l'apparition des théorèmes fondamentaux exacts d'Hohenberg et Kohn en 1964 [3] qui relie l'énergie de l'état fondamental et sa densité de façon unique. La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) constitue actuellement l'une des méthodes les plus utilisées dans les calculs quantiques de la structure électronique de la matière (atomes et molécules).

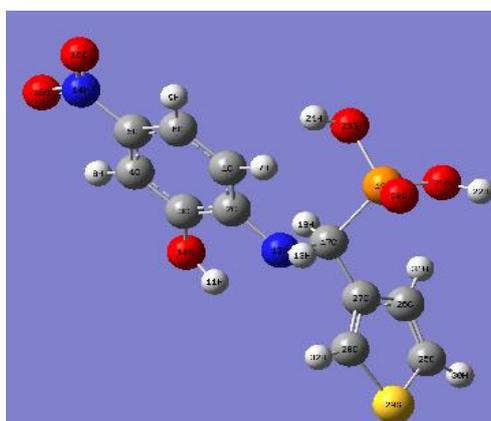
Les calculs de chimie quantique des acides α -aminophosphoniques synthétisés ont été réalisés en utilisant le programme GAUSSIAN 09 [4], et les résultats obtenues ont été visualisés par le logiciel GAUSSVIEW5.0.8 [5]. La théorie de la fonctionnelle de densité (DFT) au niveau B3LYP Beck-3-Lee-Yang-Parr avec la base 6-31G (d, p) [6] à été sélectionner pour lancer nos calculs quantiques.

V.2.2. Structures moléculaires optimisées des molécules synthétisées

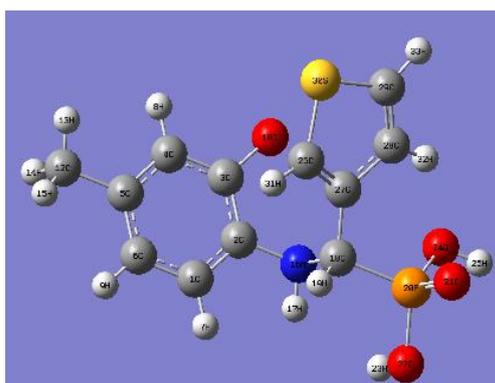
La figure V.1 représente les structures géométriques optimales des acides α -aminophosphoniques synthétisés. Ces structures ont été obtenues par une optimisation globale caractérisée par un calcul des fréquences vibrationnelles.



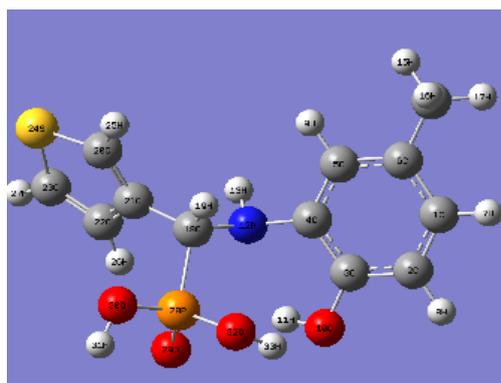
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure V.1 : Structures optimisées des acides synthésées calculées par la méthode DFT/B3LYP 6-31G (d, p) : (a) 5N2TPA, (b) 5N3TPA, (c) 5M3TPA, (d) 4M3TPA.

V.2.3. Orbitales moléculaires HOMO et LUMO

En chimie quantique, nous avons deux orbitales moléculaires (orbitales frontières) qui jouent un rôle particulier pour comprendre la réactivité d'une molécule:

HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital): traduit le caractère électro-donneur (nucléophile) de la molécule. Plus l'énergie de cette OM est élevée plus la molécule cédera facilement des électrons.

LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) : traduit le caractère électro-accepteur (électrophile) de la molécule. Plus l'énergie de cette OM est faible plus la molécule acceptera facilement des électrons. Les orbitales moléculaires HOMO et LUMO calculés des molécules synthésées sont figurés dans la **Figure V.2**. Selon cette figure on remarque que ces diagrammes représentent la distribution de charge autour les différents types de liaisons donneurs et accepteurs dans la molécule.

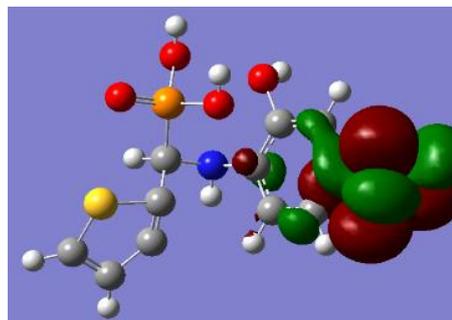
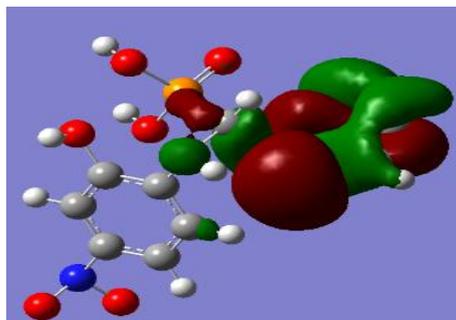
Molecule

HOMO

LUMO

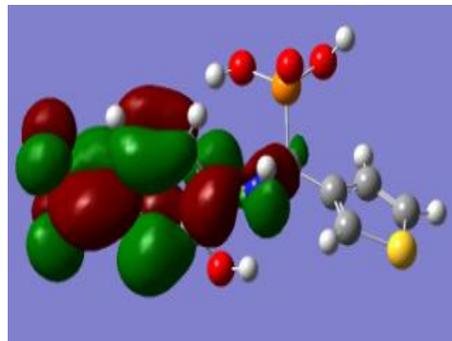
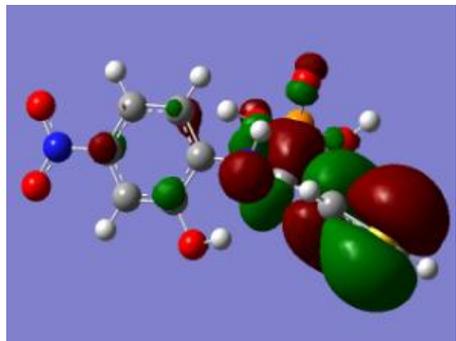
5N2TPA

(a)



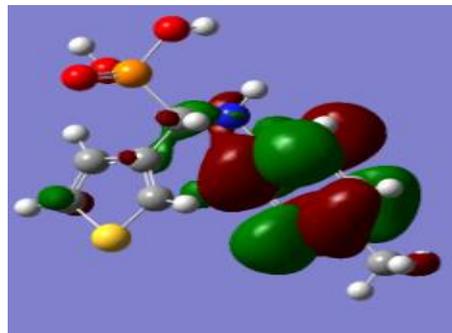
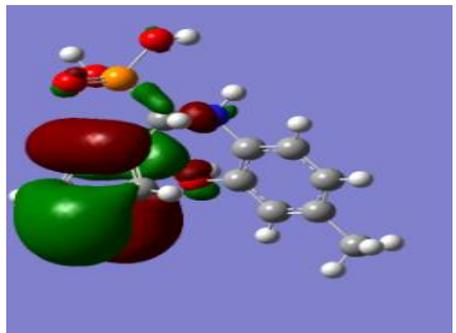
5N3TPA

(b)



5M3TPA

(c)



4M3TPA

(d)

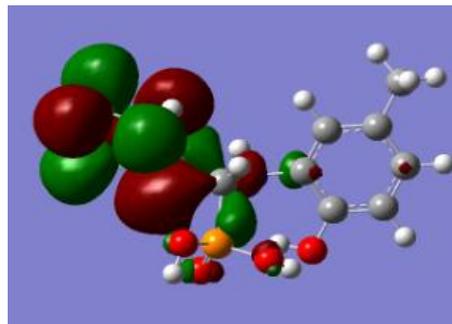
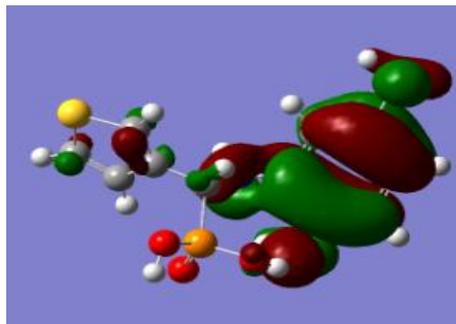


Figure V.2 : Représentation 3D des orbitales moléculaire (HOMO) et (LUMO) calculé par la méthode DFT avec la corrélation B3LYP et la base 6-31G (d, p) des quatre acides synthétisées.

Les orbitales moléculaires frontières (FMOs) jouent un rôle important dans la détermination des propriétés électroniques et de la réactivité chimique des molécules [7,8]. La figure V.2 indique deux couleur le rouge et le vert, le rouge correspondant à la phase positive par contre le vert représente la densité négative [9], on observe aussi que la densité d'HOMO est concentrée sur le cycle thiophène pour les molécules 5N2TPA, 5N3TPA et 5M3TPA, tandis que elle concentrée sur le cycle d'aminophénol pour 4M3TPA. En outre, on observe que la densité de LUMO est inversement distribuée à la densité de l'HOMO.

Les paramètres de chimie quantique à savoir le gap énergétique (ΔE_{GAP}), l'électronégativité absolue (χ), la dureté (η), la mollesse (S), l'électrophilicité (ω) et le moment dipolaire ont été calculés à partir d' E_{HOMO} et E_{LUMO} en utilisant les équations suivantes [10-12] :

$$\text{Energy gap: } \Delta E_{GAP} = E_{HOMO} - E_{LUMO} \quad (V.1)$$

$$\text{Energie d'ionisation : } I = - E_{HOMO} \quad (V.2)$$

$$\text{Affinité électronique : } A = -E_{LUMO} \quad (V.3)$$

$$\text{Electronégativité : } \chi = \frac{-(E_{HOMO} + E_{LUMO})}{2} \quad (V.4)$$

$$\text{Potentiel chimique : } \mu = -\chi \quad (V.5)$$

$$\text{La dureté : } \eta = (E_{LUMO} - E_{HOMO})/2 \quad (V.6)$$

$$\text{La mollesse : } S = \frac{1}{\eta} \quad (V.7)$$

$$\text{L'électrophilicité : } \omega = \frac{\chi^2}{2\eta} \quad (V.8)$$

Les valeurs calculées des paramètres de chimie quantique précédents sont exposés dans le **Tableau V.1**.

Tableau V.1 : Les paramètres de chimie quantique des molécules étudiées

Paramètres	5N2TPA	5N3TPA	4M3TPA	5M3TPA
E_{HOMO} (a.u)	-0.23011	-0.24486	-0.22224	-0.21315
E_{LUMO} (a.u)	-0.08404	-0.09176	-0.02007	-0.01956
ΔE_{GAP} (a.u)	0.14570	0.15310	0.20217	0.19359
Affinité électronique (A)	0.23011	0.09176	0.22224	0.21315
Potentiel d'ionisation (I)	0.08404	0.24486	0.02007	0.01956
Potentiel Chimique (μ)	-0.15707	-0.16831	-0.12115	-0.11635
La dureté (η)	0.07303	0.07655	0.10108	0.09679
La mollesse (s)	13.69206	13.06335	9.89266	10.33111
Electronégativité (χ)	0.15707	0.16831	0.12115	0.11635
Electrophilicité (ω)	0.16890	0.18503	0.07260	0.06993
Moment Dipolaire (Debye)	5.0828	5.7279	2.9558	0.8082

La capacité d'une molécule à donner des électrons est favorisée par la valeur élevée d' E_{HOMO} [13], en plus la capacité d'une molécule à accepter des électrons est favorisée par la faible valeur de E_{LUMO} [14]. Généralement, ΔE_{GAP} représente l'énergie nécessaire pour excité les électrons d'une molécule, aussi c'est un paramètre important pour déterminer la réactivité

et la stabilité d'une molécule [15]. Le gap énergétique (ΔE_{GAP}) des molécules synthétisées augmente selon l'ordre suivant :

$$\Delta E_{\text{GAP}} (4\text{M3TPA}) < \Delta E_{\text{GAP}} (5\text{M3TPA}) < \Delta E_{\text{GAP}} (5\text{N3TPA}) < \Delta E_{\text{GAP}} (5\text{N2TPA})$$

Ceci signifie que les deux acides 4M3TPA et 5M3TPA présentent un flux d'électron facile. D'après le tableau V.1, on observe que les deux molécules 5M3TPA ($\mu = -0.11$) et 4M3TPA ($\mu = -0.12$) ont les valeurs du potentiel chimique les plus élevées par rapport aux autres molécules, ceci signifié que ces deux molécules sont des bon donneurs d'électron. En outre, l'électronégativité et le moment dipolaire de 5N3TPA sont supérieur que les autre molécules ($\chi = 0.168$ et $D = 5.737$), qui rendre cette molécule plus réactive et permet d'attirer les électron.

L'indice d'électrophile des molécules synthétisées augmente dans l'ordre suivant : $\omega (5\text{M3TPA}) < \omega (4\text{M3TPA}) < \omega (5\text{N2TPA}) < \omega (5\text{N3TPA})$, qui révèle que la capacité d'attirer les électrons est plus élevée pour 5N3TPA.

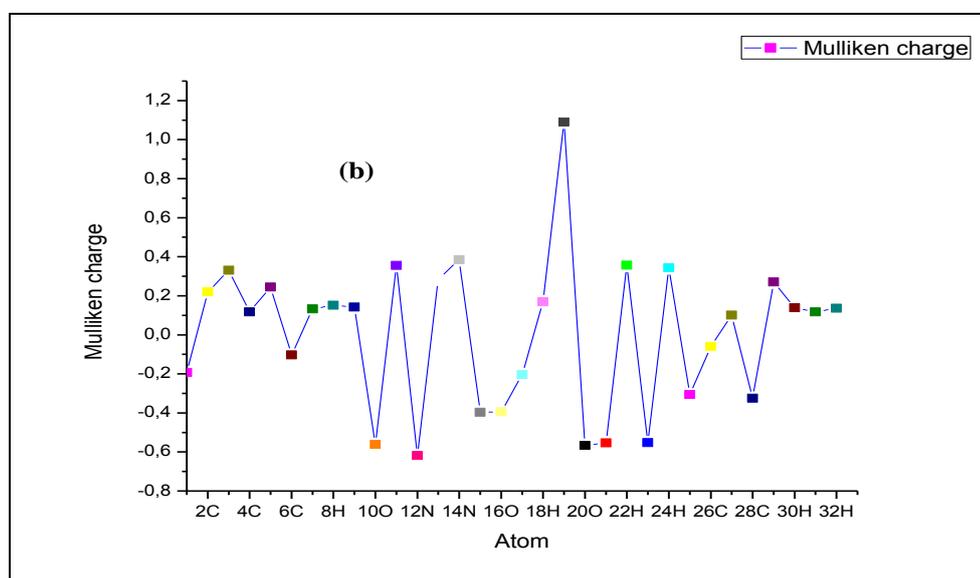
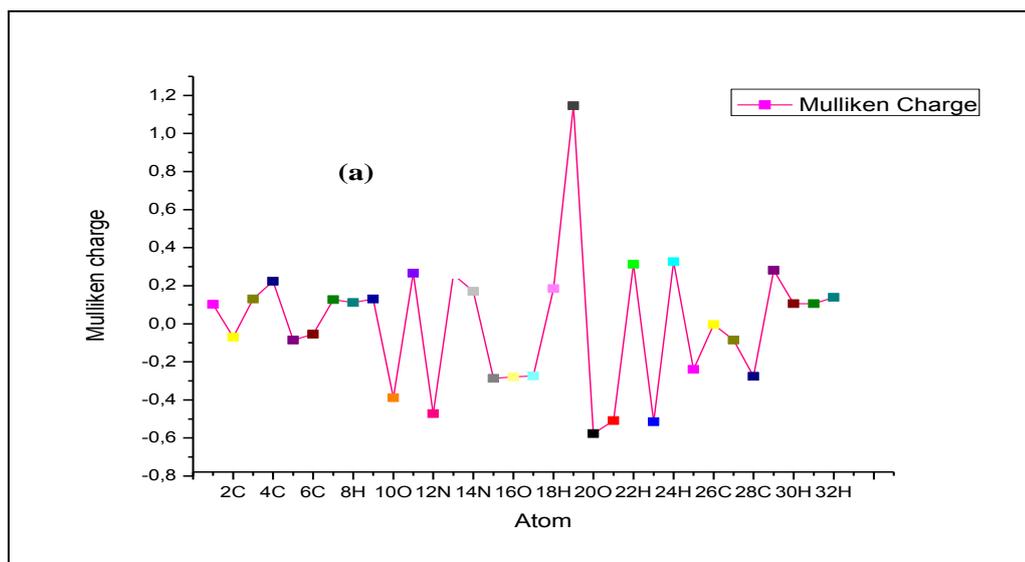
V.2.4. Les charges atomiques de Mulliken

Les charges de Mulliken proviennent de l'analyse de la population de Mulliken et fournissent des moyens d'estimation des charges atomiques partielles à partir des calculs qui sont basées sur la combinaison linéaire d'orbitales atomiques.

Les charges atomiques de Mulliken calculées pour les molécules synthétisées sont présentées dans la **Figure V.3**. Selon cette figure, on peut remarqué que les atomes de carbone C1/C3/C4, C2/C3/C5/C27, C3/C4/C6/C21 et C2/C3/C5/C27 des molécules 5N2TPA, 5N3TPA, 4M3TPA et 5M3TPA, respectivement, possèdent une charge positive et le reste des atomes de carbone pour les quatre acides synthétisés possèdent une charge négative. En outre, les atomes de phosphore possèdent les charges les plus positives (1.145, 1.098, 1.102 et 1,078) pour 5N2TPA, 5N3TPA, 4M3TPA et 5M3TPA, respectivement. Les atomes d'oxygène des groups phosphoniques des deus deux molécules 5N2TPA et 5N3TPA (substitué par le groupe nitro) ont les charges les plus négatives (-0.577 et -0.565 respectivement), tandis que les charges les plus négatives dans les deux molécules 4M3TPA et 5M3TPA (substitué avec le groupe méthyle) sont situées sur les atomes d'azote (-0.625 et -0.639 respectivement).

En plus, les atomes d'hydrogène et de soufre possèdent une charge positive pour les quatre molécules étudiées. Généralement, la charge négative de l'atome d'oxygène indique la possibilité de former des liaisons hydrogène. En addition, les centres chargés positivement

sont des sites qui subi un attaque nucléophile et les sites négatives subie un attaque électrophile [16].



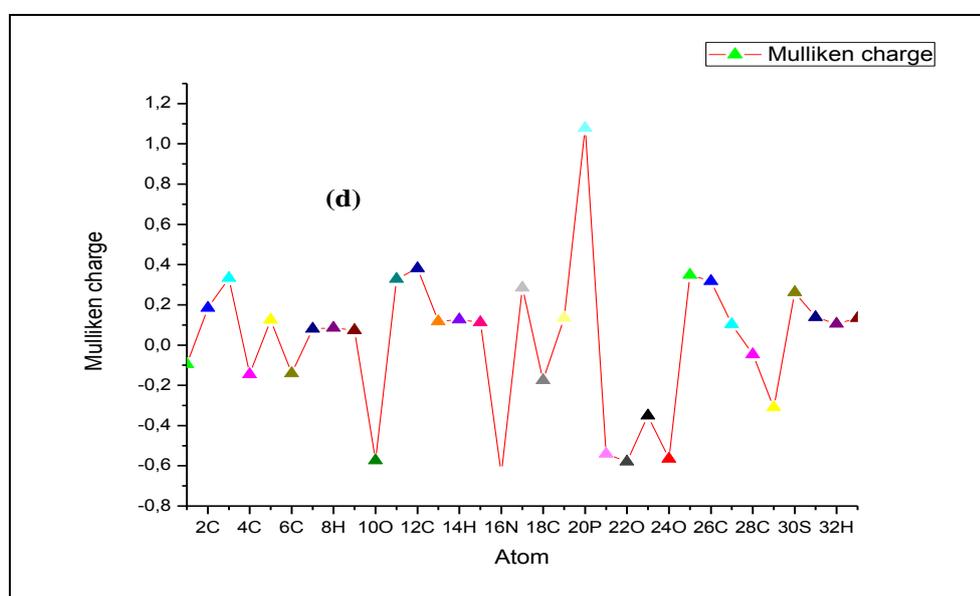
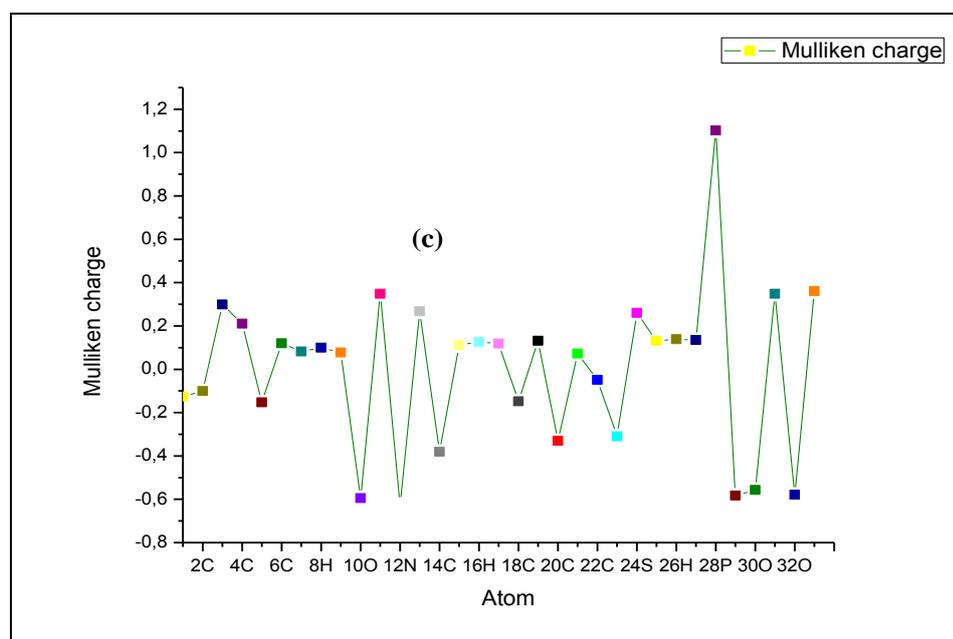


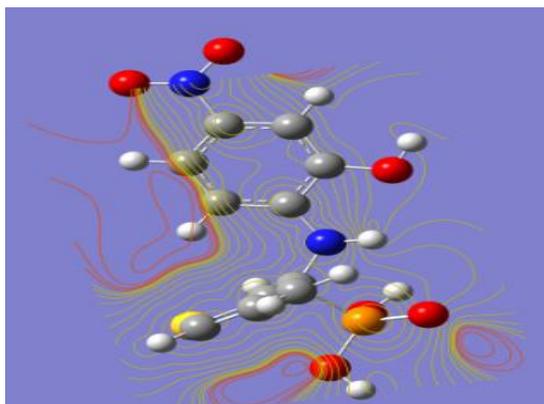
Figure V.3 : La distribution des charges atomiques de Mulliken de molécules synthétisées :

(a) 5N2TPA, (b) 5N3TPA, (c) 4M3TPA et (d) 5M3TPA.

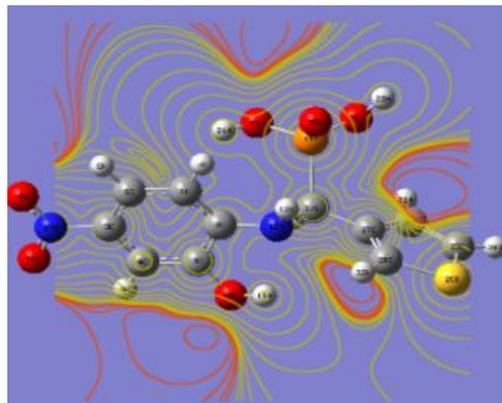
V.2.5. Contours du potentiel électrostatique (ESP)

La carte des contours du potentiel électrostatique en 2D c'est un moyen pour prédire comment les différentes géométries peuvent interagir entre elles. Les contours du potentiel électrostatique en 2D des quatre acides α -aminophosphoniques étudiés sont représentés dans **Figure V.4**. Comme le montre cette figure, les lignes indiquent des contours iso potentiels, avec des couleurs allant du rouge (ESP élevé) au jaune (ESP faible). Les contours en rouge

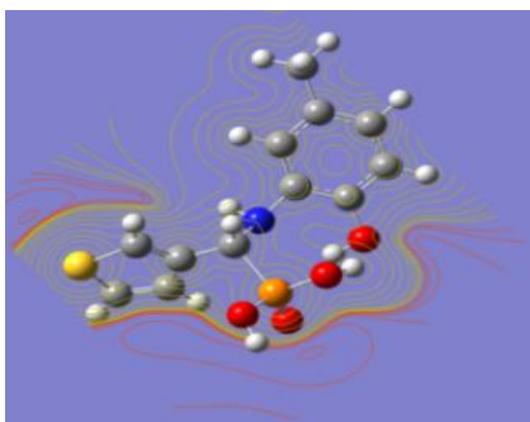
indiquent les potentiels électrostatiques négatifs et les contours en jaune indiquent les potentiels électrostatiques positifs.



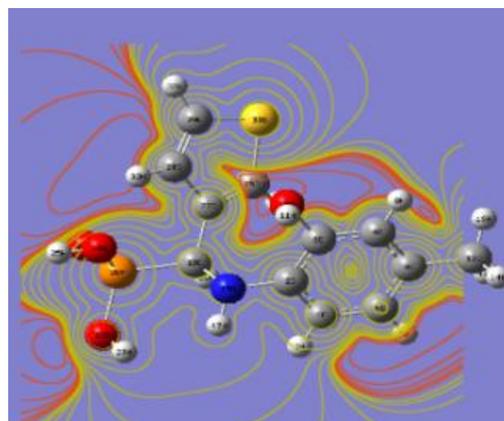
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure V.4 : Les cartographies 2D des contours du ESP des molécules étudiées : (a) 5N2TPA, (b) 5N3TPA, (c) 4M3TPA et (d) 5M3TPA

V.2.6. Données structurales des géométries optimisées des acides synthétisés

Les longueurs des liaisons, les angles et les angles diédraux des acides α -aminophosphonique synthétisés sont calculés en utilisant les structures géométriques optimisées et les résultats obtenus sont exposés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau V.2 : Données structurales de la géométrie optimisée de l'acide 5N2TPA.

Longueur des liaison		Angle		Angle déhydrale	
C1C2	1.40215	C1C2C3	119.51460	H7C1C2C3	177.98647
C1H7	1.08707	H7C1C2	119.51460	C2C3O10H11	17.51885
C2C3	1.41438	C3H10H11	106.98037	C2C3C4H8	-179.87805
C3O10	1.35764	C2C3C4	120.29689	C2C3C4C5	-1.44312
O10H11	0.97372	C3C4H8	120.76701	C3C4C5N14	-179.86909
C3C4	1.39044	O10C3C4	119.62618	C4C5C6H9	-178.78682
C4H8	1.08191	C3C4C5	118.51258	H8C4C5N14	-1.43310
C4C5	1.39440	H8C4C5	120.70164	C4C5N14O16	-1.11457
C5N14	1.47080	C4C5C6	122.67077	C4C5N14O15	178.94116
N14O15	1.23124	C4C5N14	118.48309	C5C6C7H1	179.80091
N14O16	1.23059	C5N14O15	117.60958	C2C1C6C5	-0.31983
C5C6	1.39266	C5N14O16	117.70662	H7C1C2N12	0.98314
C6H9	1.08195	C5C6H9	119.77908	C1C2N12H13	18.50909
C1C6	1.39480	C5C6C1	118.29515	C2N12C17H18	-36.58623
C2N12	1.41774	C6C1H7	120.26958	H13N12C17H18	-163.65922
N12H13	1.01826	C2N12H13	111.15340	H13N12C17P19	-48.85738
N12C17	1.48306	H13N12C17	108.66743	H18C17P19O20	159.45587
C17H18	1.09516	H18C17P19	107.05130	C17P19O21H22	-120.21178
C17P19	1.86369	C17P19O20	111.27373	C17P19O23H24	74.26318
P19O20	1.48800	P19O21H22	110.35396	C27C17P19O20	-79.44949
P19O21	1.61432	O20P19O23	117.04733	H18C17C27C26	53.88237
O21H22	0.96845	P19O23H24	111.88611	H18C17C27C28	-124.70317
P19O23	1.61796	O21P19O23	99.03258	C17C27C28H32	-0.17527
O23H24	0.97135	P19C17C27	113.87073	C26C27C28H32	-178.90706
C17C27	1.51120	C17C27C28	124.19610	H31C26C27C28	179.98214
C27C28	1.37169	C27C28H32	127.81402	H31C26C25H30	-0.46735
C28H32	1.07966	C2728S29	111.98578	H30C25S29C28	-179.52578
C28S29	1.73144	C26C27C28	112.01641	C25S29C28C27	-0.15672
C25S29	1.73440	C25C26C27	112.87986	H30C25C26H31	179.60325
C25C26	1.36485	C28S29C25	91.43519		
C26H31	1.08299	S29C25H30	120.17506		
C25H30	1.08094	O15N14O16	124.68378		

Tableau V.3 : Données structurales de la géométrie optimisée de l'acide 5N3TPA.

Longueur de liaison		Angle		Angle déhydrale	
C1C2	1.39281	C1C2C3	119.65310	C1C2C3C34	-0.76280
C1H7	1.08691	C2C3C4	120.22339	C2C3C4C5	1.24834
C2C3	1.39395	C3C4C5	119.05663	C3C4C5C6	-0.86279
C2H8	1.08500	C4C5C6	121.70374	C4C5C6C1	-0.01148
C2C3	1.39395	C5C6C1	117.85120	C5C6C1C2	0.51926
C3O10	1.37423	C2C1H7	119.09502	H7C1C2H8	-0.64016
O10H11	0.97941	H7C1C6	119.40069	H8C2C3O10	1.43145
C3C4	1.40310	C1C2H8	121.32031	C2C3O10H11	-163.81704
C4C5	1.39825	H8C2C3	119.01635	C4C3O10H11	17.23227
C5C6	1.39900	C1C6C14	121.01733	C3C4C5H9	179.07820
C5H9	1.08820	C2C3O10	119.18895	H9C5C6C14	1.27532
C6C14	1.51102	C3O10H11	107.44045	C5C6C14H15	-22.29252
C14H15	1.09382	C3C4N12	117.46570	C5C6C14H16	97.58072
C14H16	1.09718	C4C5H9	118.56945	C5C6C14H17	-142.83302
C14H17	1.09456	C6C14H15	111.46541	C5C4N12H13	41.08787
C4N12	1.43462	C6C14H16	111.42675	C5C4C12C18	-83.35228
N12C18	1.49091	C6C14H17	111.43368	O10C3C4N12	-2.49777
C18H19	1.09832	C5C6C14	121.11987	C2C3C4N12	178.56240
C18P28	1.85264	C4N12H13	110.46175	C6C5C4N12	-178.00737
C18C21	1.50811	C4N12C18	117.59350	H9C5C4N12	1.93362
P28O29	1.48917	H13N12C18	107.91882	C4N12C18H19	27.81991
P28O32	1.61870	N12C18H19	111.46353	C3C4N12H13	-136.09905
O32H33	0.97906	N12C18C21	109.68113	C3C4N12C18	99.46079
P28O30	1.61572	N12C18P28	108.19869	H13N12C18H19	-97.88109
O30H31	0.96849	C18P28O29	113.85767	H13N12C18P28	144.04982
C21C22	1.43655	C18 P28O30	100.83068	H13N12C18C21	23.34627
C22C23	1.36480	C18P28O32	106.97156	C4N12C18H19	27.81991
C23S24	1.73704	P28O30H31	111.66176	C4N12C18P28	-90.24918
C20S24	1.73162	P28O32H33	108.79066	C4N12C18C21	149.04727
C20H25	1.08131	O30P28O32	101.57932	N12C18P28O29	-51.83828
C20C21	1.37091	O29P28O30	117.96335	N12C18P28O30	-179.18420
C22H26	1.08314	H19C18C21	109.33335	N12C18PC21C20	-117.35564
C23H27	1.08091	C21C22C23	112.69525	N12C18C21C22	60.55081
		C22C23S24	111.73817	C18P28O30H31	172.97713

C23C24C20	91.40055	C18P28O32H33	-88.74252
S24C20C21	111.90303	H19C18C21C22	-176.94735
C21C22H26	123.03979	H19C18C21C20	5.14620
H26C22C23	124.24055	H19C18P28O29	-172.37206
C22C23H27	128.28859	H19C18P28O32	-45.50470
C21C20H25	127.87346	H19C18P28O30	60.28202
S24C20H25	120.22166		
C18C21C20	123.69331		

Tableau V.4 : Données structurales de la géométrie optimisée de l'acide 4M3TPA.

Longueur de liaison		Angle		Angle diédrale	
C1-C2	1.39804	O15N14O16	124.39288	C2C1N14O16	179.66694
C2C3	1.37842	C1N14O15	117.68018	C2C1N14O15	-0.28048
C3C4	1.41931	C1N14O16	117.92691	H7C2C1N14	0.10223
C4C5	1.40074	C1C6H9	119.48341	C1C2C3O10	-179.78945
C5C6	1.38996	N14C1C6	119.84327	H7C2C3O10	0.18920
C1N14	1.46341	C1C2C3	119.08856	C2C3O10H11	2.87703
N14O15	1.22832	H7C2C3	121.67531	C2C3C4C5	-0.94800
N14O16	1.22622	C2C3C4	121.00907	C2C1C6C5	-0.20957
C2H7	1.08276	C2C3O10	123.79220	C4C5C6H9	179.91282
C3O10	1.37032	C3O10H11	109.95406	H8C5C6H9	-0.88069
O10H11	0.96256	O10C3C4	109.95406	H9C6C1N14	-0.37385
C4N12	1.38010	C3C4C5	118.25701	C5C412N13H	-165.59236
C4C5	1.40074	C4C5H8	119.94607	N12C4C5H8	3.53388
C5H8	1.08132	C4C5C6	121.05020	H13N12C17H18	-158.26957
C5C6	1.38996	C5C6H9	121.30548	H13N12C17C25	77.53505
C6H9	1.08043	C1C6H9	119.48341	H13N12C17P19	-46.30650
N12H13	1.01232	C4N12H13	115.15218	O20P19O21H22	-33.96623
N12C17	1.45399	N12C17H18	109.06818	O20P1923O24O	-18.64471
C17H18	1.09333	N12C17P19	103.95539	O21P19O23H24	107.45901
C17C25	1.51012	C17C25C26	127.76780	O20P19C17C25	-74.26070
C17P19	1.84862	C17C25S29	121.45648	C17C25C26H30	0.69750
P19O20	1.48120	C25S29C28	91.65903	17C25C29S28C	179.33506
P19O21	1.61941	S29C25C26	110.76795	C25S29C28C27	-0.17391
P19O23	1.60485	C25C26H30	123.04635	S29C28C27H31	179.94325

O23H24	0.96443	C25C26C27	113.20914	32H28C27C31H	0.03296
C25C26	1.36879	H30C26C27	123.74450	31H27C26C30H	0.28053
C26H30	1.08196	C26C27H31	123.85623	28C27C26C30H	-179.80920
C26C27	1.42397	C26C27C28	112.79722	C25C26C27C28	0.18163
C27H31	1.08178	C27C28H32	128.67270		
C27C28	1.36455	C27C28S29	111.56577		
C28H32	1.07896	C17P19O20	113.62717		
C28S29	1.73125	C17P19O21	104.93711		
C25S29	1.74319	C17P19O23	102.81676		
		P19O21H22	112.04569		
		O20P19O21	115.09974		
		O20P19O23	117.55562		
		P19O23H24	112.87938		

Tableau V.5 : Données structurales de la géométrie optimisée de l'acide 5M3TPA.

Longueur de liaison		Angle		Angle déhydrale	
C1C2	1.39368	C1C2C3	119.19056	H7C1C6H9	-0.10420
C1H7	1.08686	C2C3C4	120.36126	H7C1C6C5	-179.97163
C1C6	1.39478	C3C4C5	120.39406	H7C1C2C3	-179.64751
C2C3	1.40754	C5C6C1	120.64312	C2C3C4C5	0.09707
C3C4	1.39526	H7C1C2	119.73597	C2C3O10H11	0.57126
C4C5	1.39881	H7C1C6	119.88763	H8C4C3O10	0.16810
C5C6	1.40263	H9C6C1	119.68913	C4C3O10H11	-179.73835
C2N16	1.44314	C2C3O10	119.37776	H8C4C5C12	1.68231
C3O10	1.35888	C3O10H11	104.20418	C4C5C12H13	-34.46095
O10H11	0.97948	O10C3C4	120.26025	C4C5C12H14	85.05459
C4H8	1.08579	C3C4H8	118.63912	C4C5C12H15	-155.31014
C5C12	1.51096	H8C4C5	120.96637	C6C5C12H13	146.71536
C12H13	1.09413	C4C5C6	119.03372	C6C5C12H14	-93.76910
C12H14	1.09717	C5C12H13	111.48501	C6C5C12H15	25.86617
C12H15	1.09717	C5C12H14	111.11122	H7C1C2N16	0.54687
C6H9	1.08622	C5C12H15	111.40641	C1C2N16H17	77.28549
N16H17	1.01712	H13C12H14	107.20190	C2N16C18H19	65.27966
N16C18	1.46908	H14C12H15	107.33804	C2N16C18C27	-58.23201
C18H19	1.10209	H13C12H15	108.09272	H17N16C18H19	-62.64758

C18P20	1.84480	C12C5C6	120.68732	H17N16C18C27	173.84075
P20O21	1.48344	C5C6H9	119.66761	N16C18P20O21	-169.02697
P20O22	1.62476	H9C6C1	119.68913	N16C18P20O24	62.56008
P20O24	1.62568	C6C1H7	119.88763	N16C18P20O22	-43.04197
O22H23	0.96872	C2N16H17	111.32670	C18P20O24H25	102.08025
O24H25	0.96851	C3C2N16	111.32670	C18P20O22H23	-167.36286
C18C27	1.51246	H17N1618C	109.14978	C18C27C28H32	5.61114
C26C27	1.37140	N16C18H19	112.92196	C18C27C28C29	-176.66959
C26H31	1.08105	N16C18C27	113.25943	C18C27C26H31	-2.03888
C27C28	1.43544	N16C18P20	109.39329	C18C27C26S30	176.55966
C28C29	1.36536	H19C18P20	103.95155	C27C28C29S30	0.35581
C28H32	1.08206	C18P20O24	106.61254	C27C26S30C29	0.09998
C29H33	1.08087	C18P20O22	100.01604	C27C28C29H33	-178.44612
C29S30	1.73539	C18P20O21	115.54232		
C26S30	1.73023	P20O22H23	111.73837		
		O21P20O22	116.55624		
		O22P20O24	101.77540		
		H19C18C27	108.26300		
		C26C27C28	112.07953		
		C27C28C29	112.77949		
		C28C29S30	111.72925		
		C29S30C26	91.36738		
		C27C28H32	123.82879		
		C27C26H31	127.73734		
		H32C28C29	123.35009		
		C28C29H33	128.12722		
		H33C29S30	120.13295		
		S30C26H31	120.20483		

V.3. Molecular docking**V.3.1 Evaluation *in silico* de l'activité inhibitrice des molécules synthétisées vis-à-vis la protéase principale du SARS-CoV-2**

Le docking moléculaire ou l'amarrage moléculaire est une sorte de modélisation bioinformatique qui implique l'interaction de deux molécules ou plus pour donner un complexe stable. Selon les propriétés des liaisons formées entre le ligand et la cible, il prédit la structure tridimensionnelle du complexe formé.

Dans la mise au point de nouveaux médicaments, l'amarrage sert souvent à déterminer l'orientation des petites molécules liées à leur affinité et niveau d'activité. Ainsi l'amarrage joue un rôle important dans la conception pensée de nouveaux médicaments.

En raison de sa valeur biologique et pharmaceutique, on peut considérer l'amarrage comme une situation de serrure et clef où on s'intéresse à trouver la bonne orientation relative de la clef (le liant) qui active la serrure (la protéine). Si le ligand et la protéine sont tous les deux flexibles, il est plus adapté de comparer cette situation à celle où une main rentre dans un gant. Au cours du mécanisme, le ligand et la protéine s'ajustent pour améliorer leur serrage. Plusieurs publications indiquent l'utilisation du docking moléculaire dans la conception des médicaments [17-19].

Dans ce travail, les calculs du docking moléculaire ont été exploités *in silico* avec le programme iGMDOCK version 2.1 afin de prédire d'une part les meilleurs modes (poses) d'interaction des acides α -aminophosphoniques synthétisés avec le site actif de la protéase principale du SARS-CoV-2 (M^{pro}) et d'autre part pour déterminer les différents types de liaisons formées, les énergies d'interaction et les acides aminés qui interviennent dans la formation de ces liaisons. La structure de M^{pro} a été obtenue à partir de la banque de données des protéines (Protéine Data Bank) sous le code PDB ID: 6LU7 [20] avec une boîte de maillage de $30 \times 30 \times 30$ Å. Le logiciel *Accelry's Discovery Studio Visualizer* a été employé pour visualiser les résultats obtenus à savoir les meilleurs poses d'interaction, les diagrammes d'interaction en 2D et en 3D [21]. Les meilleures poses d'interaction des acides α -aminophosphoniques étudiés avec la protéase principale du SARS-CoV-2 sont présentées dans la **Figure V.5**.

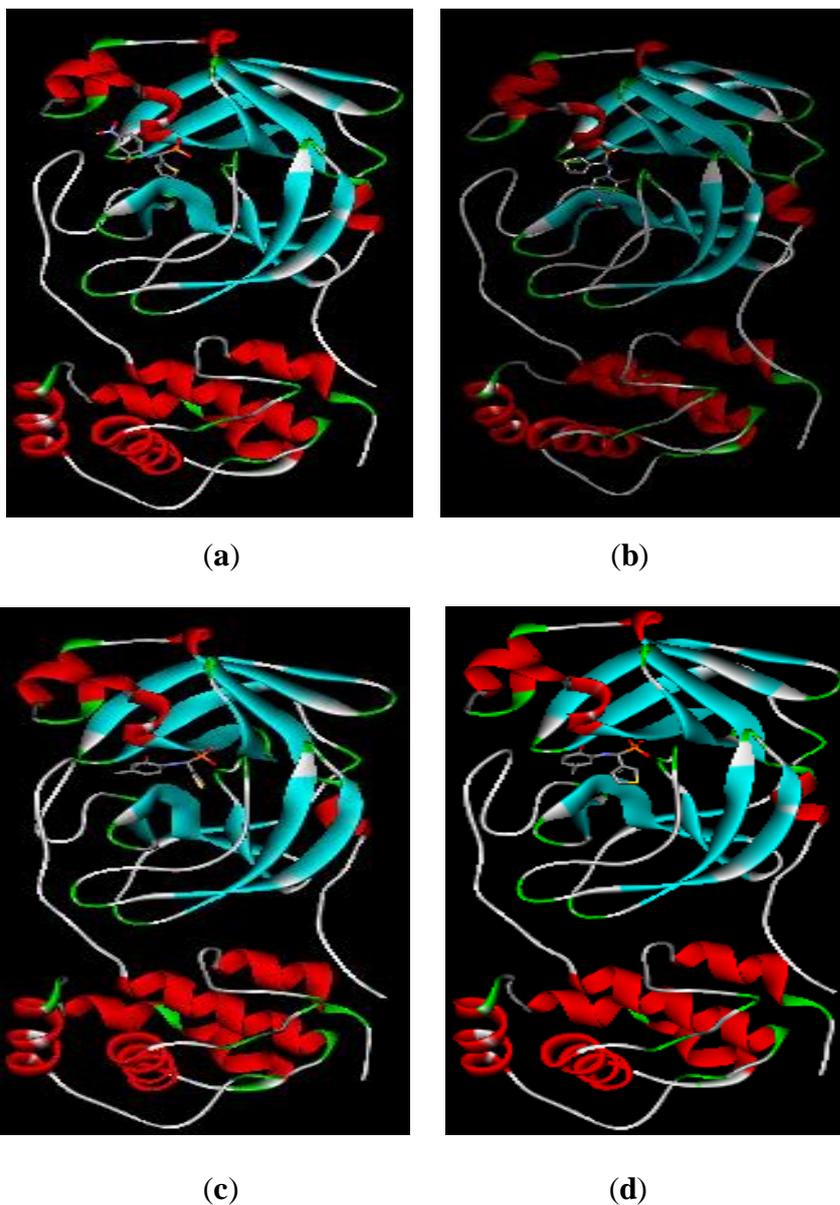
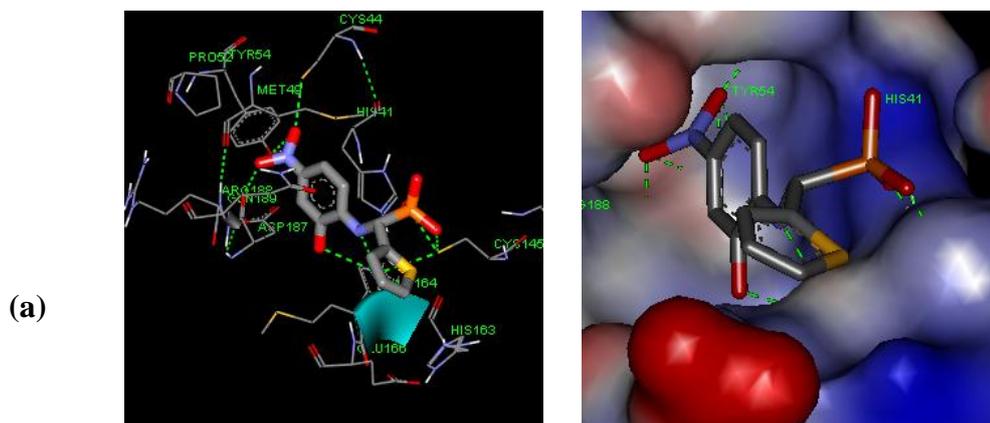


Figure V.5 : Les meilleures poses d'interaction des acides α -aminophosphoniques étudiés avec la protéase principale SARS-CoV-2: (a) 5N2T, (b) 5N3T, (c) 4M3T et (d) 5M3T.



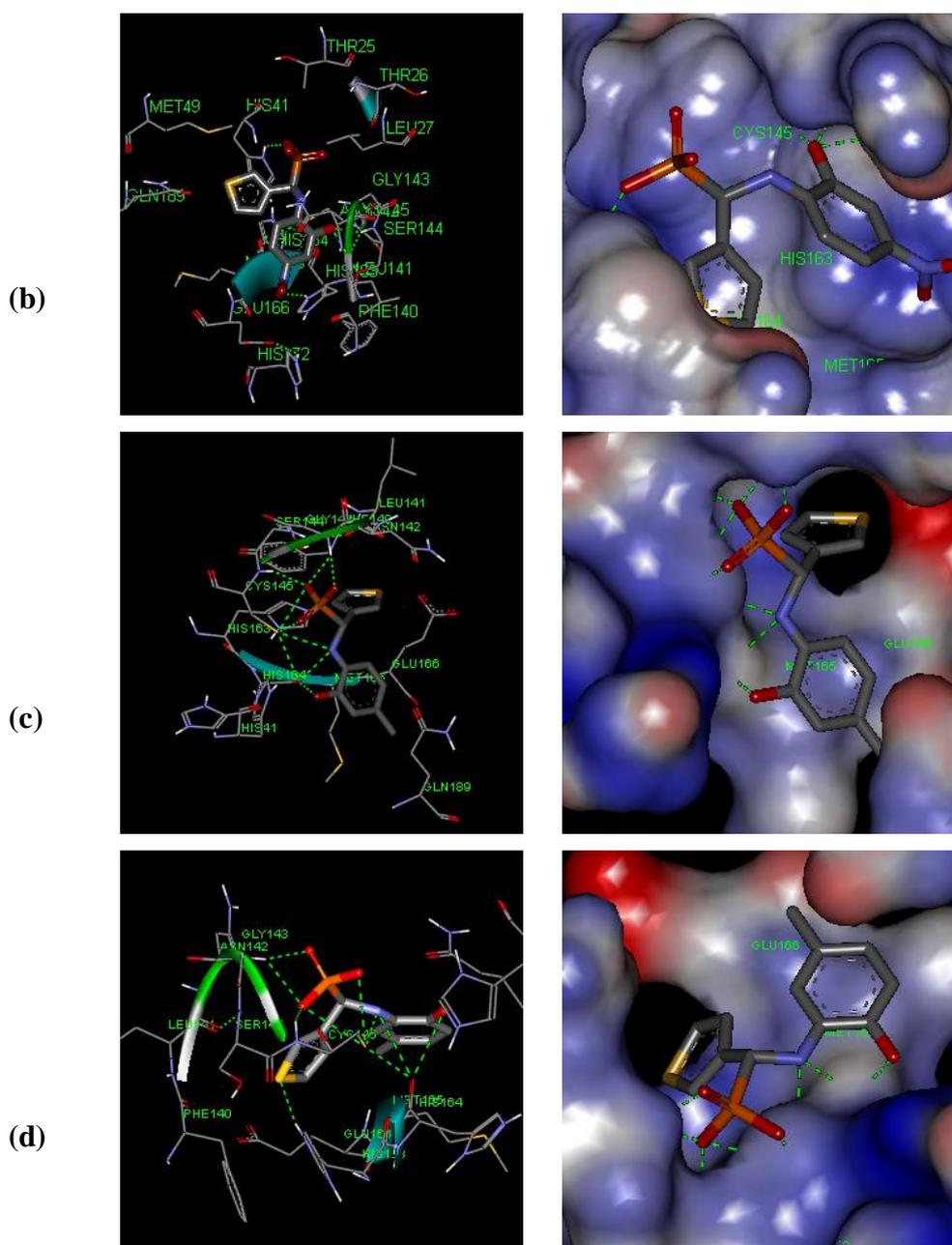


Figure V.6 : A gauche: diagramme des interactions en 3D des inhibiteurs étudiés avec la protéase principale du SARS-CoV-2: (a) 5N2T, (b) 5N3T, (c) 4M3T et (d) 5M3T. À droite: les inhibiteurs étudiés à l'intérieur des sites actifs avec les interactions.

A partir des diagrammes d'interaction 2D et 3D présentés dans les **Figures V.6** et **V.7**, on peut observer que l'acide 5N2TPA interagit avec les résidus des acides aminés dans le site actif en formant des liaisons hydrogènes avec l'HIS41 à une distance de 3.54 Å, le TYR54 (2.2 et 2.8 Å), le CYS145 (2.7 et 2.8 Å), l' HIS164 (2.8 et 2.2 Å) et des interactions Pi-soufre entre le cycle phénol du ligand et l'acide aminé HIS41 à une distance de 4.2 Å, une liaison électrostatique avec l'HIS41 et des liaisons de type Van der Waals avec HIS41, MET49, HIS164, MET165, et GLN189 et avec une énergie égale à $E_{5N2TPA} = -106.1$ kcal/mol. Ainsi, le ligand 5N3TPA forme des liaisons d'hydrogènes avec les acides aminés HIS41 (2.3

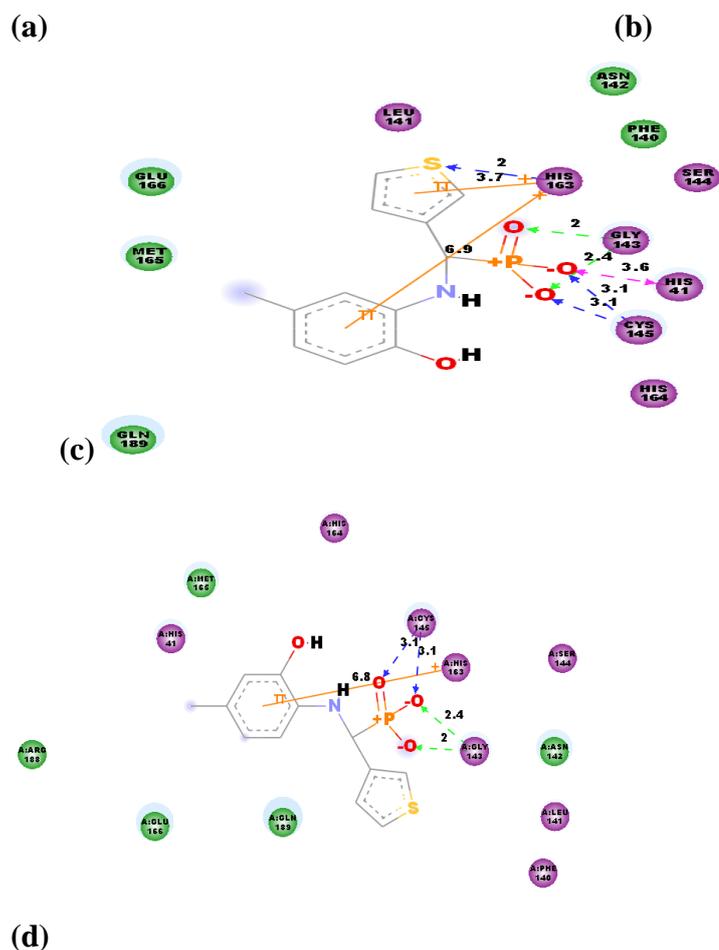


Figure V.7 : Diagrammes d'interaction 2D des inhibiteurs étudiés avec la protéase principale du SARS-CoV-2 : (a) 5N2T, (b) 5N3T, (c) 4M3T et (d) 5M3T.

Les énergies et les différents types des interactions formées entre les acides α -aminophosphoniques étudiés et le Mpro sont présentés dans le **Tableau V.6**.

Tableau V.6 : Les résultats du docking moléculaire obtenus *in silico* pour l'inhibition de la protéase principal du SARS-CoV-2 par les acides α -aminophosphoniques étudiés.

Composés	Energie en kcal/mol	Interactions
5N2TPA	- 106.1	Elc: HIS41
		Liaisons-H: HIS41, TYR54, CYS145, HIS164
		vdW: HIS41, MET49, HIS164, MET165, GLN189
5N3TPA	- 105.2	Liaisons-H: HIS41, GLY143, SER144, CYS145, HIS163, GLU166

		vdW: HIS41, LEU141, ASN142, GLY143, CYS145, HIS163, HIS164
4M3TPA	- 102.9	Liaisons-H: HIS41, GLY143, SER144, CYS145, HIS164
		vdW: LEU141, ASN142, MET165, GLU166, GLN189
		Liaisons-H: HIS41, GLY143, SER144, CYS145, CYS145, HIS16
5M3TPA	- 101.9	vdW: LEU141, ASN142, MET165, MET165, GLU166, GLN189

Elc: interactions électrostatiques, **Liaisons-H:** liaisons hydrogènes et **vdW:** les forces de van der Waals.

La distribution de l'énergie sur les différents types d'interactions à savoir les forces van der Waals, liaisons hydrogènes et les interactions électrostatiques est présentée dans le **Tableau V.7**

Tableau V.7 : Distribution de l'énergie sur les différents types des interactions formées entre les inhibiteurs étudiés et le M^{pro}.

Ligand	Les forces de van der Waals	Liaisons hydrogènes	Interactions électrostatiques
5N2TPA	- 72.9863	- 28.8757	- 3.22359
5N3TPA	- 78.048	- 25.7353	- 1.37457
4M3TPA	- 67.7466	- 33.0763	- 1.12479
5M3TPA	- 68.9712	- 32.7829	- 1.11344

D'après le tableau V.7 on observe que les forces van der Waals sont les plus dominantes d'un point de vue énergétique suivi par les liaisons d'hydrogènes puis les interactions électrostatiques. En outre, le 5N2TPA montre le score d'énergie le plus négatif, ce montre que le 5N2TPA inhibe le M^{pro} mieux que les autres molécules.

V.4. Etude ADME des molécules synthétisées

ADME c'est une abréviation qui signifie **A**bsorption, **D**istribution, **M**étabolisme et **E**xcrétion. Dans ce contexte, le SwissADME est une plateforme sur internet accessible

gratuitement sur <http://www.swissadme.ch> qui peut être utilisée dans la conception des médicaments. Généralement, ce logiciel permet de prédire l'absorption gastro-intestinale humaine d'une molécule ainsi que sa capacité à franchir la barrière hémato-encéphalique.

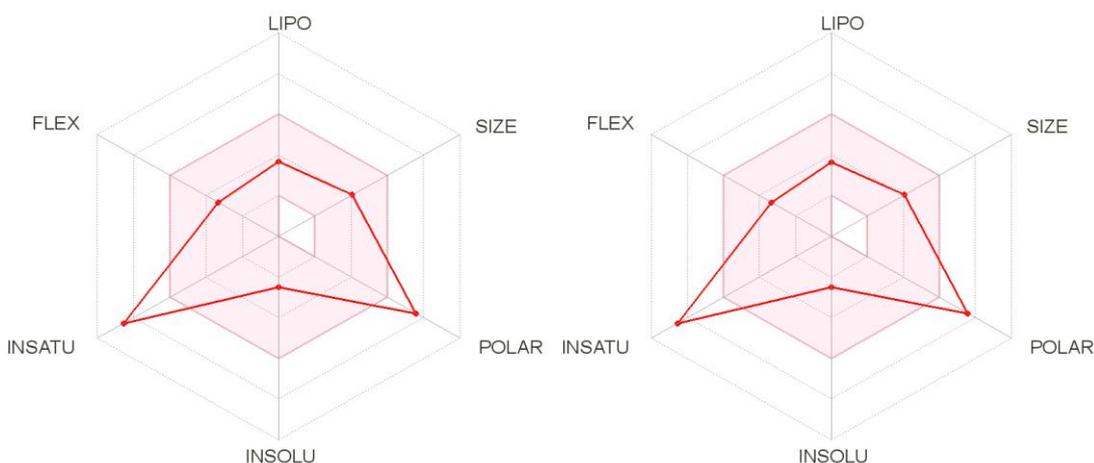
L'objectif de cette partie est de calculer les propriétés physicochimiques, de prédire les paramètres ADME, de calculer les propriétés pharmacocinétiques et drug-like des molécules synthétisées pour supporter la découverte de médicaments [22].

V.4. 1. Radar de la biodisponibilité

Les radars de la biodisponibilité des acides α -aminophosphoniques synthétisés sont calculés en utilisant la plateforme SwissADME et les résultats obtenus sont présentés dans la figure V.8. Les zones colorées en rose représentent l'espace physicochimique le plus approprié de la biodisponibilité orale. Le radar de la biodisponibilité indique six axes principaux :

- La Lipophilicité (LIPO) exprimé par : XLOGP3 ;
- Le volume (SIZE) exprimé par: MV ;
- La polarité (POLAR) exprimé par : TPSA ;
- L'insolubilité (INSOLU) exprimé par : LOG S ESOL ;
- L'insaturation (INSATU) exprimé par : FRACTION CSP3 ;
- La flexibilité (FLEX) exprimé par: NUM ROTATABLE BONDS.

Les valeurs calculées des paramètres utilisées pour identifier les axes du radar de biodisponibilité qui caractérisent les acides α -aminophosphoniques synthétisés sont regroupés dans le Tableau V.8.



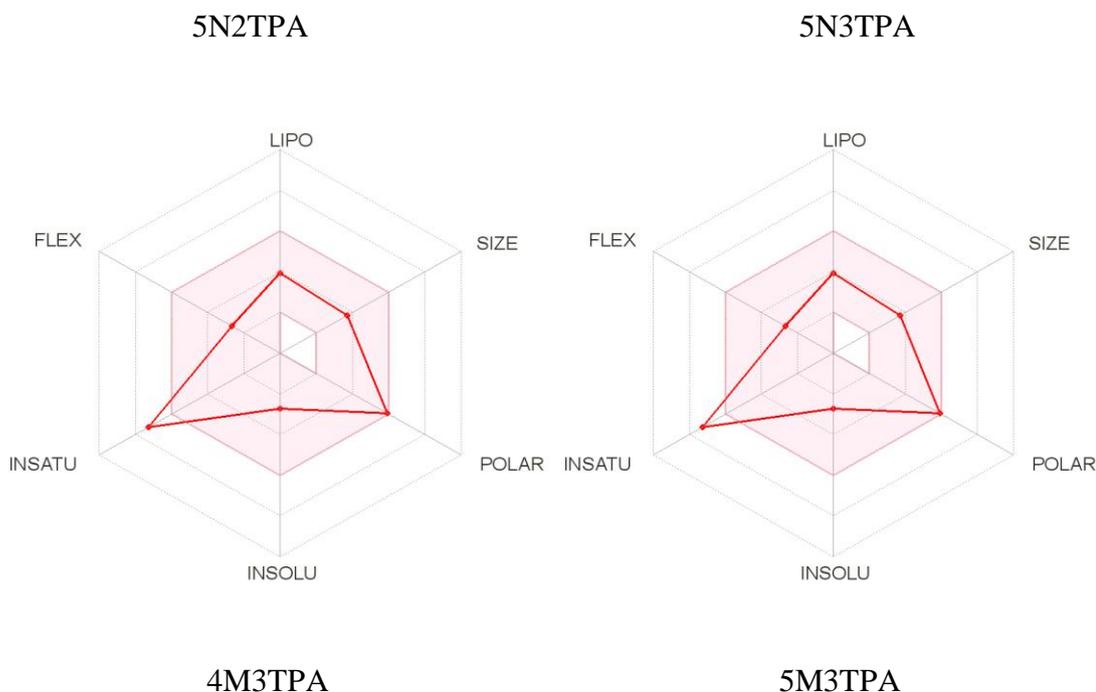


Figure V.8: Radars de biodisponibilité des composés étudiés obtenus par Swiss ADME.

Selon les résultats présentés dans tableau V.8 on remarque que la lipophilicité de nos produits varie entre 0,86 et 1,40 et les deux acides 4M3TPA et 5M3TPA sont les plus lipophiles avec une valeur de lipophilicité égale à 1.40. Généralement, la TPSA (Topological Polar Surface Area) est une valeur caractéristique de la polarité des molécules. D'après le tableau V.8 on observe d'une part que toutes les molécules synthétisées présentent des valeurs élevées de la TPSA qui sont généralement variées entre $127,84 \text{ \AA}^2$ et $173,66 \text{ \AA}^2$, et d'autre part les deux molécules 5N2TPA et 5N3TPA sont plus polaires que 4M3TPA et 5M3TPA avec une valeur de TPSA égale à $173,66 \text{ \AA}^2$. En outre, on observe que le nombre des liaisons rotatives est égale à 5 pour les deux molécules 5N2TPA et 5M3TPA et égale à 4 pour 4M3TPA et 5M3TPA, ce qui signifie que les deux molécules 5N2TPA et 5M3TPA sont plus flexibles que les molécules 4M3TPA et 5M3TPA.

Tableau V.8 : Les valeurs des axes de radar de la biodisponibilité des molécules étudiées.

Paramètres	5N2TPA	5N3TPA	4M3TPA	5M3TPA
Lipophilicité (LIPO) : XLOGP3	0.90	0.86	1.40	1.40
Volume molaire (SIZE) : MV en g/mol	330.25	330.25	299.28	299.28
Polarité (POLAR) : TPSA en \AA^2	173.66	173.66	127.84	127.84
Insolubilité (INSOLU) : LOG S ESOL	-2.51	-2.49	-2.74	-2.74
Insaturation (INSATU: FRACTION CSP3	0.09	0.09	0.17	0.17
Flexibilité (FLEX) : nombre de liaisons	5	5	4	4

rotatives				
-----------	--	--	--	--

V.4. 2. Analyse des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et Drug-like

La prédiction des propriétés ADME des quatre acides α -aminophosphoniques synthétisés a été effectuée par SwissADME et les résultats obtenus sont regroupés dans les tableaux V.9 et V.10. Cette étude nous donne généralement une idée sur les propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et Drug-like des molécules étudiées, notamment les sites accepteurs des liaisons hydrogène, les sites donateurs des liaisons hydrogène, la TPSA (Topological Polar Surface Area), ...etc. En outre, les paramètres Drug-likeness des molécules synthétisées ont été déterminés en utilisant les règles de Lipinski, Ghose, Veber, Egan et Muegge) [23-24].

Selon **Tableau V.9**, on constate que le nombre des liaisons donateurs d'hydrogène (n_{HD}) est égale à 4 pour les quatre molécules étudiées, par contre le nombre des liaisons accepteurs d'hydrogène (n_{HA}) est égale à 6 pour les deux molécules 5N2TPA et 5N3TPA, et égale à 4 dans le cas de 4M3TPA et 5M3TPA. La présence des groupes des liaisons hydrogènes (H-accepteurs et H-donneurs) dans une molécule indique la possibilité de former des liaisons hydrogènes avec la protéine ciblée dans le site actif.

En plus, les valeurs de la lipophilicité ($\log P_{0/w}$) des molécules étudiées sont comprises entre 0,45 et 1,42 et la molécule 4M3TPA présente la valeur de $\log P_{0/w}$ la plus élevée. Les acides synthétisés sont généralement solubles ou au moins modérément solubles avec des valeurs de l'insolubilité ($\log S$) comprises entre -2,95 et -2,41 mg/mL. En outre, les deux molécules 4M3TPA et 5M3TPA ont la même valeur de la perméation cutanée ($\log K_p$) qu'est égale à -7,13 tandis que les molécules 5N2TPA et 5N3TPA ont respectivement des valeurs de $\log K_p$ égales à -7,68 et -7,70. Les quatre molécules ne présentent aucun maux. Les valeurs de l'accessibilité synthétique des molécules étudiées sont comprises entre 3,45 et 3,65 ceci indique que ces composés sont faciles à synthétiser (les valeurs vont de 1 (très facile) à 10 (très difficile)).

Tableau V.9 : Propriétés physicochimiques prédites des acides α -aminophosphoniques étudiés.

Molécule	n_{HD}	n_{HA}	$\log P_{0/w}$	$\log S$ (mg/mL)	$\log K_p$ (cm/s)	Maux	Accessibilité Synthétique
5N2TPA	4	6	0.54	-2.41	-7.68	0	3.45

5N3TPA	4	6	0.45	-2.41	-7.70	0	3.65
4M3TPA	4	4	1.42	-2.95	-7.13	0	3.59
5M3TPA	4	4	1.39	-2.95	-7.13	0	3.58

Les résultats du **Tableau V.10** révèlent que l'absorption gastro-intestinale des deux molécules 5N2TPA et 5N3TPA est faible, tandis que il est élevée pour les deux autres molécules 4M3TPA et 5M3TPA. En outre, aucun des molécules étudiées n'a montré de perméabilité de la barrière hémato-encéphalique. Un autre facteur essentiel c'est la possibilité d'interagir avec le cytochrome P450(CYP). Cette superfamille des isoenzymes jouent un rôle crucial dans l'élimination des médicaments par biotransformation métabolique [25]. Selon des études antérieurs effectuées par plusieurs auteurs, on peut anticiper que 50 à 90% des composés médicinaux sont des substrats de cinq isoformes substantielles du CYP (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4) [26,27]. Concernant les molécules étudiées, on observe d'après le tableau V.10 qu'aucun des composés ciblés n'a présenté de résultats positifs.

Swiss-ADME accorde cinq différentes règles Lipinski, Ghose, Veber, Egan et Muegge. A partir des résultats obtenus, on observe que toutes les molécules obéissent les règles de Lipinski et Ghose, les deux molécules 5N2TPA et 5N3TPA n'obéit pas aux règles de Veber, Egan et Muegge par contre le 4M3TPA et 5M3TPA obéit aux ces trois règles.

Drug-likeness (ressemblance à la drogue) définit qualitativement la capacité d'une molécule d'être un médicament orale en accordance avec sa biodisponibilité. Drug-likeness est déterminé à partir de la structure de contrôles structuraux ou physicochimiques des composés développés pour être des candidats médicaments oraux.

Tableau V.10 : Prédiction des propriétés pharmacocinétiques et Drug-likeness des molécules étudiées.

Propriétés	5N2TPA	5N3TPA	4M3TPA	5M3TPA
Absorption GI	↓	↓	↑	↑
Perméabilité BBB	-	-	-	-
Inhibiteur de CYP1A2	-	-	-	-
Inhibiter de CYP2C19	-	-	-	-
Inhibiteur de CYP2C9	-	-	-	-
Inhibiteur de CYP2D6	-	-	-	-

Inhibiteur de CYP3A4	-	-	-	-
Lipinski	+	+	+	+
Ghose	+	+	+	+
Veber	-	-	+	+
Egan	-	-	+	+
Muege	-	-	+	+
↑ Elevée	↓ faible	+ oui	- non	

V.4. Conclusion

Les résultats des calculs de chimie quantique effectués par la méthode DFT montrent les propriétés structurales et électroniques des molécules synthétisées, ainsi ils confirment les résultats expérimentaux sur la réactivité des molécules.

Les résultats du docking moléculaire révèlent que les molécules 5N2TPA, 5N3TPA, 4M3TPA et 5M3TPA pénètrent bien dans le site active de la protéase principale du SARS-CoV-2. Donc, ces molécules peuvent être considérer comme des inhibiteurs potentielles contre le virus de COVID-19.

Enfin, les résultats des calculs SwissADME permet de prédire plusieurs paramètres comme les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques notamment l'absorption gastro-intestinale (GI), la distribution, le métabolisme et l'excrétion des molécules synthétisées et les règles de Drug-likeness qui supporte la conception de nouveaux médicaments.

Références bibliographique :

- [1] L. H. Thomas, Proc Camb Phil. Sos. 23 (1927) 542.
- [2] E. Z. Fermi, Phys. 48 (1928) 73.
- [3] P. Hohenberg, W. Kohn Phys. Rev. B. 136 (1969) 864.
- [4] M. J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H.P. Hratchian, A.F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J.L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J.A. Montgomery Jr., J.E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, K.N. Kudin, V.N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J.M. Millam, M. Klene, J.E. Knox, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K. Morokuma, V.G. Zakrzewski, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, S. Dapprich, A.D. Daniels, O. Farkas, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, J. Cioslowski, D.J. Fox, Gaussian 09, Revision A.02, Gaussian, Inc., Wallingford, CT (2009).
- [5] R. Dennington, T.A. Keith, J.M. Millam, GaussView 5.0.8, Shawnee Mission, KS: Semichem Inc (2009).
- [6] R. G. Parr, W. Yang, Density Functional Theory of Atoms and Molecules, Oxford University Press, New York (1989).
- [7] A.M. Asiri, M. Karabacack, M. Kurt, K.A. Alamry, Synthesis, molecular conformation, vibrational and electronic transition, isometric chemical shift, polarizability and hyperpolarizability analysis of 3-(4-Methoxy-phenyl)-2-(4-nitro-phenyl)-acrylonitrile: A combined experimental and theoretical analysis, Spectrochim. Acta. A. 82 (2011) 444-455.
- [8] B. Kosar, C. Albayrak, Spectroscopic investigations and quantum chemical computational study of (*E*)-4-methoxy-2-[(*p*-tolylimino)methyl] phenol, Spectrochim. Acta. A. 78 (2011) 160-167.
- [9] N. Chafai, S. Chafaa, K. Benbouguerra, D. Daoud, A. Hellal, M. Mehri, Synthesis, characterization and the inhibition activity of a new α -aminophosphonic derivative on the corrosion of XC48 carbon steel in 0.5 M H₂SO₄: Experimental and theoretical studies, J. Taiwan Inst. Chem. Eng. 70 (2017) 331-344.

- [10] W. Kohn, L.J. Sham, Quantum density oscillations in an inhomogeneous electron gas, *Phys. Rev. A* 137 (1965) 1697–1705.
- [11] M. Arivazhagan, V.P. Subhasini, Quantum chemical studies on structure of 2-amino-5-nitropyrimidine, *Spectrochim Acta Part A* 91 (2012) 402–410.
- [12] M. S. Masoud, A.E. Ali, M.A. Shaker, G.S. Elasala, Synthesis, computational, spectroscopic, thermal and antimicrobial activity studies on some metal–urate complexes, *Spectrochim Acta Part A* 90 (2012) 93–108.
- [13] L. Herrag, B. Hammouti, S. Elkadiri, A. Aouniti, C. Jama, H. Vezin, F. Bentiss, Adsorption properties and inhibition of mild steel corrosion in hydrochloric solution by some newly synthesized diamine derivatives: Experimental and theoretical investigations, *Corros. Sci.* 52 (2010) 3042-3051.
- [14] K. F. Khaled, Studies of iron corrosion inhibition using chemical, electrochemical and computer simulation techniques, *Electrochim Acta* 55 (2010) 6523-6532.
- [15] H. Lgaz, K.S. Bhat, R. Salghi, Shubhalaxmi, S. Jodeh, M. Algarra, B. Hammouti, I.H. Ali, A. Essamri, Insights into corrosion inhibition behavior of three chalcone derivatives for mild steel in hydrochloric acid solution, *J. Mol. Liq.* 238 (2017) 71-83.
- [16] T. A. Yousef, Structural, optical morphology characterization and DFT studies of nano sized Cu (II) complexes containing Schiff base using green synthesis, *J. Mol. Struct.* 1215 (2020) 128-180.
- [17] I. Jomaa, O. Noureddine, S. Gatfaoui, N. Issaoui, T. Roisnet, H. Marouani, Experimental, computational, and in silico analysis of $(C_8H_{14}N_2)_2 [CdCl_6]$ compound *J. Mol. Structure.* 128 (2020) 186.
- [18] A. Sagaama, S. A. Brandan, T. Ben Issa, N. Issaoui, Searching potential antiviral candidates for the treatment of the 2019 novel coronavirus based on DFT calculations and molecular docking, *Heliyon.* 6 (2020) 8 e04640.
- [19] D. Romani, O. Noureddine, N. Issaoui, S. A. Brandan, Properties and reactivities of niclosamide in different media, a potential antiviral to treatment of COVID-19 by using DFT calculations and molecular docking. *Biointerface Res. Appl. Chem.* 10 (2020) 7295-7328.
- [20] Owen, C.D. Lukacik, P. Strain-Damerell, C.M. Douangamath, A. Powell, A. J. Fearon et al. COVID-19 main protease with unliganded active site (2019-nCoV, coronavirus disease

2019, SARS-CoV-2). RCSB Protein Data Bank (PDB) ID, 6Y84, 3-7.<https://doi.org/10.221/pdb6Y84>.

[21] Biovia D.S. Discovery studio visualizer, Dassault System. (2019) (v19.1.0.15350).

[22] B. Debnath, S. Ganguly, Synthesis, biological evaluation, in silico docking and virtual ADME studies of 2-[2-Oxo-3-(arylimino) indolin-1-yl]-N-arylacetamides as potent anti-breast cancer agents. *Monatsh Chem.* 147 (2016) 565-574.

[23] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep* 7 (2017) 42717-42730.

[24] F. Cheng, W. li, Y. Zhou, J. Shen, Z. Wu, G. Liu, P.W. Lee, Y. Tang, admetSAR a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties *J. Chem Inf Model* 52(11) (2012) 3099-3105.

CONCLUSION GENERALE

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche et la valorisation des nouvelles substances d'intérêt bio-pharmacologique à base des α -aminophosphonates. L'objectif principal est atteint, quatre nouvelles molécules ont été synthétisées, caractérisées et soumis à l'évaluation d'aspect bioactives et pharmaceutiques.

Pour la synthèse des acides α -aminophosphoniques ciblés dans ce travail, on a utilisé un protocole de synthèse assisté par irradiations micro-ondes, qui est considéré comme une méthode verte (environnementale), rapide et économique. Le temps de la réaction consommé pour synthétiser les molécules ciblées en présence d'irradiations micro-ondes est très court et les rendements obtenus sont importants (entre 86.9%-96.98%).

La pureté des acides α -aminophosphoniques synthétisés a été vérifiée par CCM. Ensuite, les molécules obtenues ont été caractérisées par la mesure de leurs points de fusion et par les méthodes spectrales UV-Vis, IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C et RMN ^{31}P .

La spectrophotométrie UV-Vis a permis de différencier et de confirmer l'obtention de nouveaux produits par la disparition des bandes d'absorption caractéristiques des produits de départ et l'apparition de nouvelles bandes sur les spectres des produits synthétisés.

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

La spectrométrie de résonance magnétique nucléaire RMN ^1H , RMN ^{13}C et RMN ^{31}P a confirmée les structures proposées des molécules synthétisées.

La bioactivité des acides synthétisés a été démontrée via l'étude *in vitro* des activités antioxydante et antifongique. Dans ce contexte, trois méthodes ont été appliquées pour la mise en évidence de l'activité antioxydante à savoir la capacité de piégeage du radical libre DPPH, le radical ABTS et le test de Phenantroline.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante obtenus par les trois techniques révèlent que les molécules synthétisées possèdent une capacité antioxydante efficace et prometteuse avec des valeurs de l'IC₅₀ comparables à celles des standards BHT et BHA.

L'activité antifongique montre que les produits synthétisés sont des fongicides puissants qui permettent d'inhiber la croissance de certaines souches fongiques comme *F. Oxysporum* et *A. Alternata*.

CONCLUSION GENERALE

Les paramètres de chimie quantique à savoir le gap énergétique, l'électronégativité absolue, la dureté, la mollesse et l'électrophilicité ont été calculés à partir d' E_{HOMO} et E_{LUMO} qui décrit la réactivité et la stabilité des molécules, qui est en très bon accord et confirment les résultats expérimentaux.

Les paramètres de chimie quantique calculés par la méthode DFT sont en très bon accord avec les résultats expérimentaux. Dans ce contexte, la molécule 4M3TPA est la plus réactive tandis que la molécule 5N2TPA est la plus dure, donc la plus stable et moins réactive.

Les régions du potentiel électrostatique moléculaire calculées, révèlent que les cycles aromatiques et thiophéniques, les atomes d'oxygène, d'azote, de soufre et de phosphore sont les principaux sites actifs.

En outre, les résultats de l'étude *in silico* du docking moléculaire des acides α -aminophosphoniques étudiés vis-à-vis la protéase principale du SARS-CoV-2 révèlent que :

- ✓ Les quatre acides α -aminophosphoniques synthétisées ont l'affinité d'interagir avec les acides aminés présent dans le site actif de la protéase principale du SARS-CoV-2 en formant des liaisons hydrogènes, des interactions électrostatiques et des interactions de type forces type Van der Waals ;
- ✓ La molécule 5N2TPA montre le score d'énergie le plus négatif, ceci montre que le 5N2TPA inhibe le M^{pro} mieux que les autres molécules ;
- ✓ La distribution d'énergie des inhibiteurs étudiés montre que les forces van der Waals sont les interactions les plus dominantes d'un point de vue énergétique suivi par les liaisons d'hydrogènes puis les interactions électrostatiques ;
- ✓ Les résultats du docking moléculaire des acides α -aminophosphoniques étudiés molécules montre que ces molécules peuvent être considéré comme des inhibiteurs potentiels contre le SARS-CoV-2.

Les résultats de l'étude ADME des molécules synthétisées montrent que :

- ✓ Les acides aminophosphoniques étudiés ont une bonne biodisponibilité orale ;
- ✓ La présence des groupes accepteurs et donateurs d'hydrogène (H-accepteurs et H-donneurs) dans les molécules synthétisées donne la possibilité de former des liaisons hydrogènes ;
- ✓ Les quatre molécules étudiées obéissent aux règles de Lipinski et Ghose, ce qui rendre ces molécule un sujet pour la conception des nouveaux médicaments.

En fin, les perspectives envisagées sont :

CONCLUSION GENERALE

- ✓ Synthèse des esters α -aminophosphoniques correspondants aux acides α -aminophosphonates synthétisés pour faire une comparaison de la bioactivité entre ces deux familles des phosphonates ;
- ✓ Synthèse des complexes des molécules synthétisées avec les différents métaux et évaluation de leurs bioactivité ;
- ✓ Elargissement de l'évaluation des activités biologiques notamment l'activité antibactérienne, anti-inflammatoire, anti-diabète, anti-Alzheimer, anticancéreux et étude de la toxicité des molécules synthétisées ;
- ✓ Evaluation *in vivo* des activités biologiques des molécules synthétisées ;
- ✓ Evaluation *in vitro* et *in vivo* de l'activité inhibitrice des molécules synthétisées vis-à-vis le virus SARS-CoV-2.

ملخص:

تم تصنيع أربعة أحماض جديدة تحتوي على حلقة الثيوفان باستخدام ظروف بسيطة ودون إستعمال للمحفزات وطريقة أكثر ملائمة وصديقة للبيئة تحت إشعاع الميكروويف. تم تأكيد بنية الجزيئات المتحصل عليها بواسطة UV-VIS، FTIR، ^1H NMR، ^{13}C NMR، ^{31}P NMR. علاوة على ذلك تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة باستعمال ثلاث طرق DPPH و ABTS و phenantroline، وتشير النتائج إلى أن الجزيئات المصنعة تظهر نشاطاً ممتازاً. وتُظهر المركبات المركبة نشاطاً جيداً مضاداً للفطريات ضد اثنين من الفطريات. تمت دراسة الخصائص الجزيئية والإلكترونية واستقرار وتفاعل المنتجات المحضرة بواسطة نظرية الكثافة الوظيفية (DFT). علاوة على ذلك، أظهرت تحقيقات الالتحام الجزيئي لأحماض الأمينوفوسفونيك تثبيطاً جيداً للبروتياز الرئيسي لـ SARS-CoV-2 المسؤول عن مرض كورونا.

الكلمات المفتاحية: ألفا أمينوفوسفونات، مضادات الأوكسدة، المضادة للفطريات، DFT، الالتحام الجزيئي، SARAS-CoV-2

Résumé :

Quatre nouveaux acides α -aminophosphoniques contenant un cycle thiophénique ont été synthétisés en utilisant des conditions simples, propres et sans catalyseur, une méthode plus pratique et respectueuse de l'environnement sous irradiations micro-ondes. Les structures des molécules synthétisées ont été confirmées par UV-Vis, FT-IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C , RMN ^{31}P . De plus, l'activité antioxydante des acides synthétisés a été évaluée en utilisant trois méthodes: DPPH, ABTS et phénantroline, et les résultats obtenus indiquent que les quatre molécules présentent une excellente activité antioxydante. En outre, les composés synthétisés présentent une bonne activité antifongique contre deux champignons *F.oxysporum* et *Alternaria*. Les propriétés moléculaires, électroniques, la stabilité et la réactivité des produits synthétisés ont été étudiées par la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT). De plus, les études d'amarrage moléculaire des acides α -aminophosphoniques synthétisés ont montré une bonne inhibition de la protéase principale du SRAS-CoV-2.

Mots clés: α -aminophosphonates, Antioxydant, Antifongique, DFT, Molecular docking, SRAS-CoV-2.

Abstract:

Four new α -aminophosphonic acids containing thiophenic ring have been synthesized using simple, neat and catalyst-free conditions, more convenient and eco-friendly method under microwave irradiations. The structures of the synthesized molecules have been confirmed by UV-Vis, FT-IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR and ^{31}P NMR. Moreover, the antioxidant activity of the synthesized acids was evaluated using three methods DPPH, ABTS and phenantroline, and the obtained results indicate that these molecules exhibit excellent activity. Also, the synthesized compounds show a good antifungal activity against two fungi *F.oxysporum* and *Alternaria*. The molecular and electronic properties, the stability and the reactivity of the synthesized products were studied by the density functional theory (DFT). Furthermore, molecular docking investigations of the studied α -aminophosphonic acids showed a good inhibition of SARS-CoV-2 main protease.

Keywords: α -aminophosphonate, Antioxydant, Antifungal, DFT, Molecular docking, SRAS-CoV-2.