**الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية**

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ferhat ABBAS Sétif 1

**UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS - SETIF1**

**FACULTÉ DE TECHNOLOGIE**

# THÈSE

**Présentée au Département de Génie des Procédés**

**Pour l'obtention du diplôme de**

## DOCTORAT LMD

**Domaine : Sciences et Technologie**

**Filière :** Génie des procédés **Option :** Génie pharmaceutique

**Par**

**LAYAIDA Houdheifa**

# THÈME

# Extraction, étude par DFT, Docking moléculaire et évaluation des propriétés biologiques de la curcumine et ses dérivés.

Soutenue le 12/10/2023

Devant le Jury :

| | | | |
|---|---|---|---|
| ELKOLI MERBAH Meriem | Professeur | Univ. Ferhat Abbas Sétif 1 | Présidente |
| HELLAL Abdelkader | Professeur | Univ. Ferhat Abbas Sétif 1 | Directeur de thèse |
| CHAFAI Nadjib | M.C.A. | Univ. Ferhat Abbas Sétif 1 | Co-Directeur |
| LARBI BOUAMRANE Omar | M.C.A. | Univ. Tipaza | Examinateur |
| HARKATI Dalal | Professeur | Univ. Biskra | Examinatrice |

# Remerciements

*Le travail présenté dans cette thèse a été effectué au Laboratoire d'Electrochimie des Matériaux Moléulaires et des Complexes (LEMMC) sous la direction de Dr Chafai Nadjib.*

*Tout d'abord, je tiens à remercier Allah pour le courage et patience qu'il m'a donné et mené jusqu'à ce point.*

*Je tiens à exprimer mes remerciements les plus vifs au Dr. HELLAL Abdelkader, pour m'avoir dirigé dans mes travaux de recherche et pour son écoute et sa confiance tout au long de ce travail.*

*Madame ELKOLI MERBAH Meriem m'a fait l'honneur d'accepter la présidence du Jury. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance. Que Monsieur LARBI BOUAMRANE Omar, Maitre de conférences à l'Université de Tipaza, Madame HARKATI Dalal professeur à l'université de Biskra, reçoivent ici l'expression de tous mes remerciements pour s'être intéressés à mon travail et pour avoir participé à ce Jury.*

*J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs intervenants et toutes les personnes qui, par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques, ont guidé mes réflexions et ont accepté de me rencontrer et répondre à mes questions durant notre formation.*

*J'exprime également ma gratitude à toute l'équipe pédagogique du département de génie des procédés et la faculté des technologie de l'université de Farhat Abbes Sétif-1- d'avoir assuré la partie théorique de notre formation.*

# SOMMAIRE


## *Introduction générale* 1

Références bibliographiques……...4

## *Chapitre I : Etude bibliographique sur le Curcuma et la curcumine*

I. Généralités sur le Curcuma" The Golden Spice"…….5

I.1 Historique de la plante……...5

I.2 Appellations de curcuma……...6

I.3 Classification botanique……...6

I.4 Localisation et répartition géographique……...7

I.5 Morphologie de la plante……...8

I.6 Composition chimique des rhizomes de la plante……...10

I.7 Utilisations du curcuma……...12

II Généralités sur la Curcumine……16

II.1 Historique……...16

II.2 Synthèse de la curcumine……...16

II.3 Propriétés thérapeutiques de la curcumine…….20

II.4 Propriétés physico-chimiques…….21

II.5 Conclusion……..24

Références bibliographiques…….25

## *Chapitre II : Partie expérimentale*

II.1 Introduction……31

## Partie A : Extraction, isolement et caractérisation de la curcumine

II.A.1 Matériel végétal……..31

II.A.2 Extraction……...31

II.A.3 Isolement et purification de la Curcumine……36

II.A.4 Caractérisation physico-chimique……..40

## Partie B : Synthèse et caractérisation des dérivés de la curcumine

II.B.1 Objectif stratégique……41

II.B.2 Produits chimiques/Instrumentations……..41

II.B.3 Synthèse des Bases de Schiff……..42

II.B.3.1 Synthèse de la Base de Schiff Cur-Ala……42

II.B.3.1.1 Protocole du Synthèse conventionnelle de la base de Schiff Cur-Ala……..42

II.B.3.1.2 Protocole du Synthèse assistée par micro-ondes de la base de Schiff Cur-Ala……42

II.B.3.2 Synthèse de la Base de Schiff Cur-Leu..……43

II.B.3.2.1 Protocole du Synthèse conventionnelle de la base de Schiff Cur-Leu…...……..43

II.B.3.2.2 Protocole du Synthèse assistée par micro-ondes de la base de Schiff Cur-Leu…...43

II.B.4 Méthodes d'analyse……44

II.B.4.1 Chromatographie……44

II.A.4.2 Point de fusion……44

II.A.4.3 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)……...44

II.A.4.4 Spectrophotométrie ultraviolet-visible (UV-vis)……44

II.A.4.5 Résonance magnétique nucléaire (RMN)……44

II.A.4.6 L'analyse élémentaire……..44

## Partie C : Etude théorique de la curcumine et de ces dérivés par la méthode DFT

II.C.1 Introduction…….45

II.C.2 Théorie de la fonctionnelle de la densité “DFT”……45

## Partie D : Etude théorique de la curcumine et de ses dérivés par Docking moléculaire

II.D.1 Introduction……....47

II.D.2 Méthodes……47

## Partie E : Evaluation des activités biologiques de la curcumine et de ces dérivés

II.E.1 Evaluation de l’activité antioxydante ……48

II.E.1.1 Matériels et réactifs……..48

II.E.1.1.1 Instrument utilisé……..48

II.E.1.1.2 Réactifs……48

II.E.1.2 Pouvoir de piégeage du radical DPPH……49

II.E.1.3. Test de piégeage des radicaux ABTS……50

II.E.1.4. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)……...52

II.E.1.5 : L’activité de la Phénanthroline……..53

II.E.2 Evaluation de l’activité antibactérienne……..54

Références bibliographiques……55

# *Chapitre III Résultats et discussions*

## Partie A : Extraction, purification et caractérisation de la curcumine

III.A.1 Extraction……..60

III.A.2 Purification……63

III.A.3 Caractérisations physico-chimiques……..68

## Partie B : Synthèses et caractérisation

III.B.1 Introduction……...72

III.B.2 Synthèse des bases de Schiff Cur-Ala et Cur-Leu……72

III.B.3. Caractérisation des produits synthétisés……...73

III.B.3.1. Analyse par point de fusion……...73

III.B.3.2. Analyse élémentaire……..73

III.B.3.3. Analyse par spectroscopie infrarouge……...73

III.B.3.4. Analyse par Spectrophotométrie UV–Visible……...75

III.B.3.5. Analyse par la RMN……..76

## Partie C : Calculs théorique de la Curcumine et ses dérivés par la méthode DFT

III.C.1. Introduction……..78

III.C.2 Optimisation des structures……...78

III.C.3 Analyse des Charges Mulliken……..84

III.C.4 Moment dipolaire……..….87

III.C.5 Les orbitales moléculaires……91

III.C.6. Descripteurs de réactivité globale……93

III.C.7. Propriétés optiques non linéaires……..96

III.C.8. Potentiel électrostatique moléculaire de surface……..98

## Partie D : Calculs théorique de la Curcumine et ses dérivés par Docking moléculaire

III.D.1. Introduction……101

III.D.2. Étude par Docking moléculaire l'inhibition de la mPGES-1 par les composés Cur, Cur-Ala et Cur-Leu ……...…….101

## Partie E : Activités biologiques des molécules étudiées

III.E.1. Introduction……112

III.E.2. L'activité antioxydante……...112

III.E.2.1. Activité anti-radicalaire……...112

III.E.2.1.1. Activité de piégeage de radical DPPH……..113

III.E.2.1.2. Test de piégeage des radicaux ABTS……...115

III.E.2.2. Activité réductrice……...116

III.E.2.2.1. Test de l'activité réductrice de l'ion cuprique (CUPRAC)……..116

III.E.2.2.2. Le Test phénanthroline pour l'activité antioxydante……118

III.E.3. Activité antimicrobienne……120

Références bibliographiques……...121

*Conclusion générale* 131

## *Liste des abréviations*

**A** : Affinité électronique.

**<α>** : Polarisabilité.

**Å** : Angstrom.

**Abs** : Absorbance.

**B3LYP** : Becke Three paramaters Lee-Yang-Parr.

**β** : Hyperpolarisabilité statique.

**°C** : Degré Celsius.

**Cur** : curcumine.

**Cur-Ala** : Curcumine-Alanine

**Cur-Leu** : Curcumine-Leucine

**DFT :** La Théorie de la Fonctionnelle de la Densité**.**

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl.

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde.

$\mathbf{E_{HOMO}}$ : Energy of the Highest Occupied Molecular Orbital.

$\mathbf{E_{LUMO}}$ : Energy of the Lowest Occupied Molecular Orbital.

**g :** Gramme.

**HE** : Huile essentielle.

**HOMO :** Highest Occupied Molecular Orbital.

**LUMO :** Lowest Unoccupied Molecular Orbital.

**ml :** Millilitre.

**mm :** Millimètre.

**μ :** moment dipolaire.

**η :** Dureté globale.

**NLO :** Optiques non linéaires.

**OM :** Orbitale moléculaire.

**OMS :** Organisation mondiale de la santé.

**μ :** Potentiel chimique électronique.

**% :** Pourcentage.

**PM** : pois moléculaire.

**UV :** Ultra-Violet.

**IR :** Infra rouge.

**λ** : Longueur d'onde.

**ω :** Indice d'électrophilie.

# Liste des figures

**Figure I.1 :** Carte du monde illustrant Origine du curcuma ……..8

**Figure I.2 :** La plante entière de Curcuma…….9

**FigureI.3 :** Rhizomes frais de *Curcuma longa L*……..10

**Figure I.4 :** Structures chimiques des principaux constituants de l'huile essentielle de Curcuma…….11

**Figure I.5 :** Structures chimiques des curcuminoïdes……..12

**Figure II.1 :** Structure chimique de la curcumine……16

**Figure II.2 :** Les deux conformères de la curcumine où la rotation libre autour des liaisons C-C et C-Ph forme 2 le conformère le moins stable cis…….21

**Figure II.3 :** Dégradation de la curcumine en milieu alcalin…….23

**Figure II.A.1 :** Montage d'extraction utilisé……34

**Figure II.A.2 :** Extraction par le Soxhlet…….35

**Figure II.A.3 :** Une colonne de chromatographie liquide……38

**Figure II.A.4 :** Préparation de la colonne……39

**Figure II.A.5 :** Le spectrophotomètre UV-vis utilisé……..40

**Figure II.A.6 :** Le spectrophotomètre FTIR utilisé……...41

**Figure II.E.1 :** Le Radical DPPH•.....49

**Figure II.E.2 :** Réduction du radical DPPH• par R-H, où (RH) est un composé capable de libérer un H au radical DPPH……....50

**Figure III.A.1 :** Rhizomes secs et la poudre de *Curcuma longa L* utilisée…….60

**Figure III.A.2 :** Extraction par macération à froid……..60

**Figure III.A.3 :** Processus de filtration……61

**Figure III.A.4 :** Elimination du solvant par un évaporateur rotatif …….61

**Figure III.A.5 :** Le micro-onde utilisée pendant l'extraction……..61

**Figure III.A.6 :** Extraction par le montage Soxhlet……62

**Figure III.A.7 :** Rendements et temps d'extraction de curcuminoïdes par différentes méthodes d'extractions…….....63

**Figure III.A.8 :** Résultats de l'analyse par CCM des extraits obtenus par différentes méthodes (CP : Curcumine pure, EO extrait de micro-onde, EM : extrait de la macération, ES : extrait de l'extracteur Soxhlet)……..……...64

**Figure III.A.9 :** Séparation par la Séparation par la chromatographie sur colonne….……..67

**Figure III.A.10 :** les fractions de séparations……..…..67

**Figure III.A.11 :** Résultats de l'analyse chromatographique après la CC……..68

**Figure III.A.12 :** Analyse par UV-vis de la curcumine isolée et la curcumine de référence…70

**Figure III.A.13 :** Spectres IR de la curcumine…….……71

**Figure III.B.1 :** Spectres infra rouge de Cur (noir) / Cur-Ala (rouge)…….74

**Figure III.B.2 :** Spectres infra rouge de Cur (noir) / Cur-Leu (rouge)…….74

**Figure III.B.3 :** Spectres d'absorption UV-vis de la Cur et Cur-Ala……...……...75

**Figure III.B.4 :** Spectres d'absorption UV-vis de la Cur et Cur-Leu……..76

**Figure III.C.1 :** Structures optimisées de la curcumine (Cur) et des bases de Schiff (Cur-Ala et Cur-Leu) au niveau B3LYP/6-31G++(d,p)……..79

**Figure III.C.2 :** Distribution des charges atomiques de Mulliken calculées par B3LYP/6-31++G (d,p)……87

**Figure III.C.3 :** Moments dipolaires de Cur, Cur-Ala et Cur-Leu calculés au niveau B3LYP/6-31++G(d,p)……...90

**Figure III.C.4 :** Orbitales moléculaires HOMO-LUMO de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu

calculés au niveau B3LYP/6-31G++(d,p)……92

**Figure III.C.5 :** Potentiel électrostatique moléculaire de surface pour la cur, Cur-Ala et Cur-Leu calculé au niveau B3LYP/6-31G++(d,p).……..…….....100

**Figure III.D.1 :** La sphère verte définissant le site de liaison utilisé pour le docking moléculaire : coordonnées (13.08, 15.62, 30.17) ; rayon 15A°, protéine targuet (mPGES-1 ; PDB ID : 5BQH)……..…102

**Figure III.D.2 :** Pose du re-docking de la molécule de référence (vert) superposée à la pose expérimentale (jaune) dans le site actif de la protéine cible mPGES-1 (PDB ID : 5BQH (RMSD 2A°)……..…….103

**Figure III.D.3 :** Pose de la Cur dans le site actif de la mPGES-1, les interactions par les liaisons hydrogène sont présentées sous forme de lignes pointillées bleues (résidus d'interaction : Arg 126 et Thr 131)……..104

**Figure III.D.4 :** Pose de la Cur-Ala dans le site actif de la mPGES-1, les interactions par les liaisons hydrogène sont présentées sous forme de lignes pointillées bleues (résidus d'interaction : Arg 126 et Ser 127)…….…....105

**Figure III.D.5 :** Pose de la Cur-Leu dans le site actif de la mPGES-1, les interactions par les liaisons hydrogène sont présentées sous forme de lignes pointillées bleues (résidus d'interaction : Arg 126, Thr 131, Ser 127 et Tyr 130)……106

**Figure III.D.6 :** Diagramme d'interaction entre la Cur et les résidus de la mPGES-1 : les interactions stériques sont représentées par des lignes pointillées rouges et les liaisons hydrogène par des lignes pointillées bleues……..107

**Figure III.D.7 :** Diagramme d'interaction entre la Cur-Ala et les résidus de la mPGES-1 : les interactions stériques sont représentées par des lignes pointillées rouges et les liaisons hydrogène par des lignes pointillées bleues……..108

**Figure III.D.8 :** Diagramme d'interaction entre la Cur-Leu et les résidus de la mPGES-1 : les interactions stériques sont représentées par des lignes pointillées rouges et les liaisons hydrogène par des lignes pointillées bleues……..109

**Figure III.E.1 :** Test DPPH…….113

**Figure III.E.2 :** Test ABTS…….116

**Figure III.E.3 :** Test CUPRAC……...117

**Figure III.E.4 :** Test Phénanthroline……..119

# Liste des Schémas

**Schéma 1 :** Etape préliminaire de la biosynthèse des curcuminoïdes……..17

**Schéma 2 :** les Etapes finales pour la biosynthèse des curcuminoïdes……17

**Schéma 3 :** Schéma général de la méthode Pabon……...18

**Schéma 4 :** Schéma détaillé de Pabon……..19

**Schéma 5 :** synthèse de curcumine selon Pavolini……...19

**Schéma 6 :** Séquence réactionnelle de synthèse de la base de Schiff (Cur-Ala)……..42

**Schéma 7 :** Séquence réactionnelle de synthèse de la base de Schiff (Cur-Leu)…….43

**Schéma 8** : Génération d'ABTS $^{\cdot +}$ par l'oxydation d'ABTS avec K2S2O8……..51

**Schéma 9 :** Production de l'ABTS$^{\bullet +}$ par échange d'électron en présence de persulfate de potassium et réduction du radical formé par la molécule antioxydante en donnant un H•……...51

**Schéma 10 :** Réaction de CUPRAC par une substance antioxydante……52

**Schéma 11 :** Réaction de la 1,10 phénanthroline avec le fer ferrique ($Fe^{3+}$) après son oxydation enfer ferreux ($Fe^{2+}$) par un agent antioxydant…….53

**Schéma 12 :** Réaction générale de formation des bases de Schiff……...72

# Liste des tableaux

**Tableau I.1 :** Différentes appellations de curcuma……6

**Tableau I.2 :** Classification botanique du curcuma……...7

**Tableau I.3 :** Valeurs nutritionnelles et énergétique du *Curcuma Longa L*……10

**Tableau II.A.1 :** Matériels et Réactifs chimiques utilisé…….32

**Tableau II.E.1 :** Structures chimiques et propriétés physiques des réactifs utilisés dans le but de réaliser l'activité antioxydante……...48

**Tableau III.A.1 :** Résultats d'analyses par CCM (Rfs calculés après observation sous UV)....64

**Tableau III.A.2 :** Couleur des fractions obtenues……...66

**Tableau III.A.3 :** Calculs des Rfs correspondants……...68

**Tableau III.A.4 :** Propriétés organoleptiques de la curcumine……...69

**Tableau III.A.5 :** Bondes IR d'absorption caractéristique de la curcumine……71

**Tableau III.B.1 :** Rendement et temps de synthèse des bases de Schiff Cur-Ala et Cur-Leu dans des conditions micro-ondes / conditions conventionnelles……..73

**Tableau III.C.1 :** Paramètres Géométriques optimisés sélectionnés (Longueur (A°) et Angle (°)) de la Cur par B3LYP/6-31++ G(d,p)…….81

**Tableau III.C.2 :** Paramètres Géométriques optimisés sélectionnés (Longueur (A°) et Angle ( °)) de la Cur-Ala par B3LYP/6-31++ G(d,p)…….82

**Tableau III.C.3 :** Paramètres Géométriques optimisés sélectionnés (Longueur (A°) et Angle ( °)) de la Cur-Leu par B3LYP/6-31++ G(d,p)…….83

**Tableau III.C.4 :** Charges atomiques de Mulliken calculées par B3LYP/6-31++G (d,p) pour Cur, Cur-Ala et Cur-Leu……...85

**Tableau III.C.5 :** Calculs par B3LYP/6-31G++ (d, p) des moments dipolaires électriques (Debye) pour la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu……88

**Tableau III.C.6 :** $E_{HOMO}$, $E_{LUMO}$, écart énergétique et propriétés moléculaires associées de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu calculés par l'ensemble de base B3LYP/6-31++G(d,p)……...93

**Tableau III.C.7 :** la Polarisabilité et la première hyperpolarisabilité de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu par DFT/B3LYP6-31G++(d,p).……..……...97

**Tableau III.D.1 :** Scores de Docking (kcal/mol) et contribution des différents descripteurs d'énergie à l'interaction molécule-cible de la Cur, Cur-Ala et du Cur-Leu à travers la prostaglandine E synthase-1 microsomale (mPGES-1 ; PDB ID : 5BQH)…….104

**Tableau III.D.2 :** Énergies des principaux résidus d'interaction du site actif de la protéine cible mPGES-1 pour chaque ligand docké…….110

**Tableau III.E.1:** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des composes Cur, Cur-Ala et Cur-Leu et des standards BHT et BHA……..…114

**Tableau III.E.2 :** Pourcentages d'inhibition du radical libre ABTS en fonction des concentrations des composés Cur, Cur-Ala et Cur-Leu et des standards BHT et BHA……...115

**Tableau III.E.3 :** Pouvoir réducteur cuivrique (CUPRAC) exprimé en absorbance de la Cur, Cur-Ala, Cur-Leu et des standards BHT et BHA……..117

**Tableau III.E.4 :** Pouvoir réducteur du Fer (test phenanthroline ) de la Cur, Cur-Ala, Cur-Leu, Ascorbic acid et α-Tocopherol……...……...118

**Tableau III.E.5.** Diamètres de zones d'inhibition bactérienne (mm) de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu……...120

**Tableau III.E.6.** Activité antifongique de Cur , Cur-Ala et Cur-Leu……...121

# *Introduction générale*

Les produits naturels jouent un rôle important en chimie et dans la découverte de médicaments [1,2]. Les produits naturels et leurs activités biologiques sont actuellement un sujet de grand intérêt en pharmacothérapie. le nombre d'études scientifiques dans ce domaine augmente rapidement [3,4]. Plusieurs produits naturels avec des structures chimiques extraordinaires et des activités biologiques significatives ont été identifiés et se sont avérés être inestimables dans divers domaines, y compris la médecine. Parmi les produits naturels, la curcumine, également connue sous le nom de diferuloylméthane. La curcumine est une molécule naturelle polyphénolique extraite du *Curcuma longa* (famille des Zingiberaceae), pigment jaune orangé qui a des propriétés biologiques et thérapeutiques[5,6]. Dans un extrait brut d'un rhizome, la curcumine a environ 60 jusqu'à 70 % des curcuminoïdes[7]. Elle est utilisée comme un moyen aromatisant, colorant même comme un constituant supplémentaire à base de plante[8]. C'est le composant le plus bioactif du *Curcuma longa L.* et est connu pour avoir des activités biologiques hautement significatives et a récemment, reçu une attention particulière[9–16].

La curcumine a fait l'objet de plusieurs investigations dans le domaine des applications médicinales et biologiques telles que les antioxydants, les antibiotiques, les antitumoraux, les fibrinolytiques, les antivénéneux, les antiulcéreux, les anti-inflammatoires, les hypotenseurs, les hypocholestérolémiants, les anticancéreux, les herbicides et pour la prévention de la maladie d'Alzheimer[17–23]. Au cours de la dernière décennie, les chercheurs scientifiques ont cherché à développer de nouvelles méthodes et stratégies pour la fonctionnalisation chimique efficace des produits naturels, afin d'élucider leurs fonctions biologiques pour de nouveaux agents thérapeutiques [24,25]. Les composés modifiés d'origine naturelle ont continué à jouer un rôle très important dans la découverte de molécules bioactives [26]. Les chimistes ont modifié des composés naturels pour répondre à des exigences clés pour des applications pratiques, l'optimisation des propriétés pharmacologiques et l'étude des relations structure-activité (SAR).La synthèse et la fonctionnalisation, par un processus hémi-synthétique, de produits naturels sont utiles pour accéder et développer de nouvelles pistes de médicaments avec des propriétés biologiques [26].

Récemment, les modifications chimiques de la curcumine (Cur) ont attiré l'attention des chercheurs scientifiques en raison de sa large gamme d'applications. Plusieurs stratégies ont été employées pour fonctionnaliser la curcumine [27–30]. Dans ce contexte, la fonctionnalisation de la partie centrale dicétone représente la plateforme la plus puissante qui a été émergé ces dernières années. Ce motif a fait l'objet de diverses modifications et de dérivations telles que la formation des bases de Schiff. Les bases de Schiff sont considérées comme une classe très cruciale de composés organiques en raison de leur large gamme d'applications et ont été étudiées de manière approfondie. Les bases de Schiff ont des applications diverses, notamment des applications biologiques, cliniques, analytiques et industrielles, en plus de leur rôle important dans la catalyse et la synthèse organique [31,32]. Les bases de Schiff ont un large spectre d'activités biologiques telles que les propriétés antibactériennes, antioxydantes, antivirales, antipyrétiques, anti-inflammatoires, antifongiques, anticancéreuses, antiprolifératives et antipaludiques [33–41].

Ce travail de thèse a été réalisé dans le but de la continuité des travaux précédents de notre équipe de recherche, au niveau du laboratoire LEMMC sur la synthèse de nouvelles molécules à effets thérapeutiques [42–50]. Vue l'importance des produits naturels et leurs analogues synthétiques, dont le but à enrichir notre vie par de nouvelles molécules thérapeutiquement actives, nous avons choisir la *Curcumine* comme molécule de référence pour réaliser des réactions d'hémi-synthèse.

Le manuscrit est subdivisé en trois chapitres :

- Dans le premier chapitre, nous avons exposé des notions générales sur le monde de cette fameuse plante (Curcuma) et de la curcumine, leurs classifications ethnobotaniques, localisation et répartition géographique, Usages thérapeutiques, etc.

-le deuxième chapitre entame la partie expérimentale. Elle est divisée en plusieurs parties :

- La partie (A) décrit le procédé d'extraction, l'isolement et la caractérisation de la curcumine,
- La partie (B) décrit le protocole de la synthèse des bases de Schiff par une méthode conventionnel classique sous reflux et par l'utilisation d'une technique moderne sous irradiation micro-onde.
- La partie (C) est réservée pour les calculs théoriques par la méthode DFT pour l'étude théorique approfondie de la curcumine et de ses dérivés.

- La partie (D) expose la démarche méthodologique pour l'étude de Docking moléculaire vis-à-vis une cible bien déterminée « mPGES-1 ».
- Dans la partie (E) nous avons présenté les techniques d'évaluation des activités biologiques tel quel l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne.

-Le troisième chapitre englobe les résultats d'extraction, de synthèse, caractérisation, Docking moléculaire et les résultats des activités biologiques.

On terminera notre travail par une conclusion générale donnant un récapitulatif qui englobe les principaux résultats obtenus au cours de ce travail, ainsi que les perspectives qui feront l'objectif d'ultérieurs travaux.

**Références bibliographiques**

[1] E.J. Corey, B. Czakó, L. Kürti, Molecules and medicine, John Wiley & Sons, 2007.

[2] K.C. Nicolaou, T. Montagnon, Molecules that changed the world, Wiley-VCH Weinheim, 2008.

[3] A.G. Atanasov, B. Waltenberger, E.-M. Pferschy-Wenzig, T. Linder, C. Wawrosch, P. Uhrin, V. Temml, L. Wang, S. Schwaiger, E.H. Heiss, Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review, Biotechnol. Adv. 33 (2015) 1582–1614.

[4] A.L. Harvey, R. Edrada-Ebel, R.J. Quinn, The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era, Nat. Rev. Drug Discov. 14 (2015) 111–129. https://doi.org/10.1038/nrd4510.

[5] G.K. Jayaprakasha, L.J. Rao, K.K. Sakariah, Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin, Food Chem. 98 (2006) 720–724.

[6] A.M. Anderson, M.S. Mitchell, R.S. Mohan, Isolation of curcumin from turmeric, J. Chem. Educ. 77 (2000) 359.

[7] T. Murray-Stewart, R.A. Casero Jr, Regulation of polyamine metabolism by curcumin for cancer prevention and therapy, Med. Sci. 5 (2017) 38.

[8] M.M.-Y. Chan, Inhibition of tumor necrosis factor by curcumin, a phytochemical, Biochem. Pharmacol. 49 (1995) 1551–1556.

[9] B.B. Aggarwal, A. Kumar, A.C. Bharti, Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies, Anticancer Res. 23 (2003) 363–398.

[10] T. Esatbeyoglu, P. Huebbe, I.M.A. Ernst, D. Chin, A.E. Wagner, G. Rimbach, Curcumin—from molecule to biological function, Angew. Chemie Int. Ed. 51 (2012) 5308–5332.

[11] G. Grynkiewicz, P. Ślifirski, Curcumin and curcuminoids in quest for medicinal status, Acta Biochim. Pol. 59 (2012) 201–212.

[12] S.C. Gupta, S. Prasad, J.H. Kim, S. Patchva, L.J. Webb, I.K. Priyadarsini, B.B. Aggarwal, Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studies, Nat. Prod. Rep. 28 (2011) 1937–1955.

[13] K.M. Al-Ahmary, S.M. Soliman, M.M. Habeeb, A.H. Al-Obidan, Spectral analysis and DFT computations of the hydrogen bonded complex between 2, 6-diaminopyridine with 2, 6-dichloro-4-nitrophenol in different solvents, J. Mol. Struct. 1143 (2017) 31–41.

[14] K. Indira Priyadarsini, Chemical and structural features influencing the biological activity of curcumin, Curr. Pharm. Des. 19 (2013) 2093–2100.

[15] P. Arya, N. Raghav, In-vitro studies of Curcumin-β-cyclodextrin inclusion complex as sustained release system, J. Mol. Struct. 1228 (2021) 129774.

[16] R. Wilken, M.S. Veena, M.B. Wang, E.S. Srivatsan, Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma, Mol. Cancer. 10 (2011) 1–19.

[17] P. Basnet, H. Hussain, I. Tho, N. Skalko-Basnet, Liposomal delivery system enhances anti-inflammatory properties of curcumin, J. Pharm. Sci. 101 (2012) 598–609.

[18] Y. Cao, R.X. Xu, Z. Liu, A high-throughput quantification method of curcuminoids and curcumin metabolites in human plasma via high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. B. 949 (2014) 70–78.

[19] I. Chattopadhyay, K. Biswas, U. Bandyopadhyay, R.K. Banerjee, Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications, Curr. Sci. (2004) 44–53.

[20] T. Esatbeyoglu, K. Ulbrich, C. Rehberg, S. Rohn, G. Rimbach, Thermal stability, antioxidant, and anti-inflammatory activity of curcumin and its degradation product 4-vinyl guaiacol, Food Funct. 6 (2015) 887–893.

[21] A. Pandey, R.K. Gupta, R. Srivastava, Curcumin-the yellow magic, Asian J. Appl. Sci. 4 (2011) 343–354. https://doi.org/10.3923/ajaps.2011.343.354.

[22] M.B. Patil, S. V Taralkar, V.S. Sakpal, S.P. Shewale, R.S. Sakpal, Extraction, isolation and evaluation of anti-inflammatory activity of Curcuminoids from Curcuma longa, Int. J. Chem. Sci. Appl. 2 (2011) 172–174.

[23] K. Shahani, J. Panyam, Highly loaded, sustained-release microparticles of curcumin for chemoprevention, J. Pharm. Sci. 100 (2011) 2599–2609.

[24] C.J. Paddon, J.D. Keasling, Semi-synthetic artemisinin: a model for the use of synthetic

biology in pharmaceutical development, Nat. Rev. Microbiol. 12 (2014) 355–367.

[25] D.J. Newman, G.M. Cragg, Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014, J. Nat. Prod. 79 (2016) 629–661.

[26] H. Layaida, A. Hellal, N. Chafai, I. Haddadi, K. Imene, B. Anis, E. Mouna, C. Bensouici, W. Sobhi, A. Attoui, Synthesis, spectroscopic characterization, density functional theory study, antimicrobial and antioxidant activities of curcumin and alanine-curcumin Schiff base, J. Biomol. Struct. Dyn. (2022) 1–16.

[27] D.K. Agrawal, P.K. Mishra, Curcumin and its analogues: potential anticancer agents, Med. Res. Rev. 30 (2010) 818–860.

[28] K. Okada, C. Wangpoengtrakul, T. Tanaka, S. Toyokuni, K. Uchida, T. Osawa, Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stress-induced renal injury in mice, J. Nutr. 131 (2001) 2090–2095.

[29] P. Anand, S.G. Thomas, A.B. Kunnumakkara, C. Sundaram, K.B. Harikumar, B. Sung, S.T. Tharakan, K. Misra, I.K. Priyadarsini, K.N. Rajasekharan, Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature, Biochem. Pharmacol. 76 (2008) 1590–1611.

[30] W.M. Weber, L.A. Hunsaker, S.F. Abcouwer, L.M. Deck, D.L. Vander Jagt, Anti-oxidant activities of curcumin and related enones, Bioorg. Med. Chem. 13 (2005) 3811–3820.

[31] P.G. Cozzi, Metal–Salen Schiff base complexes in catalysis: practical aspects, Chem. Soc. Rev. 33 (2004) 410–421.

[32] K.C. Gupta, A.K. Sutar, Catalytic activities of Schiff base transition metal complexes, Coord. Chem. Rev. 252 (2008) 1420–1450.

[33] D. Simijonović, E.E.N. Vlachou, K.E. Litinas, Z.D. Petrović, V.P. Petrović, Synthesis, structural characterization, and molecular docking study of new phthalhydrazide-coumarin hybrids, J. Mol. Struct. 1226 (2021) 129366. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129366.

[34] A.S. Hassan, A.A. Askar, A.M. Naglah, A.A. Almehizia, A. Ragab, Discovery of new Schiff bases tethered pyrazole moiety: Design, synthesis, biological evaluation, and molecular docking study as dual targeting DHFR/DNA gyrase inhibitors with

immunomodulatory activity, Molecules. 25 (2020) 2593.

[35] A.S. Hassan, G.O. Moustafa, H.M. Awad, E.S. Nossier, M.F. Mady, Design, synthesis, anticancer evaluation, enzymatic assays, and a molecular modeling study of novel pyrazole–indole hybrids, ACS Omega. 6 (2021) 12361–12374.

[36] J. Qi, Y. Luo, Q. Zhou, G. Su, X. Zhang, X. Nie, M. Lv, W. Li, Synthesis, structure and anticancer studies of Cu (II) and Ni (II) complexes based on 2-hydroxy-1-naphthaldehyde-4-aminoantipyrine Schiff-base, J. Mol. Struct. 1255 (2022) 132458.

[37] S.S. Mukhtar, A.S. Hassan, N.M. Morsy, T.S. Hafez, F.M. Saleh, H.M. Hassaneen, Design, synthesis, molecular prediction and biological evaluation of pyrazole-azomethine conjugates as antimicrobial agents, Synth. Commun. 51 (2021) 1564–1580.

[38] V.L. Siji, M.R. Sudarsanakumar, S. Suma, Synthesis, spectroscopic characterization, and antimicrobial activity of cobalt (II) complexes of acetone-N (4)-phenylsemicarbazone: crystal structure of [Co (HL) 2 (MeOH) 2](NO 3) 2, Transit. Met. Chem. 36 (2011) 417–424.

[39] S.A.M. Krzysztof, Osinka. A.; Sztanke, M, Bioorg. Med. Chem. 21 (2013) 3648–3666.

[40] T. Kondori, N. Akbarzadeh-T, M. Fazli, B. Mir, M. Dušek, V. Eigner, A novel schiff base ligand and its copper complex: Synthesis, characterization, X-ray crystal structure and biological evaluation, J. Mol. Struct. 1226 (2021) 129395.

[41] B. Türkkan, B. Sarıboğa, N. Sarıboğa, Synthesis, characterization and antimicrobial activity of 3, 5-di-tert-butylsalicylaldehyde-S-methylthiosemicarbazones and their Ni (II) complexes, Transit. Met. Chem. 36 (2011) 679–684.

[42] A. Hellal, S. Chafaa, N. Chafai, L. Touafri, Synthesis, antibacterial screening and DFT studies of series of α-amino-phosphonates derivatives from aminophenols, J. Mol. Struct. 1134 (2017) 217–225.

[43] O.L. Bouamrane, A. Hellal, K. Hachama, L. Touafri, I. Haddadi, H. Layaida, I. Kirouani, A. Hassani, M. Mersellem, A. Madani, Effect of the bifunctionalization of aminomethylphosphonic acid on the structural, electronic, vibrational, thermodynamic and antioxidant activity: Microwave-assisted synthesis, Density Functional Theory studies and DPPH radical scavenging activity, J. Mol. Struct. 1250 (2022) 131714.

[44] H. Abdelkader, C. Salah, C. Nadjib, Synthesis, antibacterial and antifungal screening of

three new of alpha-aminophosphonic acids, Int. J. Sci. Eng. Res. 6 (2015) 1622–1627.

[45] 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.

[46] A. Hellal, D. Rachida, S. Zaout, M. Elkolli, S. Chafaa, L. Touafri, N. Chafai, M. Mehri, K. Benbougerra, Structural, electronic, vibrational, optical and thermodynamic properties of 3-Oxo-3-p-tolylpropylphosphonic acid and 4-Oxo-4-p-tolyl-butyric acid: Density functional theory study, J. Mol. Struct. 1171 (2018) 527–540.

[47] H. Abdelkader, Z. Farouk, M. Mohamed, M. Abdelghani, L. Houdheifa, K. Imene, H. Ines, B. Anis, C. Nadjib, H. Meriem, Efficient one-pot synthesis, characterization and Â DFT study of solvents polarity effects on the structural, energetic and thermodynamic proprieties of (a-methylamino-ethyl)-phosphonic acid dimethyl ester, J. Mol. Struct. 1272 (2023) 134165.

[48] L. Adjissi, N. Chafai, K. Benbouguerra, I. Kirouani, A. Hellal, H. Layaida, M. Elkolli, C. Bensouici, S. Chafaa, New aromatic hydrazones: Synthesis, structural analysis, DFT study, biological activity, ADME-T properties and in silico evaluation of their inhibition of SAS-CoV-2 main protease, J. Mol. Struct. (2023) 134997.

[49] A. Hellal, S. Chafaa, L. Touafri, An eco-friendly procedure for the efficient synthesis of diethyl α-aminophosphonates in aqueous media using natural acids as a catalyst, Korean J. Chem. Eng. 33 (2016) 2366–2373.

[50] I. Haddadi, A. Hellal, I. Kirouani, H. Layaida, C. Bensouici, Microwave-assisted synthesis, DFT theoretical study and biological activities evaluation of two phosphonylated m-toluidine derivatives, J. Mol. Struct. 1251 (2022) 131948.

# *Chapitre I :*

# *Etude bibliographique sur le Curcuma et la curcumine*

# I. Généralités sur le Curcuma "*The Golden Spice*" :

## I.1. Historique de la plante :

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remèdes aux affections humaines, car elles contiennent des composants à valeur thérapeutique. Les plantes ont toujours été une source majeure de médicaments, grâce à leur richesse en métabolismes secondaires. Cependant, l'homme n'a découvert les propriétés bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des relations sociales, notamment à partir du Néolithique (8000 av. J.-C.). L'observation alliée à l'expérience, la transmission d'informations glanées au fil du temps ont fait que certains hommes sont devenus capables de poser un diagnostic, de trouver la plante qui soigne et finalement de guérir le patient [1].

Le premier texte médical hindou à mentionner des causes de maladie "vitales" plutôt qu'erratiques est L'Atharvaveda. Il raconte qu'il y a 6 000 ans, le curcuma (où les Anglais appellent "*The Golden Spice*", ou l'épice d'or [2]) était utilisé pour "chasser" la jaunisse [3]. Le *Curcuma longa L*. est une épice qui fait l'objet d'un commerce depuis si longtemps que son origine ne peut être déterminée avec certitude.

En 1280, Marco Polo raconte le transport de curcuma entre la Chine et l'Inde dans son journal de bord. Au cours de ce siècle, les commerçants arabes alimentaient le marché européen à partir de l'Inde [4]. Après, dans le début de la colonisation anglaise de l'Inde (XVe siècle), le curcuma est mélangé au cumin et à la coriandre pour former ce que l'on appelle aujourd'hui le curry.

Le *Curcuma longa L*. est largement cultivé en Inde mais dans une moindre mesure, en Chine, à Taïwan, au Japon, en Birmanie, en Indonésie... etc. La plante est décrite et utilisée depuis au moins 4 000 ans dans le système de médecine traditionnelle indienne, où elle est connue sous le nom de Haridra en sanskrit ancien. Elle était, et est toujours, l'un des éléments centraux de la médecine ayurvédique. Elle a également une longue tradition dans la médecine chinoise. Outre ses propriétés médicinales, le curcuma était (et est toujours) utilisé pour son odeur, sa couleur jaune-orange comme colorant alimentaire et textile, comme épice alimentaire au goût légèrement amer et âpre, poivré et aromatique. On lui attribue également des propriétés de conservation des aliments [5].

En Europe, des moines ont mentionné la plante, qui avait été introduite par des marins, dans leurs écrits dès le 6ème siècle. Elle est connue en Chine depuis le 7e siècle en Afrique depuis le 8e siècle et en Afrique de l'Ouest depuis le 13e siècle. C'est une plante

introduite en Europe par Marco Polo en 1298, qui l'a découverte en Chine, et par les Arabes au 13ème siècle [6].

## I.2. Appellations de curcuma :

Le terme de curcuma est d'origine irano-indienne. Il dérive du sanscrit kartouma qui a donné kurkum en persan ancien, kourkoum en arabe et curcuma en latin [7].

Le nom curcuma procède du Sanskrit : "kunkuma" ranjani (ce qui donne la couleur), lui-même issu du latin terra merita, qui désignait la racine, à cause de la substance terreuse de la racine et parce qu'elle était connue pour avoir de grandes vertus [8]. Curcuma serait issu, selon certaines sources, du terme arabe kourkoum [9].

**Tableau I.1 :** Différentes appellations de curcuma [10].

| **Langue** | **Appellations** |
|---|---|
| Anglaise | Goldenspice ,Turmeric |
| Arabe | الكركم (*Al-Kourkoum*) |
| Française | Rhizome De Curcuma, Safran Des Indes |
| Chinoise | 姜黄 (Jianghuang) |

## I.3. Classification botanique :

Le genre Curcuma, selon la classification APG III (Angiospermes Phylogénie Group) appartient à :

- La classe des monocotylédones.

- L'ordre des scitaminales ou zingibérales.

- La famille des Zingiberaceae.

On dénombre près de 80 espèces dans ce genre.

**Tableau I.2** : Classification botanique du curcuma [10–13].

| | |
|---|---|
| **Nom** | Curcuma |
| **Autres noms utilisés** | Safran cooli, Safran des Indes, Safran pays, Turmeric, Golden Spice …. |
| **Nom scientifique** | *Curcuma longa* L |
| **Sous embranchement** | Magnoliophyta |
| **Règne** | Plantae |
| **Classe** | Liliopsida |
| **Ordre** | Zingiberales |
| **Famille** | Zingiberaceae |
| **Genre** | Curcuma |
| **Espèces** | Curcuma longa |
| **Origine** | Inde et Asie du Sud-Est |
| **Partie(s) utilisée(s)** | Rhizomes |
| **Principes actifs** | Curcumine |

### I.4. Localisation et répartition géographique :

L'origine de *Curcuma longa L* est incertaine mais on pense qu'il vient d'Asie du Sud, très probablement de l'inde. *Curcuma longa L* ne se trouve pas dans un état véritablement sauvage, mais il semble s'être naturalisé dans certaines régions. L'Inde est considérée comme le centre de domestication et *Curcuma longa L* est cultivé depuis des longs temps. Il est arrivé en Chine avant les 7 siècles, en Afrique de l'Est au 8 siècle et en Afrique de l'Ouest au 12 siècle. Il a été introduit en Jamaïque au 18 siècle. Actuellement, le curcuma est largement

cultivé partout sous tropiques, en Afrique, il est cultivé dans les jardins familiaux de nombreux pays et il est vendu sur un grand nombre de marchés [10].

**Figure I.1 :** Carte du monde illustrant Origine du curcuma [11].

## I.5. Morphologie de la plante :

*Curcuma longa L* est une plante vivace atteignant un mètre, pérenne par son rhizome [10]. Différentes descriptions de chaque partie de la plante sont présentées :

**A- La partie supérieure** : Partie aérienne

**- Les tiges :** Erigées, verticales, de quelques centimètres de hauteur portant 6-10 feuilles, dont les gaines recouvrent la tige. L'articulation du pétiole sur la tige est marquée par une languette (ligule) [13].

**- Les feuilles :** Souples, alternes, distiques, pétiolées [14]. Les feuilles de ses plants, très longues, oblongues à elliptiques, engainantes, possèdent une puissante nervure axiale et des nervures secondaires parallèles. Les gaines des feuilles forment un pseudo tige courte, les limbes sont vert foncé au-dessus, vert très clair en dessous, criblés de points translucides [11].

**-Les fleurs :** possèdent [14] :

•Un calice tubulaire, court, présentant 3 dents inégales.

•Une corolle tubulaire à sa base, puis divisée en 3 lobes jaunes inégaux

•Des étamines dont une seule fertile, bifide, l'anthère présentant un large éperon courbé à la base.

•Un ovaire infère, triloculaire, surmonté d'un style terminé par un stigmate simple et en crochet [11].

**-Le fruit :** rarement produit, est une capsule à trois loges, contenant de nombreuses graines arillées [15].

**Figure I.2** : La plante entière de Curcuma.

**B- La partie inférieure** : La partie racinaire

Le rhizome d'où naissent des tubercules primaires ellipsoïdes de 5cm x 2,5cm portant de nombreux rhizomes » cylindriques de 5cm x 8cm x 1,5cm, droits ou un peu courbés dont l'odeur et le parfum sont caractéristiques [14]. Les rhizomes principaux de forme ovoïde fournissent le curcuma rond et les secondaires le curcuma long. Epais, écailleux, se ridant par dessiccation, ces rhizomes sont d'une couleur jaune orangé en section, gris brunâtre en surface. Une odeur aromatique se dégage après section du rhizome [7].

**Figure I.3 :** Rhizomes frais de *Curcuma longa L*.

## I.6. Composition chimique des rhizomes de la plante :

Le tableau suivant résume la valeur nutritionnelle et énergétique calculée pour 100 g de poudre de rhizome de *Curcuma longa L*.

**Tableau I.3 :** Valeurs nutritionnelles et énergétique du *Curcuma Longa L* [7,12].

| **Energie** | **354Kcal/100g** | **Minéraux** | | **Vitamines** | |
|---|---|---|---|---|---|
| L'eau | 11,4g | Calcium | 183mg | Vit.B1 | 0,15mg |
| Protéine | 7,8g | Magnésium | 193mg | Vit.B2 | 0,23mg |
| Lipide | 9,9g | Phosphore | 268mg | Vit.B3 | 5,14mg |
| Glucide | 64,9g | fer | 41,4mg | Vit.B6 | 1,80mg |
| Fibre | 21,1g | zinc | 44mg | Vit.B9 | 39mg |
| Omega9 | 3,12g | Potassium | 2525mg | Vit.C | 26mg |
| Omega3 | 0,48g | Manganèse | 7,8mg | Vit.E | 3,1mg |
| Omega6 | 1,69g | Cuivre | 603mg | Vit.K | 13,4mg |

Pour 100 g de partie comestible, la poudre de curcuma contient approximativement 2 à 7% d'huile essentielle, qui est rouge orangé et légèrement fluorescente obtenue par distillation

à la vapeur d'eau. Ses constituants principaux sont un sesquiterpène, zingiberène (25%) et ses dérivés cétoniques : la turmérone (35%) et l'arturmérone (dehydroturmérone) (12%) (Figure I.4).

L'huile essentielle de curcuma se compose également en petites quantités de monoterpènes Oxygènes, associes à de petites quantités de sesquiterpènes hydrocarbonées et de monoterpènes hydrocarbonées. La contribution relative de chaque composant à l'arôme et à la flaveur est mal connue. L'arôme de l'huile essentielle distillée à la vapeur est différent de celui de l'épice, ce qui serait du pense-t-on à la formation d'artefacts lors de la distillation[7,15].

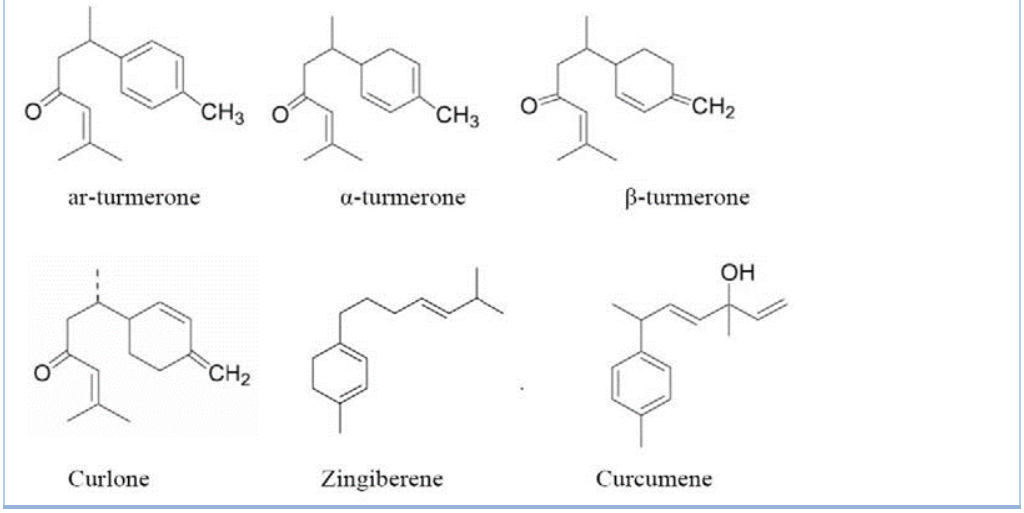



**Figure I.4**: Structures chimiques des principaux constituants de l'huile essentielle de curcuma[16].

L'extraction du rhizome à l'alcool éthylique, à l'acétone ou chlorure de méthylène donne 6à 10 % d'extra, qui contient 35 à 45ù de curcumine et des dérivés (Figure I.5), la diméthoxy curcumine et la bis diméthoxy curcumine, connus sous le nom collectif de curcuminoïdes, Ces composés donnent au curcuma sa couleur jaune orangé [15].

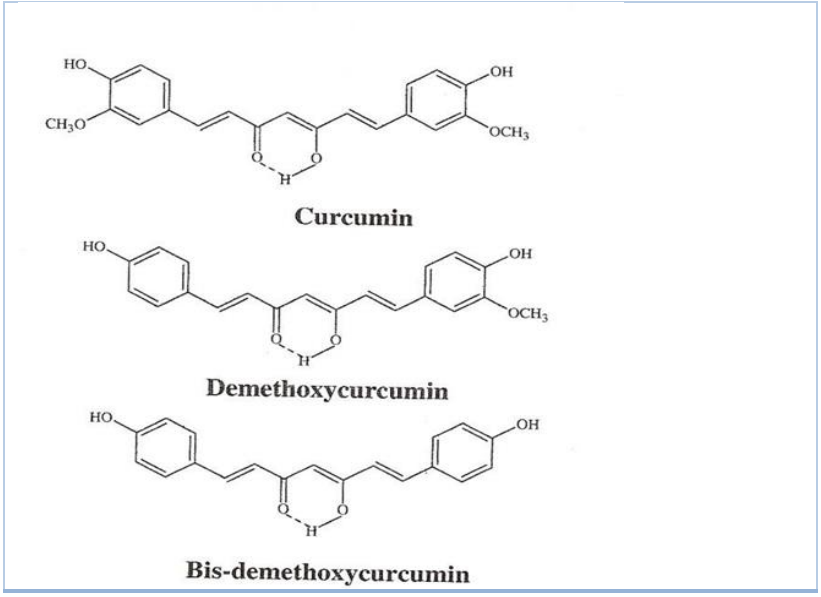



**Figure I.5**: Structures chimiques des curcuminoïdes [17].

## I.7. Utilisations du curcuma :

Les plantes sont rassemblées chaque année pour leurs rhizomes, et propagées à partir de certains de ces rhizomes à la saison suivante, lorsqu'ils ne sont pas utilisés frais, les rhizomes sont bouillis pendant plusieurs heures puis séchés dans des fours chauds, après quoi ils sont broyés dans une poudre orange-jaune profond couramment utilisée comme épice au curry [18]. L'utilisation du curcuma apparaît de l'ancienne connaissance et se manifeste dans de nombreux domaines, si bien que la classification de ces usages est devenue difficile Ainsi on lui trouve diverses utilisations suivant les traditions ou les connaissances des nations :

**- Usages traditionnels :**

Le curcuma a été utilisé dans les médicaments traditionnels comme remède pour diverses maladies, y compris les troubles biliaires, l'anorexie, la toux, les plaies diabétiques, les troubles hépatiques, les rhumatismes et la sinusite [12]. Dans la vieille médecine hindoue, il a été largement utilisé pour le traitement des entorses et le gonflement causé par une lésion[19].

Dans la médecine orientale, le rhizome de curcuma est utilisé comme stimulant et digestif en Inde. Un mélange de poudre de curcuma avec du beurre chaud s'utilise comme antiseptique sur les petites blessures. En Chine, on l'utilise pour améliorer la circulation.

En Thaïlande c'est un antidote contre la morsure du cobra et un répulsif anti moustiques. En France, il est inscrit à la pharmacopée comme cholérétique et cholagogue, et est traditionnellement utilisé dans les troubles fonctionnels digestifs d'origine hépatique et pour stimuler l'appétit[20].

**- Usage alimentaire :**

Le curcuma est largement utilisé dans les aliments pour sa saveur ; sa couleur et sa capacité à conserver la fraicheur, la sapidité et la valeur nutritive et aussi comme un bon additif alimentaire[21] pour ses propriétés de coloration aromatiques et nutritives [$].

En Asie le curcuma est utilisé en tant qu'épice, mais aussi comme agent de coloration de plusieurs aliments tels que le curry et la moutarde[21]. La loi du 1er août 1905 avait autorisé l'emploi de la curcumine comme colorant dans les aliments. La curcumine figure elle-même au Journal officiel de la République française du 1er juin 1975 sous le code E 100 indiquant la référence à une décision européenne[21].

En 1980, la direction de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes en France a autorisé la coloration artificielle par la curcumine.

**- Usage cosmétique :**

Le curcuma est traditionnellement employé comme un produit de beauté, il est un moyen peu couteux et naturel de traiter plusieurs problèmes de peau où on pense qu'il réduit la croissance des poils du visage, réduit l'acné et améliore le teint[3].

Des études in vitro montrent que le gel de curcumine améliore l'apparence des affections cutanées photo-endommagées telles que les changements pigmentaires, les élastoses solaires, la poïkilodermie actinique, les lentigines solaires et la kératose actinique lorsqu'il est appliqué pendant une période prolongée telle que six mois[22].

Le curcuma est évalué comme un colorant capillaire respectueux de l'environnement et ses composés peuvent avoir un potentiel dans l'industrie des parfums, des cosmétiques et du savon[23].

**- Usages thérapeutiques :**

**A- Médecine traditionnelle :**

Le curcuma a un rôle important dans les traditions thérapeutiques dans différentes parties du monde et à travers des siècles. Le début venait du pays d'origine « INDE », il est utilisé en médecine ayurvédique pour guérir diverses maladies telle que les maladies respiratoires[24], on mentionne quelques applications médicales :

•Bouilli le curcuma dans du lait sucré au miel constitue un remède contre Toux, Grippe, Bronchite et l'asthme, cela fonctionne pour dégager les voies respiratoires.

• Tisane mélangée à de la peau d'orange, des feuilles de cannelles et un œuf cru pour traiter les mêmes maladies mentionnées précédemment[25].

• Inhalation du fumé issu de la décoction des rhizomes du curcuma est un traitement efficace contre le rhume.

• Le curcuma a également été utilisé pour le traitement des troubles digestifs, par exemple dans l'ancienne médecine hindoue des pilules fabriquées à partir de rhizomes écrasés sont prises avant les repas pour contrecarrer la dyspepsie[26].

• Le curcuma sous forme de décoction est un traitement aussi, il est utilisé en compresse sur les yeux contre la conjonctivite, et sous forme de pommade, il apaise démangeaisons et soigne les dermatoses.

**B- Médecine moderne :**

L'importance du curcuma en thérapeutique à changer considérablement depuis qu'on a découvert les propriétés médicinales de ses composés, cette importance est confirmée par des études effectuées in vitro et in vivo montrent que les molécules bioactives du curcuma possèdent des activités thérapeutiques intéressantes pour la santé humaine [27], Les principales activités biologiques du curcuma sont l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antifongiques et antibactérienne [28].

**- D'autre utilisation Frauduleuse :**

Ce n'est pas sans raison que ce végétal porte également le nom « safran indien » ou « racine de safran » car il est parfois utilisé à des fins frauduleuses pour falsifier la poudre de safran, épice très onéreuse. Fort heureusement, le curcuma est facilement décelable dans les poudres falsifiées grâce aux réactions colorées de la curcumine. L'un des méthodes qui existent pour mettre en évidence cette falsification est consisté à triturer la poudre à plusieurs

reprises avec de l'éther de pétrole. Puis cette phase organique est filtrée, concentrée. On en prélève quelques gouttes que l'on dépose sur un papier filtre. Après séchage on traite l'échantillon avec de l'acide borique. La couleur rouge qui se développe révèle la présence de curcumine donc de curcuma qui peut être confirmée par l'addition d'une goutte d'hydroxyde d'ammonium, auquel cas la tache rouge vire au bleu vert [7].

En 1995, un brevet sur l'utilisation de la curcumine pour aider à la cicatrisation des blessures a été demandé et obtenu par deux chercheurs de l'Université du Mississippi aux Etats-Unis. Ils sont allés jusqu'à demander le droit exclusif du commerce du curcuma [29].

# II. Généralités sur la Curcumine :

## II.1. Historique :

La découverte de la curcumine dans le curcuma, remonte au milieu du siècle des lumières quand Vogel et Pelletier publient en 1815 dans le Journal de Pharmacie et Sciences, l'isolement de la « matière colorante jaune » des rhizomes de curcuma dans leur étude intitulé « Examen chimique de la racine de Curcuma ». A la suite de quoi ils ont nommé cette matière curcumine [29].

En 1842, Vogel pense avoir produit de la curcumine de synthèse pure mais n'en publie pas la formule précise. Ce n'est qu'en 1910, après l'émission de conjectures diverses, que Milobedzka et Lampe identifient la structure chimique de la curcumine (1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,6-heptadiène-3,5-dione (Figure II.1 ). Ils en publient la synthèse en 1913 puis Srinivasan sépare et quantifie les composants du curcuma par chromatographie[30].

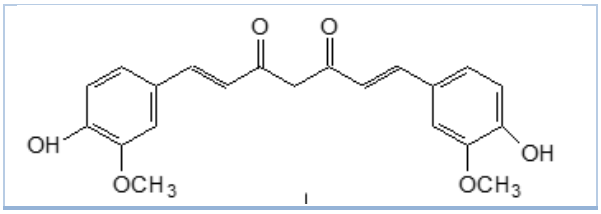



**Figure II.1 :** Structure chimique de la curcumine.

Alors que le curcuma, principale source de curcumine, est utilisé à l'échelle mondiale comme une épice, ce n'est qu'au cours de la première moitié du XXe siècle que ses caractéristiques biologiques commencent à être étudiées. Schraufstatter et Bernt décrivent le pouvoir antibactérien et antifongique de la curcumine dans la revue Nature en 1949[30].

## II.2. Synthèse de la curcumine :

### A- Biosynthèse :

Depuis des dizaines d'années, l'intérêt pharmaceutique que représente la curcumine est à l'origine de l'élan scientifique visant à déterminer comment elle est produite in vivo, Nous pouvons prendre en exemple les travaux de Roughley et Whiting qui furent les premiers à décrire, en 1973, l'utilisation de préparation à base de phénylalanine et d'acides

cinnamiques diversement substitués tels que l'acide [3H]-4-hydroxy-3-méthoxy-cinnamique. Ces préparations étaient incluses dans les solutés de nutrition des jeunes plants de *Curcuma longa L*.

C'est à l'aide des travaux de Schröder en 2008 qui donne les étapes de biosynthèse la curcumine, que nous pouvons aujourd'hui décrire cette biosynthèse [31].

La biosynthèse de la curcumine est une synthèse en plusieurs cascades :

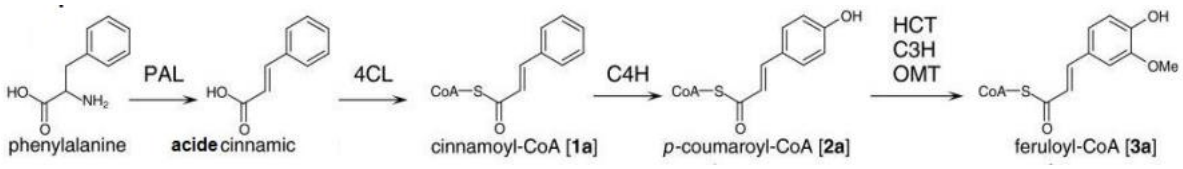



**Schéma 1 :** Etape préliminaire de la biosynthèse des curcuminoïdes.

Les premiers substrats de synthèse cinnamoyl-CoA (1a), p-coumaroyl-CoA (2a) et feruloyl-CoA (3a) sont issus ou bien synthétisés à partir de la phénylalanine par le biais de l'activité de la phénylalanine ammonium-lyase (PAL), de la 4-coumarate : CoA ligase (4CL) ensuite de la cinnamate-4-hydroxylase (C4H) et pour finir de l'action de l'hydroxycinnamoyl transferase (HCT), cinnamate-3- hydroxylase (C3H) et O-methyltransferase (OMT).

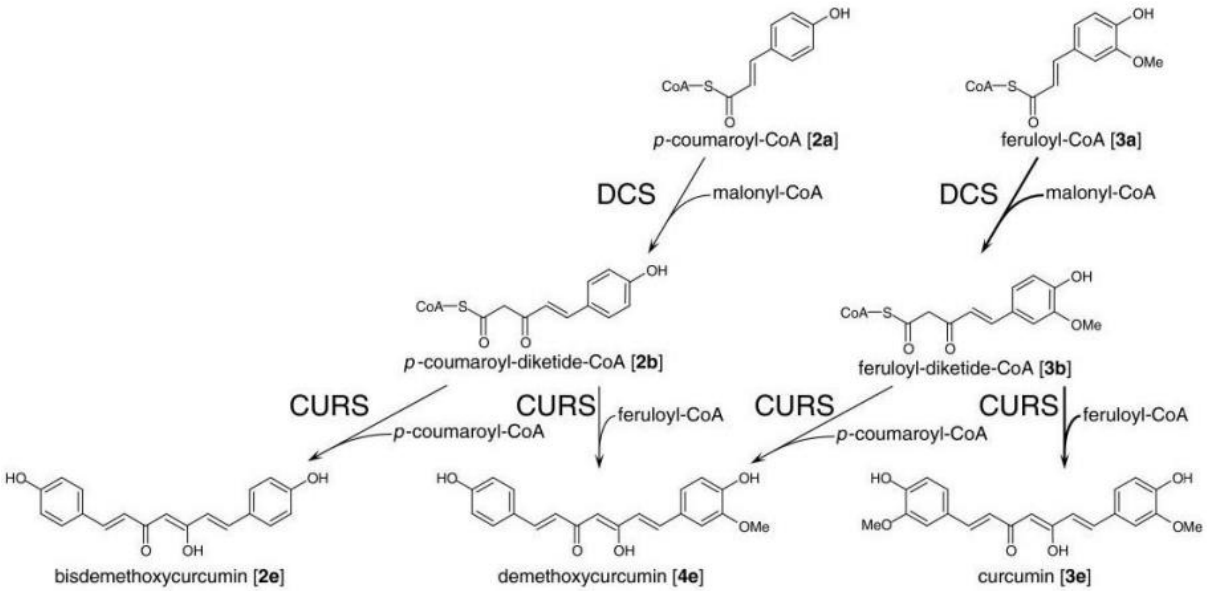



**Schéma 2 :** les Etapes finales pour la biosynthèse des curcuminoïdes.

Ensuite, les Diketide-CoA Synthases (DCS) permettent de fusionner le malonyl-Coa avec 2a et 3a pour obtenir le p-coumaroyl-diketide-Coa (2b) et feruloyl-diketide-CoA (3b). Enfin, les

Curcumine Synthases (CURS) condensent une nouvelle molécule de 2a ou 3a pour obtenir le produit final. Ici, on utilise 2 feruloyl-CoA pour obtenir la curcumine (3e).

**B-Synthèse organique de la curcumine :**

Le besoin d'obtenir de la curcumine pure et en quantités suffisantes afin de mieux évaluer ses activités biologiques, a obligé les scientifiques à se pencher sur une voie de synthèse chimique, dès 1910 [32].

- **Methode 1 : Synthèse chimique selon Pabon (1964):**

Pabon a synthétisé de la curcumine en utilisant de l'acétylacétone et des aldéhydes aromatiques substitués en présence de trioxyde de bore ($B_2O_3$).

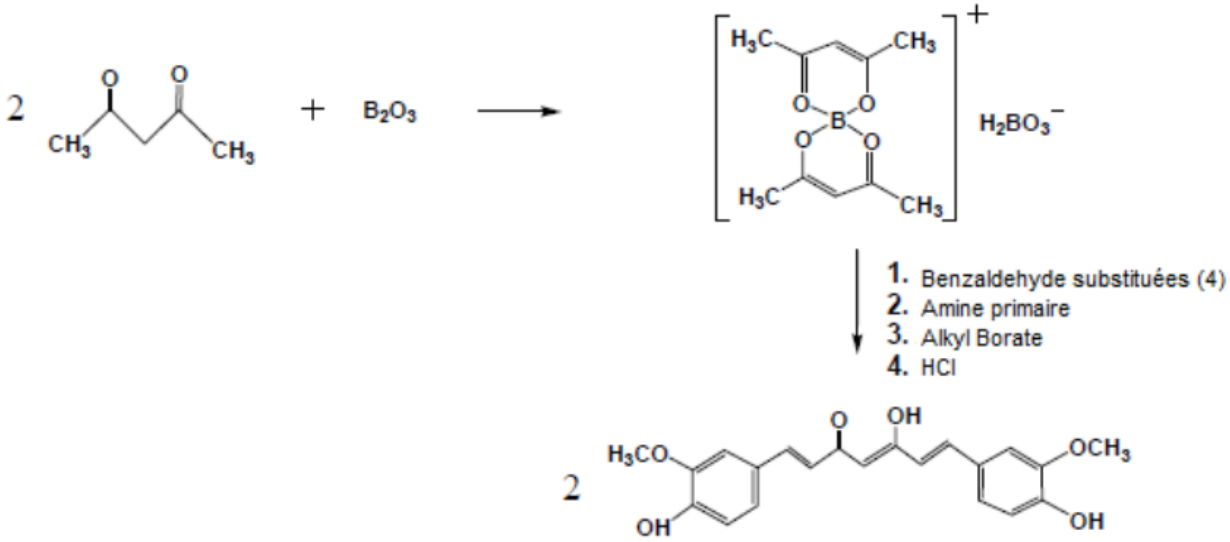



**Schéma 3 :** Schéma général de la méthode Pabon.

La première étape est la réaction de 2,4-dicétones avec des aldéhydes aromatiques substitués. Pour empêcher la participation des dicétones aux condensations de Knoevenagel, le dicétone est complexé avec du bore. Des amines primaires et secondaires sont utilisées comme catalyseurs pour fournir la basicité nécessaire à la déprotonation des groupes alkyle du dicétone.

Pour éliminer l'eau produite lors de la réaction de condensation, des capteurs d'eau tels que les borates d'alkyle sont employés. L'eau non éliminée peut réagir avec le complexe dicétone, réduisant ainsi le rendement en curcumine. Le complexe borique se dissocie en curcumine dans des conditions légèrement acides (ajout de HCl). De ce mélange réactionnel, la

curcumine est séparée par cycles répétés de lavage et précipitation, puis isolée sur colonne chromatographique de gel de silice.

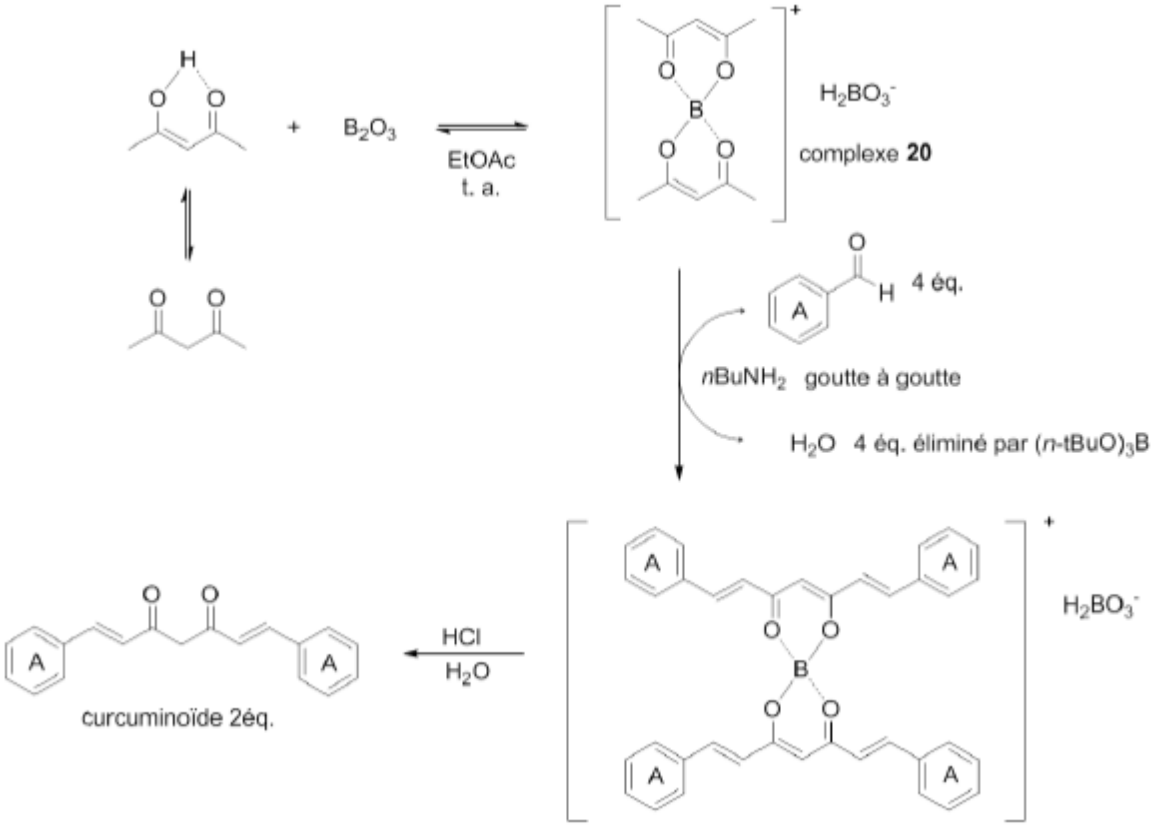



**Schéma 4 :** Schéma détaillé de Pabon.

- **Methode 2 : Synthèse « one step » de Pavolini (1950)**

Cette synthèse se fait en une seule étape. Elle a un rendement de 10% pour un temps de réaction de 30 minutes seulement. Pavolini utilise un équivalent d'acétylacétone avec deux équivalents de vanilline, le tout en présence du trioxyde de bore ($B_2O_3$).

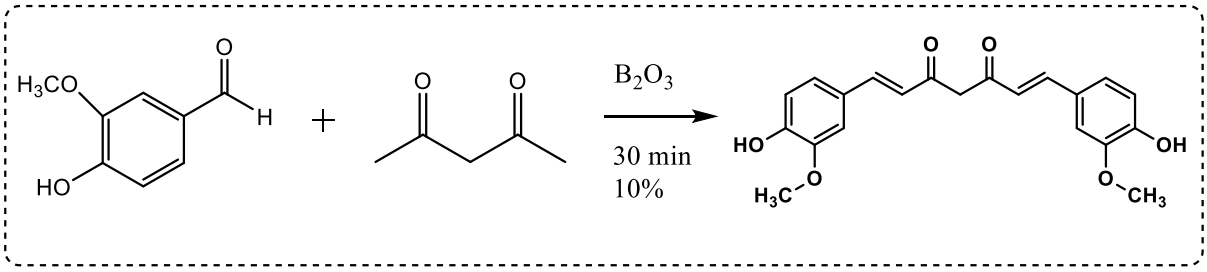



**Schéma 5 :** synthèse de curcumine selon Pavolini

## II.3. Propriétés thérapeutiques de la curcumine :

### A-Activité antioxydante :

Le rôle des radicaux libres a été établi dans différentes maladies telles que l'athérosclérose, le cancer, le diabète, la cirrhose, le vieillissement, etc. Par conséquent, les composés qui peuvent balayer ces radicaux libres ont de grands potentiels pour prévenir ou inhiber ces maladies dégénératives. Les antioxydants sont un tel composé avec une activité de piégeage des radicaux. Les curcumines sont particulièrement efficaces comme piégeurs de radicaux libres, elles accroissent les activités des enzymes qui détruisent les ions superoxyde (O2-) et qui protègent les érythrocytes contre les peroxydes (superoxydedismutase, glutathion peroxydase, glutathionréductase, glucose-6-phosphate déhydrogénase, catalase) [33,34]. La peroxydation lipidique, induite par le nitrilotriacétate ferrique (Fe-NTA) ou l'eau oxygénée, est également fortement inhibée par la curcumine [35].

### B- Activité anti-inflammatoire :

Le pouvoir anti-inflammatoire de la curcumine est clairement relié à son effet antioxydant .de nombreux mécanismes ont été invoqués pour expliquer cet effet: l'inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique et donc de la synthèse des prostaglandines,l'inhibition de l'accroissement de l'activité des enzymes lysosomiales, l'interférence avec la réponse des granulocytes aux stimulus liés au processus inflammatoire, l'inhibition de la formation d'oxyde nitrique, l'inhibition phospholipases spécifiques…etc. [36].

### C- Activité antibactérienne :

La curcumine est connue pour présenter une activité antimicrobienne contre un large éventail d'espèces bactériennes. Les bactéries Gram-positives montrent une sensibilité à la curcumine significativement plus élevée que les bactéries Gram-négatives [37]. La meilleure protection des bactéries Gram-négatives contre les antimicrobiens est due à la structure spécifique de leurs parois cellulaires. Les lipopolysaccharides de l'enveloppe cellulaire externe représentent la barrière de perméabilité la plus externe pour une variété de composés antimicrobiens[38] responsables de l'afflux inhabituellement lent de solutés lipophiles[39] dans les bactéries Gram-négatives. D'autre part, les protéines porines intégrées dans la

membrane externe représentent les principaux canaux d'entrée des solutés dans les cellules des bactéries Gram-négatives.

L'activité antimicrobienne de la curcumine peut être considérablement augmentée par l'exposition à la lumière. La large plage d'absorption (300-500 nm) avec une bande d'absorption maximale à 425 nm fait de la curcumine un puissant photosensibilisateur, conduisant à une puissance antimicrobienne améliorée. Des recherches récentes ont montré que la photo-toxicité de la curcumine vis-à-vis du Staphylococcus epidermidis planctonique dépend du type de nano support [40].

De plus, la photosensibilisation a permis de surmonter l'activité limitée de la curcumine vis-à-vis des Gram-négatifs tels que Salmonella typhimurium et Escherichia coli[41,42]. Nécessitait des concentrations assez élevées (5 à 10 %) de diméthylsulfoxyde pour surmonter la faible solubilité de la curcumine et pour augmenter son administration et sa pénétration à travers les parois cellulaires des bactéries Gram-négatives.

**II.4. Propriétés physico-chimiques :**

**A- Capacités d'adaptations structurales dues aux conformères de la curcumine :**

Comme pour renforcer le pouvoir des sites donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène, la curcumine est capable de se conformer spatialement à une contrainte donnée par une cible moléculaire. Il y a aussi différentes configurations qu'elle peut adopter grâce aux doubles liaisons qui sont au nombre de 3 dans la forme énolique. Ainsi, le linker central peut être assimilé à un bras articulé qui favorise le plus d'interactions possibles entre la curcumine et ses cibles[43].

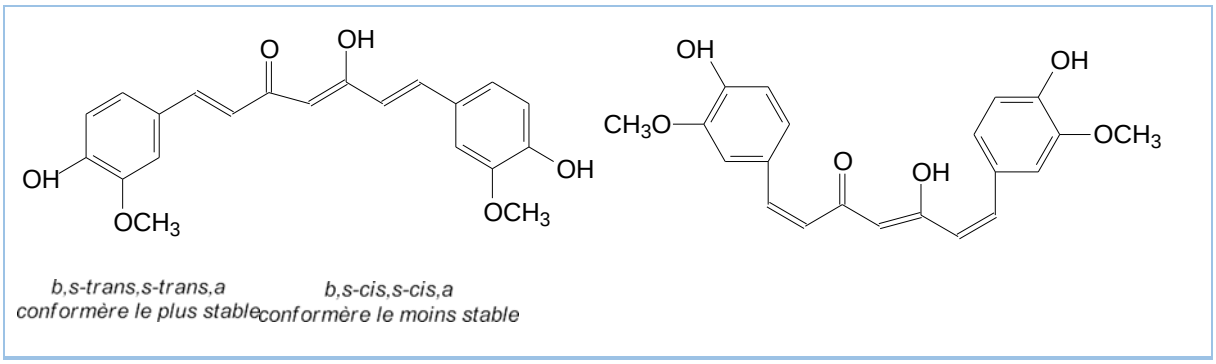



**Figure II.3 :** Les deux conformères de la curcumine où la rotation libre autour des liai-sons C-C et C-Ph forme 2 le conformère le moins stable cis [43].

Dans les solvants polaires ou dans les cellules, que la curcumine est sous sa forme tautomèriqueénolique ouverte et il peut alors s'effectuer des isomérisations « cis-à-trans » autour du carbone en alpha de l'énol.

Ont donné les structures des conformères énoliques les plus stables de la curcumine[43]. Globalement, la curcumine est capable de se fixer à de nombreuses molécules biologiques grâce à son adaptation structurale qui est exploitée afin de maximiser le nombre de liaisons intermoléculaires avec ses cibles. Cette capacité permet d'expliquer le caractère pléiotrope de ses propriétés naturelles.

**B- Les interactions intermoléculaires de Structure La curcumine :**

L'étude structurale de la curcumine elle confirmé qu'il y en avait plusieurs propriétés chimiques de la curcumine facilitant les interactions intermoléculaires auxquelles on peut associer les cibles biomoléculaires. Il y a les interactions dues à ses capacités de donneur et accepteur de liaison hydrogène venant du lien central β-dicarbonyl aussi possible de formédes base de Schiff dans les deux centres carbonylés, puis celles pouvant avoir lieu avec les groupements hydroxy- présents sur les noyaux phényles des extrémités.

Pour finir avec les liaisons hydrogène, il reste celles pouvant s'effectuer via l'oxygène des fonctions éthers sur les groupements méthoxy. Seront abordées ensuite les propriétés chélatantes de cations métalliques et non métalliques multivalents, son coefficient de partage assez fort (log P), les activités rendues possibles grâce aux libres rotations autour des multiples liaisons C=C et enfin les effets biologiques permis par sa capacité à réagir comme un accepteur de Michael [44].

**C- La curcumine : Accepteur de Michael :**

Cette propriété est un attribut de réactivité chimique de la curcumine pour favoriser les interactions de type covalentes avec des cibles possédant des fonctions nucléophiles comme des thiols, des thiolates ou des amines. Dinkova-Kostova et al. ont établi que les molécules **accepteurs de Michael** sont des inducteurs d'enzymes protectrices de la carcinogenèse et que leur réactivité se fait avec des fonctions thiols ou thiolates. Parmi ces molécules on retrouve des chalcones, des cinnamates, des coumarines, des bis(benzylidène)-acétones et des curcuminoïdes[45].

**D- Propriétés chélatantes de cations métalliques et non métalliques multivalents :**

La partie centrale β-dicétone de la curcumine agit comme toutes les β-dicétones quant à la chélation de cations. Elle a donc montré des capacités pour se lier au bore, cuivre, aluminium, magnésium, zinc, plomb, cadmium, fer ferrique ($Fe^{3+}$) et ferreux ($Fe^{2+}$) et le sélénium. La plupart des sources scientifiques indique que les cations métalliques sont liés par l'oxygène de la forme dicétone, mais certains proposent également des sites de chélation sur les doublets non-liants des oxygènes des groupements méthoxy [46].

**E-Stabilité de la curcumine :**

La curcumine, peu soluble dans l'eau acidulée, est soluble mais instable en solution alcaline. La solution passe du marron au jaune clair. Les mécanismes de dégradation en milieu alcalin, étudiés par (Tonnesen et al., 1985) [47], sont résumés dans (Figure II.8).

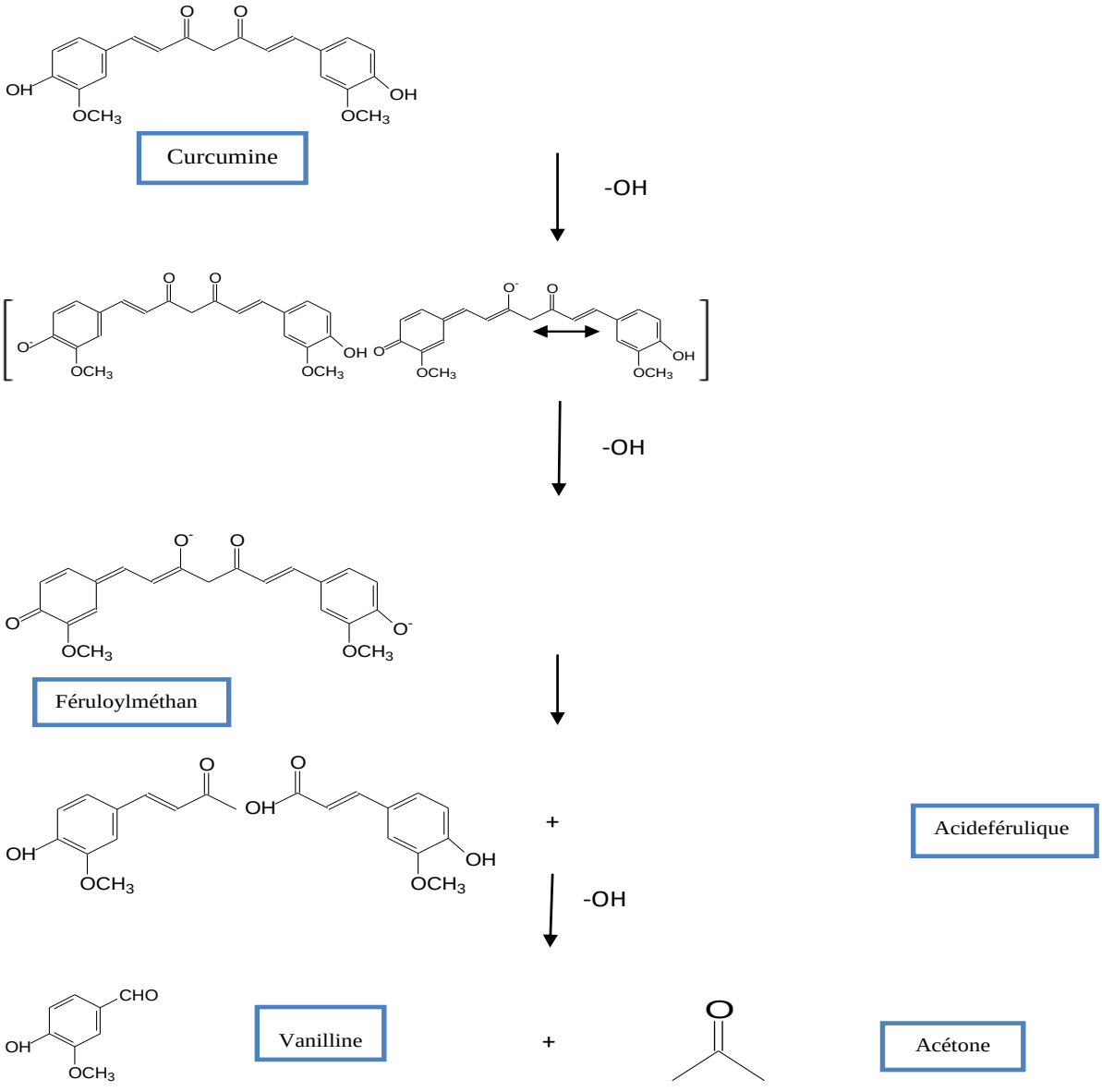



**Schéma 6 :** Dégradation de la curcumine en milieu alcalin [47].

## II.5. Conclusion

Le besoin de nouveaux agents pour es applications thérapeutiques, médicales, alimentaires et agricoles est largement reconnu. À cet égard, les composés naturels d'origine végétale présentent un intérêt particulier en raison de leur diversité, de leur large spectre d'activité et de leur acceptation publique favorable. La Curcumine, 1,7-bis-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,6-heptadiène-3,5-dione, un dimère phénylpropanoïde naturel issu des rhizomes de Curcuma longa L. (Zingiberaceae) et un principe actif majeur du curcuma épice, utilisé en Asie depuis des milliers d'années, a attiré l'attention comme l'un de ces composés prometteurs.

## References biobibliographies :

[1] J.G. Fouché, A. Marquet, A. Hambuckers, Les plantes médicinales de la plante au médicament; Observatoire du Monde des Plantes; Sart-Tilman, B77, B-4000 Liège. (2000).

[2] R. De, P. Kundu, S. Swarnakar, T. Ramamurthy, A. Chowdhury, G.B. Nair, A.K. Mukhopadhyay, Antimicrobial activity of curcumin against Indian Helicobacter pylori and also during mice infection, Antimicrob. Agents Chemother. (2009).

[3] P.N. Ravindran, K. Nirmal Babu, K. Sivaraman, The genus Curcuma, CRC press, 2007.

[4] J.-P. Jourdan, Curcuma et curcumine : de l'histoire aux intérêts thérapeutiques, Sci. Pharm. (2015) 51–55.

[5] B.B. Aggarwal, C. Sundaram, N. Malani, H. Ichikawa, Curcumin: the Indian solid gold, Mol. Targets Ther. Uses Curcumin Heal. Dis. (2007) 1–75.

[6] P. Delaveau, Les épices: Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments, A. Michel, 1987.

[7] D. Georges, Les Épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments, A. Michel, 1987.

[8] N. Lémery, Dictionnaire universel des drogues simples, chez d'Houry, 1699.

[9] K. Cameron, E. Ekwall, The Concise Oxford Dictionary of English Place-Names, Mod. Lang. Rev. 56 (1961) 569. https://doi.org/10.2307/3721625.

[10] B. Amel, N. Ziouche, Ethnobotanique et Utilisations traditionnelles de Curcuma - GRIN, (2017). https://www.grin.com/document/358330.

[11] G. Penso, Les plantes médicinales dans l'art et l'histoire, R. Dacosta, 1986.

[12] C. Hombourger, FACULTE DE PHARMACIE Le Curcuma , De l ' épice au médicament ., 24 (2010) 35.

[13] B. Boullard, Plantes médicinales du monde: Réalités et Croyances, Estem, 2001.

[14] Borget M., Les plantes tropicales à épices, (1991) 182.

[15] P.C.M. Jansen, G.J.H. Grubben, D. Cardon, Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3, Color. Tanins. Wageningen, Pays-Bas PROTA. 238 (2005).

[16] P. Dohare, P. Garg, U. Sharma, N.R. Jagannathan, M. Ray, Neuroprotective efficacy and therapeutic window of curcuma oil: in rat embolic stroke model, BMC Complement. Altern. Med. 8 (2008) 1–20.

[17] G.K. Jayaprakasha, L.J. Rao, K.K. Sakariah, Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin, Food Chem. 98 (2006) 720–724.

[18] A. Kumar, R. Singh, A. Yadav, D.D. Giri, P.K. Singh, K.D. Pandey, Isolation and characterization of bacterial endophytes of Curcuma longa L., 3 Biotech. 6 (2016) 1–8. https://doi.org/10.1007/s13205-016-0393-y.

[19] H.P.T. Ammon, M.A. Wahl, Pharmacology of Curcuma longa, Planta Med. 57 (1991) 1–7. https://doi.org/10.1055/s-2006-960004.

[20] S. Loap, Curcuma (partie I), Phytothérapie. 6 (2008) 22–28.

[21] W. Habbachi, S. Benhissen, M.L. Ouakid, J.-P. Farine, Effets biologiques d'extraits aqueux de Peganum harmala (l.)(Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de Drosophila melanogaster (Diptera-Drosophilidae), Alger. J. Arid Environ. 258 (2013) 1–14.

[22] M.C.Y. Heng, Curcumin targeted signaling pathways: basis for anti-photoaging and anti-carcinogenic therapy, Int. J. Dermatol. 49 (2010) 608–622.

[23] B. Sasikumar, Genetic resources of Curcuma: diversity, characterization and utilization, Plant Genet. Resour. 3 (2005) 230–251.

[24] P. Anand, S.G. Thomas, A.B. Kunnumakkara, C. Sundaram, K.B. Harikumar, B. Sung, S.T. Tharakan, K. Misra, I.K. Priyadarsini, K.N. Rajasekharan, Biological

activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature, Biochem. Pharmacol. 76 (2008) 1590–1611.

[25] R. Lavergne, R. Véra, Étude ethnobotanique des plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle à la Réunion, Agence de coopération culturelle et technique, 1989.

[26] A.L. Sajem, K. Gosai, Traditional use of medicinal plants by the Jaintia tribes in North Cachar Hills district of Assam, northeast India, J. Ethnobiol. Ethnomed. 2 (2006) 1–7.

[27] R.K. Maheshwari, A.K. Singh, J. Gaddipati, R.C. Srimal, Multiple biological activities of curcumin: a short review, Life Sci. 78 (2006) 2081–2087.

[28] H.S. Lee, Antiplatelet property of Curcuma longa L. rhizome-derived ar-turmerone, Bioresour. Technol. 97 (2006) 1372–1376.

[29] D. Shetty, Y.J. Kim, H. Shim, J.P. Snyder, Eliminating the heart from the curcumin molecule: monocarbonyl curcumin mimics (MACs), Molecules. 20 (2014) 249–292.

[30] E. Schraufstätter, H. Bernt, Antibacterial action of curcumin and related compounds, Nature. 164 (1949) 456–457.

[31] T. Kita, S. Imai, H. Sawada, H. Kumagai, H. Seto, The biosynthetic pathway of curcuminoid in turmeric (Curcuma longa) as revealed by 13C-labeled precursors, Biosci. Biotechnol. Biochem. 72 (2008) 1789–1798.

[32] J. Miłobędzka, S. v. Kostanecki, V. Lampe, Zur Kenntnis des Curcumins, Berichte Der Dtsch. Chem. Gesellschaft. 43 (1910) 2163–2170. https://doi.org/10.1002/cber.191004302168.

[33] K.S. Sreekanth, M.C. Sabu, L. Varghese, C. Manesh, G. Kuttan, R. Kuttan, Antioxidant activity of smoke shield in-vitro and in-vivo, J. Pharm. Pharmacol. 55 (2003) 847–853.

[34] M. Iqbal, S.D. Sharma, Y. Okazaki, M. Fujisawa, S. Okada, Dietary

supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddY male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity, Pharmacol. Toxicol. 92 (2003) 33–38.

[35] M. Iqbal, Y. Okazaki, S. Okada, In vitro curcumin modulates ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA) and hydrogen peroxide (H2O2)-induced peroxidation of microsomal membrane lipids and DNA damage, Teratog. Carcinog. Mutagen. 23 (2003) 151–160.

[36] B. Salh, K. Assi, V. Templeman, K. Parhar, D. Owen, A. Gomez-Munoz, K. Jacobson, Curcumin attenuates DNB-induced murine colitis, Am. J. Physiol. Liver Physiol. 285 (2003) G235–G243.

[37] J. Lutomski, B. Kedzia, W. Debska, Effect of an alcohol extract and of active ingredients from Curcuma longa on bacteria and fungi (author's transl), Planta Med. 26 (1974) 9–19.

[38] R.E.W. Hancock, The bacterial outer membrane as a drug barrier, Trends Microbiol. 5 (1997) 37–42. https://doi.org/10.1016/S0966-842X(97)81773-8.

[39] H. Nikaido, Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited, Microbiol. Mol. Biol. Rev. 67 (2003) 593–656.

[40] A.B. Hegge, E. Bruzell, S. Kristensen, H.H. Tønnesen, Photoinactivation of Staphylococcus epidermidis biofilms and suspensions by the hydrophobic photosensitizer curcumin–effect of selected nanocarrier: studies on curcumin and curcuminoides XLVII, Eur. J. Pharm. Sci. 47 (2012) 65–74.

[41] H.H. Tønnesen, H. De Vries, J. Karlsen, G.B. Van Henegouwen, Studies on curcumin and curcuminoids IX: investigation of the photobiological activity of curcumin using bacterial indicator systems, J. Pharm. Sci. 76 (1987) 371–373.

[42] T.A. Dahl, W.M. McGowan, M.A. Shand, V.S. Srinivasan, Photokilling of bacteria by the natural dye curcumin, Arch. Microbiol. 151 (1989) 183–185.

[43] T.M. Kolev, E.A. Velcheva, B.A. Stamboliyska, M. Spiteller, DFT and

experimental studies of the structure and vibrational spectra of curcumin, Int. J. Quantum Chem. 102 (2005) 1069–1079.

[44] M. Heger, R.F. van Golen, M. Broekgaarden, M.C. Michel, The molecular basis for the pharmacokinetics and pharmacodynamics of curcumin and its metabolites in relation to cancer, Pharmacol. Rev. 66 (2014) 222–307.

[45] A.T. Dinkova-Kostova, M.A. Massiah, R.E. Bozak, R.J. Hicks, P. Talalay, Potency of Michael reaction acceptors as inducers of enzymes that protect against carcinogenesis depends on their reactivity with sulfhydryl groups, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98 (2001) 3404–3409. https://doi.org/10.1073/pnas.051632198.

[46] M. Borsari, E. Ferrari, R. Grandi, M. Saladini, Curcuminoids as potential new iron-chelating agents: spectroscopic, polarographic and potentiometric study on their Fe (III) complexing ability, Inorganica Chim. Acta. 328 (2002) 61–68.

[47] H.H. Tønnesen, J. Karlsen, Studies on curcumin and curcuminoids. VI. Kinetics of curcumin degradation in aqueous solution., Zeitschrift Fur Leb. Und-Forsch. 180 (1985) 402–404.

# Chapitre II

# Partie expérimentale

### II.1 Introduction :

Ce chapitre est subdivisé en cinq parties, la première est consacrée à l'extraction de la curcumine, à partir des rhizomes du *Curcuma longa L*. par trois procédés d'extraction par macération, à l'aide de l'extracteur Soxhlet et par micro-onde. Les différents constituants ont été isolés par la chromatographie sur colonne avec une comparaison par rapport à la molécule standard « curcumine pure » sur la plaque CCM. La deuxième partie est consacrée à la synthèse des dérivés de la curcumine par une modification structurale sur la molécule de base en exploitant la réactivité de la fonction carbonyle à travers l'introduction du groupement *amino,* ce qui va conduit à la formation des bases de Schiff. La troisième partie est consacrée à l'étude théorique de la curcumine et ses dérivés par la méthode DFT. La quatrième partie est réservée à l'étude théorique par la méthode d'amarrage moléculaire de la curcumine et ses dérivés, sur une protéine qui joue un rôle très important dans l'inflammation « mPGES-1 ». La dernière partie entame les différentes techniques qu'on a utilisé dans la détermination des activités biologiques y compris l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne.

## Partie A : Extraction, isolement et caractérisation de la curcumine.

### II.A.1 Matériel végétal :

La plante *Curcuma longa L.* qui fait l'objet de la présente étude a été acheté chez un herboriste de la Wilaya de Sétif (d'origine indienne). Elle se présente sous forme de Rhizome. Pour l'extraction de la curcumine, on a suivi les étapes préliminaires suivantes :

- **Le séchage** : les rhizomes de *Curcuma longa L.* frais sont nettoyés, séchés à l'ombre où l'air peu circulé librement à une température de 16 à 20°C (en hiver) pendant 15 jours. Ils sont découpés ensuite en des petits morceaux. Afin de les broyer à l'aide d'un broyeur.
- **La pulvérisation :** Après séchage, les rhizomes ont été pulvérisé par un broyeur genre moulin à café dont l'objectif est d'obtenir une poudre fine.

### II.A.2 Extraction :

Après le séchage et l'obtention des poudres très fine, on a procédé à l'extraction de la curcumine.

- **Matériels et réactifs**

**Tableau II.A.1**: Matériels et Réactifs chimiques utilisé.

| Appareillages | Verreries | Produits | Autres |
|---|---|---|---|
| Micro-onde | Béchers | Éthanol/Méthanol | Coton |
| Balance analytique | Tubes à essai | Acétate d'éthyle | Papier filtre |
| Lampe UV | Colonne en verre | n-Hexane | Papier aluminium |
| Montage Soxhlet | Cristallisoir | Silice | |
| Evaporateur rotatif | Ballon | Plaque CCM | |
| Chauffe ballon | Pipette pasteur | Poudre curcuma | |

- **Protocoles d'extraction :**

Les méthodes d'extraction de la curcumine peuvent être classées en méthodes conventionnelles (telles que l'extraction par le montage Soxhlet et la macération avec un solvant) et des méthodes modernes (telles que l'extraction assistée par micro-ondes ou par le $CO_2$ supercritique)[1].

**A. Extraction par macération à froid :**

Cette méthode traditionnelle est couramment employée. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à une température ambiante pour une durée déterminée. Elle est basée sur la solubilité des composés bioactifs dans un solvant organique d'extraction[2,3]. L'hexane, EtOAc, acétone, MeOH et EtOH sont les solvants couramment utilisés pour extraire la curcumine[4].

Les inconvénients majeurs de l'extraction par macération sont la consommation d'une grande quantité de solvant, la longue durée d'extraction et un faible rendement. Tous ces inconvénients limitent l'utilisation de cette méthode conventionnelle et incitent les chercheurs à développer de nouvelles techniques d'extraction avancées[5].

La macération, dans notre cas, est une extraction solide-liquide qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) de Curcuma dans le solvant (Ethanol) pour extraire le principe actif (Curcumine).

- **Mode opératoire :**

Pour extraire la curcumine du curcuma par macération, nous avons opté pour le protocole décrit par (Romani et al.)[6], en y apportant quelques modifications : 40g de la poudre

(Broyat) de curcuma sont macérés dans 100 ml de l'éthanol à une température ambiante pendant 4 jours, L'extrait brut sera ensuite filtré et évaporé sur un évaporateur rotatif.

**B. Extraction par solvant assisté par micro-onde :**

L'extraction assistée par micro-ondes de produits naturels d'origine végétale a fait l'objet de nombreux travaux publiés dans des revues scientifiques. Actuellement, les techniques d'extraction par micro-ondes les plus utilisées sont incontestable tel que l'extraction assistée par micro-ondes par solvant « MAE » et sans solvant « MAP » mise à part l'hydrodistillation par microondes sous vide ou vacuum microwave hydrodistillation « VMHD » et l'entraînement à l'air. Cette extraction est une nouvelle technique caractérisée principalement par la rapidité, l'efficacité et la sélectivité. Elle implique une interaction directe entre un rayonnement électromagnétique et la matière végétale[7]. Ce procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale, broyée au préalable en présence d'un solvant absorbant fortement les microondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaire[8,9].

- **Mode opératoire :**

Dans un erlenmeyer de 250 ml, on a introduit 40g de poudre de curcuma (broyat) dans 80ml d'éthanol, puis on a placé le tous dans le four micro-onde à 133W avec une irradiation par tranches de 4 minutes avec contrôle rapide de la température, ceci jusqu'à atteindre la température d'ébullition du solvant. On répète 2 fois l'opération pour extraire le maximum de produit. Enfin, on refait les mêmes opérations que dans le cas de la macération.

**C. Extraction par le montage Soxhlet :**

L'extraction par le montage Soxhlet est une méthode développée par l'Allemand Franz von Soxhlet à la fin du 19ème siècle. L'extracteur de Soxhlet est une pièce de verrerie permettant d'effectuer une extraction solide-liquide avec une grande efficacité[10]. C'est la méthode la plus conventionnelle utilisée pour l'extraction de la curcumine où l'extraction et la filtration de produit peut être effectué dans la même étape. Différents solvants avec diverses polarités pourraient être utilisés pour extraire la curcumine telles que des solvants comme $CHCl_3$, EtOAc, MeOH, EtOH et l'acétone [11].

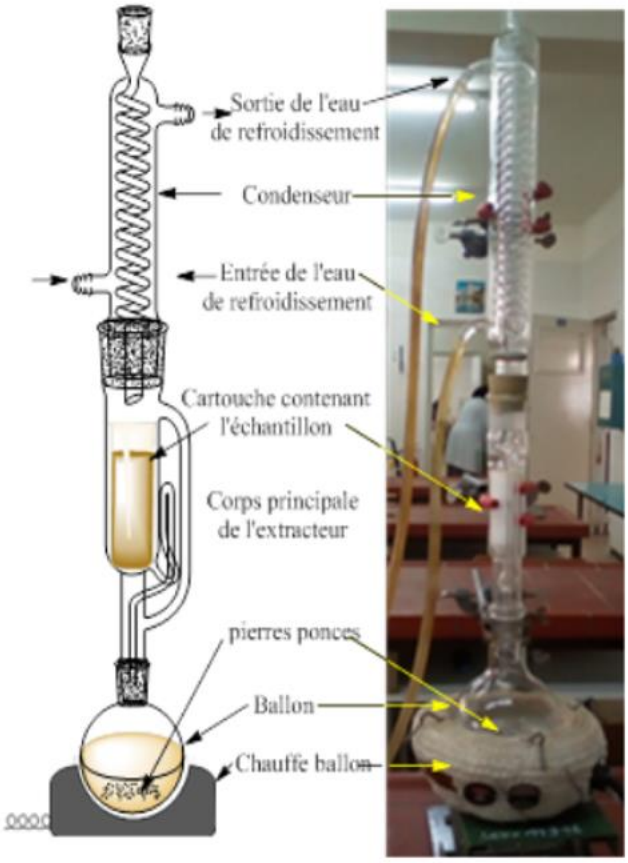



**Figure II.A.1** : Montage d'extraction utilisé [12].

L'extraction par Soxhlet présente les avantages suivants :

- L'échantillon est en contact de manière répétée avec du solvant frais (déchargé des solutés déjà extraits) ;
- L'extraction est effectuée avec du solvant chaud favorisant la dissolution des composés recherchés ;
- Aucune filtration n'est nécessaire après l'extraction [3].

Cette méthode a aussi certains inconvénients comme la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée, les échantillons étant portés à haute température pendant une période relativement longue, le risque de thermodestruction des molécules recherchées...etc.[8].

- **Mode opératoire :**

On a placé 40 g de poudre du curcuma dans une cartouche en papier-filtre épaisse (une matière pénétrable pour le solvant). Ces derniers sont placés dans le corps de l'extracteur, ensuite on a placé 250 ml d'éthanol dans le ballon. Le tout est chauffé jusqu'à ébullition. La

vapeur passe à travers l'échantillon dans l'extracteur, puis le condenseur où elle est condensée et retombée dans l'extracteur contenant la cartouche avec l'échantillon, L'échantillon placé (la poudre du curcuma) dans le filtre au sien de l'extracteur va progressivement être recouvert par le solvant d'extraction condensé. Quand le solvant atteint le niveau maximal de remplissage au niveau de la cartouche, il se déverse par un siphon vers le ballon de distillation avec les composés ciblés issus de la macération de l'échantillon dans le solvant toute cette étape est calculée en un seul cycle, nous avons donc fait deux cycles tours de suite (Figure II.A.2). Ces différentes étapes (ébullition, condensation, macération, vidange par effet siphon) se répètent de matière cyclique, tant que l'ébullition du solvant dans le billon est maintenue.

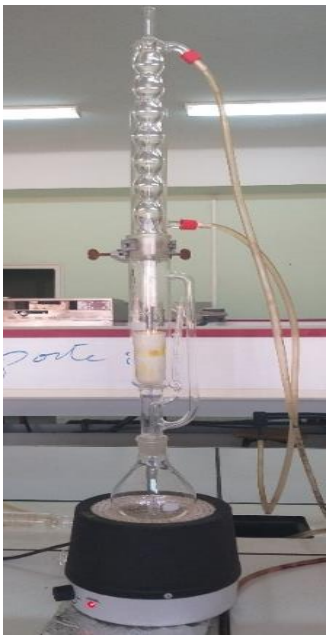


**Figure II.A.2:** Extraction par le Soxhlet.

- Calcul des rendements (extractions par macérations, micro-onde et Soxhlet) :

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait obtenu après l'extraction et la masse de la matière végétale sèche utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$Rd\ \% = [ME / MP] \times 100 \quad (1)$$

Avec :

**Rd :** Rendement d'extraction (%).

**ME :** Masse d'extrait (g).

**MP :** Masse de la poudre (g).

### II.A.3. Isolement et purification de la Curcumine :

Il existe différentes manières d'isoler la curcumine du curcuma. Plusieurs méthodes ont été utilisées pour avoir un bon rendement d'extractions utilisent des solvants tels que l'hexane, l'acétone, le dichloréthylène, le méthanol et l'éthanol [11]. Quelle que soit la technique employée, la seule manière d'obtenir une curcumine pure est de l'isoler à l'aide d'une méthode chromatographique préparative comme la colonne chromatographique sur gel de silice [13]. Le développement de la chromatographie a fortement contribué à l'avancement dans le domaine des analyses, car c'est une méthode de choix pour l'analyse des composés hautement énantio-pures, étant la seule à pouvoir détecter et quantifier les impuretés à moins de 1% [15]. Une chromatographie est une technique de séparation des composés d'un mélange, par entraînement le long d'une phase stationnaire, à l'aide d'une phase mobile [16].

#### A- Chromatographie liquide sur couche mince :

La chromatographie sur couche mince est une technique de séparation et de contrôle de la pureté d'une substance. Elle est basée sur le phénomène "adsorption solide-liquide". Dans cette méthode la phase stationnaire est une substance absorbante solide revêtue sur des plaques de verre ou d'aluminium. Entant que matériau adsorbant, tout solide et substances utilisées en chromatographie sur colonne (alumine, gel de silice, cellulose) peuvent être utilisés. La phase mobile se déplace vers le haut à travers la phase stationnaire, le solvant parcourt la mince plaque imbibée de solvant par capillarité [16].

- **Principe :**

Le principe de la chromatographie sur couche mince repose sur l'entrainement d'un échantillon dissous par une phase mobile à travers une phase stationnaire. Cette technique a été réalisée sur des plaques de gel de silice fluorescent sur aluminium prêtes à l'emploi.

- **Mode opératoire :**

- **Préparation de la plaque (phase stationnaire) :**

Sur une plaque CCM de 6x4cm, on trace délicatement la ligne de dépôt à environs un 1cm du bord inferieur de la plaque et une ligne de front à environ 1cm du bord supérieur.

- **Système d'élution (phase mobile) :**

Après plusieurs essais, le bon système de solvants utilisés et qui a donné la meilleure élution est : n-Hexane (50%) /Acétate d'éthyle (50%).

- **Préparation de l'échantillon :**

L'extrait brut sec des rhizomes de *Curcuma longa L.* de l'extractions par macérations, micro-onde et l'extracteur Soxhlet est comparé avec le standard « curcumine pure ».

- **Les conditions de plaques CCM :**

Le protocole de cette manipulation est le suivant[14] :

- Introduire le système solvant choisi dans la cuve à chromatographie,

- Fermer la cuve (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant),

- Tracer la ligne de dépôt à environ 1 cm du bord de la plaque,

- A l'aide d'une micropipette, déposer environ 0,5µl de chaque fraction, le diamètre de la tâche environ 2mm. Effectuer plusieurs dépôts au même point, en séchant rapidement après chaque dépôt.

- Placer la plaque dans la cuve à chromatographie contenant le système solvant.

- Recouvrir la cuve et suivre le développement du chromatogramme.

- Arrêter la chromatographie, lorsque le front du solvant se trouve à environ de1 cm de l'extrémité supérieur.

- Sécher le chromatogramme à l'air libre.

- **Calcul du Rapport frontal (Rf) :**

Pour chaque spot nous avons calculé le facteur de rétention :

$Rf = h/H \times 100$ *(2)*

Où :

**h**: Distance parcourue par le constituant

**H**: Distance parcourue par le front de l'éluant

- **Révélation physique :**

Elle est réalisée à l'aide d'une lampe UV à 365 nm, afin de visualiser les spots potentiellement invisibles

**B- Chromatographie sur colonne :**

La chromatographie sur colonne repose sur le même principe que la chromatographie sur couche mince : les espèces chimiques à séparer sont plus ou moins entraînées par un éluant sur une phase fixe :

1. La phase fixe est un solide, le plus souvent de la silice remplissant une colonne.

2. L'échantillon est déposé en haut de la colonne. La séparation des espèces chimiques est obtenue par l'écoulement continu d'une phase mobile (l'éluant) à travers la colonne (Figure II.A.3), Les échantillons sont accumulés au bas de dispositif d'une manière dépendante du volume [14].

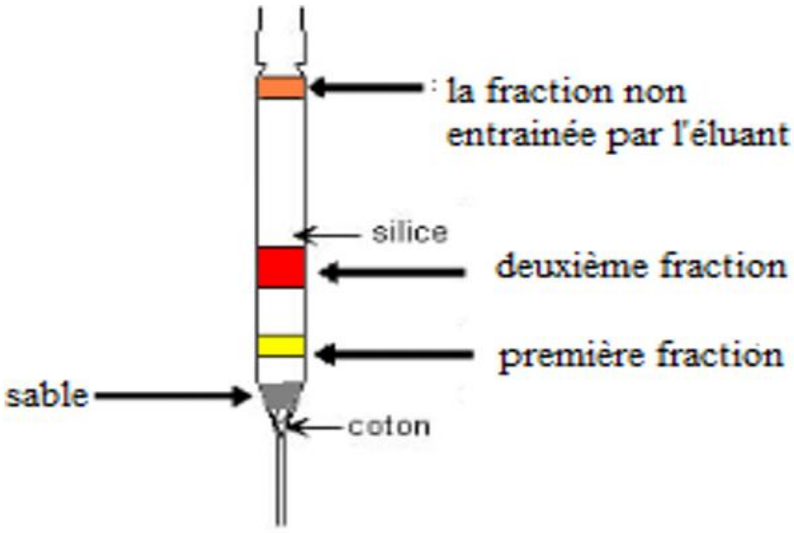



**Figure II.A.3 :** Une colonne de chromatographie liquide.

- **Mode opératoire :**

- **Préparation de la colonne (phase stationnaire) :**

Pour réaliser une colonne il faut respecter certaines règles qui permettront une séparation efficace.

Premièrement, on a placé le coton au fond de la colonne que l'on recouvre d'éluant, pour que la phase stationnaire ne puisse pas s'échapper de la colonne. Ensuite, on a remplit la colonne avec la phase stationnaire en réalisant une suspension de silice. Le gel ainsi formé est introduit dans la colonne à l'aide d'un entonnoir. On rince avec l'éluant et on le laisse s'écouler. Une fois que la colonne est remplie, on place un peu de coton. Cette couche permet de réaliser des dépôts et d'ajouter de l'éluant sans perturber la surface de silice, ce qui empêcherait une migration uniforme.

- **Système solvant (phase mobile) :**

La phase mobile est constituée par un mélange de solvants organiques généralement de faible, moyenne et forte polarité dans des proportions adéquates que nous déterminons empiriquement. Pour cela, le système solvant retenus été un gradient hexane (50%) /acétate d'éthyle (50%).

- **Préparation de l'échantillon :**

L'échantillon est l'extrait brut sec des rhizomes de *Curcuma longa L* obtenu précédemment par extraction par micro-onde, avec 2ml d'éthanol.

**Figure II.A.4 :** Préparation de la colonne.

- **Injections de l'échantillon :**

Après avoir dissoudre l'échantillon (extra de curcuma) dans éthanol par pipete pasteure nous l'injectons doucement sur les parois de la colonne.

- **Elution :**

On s'assure régulièrement que la phase stationnaire n'a pas subi de phénomène de desséchement, en vérifiant qu'il reste toujours de l'éluant au-dessus du niveau du coton.

L'éluant utiliser ici est un gradient Hexane/Acétate d'éthyle, le système permet l'élution de plusieurs fractions notées : 1, 2, 3, 4, 5 jusqu'à 14. Le suivie de la séparation par CC se fait par chromatographie sur couche mince CCM.

## II.A.4. Caractérisations physico-chimiques :

### A- Test Solubilité de la Curcumine :

La solubilité est une caractéristique qualitative utilisée pour décrire le comportement d'une espèce chimique vis à vis d'un solvant. Elle désigne la capacité d'une espèce chimique à se dissoudre ou non dans un solvant. Quantitativement, la solubilité est une grandeur correspondant à la masse maximale de soluté pouvant être dissout dans un volume de solution[15].

Dans notre cas, on s'intéresse à la détermination qualitative de la solubilité. Pour cela, on prépare une série de tubes à essai, dont chaque tube contient une masse de curcumine et un solvant. Ce test est effectué dans l'eau, l'éthanol, acétone, acétate d'éthyle, l'hexane, DMSO. Les tests sont faits en même temps et dans les mêmes conditions.

### B- Caractérisation structurale par UV :

La spectroscopie UV/Vis est une méthode très puissante et largement répandue en chimie. En effet elle ne requiert aucune préparation complexe des échantillons, elle est facile à réaliser et les résultats sont obtenus rapidement. Elle est utilisée aussi bien pour l'analyse qualitative que quantitative. A une longueur d'onde spécifique pour une substance donnée, le rapport entre l'absorbance A, le nombre de molécules (la concentration) C, le trajet optique l exprimé en cm est exprimé par la loi de BEER-LAMBERT :

$$\mathbf{A=\log I_0/I=\varepsilon.c.l \quad (3)}$$

Avec, ε: Coefficient d'extinction molaire.

Le dispositif utilisé dans notre cas, est un spectrophotomètre de type SHIMADZUUV-1700. Les molécules synthétisées ont été solubilisées dans l'éthanol, dans lequel on a préparé une concentration de$10^{-4}$M.

**Figure II.A.5 :** Le spectrophotomètre UV-vis utilisé.

### C- Caractérisation par la spectroscopie IR :

La spectroscopie infrarouge est une technique basée sur les vibrations des atomes dans une molécule. Un spectre infrarouge est généralement obtenu en faisant passer un rayonnement infrarouge dans un échantillon et en déterminant quelle fraction du rayonnement incident est absorbée à une énergie particulière. L'énergie à laquelle tout pic du spectre d'absorption apparaît correspond à la fréquence de vibration d'une partie de la molécule échantillon [20].

L'appareillage utilisé dans notre étude, est un spectroscope infrarouge de type JASCO FT-IR 4200s. Les mesures sont réalisées dans une gamme de nombre d'ondes de 4000 à 400 $cm^{-1}$.

**Figure II.A.6 :** Le spectrophotomètre FTIR utilisé.

## Partie B : Synthèse et caractérisation des dérivés de la curcumine

### II.B.1 Objectif stratégique

Nous avons utilisé une méthode de synthèse organique conventionnelle et d'autre méthode respectueuse de l'environnement par l'utilisation de micro-onde. Notre but est de minimiser le maximum de volume des solvants organiques ainsi que le temps de la réaction de notre synthèse.

### II.B.2 Produits chimiques/Instrumentations

Tous les produits chimiques et solvants utilisés dans la préparation des bases de Schiff étaient de qualité analytique et ont été utilisés sans purification supplémentaire.

- *Solvants*

Sont des produits commerciaux utilisés sans purification préalable : L'eau bi-distillée.

Le DMSO, L'acétate d'éthyle (AcOEt, Téb = 77°C), le dichlorométhane (DCM, Téb = 40°C),

l'étherdiéthylique (Téb = 35°C), l'éthanol (EtOH, Téb = 78°C), Le n-hexane (95%, Fisher Scientific), le méthanol (MeOH, 99,8%, Sigma-Aldrich).

**II.B.3 Synthèse des Bases de Schiff :**

**II.B.3.1 Synthèse de la Base de Schiff Cur-Ala :**

**II.B.3.1.1 Protocole du Synthèse conventionnelle de la base de Schiff Cur-Ala :**

La curcumine (0,01 mol) a été dissoute dans un volume de 20 ml d'éthanol absolu et bien agité à température ambiante. Ensuite, une solution éthanolique de l'acide aminé L-alanine (0,01 mol) dont le rapport 1:1 M a été ajoutée à la solution préparée. Le mélange obtenu de couleur orange a été agité et porté à reflux à 75 C° pendant environ quatre heures. Sur Entre-temps, la CCM a été vérifiée pour confirmer la complétion de la réaction. Après la fin de la réaction, le mélange réactionnel a été conservé pendant une nuitée pour obtenir le produit solide. Le précipité fin orange résultant a été filtré et bien lavé avec de l'éthanol distillé, à plusieurs reprises, pour éliminer les produits chimiques n'ayant pas réagi. Le produit obtenu a ensuite été séché à température ambiante. Le Schéma réactionnel de cette réaction est représenté dans le Schéma 6.

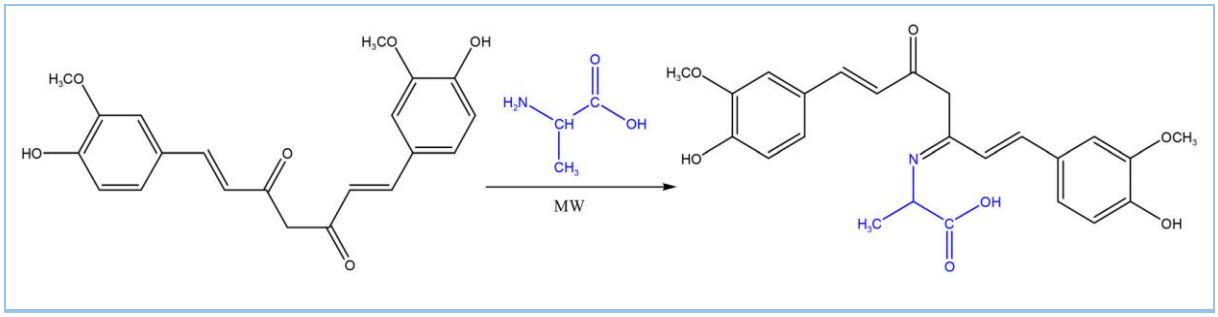



**Schéma 6 :** Séquence réactionnelle de synthèse de la base de Schiff (Cur-Ala).

**II.B.3.1.2 Protocole du Synthèse assistée par micro-ondes de la base de Schiff Cur-Ala**

Les quantités requises (0,001 mol) des réactifs ci-dessus (Curcumine et *L*-alanine), dans 2 ml d'éthanol absolu ; sont soumises à une irradiation par micro-ondes pendant 5-10 minute au niveau de puissance 1 (100 watts). Entre-temps, la CCM a été vérifiée pour confirmer l'accomplissement de la réaction. Après l'achèvement de la réaction, le mélange réactionnel a été conservé pendant une nuitée pour obtenir le produit solide. Le produit a été filtré, séché et recristallisé à partir d'éthanol. Le Schéma réactionnel de cette réaction est représenté par le Schéma 6.

### II.B.3.2 Synthèse de la Base de Schiff Cur-Leu :

#### II.B.3.2.1 Protocole du Synthèse conventionnelle de la base de Schiff Cur-Leu :

La curcumine (0,01 mol) a été dissoute dans un volume de 20 ml d'éthanol absolu et bien agité à température ambiante. Ensuite, une solution éthanolique de l'acide aminé L-leucine (0,01 mol) dont le rapport 1:1 M a été ajoutée à la solution préparée. Le mélange obtenu de couleur orange a été agité et porté à reflux à 75 C° pendant environ quatre heures. Sur Entre-temps, la CCM a été vérifiée pour confirmer la complétion de la réaction. Après la fin de la réaction, le mélange réactionnel a été conservé pendant une nuitée pour obtenir le produit solide. Le précipité fin orange résultant a été filtré et bien lavé avec de l'éthanol distillé, à plusieurs reprises, pour éliminer les produits chimiques n'ayant pas réagi. Le produit obtenu a ensuite été séché à température ambiante. Le Schéma réactionnel de cette réaction est représenté par le Schéma 7.

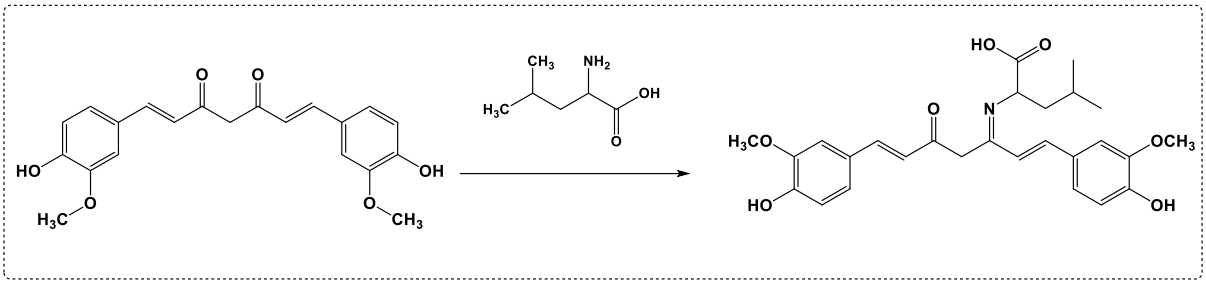



**Schéma 7 :** Séquence réactionnelle de synthèse de la base de Schiff (Cur-Leu).

#### II.B.3.2.2 Protocole du Synthèse assistée par micro-ondes de la base de Schiff Cur-Leu

Les quantités requises (0,001 mol) des réactifs ci-dessus (Curcumine et L-leucine), dans 2 ml d'éthanol absolu ; sont soumises à une irradiation par micro-ondes pendant 5-10 min au niveau de puissance 1 (100 watts). Entre-temps, la CCM a été vérifiée pour confirmer l'accomplissement de la réaction. Après l'achèvement de la réaction, le mélange réactionnel a été conservé pendant une nuitée pour obtenir le produit solide. Le produit a été filtré, séché et recristallisé à partir d'éthanol. Le Schéma réactionnel de cette réaction est représenté par le Schéma 7.

## II.B.4 Méthodes d'analyse

### II.B.4.1 Chromatographie

Les chromatographies analytiques (CCM) ont été effectuées sur des plaques Merck en aluminium recouvertes de gel de silice 60 F 254 (épaisseur 0,2 mm) et révélées par une lampe UV réglée sur 254 nm.

### II.A.4.2 Point de fusion

Les points de fusion des produits préparés ainsi que les produits de départ sont déterminés à l'aide d'un fusiomètre Stuart Scientifique.

### II.A.4.3 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la région 4000-500 cm-1 avec un spectromètre type JASCO FT/IR-4200 en mode réflexion totale atténuée (ATR). Les transmissions reportées sont exprimées en nombre d'onde ($cm^{-1}$).

### II.A.4.4 Spectrophotométrie ultraviolet-visible (UV-vis)

Les spectres UV-vis ont été enregistrés dans la région 400-1200 nm avec un appareil JASCO V–650. Les cellules sont en deux, avec un trajet optique de 1 cm.

### II.A.4.5 Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton $^{1}H$ (200 MHz) et du carbone $^{13}C$ (50,3 MHz ou 100,62 MHz) ont été enregistrés sur des appareils Bruker Avance 300, en utilisant le tétraméthylsilane (TMS) et l'acide phosphorique comme références internes pour les RMN $^{1}H$, $^{13}C$ et $^{31}P$, respectivement. Les déplacements chimiques (δ) sont indiqués en partie par million (ppm). Les multiplicités sont désignées par singulet (s), doublet (d), triplet (t), quadruplet (q) et multiplet (m).

### II.A.4.6 L'analyse élémentaire

Les pourcentages de carbone, d'hydrogène et de l'azote ont été déterminés en utilisant l'analyseur Perkin Elmer 2400 CHN. Les prises d'essai sont à l'échelle micro-analytique (1 à 3 μg).

# *Partie C : Etude théorique de la curcumine et de ces dérivés par la méthode DFT*

## II.C.1 Introduction

La modélisation moléculaire est basée sur le développement de méthodologies théoriques et computationnelles, pour modéliser et examiner le comportement des molécules, des petits systèmes chimiques aux grandes molécules biologiques et aux assemblages de matériaux. Les domaines d'application de la modélisation moléculaire concernent la chimie computationnelle, la conception de médicaments, la biologie computationnelle et la science des matériaux. La technique informatique de base pour réaliser la modélisation moléculaire est la simulation. Les techniques de simulation moléculaire nécessitent des exigences supplémentaires spécifiques en matière de calcul et de logiciel. Dans cette partie, la modélisation moléculaire a été faite pour déterminer certaines propriétés moléculaires importantes comme l'optimisation géométrique et les paramètres de réactivité moléculaire, les propriétés électroniques et les propriétés physico-chimiques.

## II.C.2 Théorie de la fonctionnelle de la densité “DFT”

La théorie de la fonction de densité (DFT) est actuellement l'une des méthodes les plus utilisées pour les calculs quantiques en raison de sa capacité à déterminer les propriétés structurelles, thermodynamiques et électroniques des molécules[16].La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) est une théorie développée pour le calcul des systèmes à corps multiples, notamment formés par un grand nombre d'atomes et de molécules. C'est une théorie importante dans le domaine de la physique moléculaire car elle permet de calculer les interactions électroniques, atomiques et moléculaires [17].Les racines de cette théorie se trouvent dans un modèle élaboré par Llewellyn Thomas et Enrico Fermi à la fin des années 1920 [18]. Toutefois, ce n'est qu'au milieu des années 1960 que les travaux de Pierre Hohenberg, Walter Kohn et Lu Sham ont permis d'établir le schéma théorique sur lequel repose la méthode actuellement utilisée [19].

Les méthodes traditionnelles des théories de la structure électronique de la matière, en particulier la théorie de Hartree-Fock et les dérivés de ce formalisme [20], sont basées sur une fonction d'onde multi-électronique. Bien que cette résolution de l'équation de Schrödinger permette de décrire avec précision le comportement de très petits systèmes, sa capacité de prédiction est limitée par le fait que les équations de Schrödinger sont trop complexes pour être résolues numériquement, et encore moins analytiquement[17,21]. La théorie de la fonction de

densité (DFT) reformule le problème afin d'obtenir, par exemple, la distribution de l'énergie et des électrons de l'état fondamental, en travaillant avec la fonctionnelle de densité électronique au lieu de la fonction d'onde. Un avantage est que la densité est une quantité beaucoup plus simple que la fonction d'onde et donc plus facile à calculer. En pratique, des systèmes beaucoup plus complexes sont accessibles : la fonction d'onde d'un système de N électrons dépend de 3N variables, alors que la densité électronique ne dépend que de trois variables [22].

La DFT appliquée aux systèmes électroniques est une procédure variationnelle alternative à la solution de l'équation de Schrödinger, où la fonctionnelle de l'énergie électronique est minimisée par rapport à la densité électronique. C'est l'une des méthodes les plus utilisées dans les calculs quantiques de la structure électronique de la matière, tant en physique de la matière condensée qu'en chimie quantique [23]. Le principal avantage de la DFT est que ses équations sont beaucoup plus simples à résoudre que les équations à plusieurs corps de la mécanique quantique ou d'autres approximations, ce qui permet de travailler avec des systèmes plus grands et de calculer davantage de leurs propriétés. Avec cette théorie, il est possible de réaliser des simulations avec quelques milliers d'atomes.

Dans ce travail, nous avons réalisé une étude théorique sur la curcumine et les produits synthétisés. L'objectif de notre travail est de calculer les caractéristiques structurelles et électroniques par la méthode de calcul DFT avec la base standard 6-31G++ (d, p) et la fonctionnelle B3LYP[24], nous avons abordé les propriétés structurelles (longueur des liaisons, angles formés entre les atomes), les propriétés vibrationnelles, la thermodynamique, les propriétés électroniques à partir du théorème de Koopmans ainsi que les propriétés moléculaires telles que l'écart énergétique, les orbitales HOMO-LUMO, les charges atomiques de Mulliken, le potentiel électrostatique moléculaire (MESP), le moment dipolaire, l'affinité électronique, le potentiel d'ionisation, le potentiel chimique, l'électronégativité (v), la dureté absolue, la douceur globale (S), la nucléophilie et la réactivité chimique de ces molécules. Les paramètres géométriques optimisés, les fréquences vibratoires fondamentales, les constantes de rotation, les intensités des bandes IR, les charges atomiques et d'autres paramètres thermodynamiques ont été déterminés à l'aide du logiciel Gaussian 09[25] et visualisés par le programme GAUSSVIEW [26].

# *Partie D : Etude théorique de la curcumine et de ses dérivés par Docking moléculaire*

## II.d.1 Introduction

La conception de médicaments fait appel à des techniques de modélisation sur ordinateur, également appelées "in silico". Les méthodes in silico telles que le Docking moléculaire et les relations quantitatives structure-activité (QSAR) peuvent diminuer les échecs coûteux des candidats médicaments en identifiant les composés prometteurs et en diminuant ainsi le nombre d'expériences coûteuses. Ces méthodes comptent parmi les principaux moyens de découverte de médicaments. L'utilisation de la méthode de Docking moléculaire dans le processus de la conception de médicaments a commencé il y a plus de 30 ans [27]. Le but était de prédire la capacité d'une molécule à se lier ou non au site actif d'une protéine en se basant sur la prédiction de la conformation et de l'orientation de la molécule lors de sa liaison au récepteur [28].

## II.d.2 Méthodes

L'étude de la liaison entre la curcumine et les produits synthétisés vis à vis la prostaglandine E synthase-1 microsomale (mPGES-1) a été réalisée par Docking moléculaire en utilisant Molegro Virtual Docker 2.2.3.443. Les structures des molécules ont été optimisées à l'aide du logiciel gaussian09 puis ont été importées dans l'espace de travail sous forme de SDF (*.sdf). Les structures chimiques 2D de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu sont présentées précédemment. La structure de la prostaglandine E synthase-1 microsomale a été obtenue à partir de la banque de données des protéines (PDB ID : 5BQH) avec une résolution de 1,60 Å. La structure de la protéine importée a été traitée et affinée avec le module Protein Preparation. Le ligand complexé 4UK a été placé au centre de l'espace de recherche pour définir le site de liaison. Le protocole de Docking a été validé en retirant le ligand du site de liaison puis en le re-dockant dans le site actif de la mPGES-1 [29]. Ensuite, les molécules étudiées (curcumine et les produits synthétisés) ont été dockées dans le site actif de la mPGES-1, dont dix cycles indépendants ont été réalisés avec l'algorithme d'évolution différentielle guidée. Pour la comparaison, le 4UK a été considéré comme une molécule de référence. Les meilleures poses d'amarrage ont été inspectées visuellement afin de sélectionner les meilleures poses possibles. Après l'amarrage, une minimisation post-amarrage a été effectuée pour les poses présentant le meilleur score. Le score Moldock a été utilisé pour classer les ligands en fonction de l'énergie de liaison, la valeur la plus négative correspondant à la conformation la plus stable[30].

# *Partie E : Evaluation des activités biologiques de la curcumine et de ces dérivés*

Cette partie décrit les réactifs, matériels et les méthodes expérimentales employées dans les essais in vitro pour évaluer les activités biologiques de la curcumine et les bases de Schiff synthétisés.

## II.E.1 *Evaluation de l'activité antioxydante*

### II.E.1.1 Matériels et réactifs

#### II.E.1.1.1 Instrument utilisé :

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 250 µl pour chaque puits (EnSpire MultimodePlate Reader perkin, USA).

#### II.E.1.1.2 Réactifs

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, nous avons utilisé les réactifs, regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau II.E.1** : Structures chimiques et propriétés physiques des réactifs utilisés dans le but de réaliser l'activité antioxydante

| ***Test*** | ***Réactifs*** | ***Formule*** | ***M(g/mol)*** |
|---|---|---|---|
| ***DPPH*** | 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl **(DPPH)** | $C_{18}H_{12}N_5O_6$ | 394.32 |
| ***ABTS*** | Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) | $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$ | 514.62 |
| | Persulfate de potassium | $K_2S_2O_8$ | 270.32 |
| ***CUPRAC*** | Acetate d'ammonium | $C_2H_7NO_2$ | 77.08 |
| | Chlorure de cuivre (II) | $CuCl_2$, $2H_2O$ | 170.48 |
| | Neocupronin 208.26 | $C_{14}H_{12}N_2$ | 208.26 |
| ***Phenanthroline*** | Benzo[b][1,10]phenanthroline | $C_{16}H_{10}N_2O$ | 246.26 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | -7-ol **(Phenanthroline)** | | |
| | Chlorure de fer | $FeCl_3$ | 162.2 |
| ***Standards*** | Hydroxytoluène butylé (**BHT)** | $C_{15}H_{24}O$ | 220.35 |
| | Butylatedhydroxyanisole **(BHA)** | $C_{15}H_{24}O_2$ | 254.46 |

### II.E.1.2 Pouvoir de piégeage du radical DPPH

La méthode DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) est fréquemment utilisée pour mesurer l'activité antioxydante d'un extrait de plante ou d'un produit synthétique. Le principe est de mesurer la capacité d'inhibition du radical stable DPPH• (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Figure II.E.1) selon la méthode de *Blois* [31].

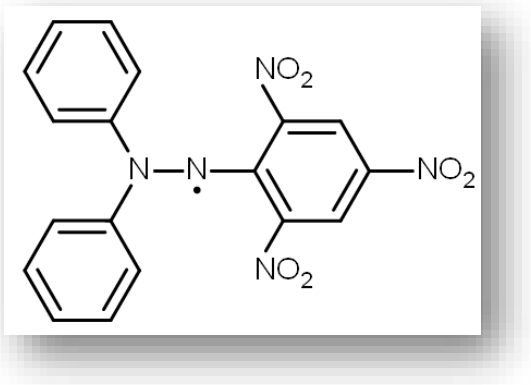



**Figure II.E.1 :** Le Radical DPPH•

Le DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyle) est un radical stable qui présente une couleur violette en solution (maximum d'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm) et devient jaune lorsqu'il est piégé ou bien capté par un antioxydant. De plus, sa transformation en forme non-radicalaire, après la saturation de ses couches électroniques, entraîne la disparition de sa coloration violette [32,33].

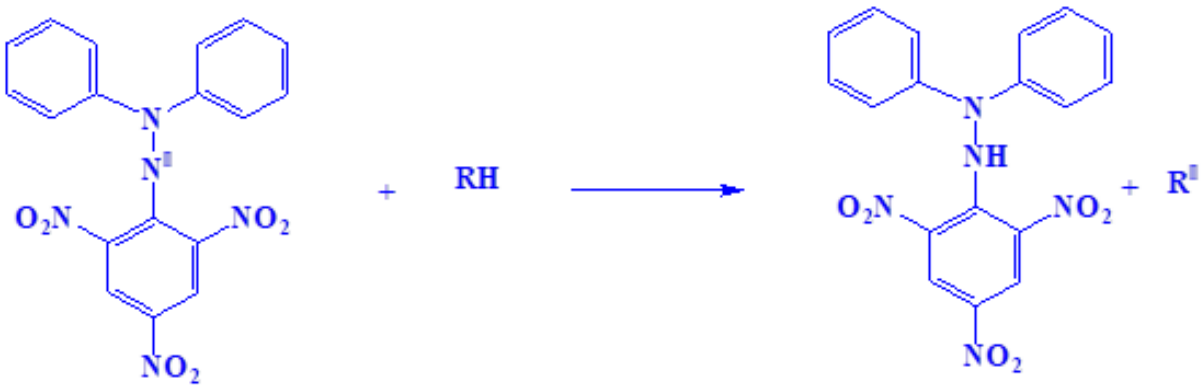



**Figure II.E.2 :** Réduction du radical DPPH• par R-H, où (RH) est un composé capable de libérer un H au radical DPPH

Une quantité de 6 mg de DPPH a été dissoute dans un volume de 100 ml de méthanol et gardée à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance doit être environ 0.7 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre. 160 µL de la solution de radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a été ajouté à 40 µL d'échantillon dans chaque puits de microplaque avec trois répétitions pour chaque dilution. Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standards antioxydants, alors que le méthanol est utilisé comme un contrôle négatif. L'absorbance a été effectuée à 517 nm après 30 min d'incubation à température ambiante. Les résultats sont exprimés sous forme d'un pourcentage d'inhibition selon la formule (1) :

$$I\,\% = ((Ab - As) \div Ab) \times 100 \qquad (1)$$

Où Ab et As sont respectivement l'absorbance du contrôle négatif et de l'échantillon.

### II.E.1.3. Test de piégeage des radicaux ABTS

L'ABTS est un radical libre stable, fréquemment utilisé pour mesurer le pouvoir antioxydant des fluides biologiques, des huiles essentielles, des extraits ou des composés synthétiques [34,35].

Le radical ABTS préformé est obtenu par l'oxydation de la molécule ABTS stable par le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) [36], ce qui entraîne l'apparition d'une coloration bleu-vert intense.

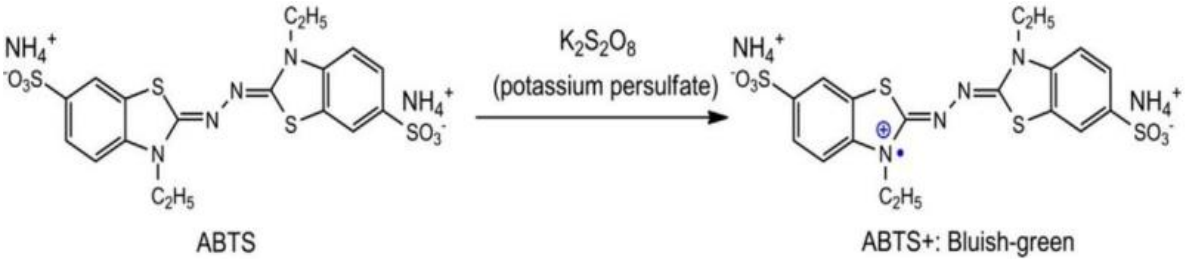



**Schéma 8** : Génération d'ABTS $^{\cdot +}$ par l'oxydation d'ABTS avec K2S2O8

En cas de présence d'un donneur d'hydrogène (antioxydant), le passage du radical ABTS à la forme non radicalaire est accompagné par la disparition de cette coloration mesurée à une longueur d'onde de 734 nm.

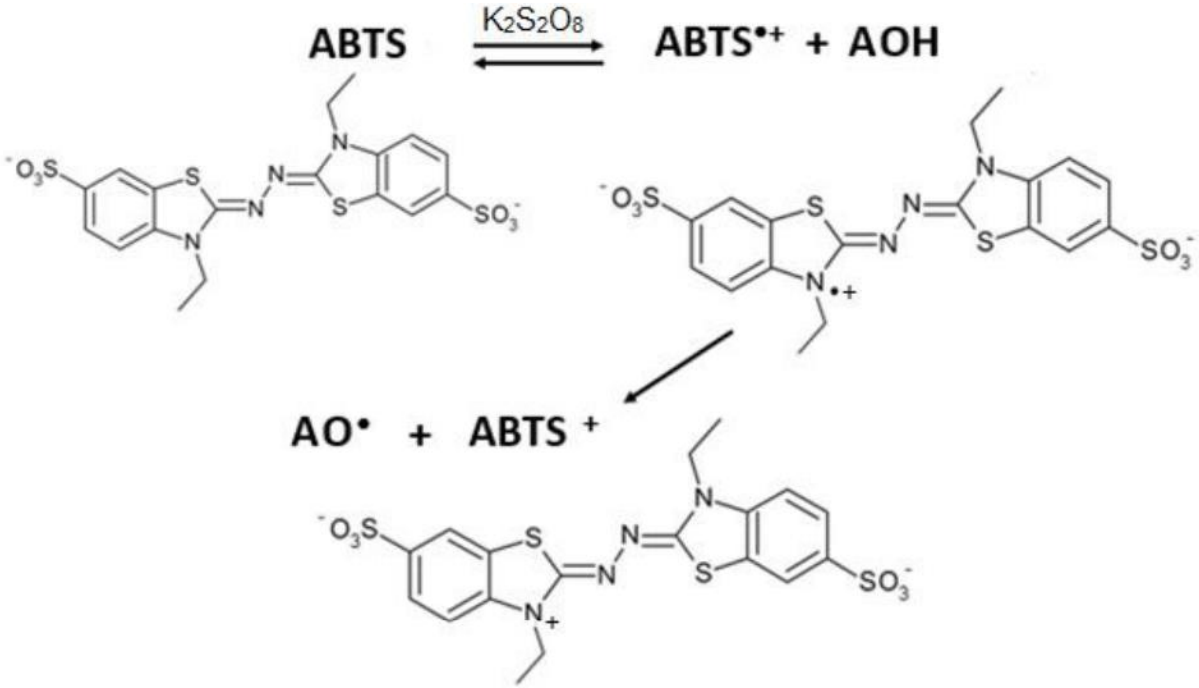



**Schéma 9 :** Production de l'ABTS$^{\bullet+}$ par échange d'électron en présence de persulfate de potassium et réduction du radical formé par la molécule antioxydante en donnant un H•.

L'analyse spectrophotométrique de l'ABTS a été effectuée selon la méthode de Re et al [36]. La solution d'ABTS$^{\bullet+}$ a été préparée par le mélange de 7 mM d'ABTS avec 2,45 mM de persulfate de potassium en utilisant l'eau comme solvant. Le mélange a été laissé dans l'obscurité à température ambiante pendant 12 heures avant d'être utilisé. La solution d'ABTS$^{\bullet+}$ a été diluée dans de l'éthanol ou de l'eau pour obtenir une absorbance de 0,708 ± 0,025 à 734 nm. 40 ml de solution d'échantillon dans de l'éthanol à différentes concentrations ont été ajoutés à 160 ml de solution d'ABTS$^{\bullet+}$. Le mélange a été laissé à température ambiante pendant 10 minutes, puis l'absorbance a été mesurée à 734 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96

puits. Les expériences ont été réalisées en trois exemplaires. Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standards antioxydants pour la comparaison de l'activité. Le pourcentage d'inhibition de tous les échantillons a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$I\,\% = ((Ab - As) \div Ab) \times 100 \qquad (2)$$

Où Ab et As sont respectivement l'absorbance du contrôle négatif et de l'échantillon.

Les résultats ont été exprimés en IC50 (µM) correspondant à la concentration de 50 % d'inhibition.

### II.E.1.4. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

Le test CUPRAC est basé sur les changements des caractéristiques d'absorption du Complexe néocuproïne (Nc) cuivre (II), le neocuproine (2,9-dimethyl-1 ,10- phenanthroline) est un produit organique hétérocyclique chélatant. Ce complexe est réduit par les antioxydants (Figure II.E.3), lorsque celui-ci est réduit le potentiel de réduction de l'échantillon ou de l'étalon convertit efficacement $Cu^{+2}$ en $Cu^{+1}$, modifiant ainsi l'absorbance maximum (Schéma 10). L'absorption maximal du complexe de cuivre réduit est à 450 nm.

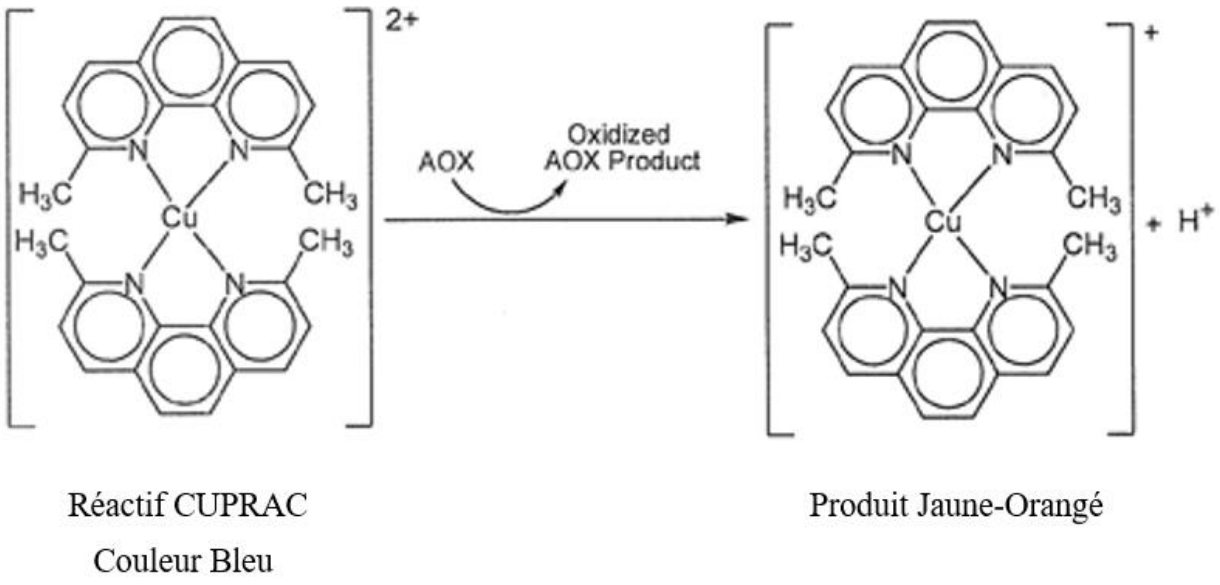



**Schéma 10 :** Réaction de CUPRAC par une substance antioxydante.

La capacité antioxydante réductrice du cuivre a été effectuée selon la méthode d'Apak et al [37]. Sur une microplaque de 96 puits, En dépose 40 µL d'échantillon, puis en ajoute successivement 60 µL de tampon d'acétate d'ammonium (1mol.$L^{-1}$, pH 7,0), 50 µL de solution néocuproïne (7,5 mmol.$L^{-1}$) et 50 µL de la solution $CuCl_2$, $2H_2O$ 10 mmol.$L^{-1}$ dans chaque puits de microplaque avec trois répétitions pour chaque dilution. Le BHA et le BHT ont été utilisés

comme standards antioxydants, alors que le méthanol est utilisé comme un contrôle négatif. Après 1 heure d'incubation à température ambiante, une lecture à 450 nm de l'absorbance a été enregistrée par rapport à un réactif blanc. Les résultats sont donnés sous forme de valeurs d'absorbances, comme l'A 0,5 qui représente la concentration produisant 0,500 d'absorbance.

### II.E.1.5 : L'activité de la Phénanthroline

L'activité de la phénanthroline c'est une méthode colorimétrique. Cette analyse est basée sur la réduction de $Fe^{+3}$ ($FeCl_3$) en $Fe^{+2}$ en présence d'un agent antioxydant donneur d'électrons, le fer ferreux $Fe^{+2}$ résultant de cette réaction forme avec la 1,10-phénanthroline un complexe très stable coloré en rouge-orangé intense appelé ferroine, l'augmentation de l'absorbance de ferroine est mesurée à λmax = 510 nm [38].

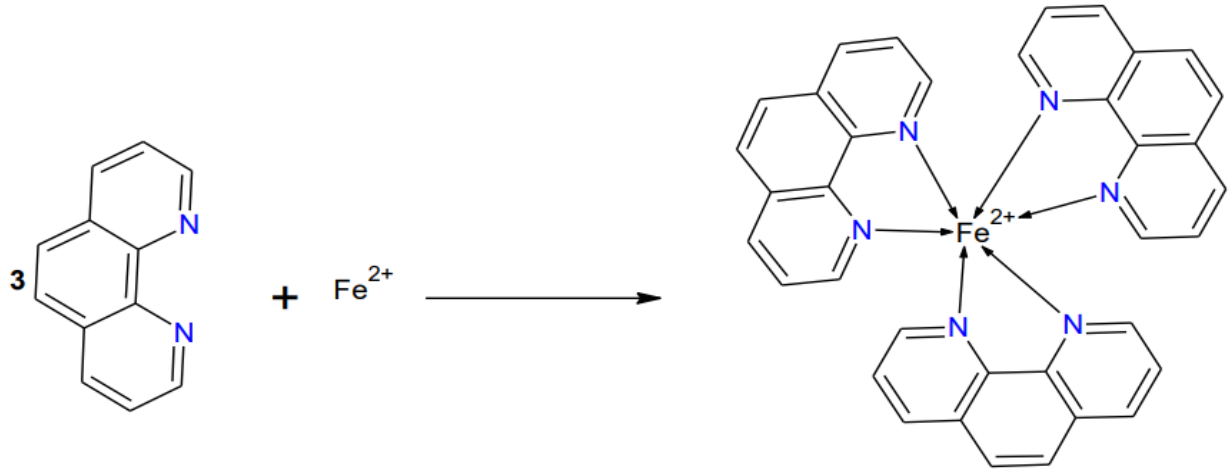



**Schéma 11 :** Réaction de la 1,10 phénanthroline avec le fer ferrique ($Fe^{3+}$) après son oxydation enfer ferreux ($Fe^{2+}$) par un agent antioxydant[39]

La capacité antioxydante du test O-phénanthroline a été effectuée selon la méthode Szydlowska-Czerniaka [38]. Sur une microplaque de 96 puits, en dépose10 µl d'échantillon, rajoutant successivement 50 µl de solution $FeCl_3$ (0.2%), 30 µl de la solution Phénanthroline (0.5%), 110µl MeOH dans chaque puits de microplaque avec trois répétitions pour chaque dilution. Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standards antioxydants, alors que le méthanol est utilisé comme un contrôle négatif. L'incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C.la lecture de l'absorbance est à 510 nm. Les résultats sont donnés sous forme de valeurs d'absorbances.

### II.E.2 *Evaluation de l'activité antibactérienne :*

La Cur ainsi que Les bases de Schiff synthétisées ont été soumises à un dépistage antimicrobien par la méthode de diffusion en puits. L'effet antimicrobien in vitro des composés étudiés a été testé contre diverses espèces bactériennes comme B. subtilis, S. aureus, E. coli, K. pneumoniae et P. aeruginosa et des espèces fongiques comme C. albicans et A. niger en fonction de leur importance clinique et pharmacologique. Les solutions d'essai ont été préparées en dissolvant les composés dans du DMSO à des concentrations de 50 et 100 µg/ml. Des plaques de Mueller-Hinton Agar (MHA) ont été préparées et les souches à tester ont été étalées sur une plaque de MHA agar solide à l'aide d'un écouvillon stérile. Ensuite, 20 ml d'échantillons ont été déposés dans le puits. Le test à blanc a montré que le DMSO présent dans les préparations des solutions d'essai n'affecte pas les organismes d'essai. Les boîtes de Pétri ont été laissées à incuber à 37 C pendant 24 h. La zone d'inhibition autour du puits a été mesurée bord à bord de la zone de croissance confluente, qui correspond généralement au bord le plus net de la zone et dont le diamètre est mesuré en millimètres. L'amoxicilline a été utilisée comme standard pour l'activité antibactérienne et la nystatine pour l'activité antifongique.

**Références bibliographiques :**

[1] P. Waghmare, D. Patingrao, Extraction, isolation, purification and identification of curcumin: a review article, Eur. J. Biomed. Pharm. Sci. 2 (2015) 108–123.

[2] G. Spigno, L. Tramelli, D.M. De Faveri, Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics, J. Food Eng. 81 (2007) 200–208. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021.

[3] I. Budić-Leto, T. Lovrić, I. Pezo, J.G. Kljusurić, Study of dynamics of polyphenol extraction during traditional and advanced maceration processes of the babic grape variety, Food Technol. Biotechnol. 43 (2005) 47–53.

[4] D.K. Yadav, K. Sharma, A. Dutta, A. Kundu, A. Awasthi, A. Goon, K. Banerjee, S. Saha, Purity evaluation of curcuminoids in the turmeric extract obtained by accelerated solvent extraction, J. AOAC Int. 100 (2017) 586–591.

[5] G.H. Shin, J. Li, J.H. Cho, J.T. Kim, H.J. Park, Enhancement of curcumin solubility by phase change from crystalline to amorphous in Cur-TPGS nanosuspension, J. Food Sci. 81 (2016) N494–N501.

[6] A. Romani, P. Pinelli, C. Cantini, A. Cimato, D. Heimler, Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (Cynara scolymus L.), Food Chem. 95 (2006) 221–225.

[7] A. Alupului, I. Calinescu, V. Lavric, Ultrasonic vs. microwave extraction intensification of active principles from medicinal plants, in: AIDIC Conf. Ser., ERIS CTSrl Milano, Italy, 2009.

[8] Y. Li, A.S. Fabiano-Tixier, M. Abert-Vian, F. Chemat, Microwave-assisted extraction of antioxidants and food colors, Food Eng. Ser. (2013) 103–125. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4830-3_5.

[9] A. Proctor, Alternatives to Conventional Food Processing 2nd Edition, Royal Society of Chemistry, 2018.

[10] M.D.L. De Castro, F. Priego-Capote, Soxhlet extraction: Past and present panacea, J. Chromatogr. A. 1217 (2010) 2383–2389.

[11] S. Revathy, S. Elumalai, M. Benny, B. Antony, Isolation , Purification and Identification of Curcuminoids from Turmeric ( Curcuma longa L .) by Column Chromatography, J.

Exp. Sci. 2 (2011) 21–25. jexpsciences.com/article/download/7767/3965..

[12] F. Piozzi, G. Savona, B. Rodriguez, O. Servettaz, Galangustin, a New Flavone from Galeopsis angustifolia, Heterocycles. 19 (1982) 1581. https://doi.org/10.3987/r-1982-09-1581.

[13] A.P. Gupta, M.M. Gupta, S. Kumar, Simultaneous determination of curcuminoids in Curcuma samples using high performance thin layer chromatography, J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 22 (1999) 1561–1569.

[14] G. Burgot, J.-L. Burgot, Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications: Méthodes chromatographiques, électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques, Lavoisier, 2011.

[15] B. GRAMBOW, N. MICHEL, Solubilité des solides dans l'eau: propriété de surface ou du solide?, (n.d.).

[16] H. Layaida, A. Hellal, N. Chafai, I. Haddadi, K. Imene, B. Anis, E. Mouna, C. Bensouici, W. Sobhi, A. Attoui, Synthesis, spectroscopic characterization, density functional theory study, antimicrobial and antioxidant activities of curcumin and alanine-curcumin Schiff base, J. Biomol. Struct. Dyn. (2022) 1–16.

[17] F. Bassani, G.L. Liedl, P. Wyder, Encyclopedia of condensed matter physics, Elsevier Amsterdam, 2005. https://doi.org/10.5860/choice.43-4384.

[18] X. Jaramillo-Fierro, S. Gaona, E. Valarezo, La3+'s Effect on the Surface (101) of Anatase for Methylene Blue Dye Removal, a DFT Study, Molecules. 27 (2022) 6370.

[19] A. Resnick, Introductory quantum mechanics with MATLAB® for atoms, molecules, clusters and nanocrystals: JR Chelikowsky, Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2018, 224 pp.,£ 70.00 (paperback), ISBN: 9783527409266. Scope: handbook. Level: advanced undergraduate, (2019).

[20] O. Koch, W. Kreuzer, A. Scrinzi, Approximation of the time-dependent electronic Schrödinger equation by MCTDHF, Appl. Math. Comput. 173 (2006) 960–976.

[21] K.H.J. Buschow, R.W. Cahn, M.C. Flemings, B. Ilschner, E.J. Kramer, S. Mahajan, The Science and Technology of Materials: An Introduction, Encycl. Mater. Sci. Technol. (2009) 1–4. https://doi.org/10.1016/b0-08-043152-6/01863-5.

[22] X. Liao, R. Lu, L. Xia, Q. Liu, H. Wang, K. Zhao, Z. Wang, Y. Zhao, Density Functional

Theory for Electrocatalysis, Energy Environ. Mater. 5 (2022) 157–185. https://doi.org/10.1002/eem2.12204.

[23] H. Al-Mahayni, X. Wang, J. Harvey, G.S. Patience, A. Seifitokaldani, Experimental methods in chemical engineering: Density functional theory, Can. J. Chem. Eng. 99 (2021) 1885–1911.

[24] E.J. Baerends, Perspective on "self-consistent equations including exchange and correlation effects," Theor. Chem. Acc. 103 (2000) 265–269. https://doi.org/10.1007/s002140050031.

[25] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, J.A. Montgomery, T.J. Vreven, K.N. Kudin, J.C. Burant, Gaussian 09 rev A. 1 Gaussian Inc, Wallingford CT. (2009).

[26] A. Frisch, A.B. Nielson, A.J. Holder, Gaussview user manual, Gaussian Inc., Pittsburgh, PA. 556 (2000).

[27] I.D. Kuntz, J.M. Blaney, S.J. Oatley, R. Langridge, T.E. Ferrin, A geometric approach to macromolecule-ligand interactions, J. Mol. Biol. 161 (1982) 269–288.

[28] D.B. Kitchen, H. Decornez, J.R. Furr, J. Bajorath, Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications, Nat. Rev. Drug Discov. 3 (2004) 935–949.

[29] T. Lemaoui, N.E.H. Hammoudi, Y. Benguerba, A. Attoui, Molecular docking of new active compounds towards the acetylcholinesterase enzyme, Curr. Res. Bioinforma. 8 (2020) 18–20.

[30] E.I. Edache, A. Uzairu, G.A. Shallangwa, P.A. Mamza, Virtual screening, pharmacokinetics, and molecular dynamics simulations studies to identify potent approved drugs for Chlamydia trachomatis treatment, Futur. J. Pharm. Sci. 7 (2021) 1–22.

[31] M.S. BLOIS, Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical, Nature. 181 (1958) 1199–1200. https://doi.org/10.1038/1811199a0.

[32] U.M. Acuña, D.E. Atha, J. Ma, M.H. Nee, E.J. Kennelly, Antioxidant capacities of ten edible North American plants, Phyther. Res. 16 (2002) 63–65.

[33] I.I. Koleva, T.A. Van Beek, J.P.H. Linssen, A. de Groot, L.N. Evstatieva, Screening of

plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods, Phytochem. Anal. An Int. J. Plant Chem. Biochem. Tech. 13 (2002) 8–17.

[34] E.A. Shalaby, S.M.M. Shanab, Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action, African J. Pharm. Pharmacol. 7 (2013) 528–539.

[35] V. Katalinic, M. Milos, T. Kulisic, M. Jukic, Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols, Food Chem. 94 (2006) 550–557. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.004.

[36] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Radic. Biol. Med. 26 (1999) 1231–1237. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3.

[37] R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek, S.E. Karademir, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, J. Agric. Food Chem. 52 (2004) 7970–7981.

[38] A. Szydłowska-Czerniak, C. Dianoczki, K. Recseg, G. Karlovits, E. Szłyk, Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods, Talanta. 76 (2008) 899–905.

[39] I. Haddadi, A. Hellal, I. Kirouani, H. Layaida, C. Bensouici, Microwave-assisted synthesis, DFT theoretical study and biological activities evaluation of two phosphonylated m-toluidine derivatives, J. Mol. Struct. 1251 (2022) 131948.

# Chapitre III

# Résultats et discussions

## *Partie A : Extraction, purification et caractérisation de la curcumine :*

### III.A.1 Extraction :

La plante *Curcuma longa L*. a été séchée à l'ombre et à l'air libre et pulvérisée par un broyeur, afin d'obtenir une poudre très fine pour faciliter l'extraction (Figure III.A.1).

**Figure III.A.1:** Rhizomes secs et la poudre de *Curcuma longa L.* utilisée.

Ensuite, on a procédé à l'extraction de la molécule visée, en appliquant trois méthodes :

**A- Extraction par macération :**

Après la mise en contact de la poudre de curcuma dans l'éthanol avec une température ambiante et pour une durée de 4 jours, on a obtenu un extrait brut qui est aperçu dans la Figure III.A.2.

**Figure III.A.2 :** Extraction par macération à froid.

Ensuite, l'extrait subit une filtration sur papier filtre (Figure III.A.3) :

**Figure III.A.3 :** Processus de filtration.

La solution obtenue (le filtrat) est ensuite mise dans un évaporateur rotatif, que nous avons programmé à 72° C pour éliminer l'éthanol (Figure III.A.4).

**Figure III.A.4 :** Elimination du solvant par un évaporateur rotatif.

Nous avons obtenu un extrait brut sous forme de poudre marron-orange. Cet extrait est ensuite conservé dans un flacon ambre à 4 °C.

**B- Extraction par solvant assisté par micro-onde :**

L'extraction assistée par micro-ondes consiste à irradier, par micro-ondes, la poudre de curcuma en présence d'éthanol à 133W avec une irradiation par tranches de 4 minutes (Figure III.A.5). L'extrait obtenu va subir les mêmes procédures que dans le cas de la macération (filtration et évaporation et conservation).

**Figure III.A.5:** Le micro-onde utilisée pendant l'extraction.

**C- Extraction par le montage Soxhlet :**

On a placé la poudre du curcuma dans une cartouche en papier-filtre de l'extracteur (Figure III.A.6).

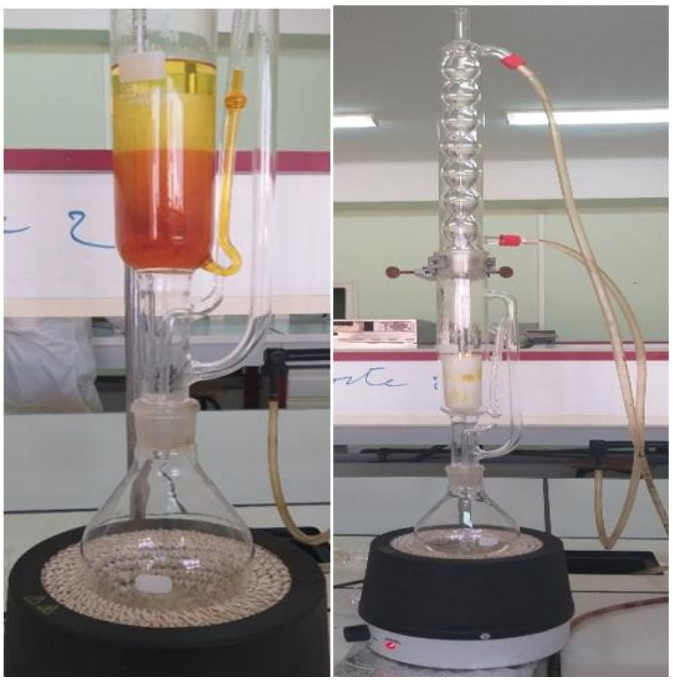


**Figure III.A.6:** Extraction par le montage Soxhlet.

L'extrait obtenu va subir les mêmes procédures que dans le cas de la macération (filtration, évaporation et conservation).

- **Rendements en curcuminoïdes :**

Les curcuminoïdes sont classiquement extraits par des solvants organiques à partir de la Poudre de rhizome. Les rendements de l'extraction par les trois méthodes (macération à



$$R\% = \frac{la\ masse\ d'extraits}{la\ masse\ de\ la\ poudre\ initiale} \times 100$$

froid, extraction par solvant assisté par micro-onde et par extracteur Soxhlet), ont été déterminé par rapport à la masse de la poudre sèche initiale, selon la formule suivante :

Ces valeurs de rendement sont portées sur l'histogramme suivant, pour faire une comparaison entre les différentes méthodes d'extraction :

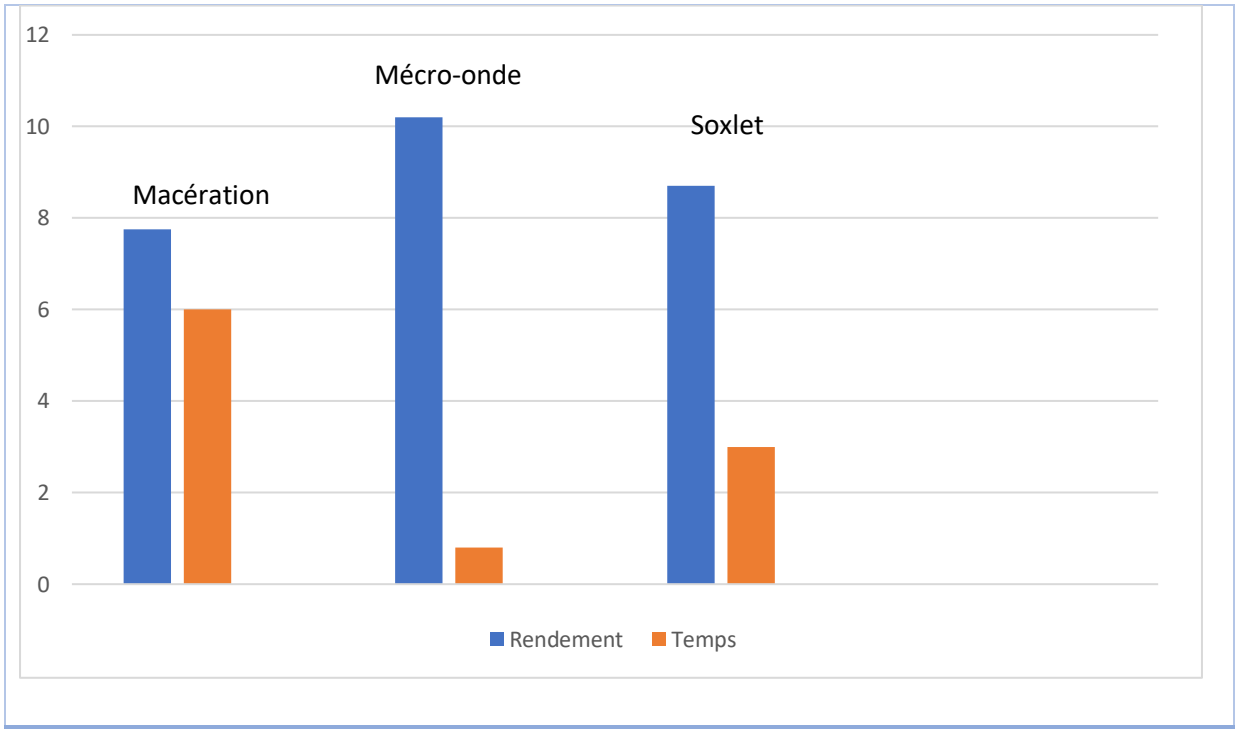



**Figure III.A.7**: Rendements et temps d'extraction de curcuminoïdes par différentes méthodes d'extractions.

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraite par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon.

Il est à noter qu'une quantité importante d'extrait a été obtenue aussi bien avec une courte durée par l'extraction assisté par micro-onde, ceci en comparant avec les deux autres techniques. On peut dire donc que l'extraction assisté par micro-onde est la meilleure méthode par rapport aux deux autres procédés. Ceci confirme l'avantage de cette technique que ce soit de côté rendement élevés, durée de temps courte et aussi au côté environnemental, c'est une technique idéale pour extraire des substances naturelles.

## III.A.2. Purification

### A- Analyse par la chromatographie sur couche mince :

Afin de vérifier la composition de l'extrait brut (curcuminoïdes), une chromatographie analytique sur couche mince a été réalisée en utilisant un système de deux solvants, l'un est moyennement polaire et l'autre est apolaire : (acétate d'éthyle /Hexane : 2 /2, V/V), puis sous une lumière UV à 365 nm, les différents spots d'extraits sur les chromatogrammes ont été révélé afin de calculer leurs Rf. La révélation physique à l'aide d'une lampe UV permet de mieux visualiser les différentes tâches. Le système d'élution choisi montre une meilleure séparation (Figure III.A.8).

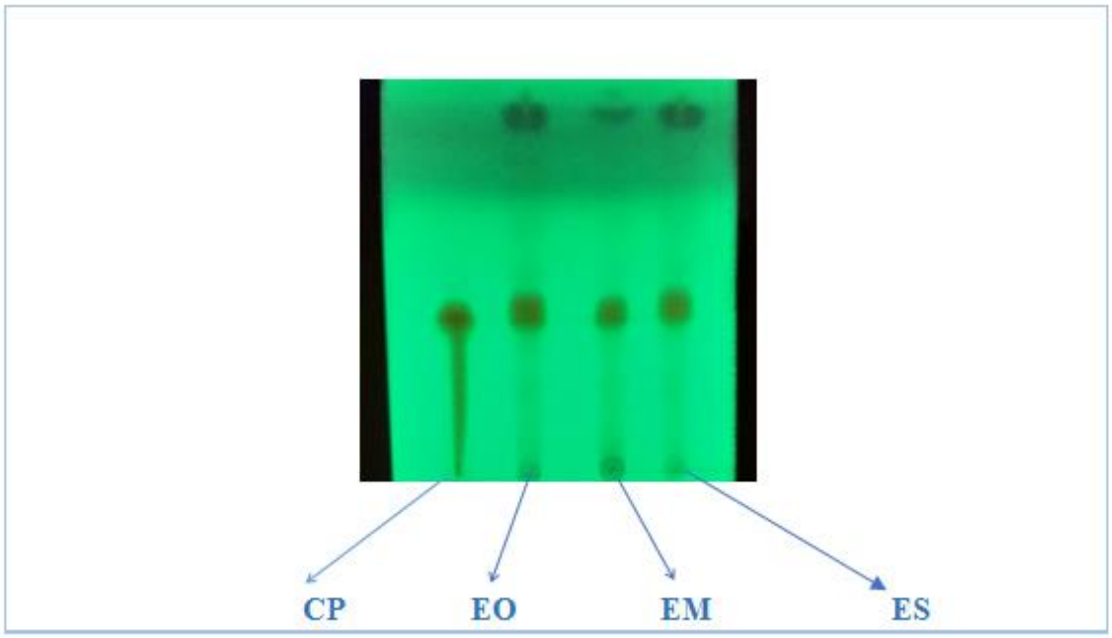



**Figure III.A.8:** Résultats de l'analyse par CCM des extraits obtenus par différentes méthodes

(CP : Curcumine pure, EO extrait de micro-onde, EM : extrait de la macération, ES : extrait de l'extracteur Soxhlet).

Pour caractériser nos extraits, on a calculé le rapport frontal (Rf). Il est compris entre 0 et 1, et est caractéristique du composé, du matériau de la plaque et du système d'éluant. Le Rf des produits dépend de leur affinité relative par rapport à la phase stationnaire et la phase mobile. Dans la plupart des cas, les molécules les plus hydrophobes (mois polaires) sont entrainées par la phase mobile et les molécules les plus hydrophiles (plus polaires) établissent des interactions plus fortes avec la phase stationnaire.

Les Rfs calculés après observation sous UV, sont consignés dans le tableau III.A.1 suivant :

**Tableau III.A.1:** Résultats d'analyses par CCM (Rfs calculés après observation sous UV).

| **Produits** | **Curcumine pure** | **Extrait par micro-onde** | **Extrait de la macération** | **Extrait par le montage Soxhlet** |
|---|---|---|---|---|
| **Nombre des taches** | 1 | 2 | 2 | 2 |
| **Rf** | 0,4 | 0,4<br>0,9 | 0,4<br>0,9 | 0,4<br>0,9 |

On remarque que les (Rfs) des extraits des différentes méthodes micro-onde, macérations et extracteur Soxhlet (dont le solvant est l'éthanol) sont identique (Rf =0,4), donc on peut dire que les trois méthodes ont conduit au même produit (curcumine).

Après avoir confirmé par CCM que l'extrait de curcuma contient de la curcumine, nous passerons à isoler cette dernière en utilisant la Chromatographie sur colonne.

**B- Chromatographie sur colonne :**

La technique de chromatographie sur colonne repose sur le même principe que la chromatographie sur couche mince : les espèces chimiques à séparer sont plus ou moins entraînées par un éluant sur une phase fixe :

1. La phase fixe est un solide, le plus souvent de la silice remplissant une colonne.

2. L'échantillon est déposé en haut de la colonne. La séparation des espèces chimiques est obtenue par l'écoulement continu d'une phase mobile (l'éluant) à travers la colonne.

La séparation est basée sur une différence de vitesses d'entraînement des espèces chimiques vers le bas de la colonne. L'objectif de cette partie est donc de séparer les constituants colorés de curcuminoïdes puis de montrer l'intérêt de la chromatographie sur colonne vis-à-vis de la chromatographie sur couche mince. L'extrait de Curcuma (curcuminoïdes) dissous dans l'éthanol a été soumis à une Chromatographie sur colonne en verre remplis par le gel de silice (phase stationnaire) et la séparation des composants de l'extrait brut de *Curcuma Longa L.* s'effectue avec un système solvants (Hexane/Acétate d'éthyle (50/50) (V/V)) qui a permis l'obtention de 15 fractions décrites dans le tableau suivant :

**Tableau III.A.2 :** Couleur des fractions obtenues.

| Numéro de fraction | Couleur |
|---|---|
| **1 +2+3+4** | Orangé |
| **5** | Marron foncé |
| **6** | Marron |
| **7** | Marron claire |
| **8** | Marron pale |
| **9** | Jaune foncé |
| **10** | Jaune |
| **11** | Jaune |
| **12** | Jaune claire |
| **13** | Jaune pale |
| **14** | Jaune pale |

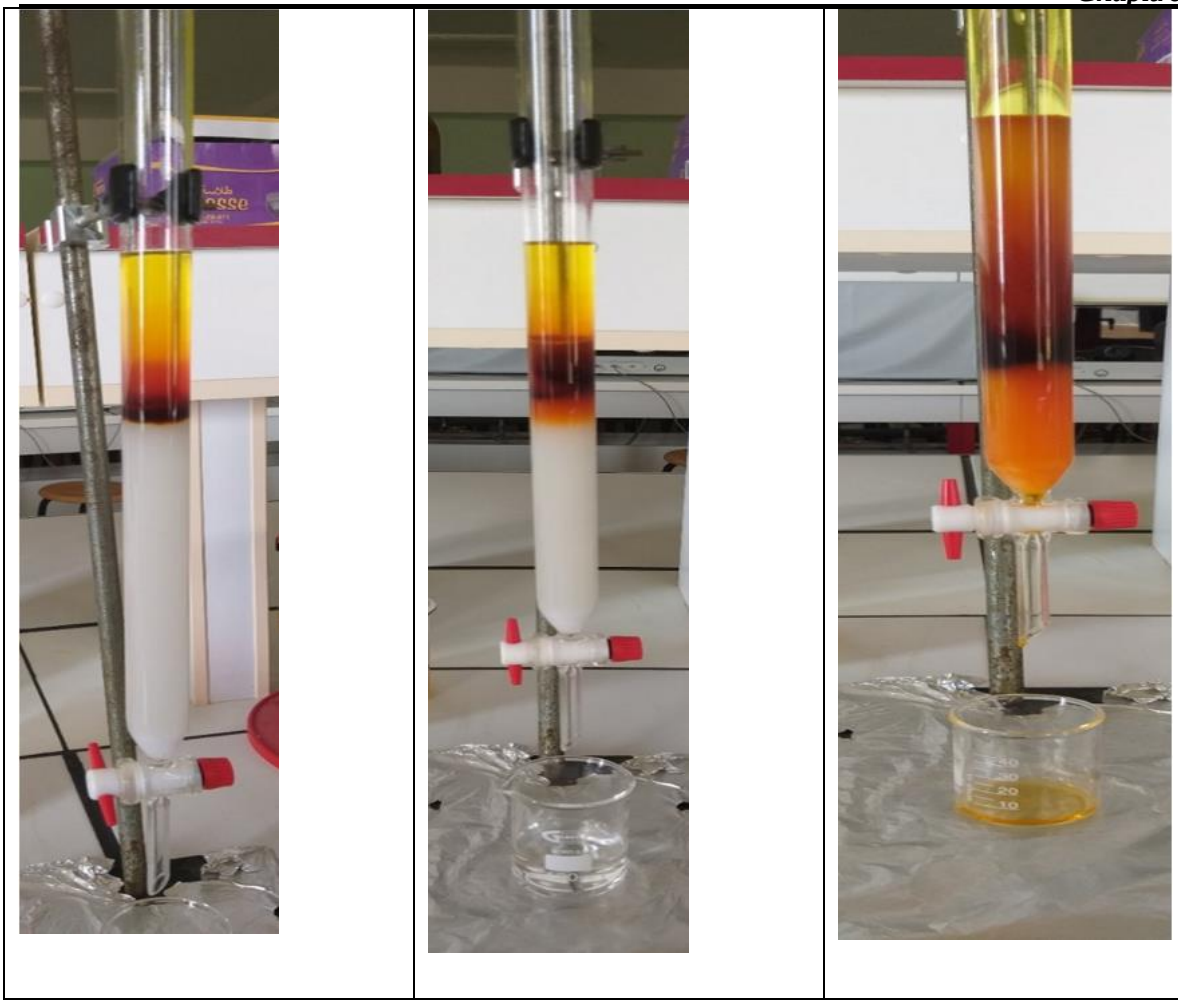


**Figure III.A.9:** Séparation par la chromatographie sur colonne.

**Figure III.A.10:** les fractions de séparation.

L'extrait brut est entraîné par la phase mobile, ensuite il est récupéré dans des tubes à essais. Il est souvent utile de réaliser des chromatographies sur couche mince sur chaque tube pour vérifier où sont les composés à séparer (la curcumine**).**

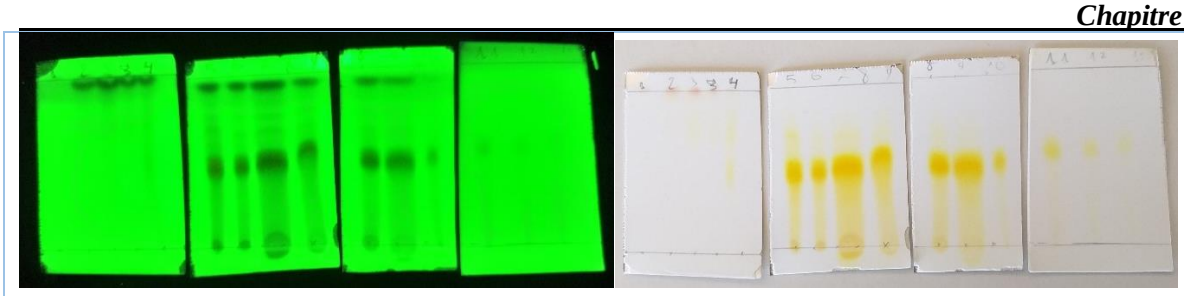


**Figure III.A.11:** Résultats de l'analyse chromatographique après la CC.

**Tableau III.A.3:** Calculs des Rfs correspondants.

| Numéro de la fraction | Nombre des taches | Rf | Couleur |
|---|---|---|---|
| **1**<br>**2**<br>**3**<br>**4** | 1 | 0,9 | Orangé |
| **5** | 2 | 0,9<br>0,4 | Marron foncé |
| **6** | 2 | 0,9<br>0,4 | Marron |
| **7** | 2 | 0,9<br>0,4 | Marron claire |
| **8** | 2 | 0,9<br>0,4 | Marron pale |
| **9** | 1 | 0,4 | Jaune |
| **10**<br>**11**<br>**12**<br>**13**<br>**14** | 1 | 0,4 | Jaune |

Une analyse par CCM comparative de chaque fraction permet de vérifier leurs compositions et de calculer ses Rfs, ce qu'elle a révélé par exemple un Rf de 0,4 caractéristique de la curcumine pure pour les fractions 9, 10, 11, 12,13 et14. Les fractions 9-14 sont ensuite mélangées afin de réaliser une évaporation dans un rotavepeur pour récupérer la curcumine pure, qui sera ensuite conservé à une température à 4°C. Le rendement après cette analyse est de R=6,5%.

### III.A.3. Caractérisations physico-chimiques :

#### A- Les propriétés physicochimiques et organoleptiques :

Le nom selon IUPAC de la curcumine est (1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,6-heptadiène-3,5-dione, sa formule chimique $C_{21}H_{20}O_6$ et son poids moléculaire de 368,38g/mol. Elle a trois entités chimiques dans sa structure : deux systèmes

cycliques aromatiques contenant des groupes o-méthoxyphénoliques, reliés par une chaine à sept carbones constitué d'un fragment dicétone α,β-insaturé.

Le tableau ci-dessous regroupe les différentes propriétés physicochimiques et organoleptiques de la curcumine obtenue.

**Tableau III.A.4**: Propriétés organoleptiques de la curcumine.

| Molécule | Aspect | Couleur | Point de fusion | Solubilité |
|---|---|---|---|---|
| **Curcumine** | Poudre fine | Jaune | $Pf_{exp.}$ 182-184°C<br>$Pf_{Theo.}$183°C | **Non soluble :** Eau et l'éther de pétrole<br>**Soluble :** DMSO, méthanol, éthanol, acétonitrile, chloroforme, acétate d'éthyle, dichlorométhane |

**B- Caractérisation structurale par UV :**

Une caractérisation spectroscopique pour déterminer les bandes d'absorption moléculaires caractéristiques des produits pour contrôler la pureté de la curcumine isoler par papport à la curcumine standard a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre Shimadzu UV1700. Les mesures se font dans des cuves en quartz de 1cm de trajet optique dans le domaine allant de 190 nm à 800 nm. L'éthanol est utilisé comme solvant pour la préparation des solutions. Les spectres UV-Vis de la curcumine isoler et la curcumine pure de référence sont présentés dans la Figure III.A.12.

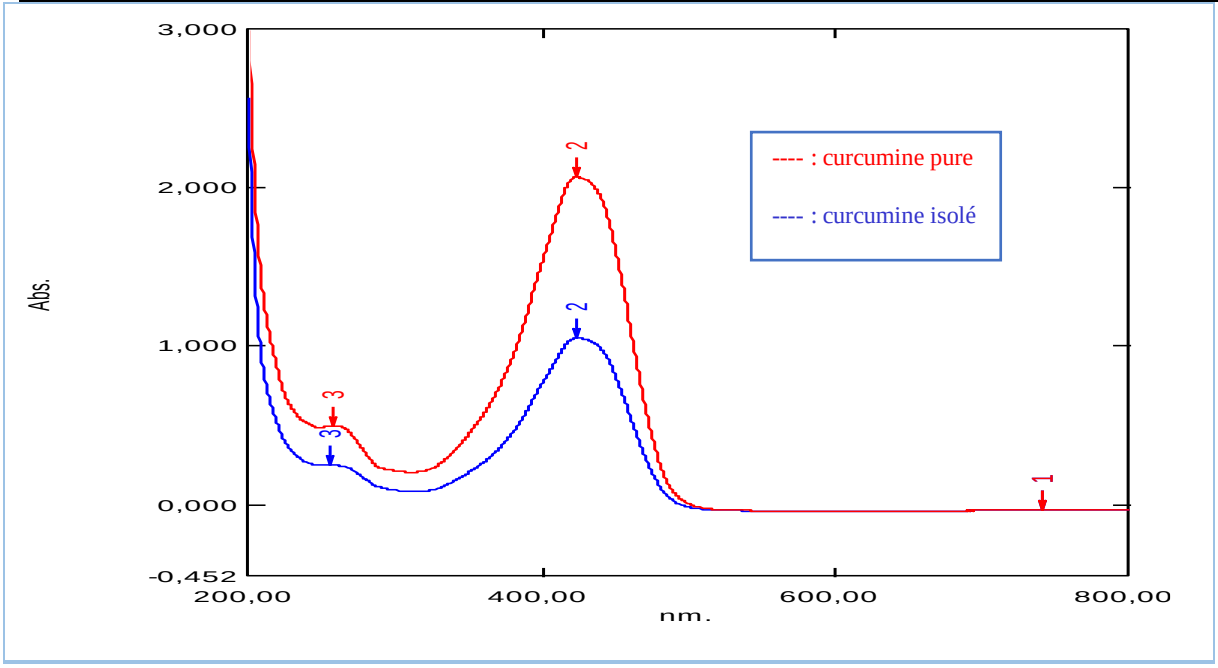



**Figure III.A.12 :** Analyse par UV-vis de la curcumine isolée et la curcumine de référence.

A partir de ces spectres, on constate qu'il y a une similitude parfaite entre le spectre de la curcumine pure et la curcumine isolé. L'analyse des spectres présentés ci-dessus montrent que la curcumine présente deux bandes d'absorption caractéristiques :

• Une bande d'absorption de forte intensité située À λmax = 425 nm correspondent à une transition électronique n $\longrightarrow$π* des groupements phénol et des groupements fonctionnel carbonyle C=O.

• Une bande d'absorption de faible intensité située À λmax = 265 nm correspondent à une transition électronique π $\longrightarrow$ π * des liaisons C=C.

**C- Caractérisation par la spectroscopie IR :**

La spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier a été utilisée pour observer les modifications vibrationnelles dans la molécule isolée en la comparant avec celle du produit de référence (curcumine pure). Nous avons effectué les analyses par spectroscopie infrarouges au niveau du laboratoire de chimie de la faculté des sciences Sétif 1 a l'aide de l'appareille Shimadzu FTIR-8300 (Fourier Transform Infrared Spectrophotometer). Le spectre infrarouge de la curcumine a été enregistré dans un domaine de 4000- 500cm-1.

Le spectre IR de la curcumine (figure III.A.13) présente une bande large et intense dans la région 3350cm$^{-1}$, cette bande est généralement attribuées à la fréquence de vibration d'élongation de O-H de la fonction phénol. Deux bandes d'absorption sont localisés à 2912 et 2842cm$^{-1}$ correspond à ν(C-H). Une bande d'absorption est située à 1262cm$^{-1}$ et une autre est

localisée à 1714 $cm^{-1}$, ces deux bandes correspond respectivement aux vibrations ν(C-O) et ν(C=O).

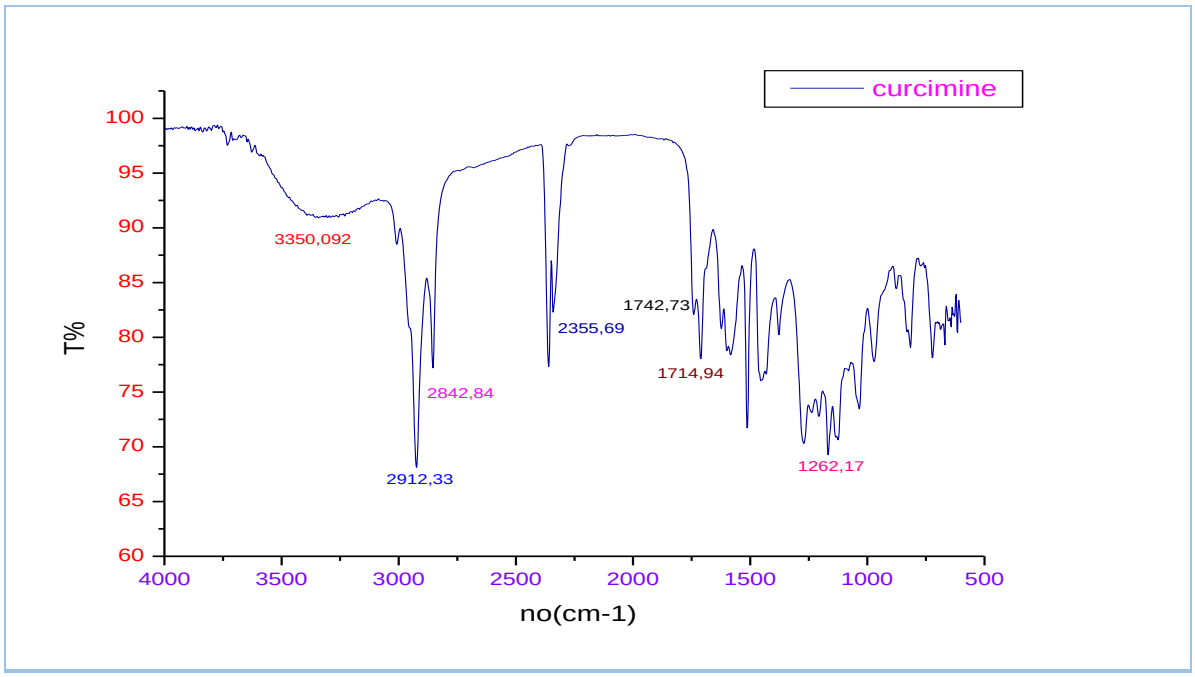



**Figure III.A.13:** Spectres IR de la curcumine

Les valeurs de fréquences des principales bondes d'absorption de la curcumine sont résumées dans le tableau suivant (Tableau III.A.5) **:**

**Tableau III.A.5:** Bondes IR d'absorption caractéristique de la curcumine

| Liaison | Nombre d'onde ($cm^{-1}$) | Intensité de la bonde |
|---|---|---|
| $\nu_{C=O}$ | 1714,94 | Moyenne |
| $\nu_{O-H}$ **(phénol)** | 3350,092 | Forte et large |
| $\nu_{C-O}$ | 1262,17 | Moyenne |
| $\nu_{C-H}$ | 2912,33<br>2842,84 | Forte<br>Moyenne |
| $\delta_{C-H}$ **(aromatique)** | 2355,69<br>2348,38 | Moyenne<br>Moyenne |

($\nu$ : vibrations élongations , $\delta_{C-H}$ : vibrations déformations)

# *Partie B : Synthèses et caractérisation*

## III.B.1 Introduction :

Les bases de Schiff sont une classe de composés contenant l'azométhine comme groupe fonctionnel qui contient une double liaison carbone-azote (>C=N-), l'azote étant attaché à un groupe alkyle ou aryle, mais pas à l'hydrogène[1]. Ces composés ont été rapportés par le chimiste allemand Hugo Schiff en 1864 et portent donc son nom[2]. La majorité des bases de Schiff sont représentées par la formule générale $R_1R_2C=NR_3$[3], tandis que certaines d'entre

elles ont la formule générale $R_1CH=NR_2$, dans laquelle le carbone est fixé par un atome d'hydrogène au lieu d'un groupe alkyle ou aryle [4]. Ce sont des produits de condensation de cétones ou d'aldéhydes avec des amines primaires [5].

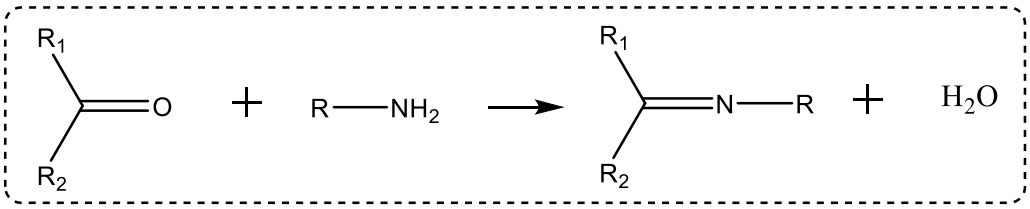



**Schéma 12 :** Réaction générale de formation des bases de Schiff.

NB : Pour faciliter le travail, on a donné des abréviations à la curcumine et aux produits synthétisés de la manière suivante :

- Cur : pour la curcumine.
- Cur-Ala : pour le produit obtenu à partir de la curcumine et L-Alanine.
- Cur-Leu : pour le produit obtenu à partir de la curcumine et L-Leucine.

## III.B.2 Synthèse des bases de Schiff Cur-Ala et Cur-Leu :

La synthèse des composés Cur-Ala et Cur-Leu a été réalisée avec deux méthodes, sous irradiation micro-ondes et avec une procédure de chauffage conventionnelle. La condensation de la L-Alanine, L-Leucine avec la curcumine, par méthode conventionnelle, pendant 6h, a donné la base de Schiff Cur-Ala à 68 % et la base de Schiff Cur-Leu à 65%. L'utilisation de techniques assistées par micro-ondes pour la préparation des bases de Schiff est d'un grand intérêt dans le domaine de la synthèse organique verte. La réaction de la L-Alanine, L-Leucine avec la curcumine dans des conditions de micro-ondes, en utilisant l'éthanol comme solvant, a révélé la formation de la base de Schiff Cur-Ala souhaitée avec un bon rendement

(96 %) et la formation de la base de Schiff Cur-Leu avec un bon rendement (95 %). Comme il montre le tableau III.B.1, un temps de réaction de 8 à 10 minutes est nécessaire pour synthétiser les composés souhaités sans sous-produits. De plus, les techniques assistées par micro-ondes impliquent une manipulation simple, ce qui en fait une méthode de synthèse moins chère et plus rapide que les méthodes classiques rapportées.

**Tableau III.B.1 :** Rendement et temps de synthèse des bases de Schiff Cur-Ala et Cur-Leu dans des conditions micro-ondes / conditions conventionnelles.

| **Composés** | **Cur-Ala** | | **Cur-Leu** | |
|---|---|---|---|---|
| **Conditions** | **Micro-ondes** | **Reflux** | **Micro-ondes** | **Reflux** |
| **Rendement** | 96 % | 68 % | 95 % | 65 % |
| **Temps** | 8-10 min | 6h | 8-10 min | 6h |

### III.B.3. Caractérisation des produits synthétisés

#### III.B.3.1. Analyse par point de fusion

Les points de fusion de la base de Schiff Cur-Ala (233-235 C°) et Cur-Leu (245-247 C°) étaient plus élevés que ceux de la curcumine (181-183 C°), ce qui indique que les bases de Schiff sont plus stables thermiquement que la curcumine. Les bases de Schiff (Cur-Ala et Cur-Leu) sont colorées en orange et sont solubles dans les solvants organiques courants tels que DMSO, DMF, MeOH et EtOH, etc.

#### III.B.3.2. Analyse élémentaire

Afin de résoudre les formules moléculaires des bases de Schiff synthétisés, une analyse élémentaire de ces composés a été réalisée. Elle a également permis de comparer les valeurs théoriques et calculées. Les données de l'analyse élémentaire ont révélé que les pourcentages observés de C, H et N sont en bon accord avec les valeurs prédites et calculées, ce qui a permis d'établir les formules structurelles proposées $C_{24}H_{25}NO_7$ pour Cur-Ala et $C_{27}H_{31}NO_7$ pour Cur-Leu.

#### III.B.3.3. Analyse par spectroscopie infrarouge

Les spectres IR ont été analysés en faisant une comparaison entre les spectres des produits obtenus et ceux des produits de départ correspondants. Effectivement, si un nouveau

produit est formé, on remarque un déplacement de certaines bandes et la naissance ou la dispersion de certaines bandes.

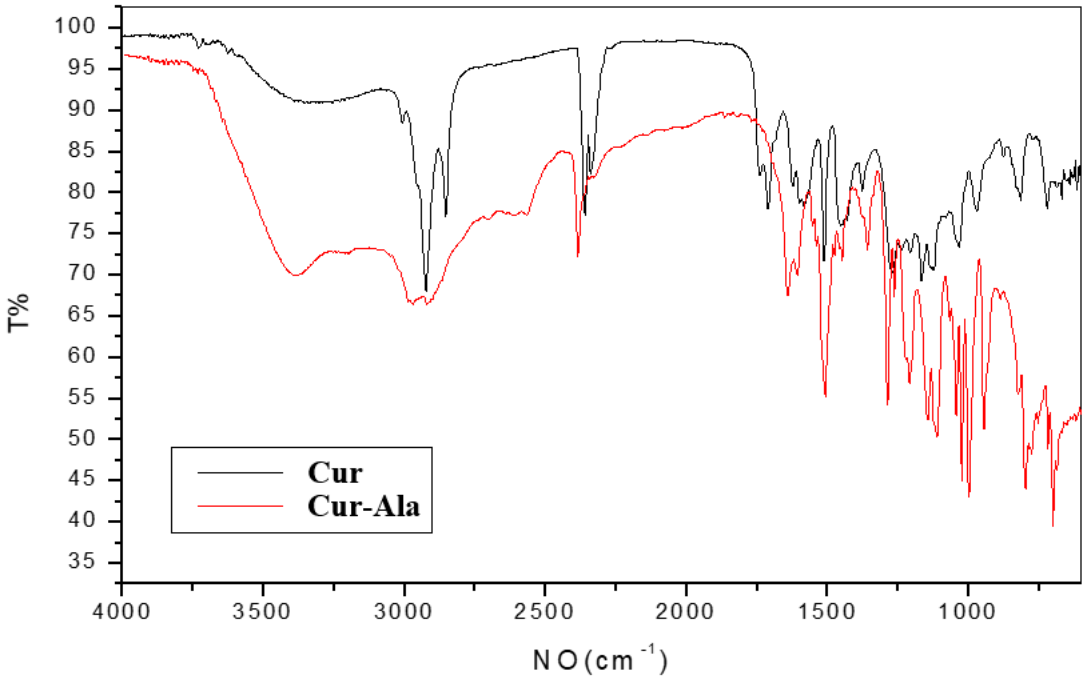



**Figure III.B.1 :** Spectres infra rouge de Cur (noir) / Cur-Ala (rouge).

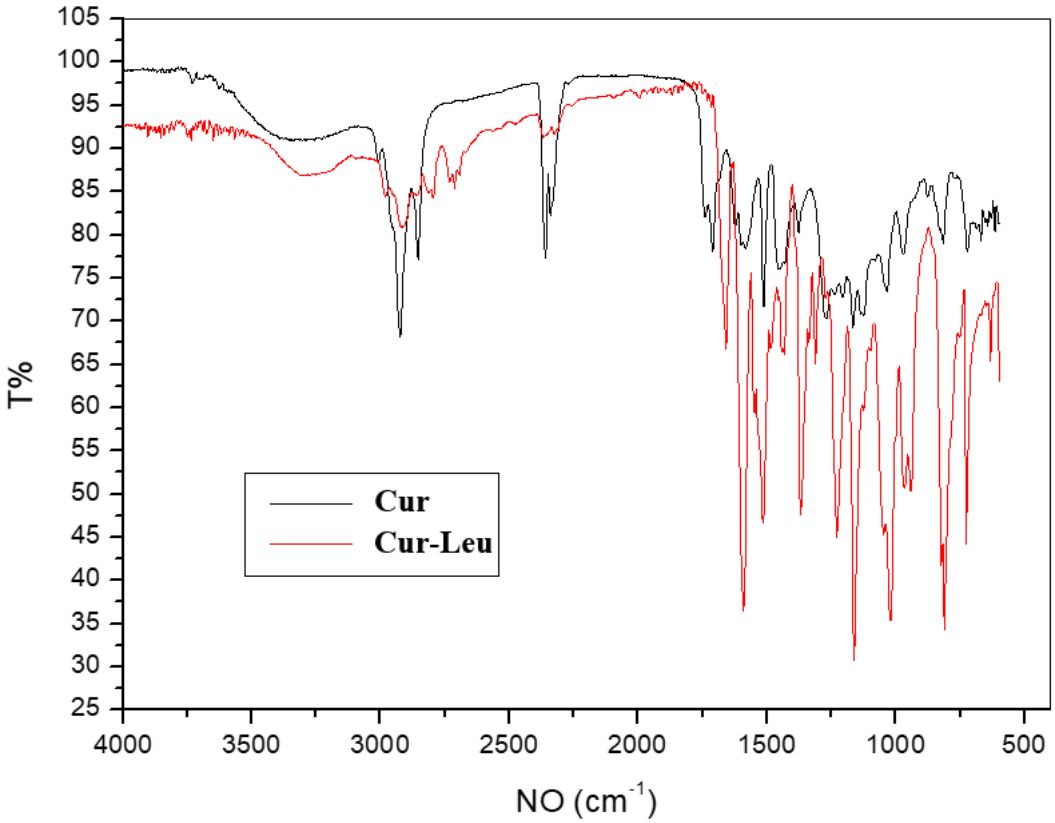



**Figure III.B.2 :** Spectres infra rouge de Cur (noir) / Cur-Leu (rouge).

Les spectres de spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) de la curcumine et les bases de Schiff Cur-Ala et Cur-Leu ont été scannées dans la région de l'infrarouge moyen (4000−600cm$^{-1}$). Les modes de vibration des liaisons ont été étudiés en comparant les spectres FT-IR des bases de Schiff Cur-Ala et Cur-Leu avec le spectre de la curcumine (molécule de référence). Les spectres IR de la curcumine et des bases de Schiff montrent une large bande d'intensité moyenne à 3460-3350cm$^{-1}$ qui peut être attribuée aux vibrations d'étirement (O–H) du système cyclique phénolique. Les bandes à 2900 et 2850cm$^{-1}$ proviennent respectivement des vibrations d'étirement asymétriques des liaisons C$sp^2$−H et C$sp^3$−H. Les fréquences de vibration des liaisons C−H aromatiques sont obtenues aux environs 1600 cm$^{-1}$. Les bandes à 1450 et 1400cm$^{-1}$ correspondent aux vibrations d'étirement C-O phénylique. La bande intense centrée à 1500-1460cm$^{-1}$ correspond à la vibration d'étirement du groupement carbonyle conjugué (C=O). La bande située à 1640-1600cm$^{-1}$ provient des vibrations d'étirement du carbone à double liaison, tandis que les bandes centrées à 1273-1250cm$^{-1}$ et centrées à 1150-1100cm$^{-1}$ proviennent des vibrations d'étirement des liaisons C$sp^2$-O et C$sp^3$-O, respectivement. Une bande caractéristique intense située entre 1600 et 1680 cm$^{-1}$ montre l'apparition d'une nouvelle fonction azométhine ν(C=N) dans les bases de Schiff Cur-Ala et Cur-Leu.

### III.B.3.4. Analyse par Spectrophotométrie UV–Visible

Les spectres UV-vis des produits à analysés ont été enregistrés sur Spectrophotomètre de type JASCO V–650 Dans l'éthanol :

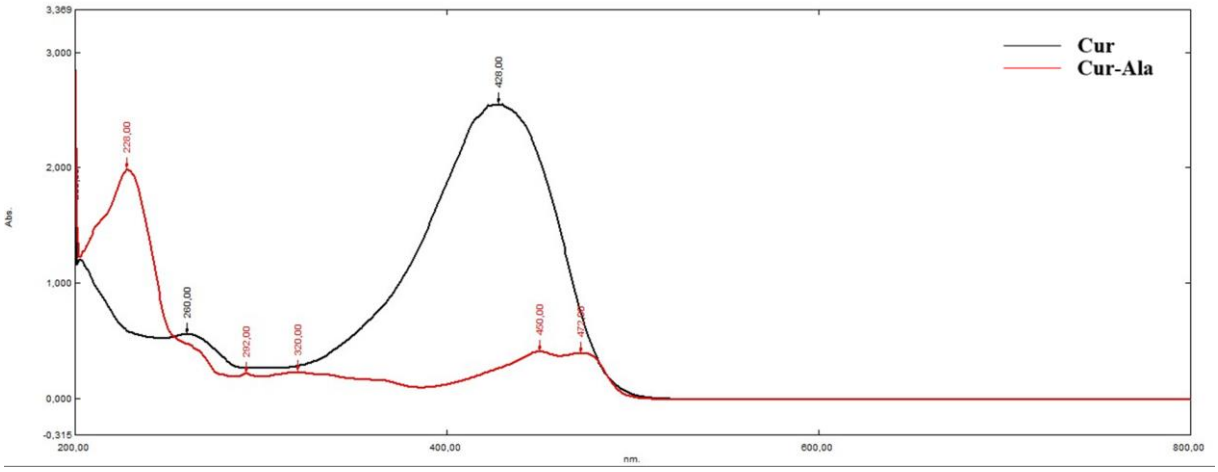



**Figure III.B.3 :** Spectres d'absorption UV-vis de la Cur et Cur-Ala.

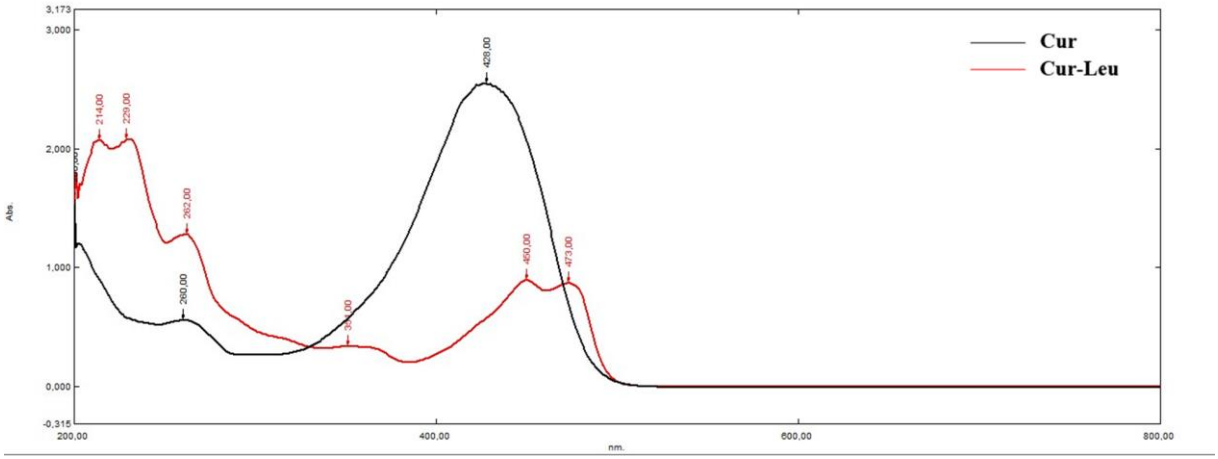



**Figure III.B.4 :** Spectres d'absorption UV-vis de la Cur et Cur-Leu.

Dans le spectre UV-vis de la curcumine, une bande d'absorption observée autour de 260 nm peut être attribuée à une transition π → π* du benzène, tandis que la bande autour de 428 nm est attribuée à la transition n→π* associée au groupement chromophore (>C=O). Le spectre électronique de la base Cur-Ala Schiff a montré une nouvelle bande caractéristique à 228 nm qui peut être attribué aux transitions π → π* de la fonction azométhine. Deux nouvelles bandes apparues à 214 nm et 229 nm dans le cas de la base de Schiff Cur-Leu peuvent être attribuées aux transitions π → π* des deux fonctions, azométhine et carbonyle. Le déplacement bathochromique de la bande située à 473 nm est due à la fonctionnalisation de la curcumine par l'acide aminé Leucine qui joue le rôle d'un auxochrome.

### III.B.3.5. Analyse par la RMN

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton $^{1}H$ et du carbone $^{13}C$ ont été enregistrés sur des appareils Bruker Avance 300. Les spectres$^{1}H$-RMN des bases de Schiff (Cur-Ala et Cur-Leu) ont été enregistré dans du DMSO$d_6$ . Dans les spectres RMN des composés cibles, deux pics sont apparus dans la gamme δ 8,40-8,70 ppm attribuables aux protons du OH phénolique et le second dans la gamme δ12,50-12,90 ppm pour le protons hydroxyles (–OH) de la fonction carboxyle. Les six fractions de protons méthoxyles (–OCH3) ont été observées sous forme de singulet autour de δ 3,60-3,80 ppm. De plus, un ensemble de multiplets observés dans la gamme δ 6,50–7,40 ppm peut être attribué aux protons aromatiques. La disparition du signal dans δ6,90 ppm confirme la formation de la fonction (–HC=N) du fragment acide aminé et son implication dans la condensation avec la fonction carbonyle de la curcumine. Le spectre 13C-RMN de Cur-Ala et Cur-Leu montrent des signaux aux environ 150-160 ppm indiquant l'apparition du groupe C=O des fonctions carboxyliques des acides aminés. Le carbone de la fonction imine (N=CH) dans les deux cas a

montré des signaux aux environs 144 ppm. Une comparaison entre les spectres des produits synthétisés avec les spectres de la Cur, montre clairement l'apparition de la fonction azométhine. (Voir Annexe A).

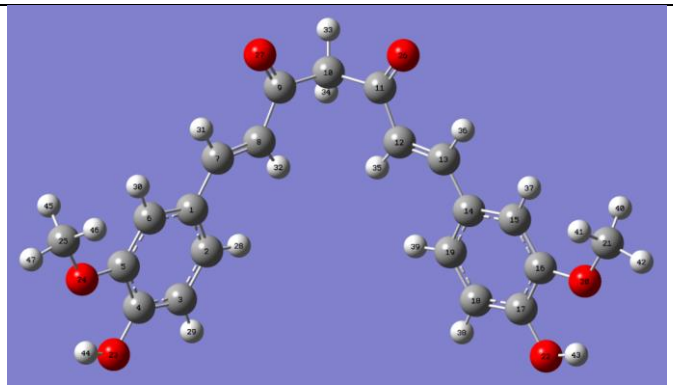
# *Partie C : Calculs théorique de la Curcumine et ses dérivés par la méthode DFT*

## III.C.1. Introduction

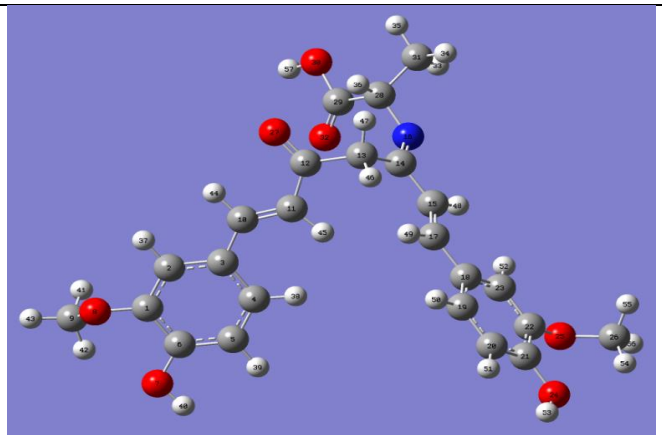
La DFT s'est avérée être un outil important dans la chimie quantique moderne en raison de sa capacité à déterminer les propriétés structurelles, thermodynamiques et électroniques des molécules. Dans cette étude, les calculs DFT de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu ont été effectués avec le logiciel Gaussian09 au niveau de théorie B3LYP dont la base 6-31G++ (d,p).

## III.C.2. Optimisation des structures

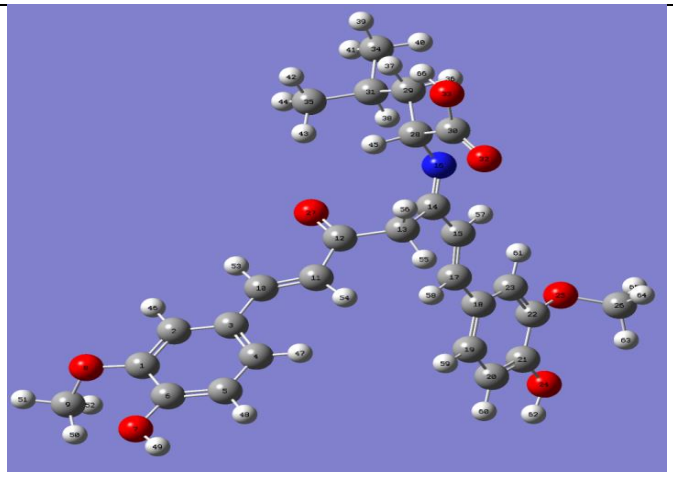
L'optimisation de la géométrie de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu a été effectuée en minimisant l'énergie (les structures les plus stables correspondent à l'énergie la plus basse).la méthode DFT avec sa fonctionnel B3LYP et sa base 6-31G ++ (d,p) est utilisée pour optimiser les structures chimiques et déterminer certains paramètres géométriques (longueurs des liaisons et angles). Les structures optimisées de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu sont affichées dans la figure III.C.1. Les paramètres géométriques calculés et sélectionnés de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu sont mentionnés dans le tableau III.C.1.



**Cur**



**Cur-Ala**



**Cur-Leu**

**Figure III.C.1.** Structures optimisées de la curcumine (Cur) et des bases de Schiff (Cur-Ala et Cur-Leu) au niveau B3LYP/6-31G++(d,p).

En général, il y a quelques différences significatives dans les angles et les distances de liaison entre les trois structures optimisées. Ces différences pourraient être attribuées à la fonctionnalisation de la fonction carbonyle de la curcumine via la condensation avec l'acide

aminé L-alanine pour Cur-Ala et la condensation avec l'acide aminé L-leucine pour le composé Cur-Leu. Par exemple, la liaison C=N de Cur-Ala a une longueur de 1,2883 A° est comparable à la liaison C=N de Cur-Leu (1,2869 A°), tandis que la liaison C=O de Cur est moins longue et a 1,2253 A°. La liaison C1-O8 de Cur-Ala (1.3722 A°) est presque comparable à celle de la Cur (1,3731 A°) et à celui de Cur-Leu (1.3709 A°). La double liaison C10=C11 de Cur-Ala a 1,3517 A° est presque égale à celles de Cur (1,3527 A°) et Cur-Leu (1.3525 A°). L'angle (C13-C12=O27) de Cur-Ala (119,6913°) est plus faible que celui de Cur (C10-C9=O27 : 119,97°) alors que l'angle (C13-C12=O27 :120.8292°) de Cur-Leu est plus grand à ces deux derniers. L'angle (C13-C14=N16) de Cur-Ala (124.7901°) est plus long que celui de Cur (C10-C11=O26 : 119.97°), par contre l'angle (C13-C14=N16 : 126.1047°) de Cur-Leu est plus grand à ces deux derniers. Ces différences peuvent être attribuées à l'effet électronégatif des atomes d'oxygène et d'azote et à l'encombrement stérique de la fonction carboxylique dans la base de Schiff.

**Tableau III.C.1.** Paramètres Géométriques optimisés sélectionnés (Longueur (A°) et Angle (°)) de la Cur par B3LYP/6-31++ G(d,p).

| Liaison | Longueur (A°) | Liaison | Angle |
|---|---|---|---|
| C5-C6 | 1.3889 | C6-C1-C7 | 118.0472 |
| C4-C5 | 1.4105 | C4-O23-H44 | 108.2486 |
| C5-O24 | 1.3731 | C1-O8-C9 | 118.5269 |
| C1-C2 | 1.4071 | C7=C8-C9 | 120.733 |
| C4-O23 | 1.3588 | C10-C9=O27 | 119.9702 |
| O23-H44 | 0.9705 | C10-C11=O26 | 119.9700 |
| O24-C25 | 1.4259 | C11-C12=C13 | 120.7328 |
| C7=C8 | 1.3527 | C13-C14-C15 | 118.0469 |
| C8-C9 | 1.4794 | C17-O22-H43 | 108.2485 |
| C9-C10 | 1.5367 | C16-O20-C21 | 118.5285 |
| C9-O27 | 1.2253 | | |
| C10-C11 | 1.5367 | | |
| C11-C12 | 1.4794 | | |
| C11=O26 | 1.2253 | | |
| C12=C13 | 1.3527 | | |
| C14-C15 | 1.4144 | | |
| C17-O22 | 1.3588 | | |
| C16-O20 | 1.3731 | | |
| O22-H43 | 0.9705 | | |
| O20-C21 | 1.4259 | | |

**Tableau III.C.2.** Paramètres Géométriques optimisés sélectionnés (Longueur (A°) et Angle ( °)) de la Cur-Ala par B3LYP/6-31++ G(d,p).

| Liaison | Longueur (A°) | Liaison | Angle |
|---|---|---|---|
| C1-C2 | 1.3921 | C2-C3-C10 | 118.7425 |
| C1-C6 | 1.4091 | C6-O7-H40 | 109.817 |
| C1-O8 | 1.3722 | C1-O8-C9 | 116.4518 |
| C3-C4 | 1.4085 | C10=C11-C12 | 121.0674 |
| C6-O7 | 1.3669 | C13-C12=O27 | 119.6913 |
| O7-H40 | 0.9665 | C13-C14=N16 | 124.7901 |
| O8-C9 | 1.4357 | C14-C15=C17 | 127.2274 |
| C10=C11 | 1.3517 | C17-C18-C23 | 123.4055 |
| C11-C12 | 1.4745 | C21-O24-H53 | 109.7252 |
| C12-C13 | 1.5381 | C22-O25-C26 | 116.4791 |
| C12-O27 | 1.2277 | N16-C28-C29 | 109.268 |
| C13-C14 | 1.5295 | N16-C28-C31 | 108.958 |
| C14-C15 | 1.4707 | C29-C28-C31 | 111.8711 |
| C14=N16 | 1.2883 | C28-C29-O30 | 111.2792 |
| C15=C17 | 1.3510 | C28-C29-O32 | 126.2995 |
| N16-C28 | 1.4506 | O30-C29-O32 | 122.3922 |
| C18-C23 | 1.4098 | | |
| C21-O24 | 1.3687 | | |
| C22-O25 | 1.3723 | | |
| O24-H53 | 0.9664 | | |
| O25-C26 | 1.4356 | | |
| C28-C29 | 1.5318 | | |
| C28-C31 | 1.5398 | | |
| C29-O30 | 1.3583 | | |
| C29-O32 | 1.2100 | | |

**Tableau III.C.3.** Paramètres Géométriques optimisés sélectionnés (Longueur (A°) et Angle ( °)) de la Cur-Leu par B3LYP/6-31++ G(d,p).

| Liaison | Longueur (A°) | Liaison | Angle |
|---|---|---|---|
| C1-C2 | 1.3921 | C2-C3-C10 | 118.6238 |
| C1-C6 | 1.4096 | C6-O7-H49 | 109.9688 |
| C1-O8 | 1.3709 | C1-O8-C9 | 116.5956 |
| C2-H46 | 1.0859 | C10=C11-C12 | 120.9505 |
| C3-C4 | 1.4085 | C13-C12=O27 | 120.8292 |
| C6-O7 | 1.3658 | C13-C14=N16 | 126.1047 |
| O7-H49 | 0.9666 | C14-C15=C17 | 126.3968 |
| O8-H9 | 1.4361 | C17-C18-C23 | 123.3181 |
| C11-C12 | 1.4787 | C21-O24-H62 | 109.6947 |
| C12-C13 | 1.5309 | C22-O25-C26 | 116.3472 |
| C12-O27 | 1.2281 | N16-C28-C29 | 108.334 |
| C13-C14 | 1.524 | N16-C28-C30 | 110.4056 |
| C14-C15 | 1.4683 | C29-C28-C30 | 112.7181 |
| C14=N16 | 1.2869 | C28-C30=O32 | 124.0514 |
| C15=C17 | 1.3505 | C28-C30-O33 | 116.4891 |
| N16-C28 | 1.4503 | O32=C30-O33 | 119.3711 |
| C18-C23 | 1.4097 | | |
| C21-O24 | 1.3691 | | |
| C22-O25 | 1.3728 | | |
| O24-H62 | 0.9663 | | |
| O25-C26 | 1.435 | | |
| C28-C29 | 1.5483 | | |
| C28-C30 | 1.5498 | | |
| C30=O32 | 1.207 | | |
| C30-O33 | 1.359 | | |
| O33-H66 | 0.9685 | | |
| C10=C11 | 1.3525 | | |

### III.C.3. Analyse des Charges Mulliken

Les charges de Mulliken sont dérivées de l'analyse de population de Mulliken [6]. Elles sont obtenues par des calculs effectués par les méthodes de la chimie computationnelle. Le calcul de ces charges a un grand rôle dans l'application des calculs de chimie quantique aux systèmes moléculaires, car il y a des paramètres qui dépendent des charges atomiques des systèmes moléculaires comme la réactivité, la capacité de polarisation et le moment dipolaire [7].

Les charges atomiques de Mulliken pour Cur, Cur-Ala et Cur-Leu ont été calculées par la méthode B3LYP/6-31G++(d,p) et rassemblées dans le Tableau III.C.3 et la Figure III.C.1. D'après les valeurs des charges de Mulliken, nous avons constaté que les atomes d'oxygène, les atomes de carbone C2, C5, C15 et C19 des trois molécules sont tous des atomes électronégatifs suite à la relaxation moléculaire. Les deux atomes d'azote (Cur-Ala et Cur-Leu) ainsi que les atomes C12 et C13 des trois molécules sont tous des atomes électropositifs. L'atome C14 des deux bases de Schiff présente une charge négative (Cur-Ala : -0,272352e et Cur-Leu : -0.232530e) tandis que l'atome d'azote présente une charge positive (Cur-Ala : 0,150742$^{e}$ et Cur-Leu : 0.272853e), ce qui reflète une importante délocalisation de la charge dans l'ensemble de la molécule. Tous les atomes d'hydrogènes des trois composés sont électropositifs sauf H45 et H49 de Cur-Ala et H58 de Cur-Leu sont électronégatifs. Les atomes C4, O7, C23 et O24 sont les plus électronégatifs dans le composé Cur-Ala alors que les atomes C3, C6 et C21 sont les plus électropositifs. Les atomes C2, C19, O22 et O23 sont les plus électronégatifs dans le composé Cur, tandis que les atomes H43 et H44 ont la plus grande charge positive (0,400162e). Les atomes C4, C22, C23 et C35 sont les plus électronégatifs dans le composé Cur-Leu alors que les atomes C3, C18 et C21 sont les plus électropositifs. Ces derniers résultats indiquent que ces atomes sont les sites les plus réactifs tout au long des réactions. La présence d'une charge négative importante sur l'atome O et d'une charge positive nette sur l'atome H peut influencer une interaction intermoléculaire dans les formes solides [8].

**Tableau III.C.4.** Charges atomiques de Mulliken calculées par B3LYP/6-31++G (d,p) pour Cur, Cur-Ala et Cur-Leu.

| Cur-Leu | | Cur-Ala | | Cur | |
|---|---|---|---|---|---|
| Atomes | Charges | Atomes | Charges | Atomes | Charges |
| C1 | -0.191438 | C1 | -0.299106 | C1 | 0.349869 |
| C2 | -0.259975 | C2 | -0.375043 | C2 | -0.729108 |
| C3 | 0.955218 | C3 | 0.656462 | C3 | -0.246984 |
| C4 | -1.205636 | C4 | -0.700511 | C4 | 0.113695 |
| C5 | -0.102986 | C5 | -0.220377 | C5 | -0.000836 |
| C6 | 0.540356 | C6 | 0.686757 | C6 | -0.026054 |
| O7 | -0.524735 | O7 | -0.529013 | C7 | 0.156733 |
| O8 | -0.336843 | O8 | -0.341999 | C8 | 0.027901 |
| C9 | -0.221928 | C9 | -0.219348 | C9 | 0.317197 |
| C10 | -0.275603 | C10 | -0.115000 | C10 | 0.008493 |
| C11 | -0.304933 | C11 | 0.038853 | C11 | 0.317413 |
| C12 | 0.264816 | C12 | 0.197962 | C12 | 0.027882 |
| C13 | 0.550539 | C13 | 0.339246 | C13 | 0.156659 |
| C14 | -0.232530 | C14 | -0.272352 | C14 | 0.349968 |
| C15 | -0.152261 | C15 | -0.086890 | C15 | -0.026130 |
| N16 | 0.272853 | N16 | 0.150742 | C16 | -0.000788 |
| C17 | -0.385504 | C17 | -0.214106 | C17 | 0.113719 |
| C18 | 0.896123 | C18 | 0.455121 | C18 | -0.246988 |
| C19 | -0.124304 | C19 | -0.336813 | C19 | -0.729281 |
| C20 | 0.092985 | C20 | 0.109686 | O20 | -0.448109 |
| C21 | 0.664299 | C21 | 0.576250 | C21 | -0.147889 |
| C22 | -0.661287 | C22 | -0.647344 | O22 | -0.513080 |
| C23 | -1.205029 | C23 | -0.791929 | O23 | -0.513080 |
| O24 | -0.527154 | O24 | -0.526641 | O24 | -0.448109 |
| O25 | -0.328667 | O25 | -0.325257 | C25 | -0.147893 |
| C26 | -0.214647 | C26 | -0.219446 | O26 | -0.391098 |
| O27 | -0.340297 | O27 | -0.375849 | O27 | -0.391095 |
| C28 | -0.190425 | C28 | 0.042562 | H28 | 0.001359 |
| C29 | -0.240813 | C29 | 0.396595 | H29 | 0.168545 |
| C30 | 0.215709 | O30 | -0.374897 | H30 | 0.091388 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C31 | 0.542006 | C31 | -0.497735 | H31 | 0.151614 |
| O32 | -0.383250 | O32 | -0.389374 | H32 | 0.014248 |
| O33 | -0.308475 | H33 | 0.161980 | H33 | 0.201838 |
| C34 | -0.590039 | H34 | 0.173706 | H34 | 0.200067 |
| C35 | -0.755668 | | | | |
| H36 | 0.217695 | | | | |
| H37 | 0.049691 | | | | |

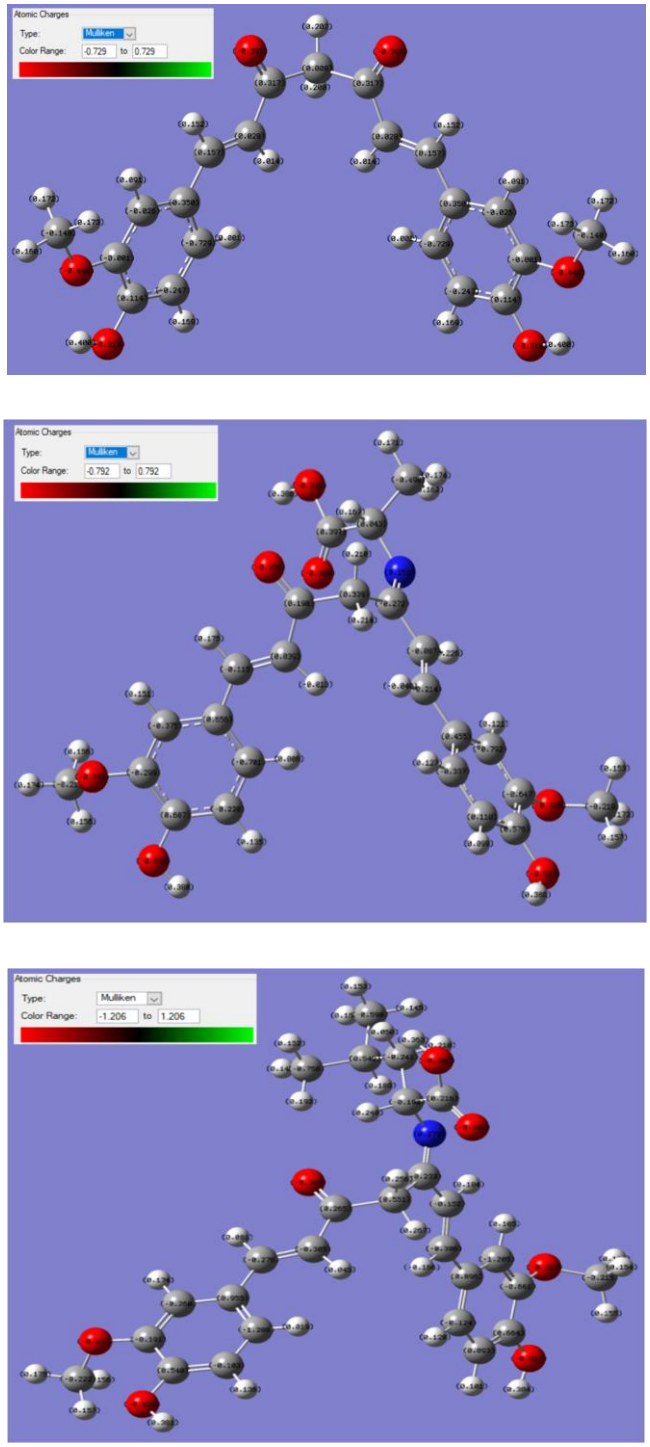



**Figure III.C.2.** Distribution des charges atomiques de Mulliken calculées par B3LYP/6-31++G (d,p).

### III.C.4. Moment dipolaire

Le moment dipolaire d'un composé est une propriété électronique importante résultant de la distribution non uniforme des charges sur les différents atomes. Il fournit des

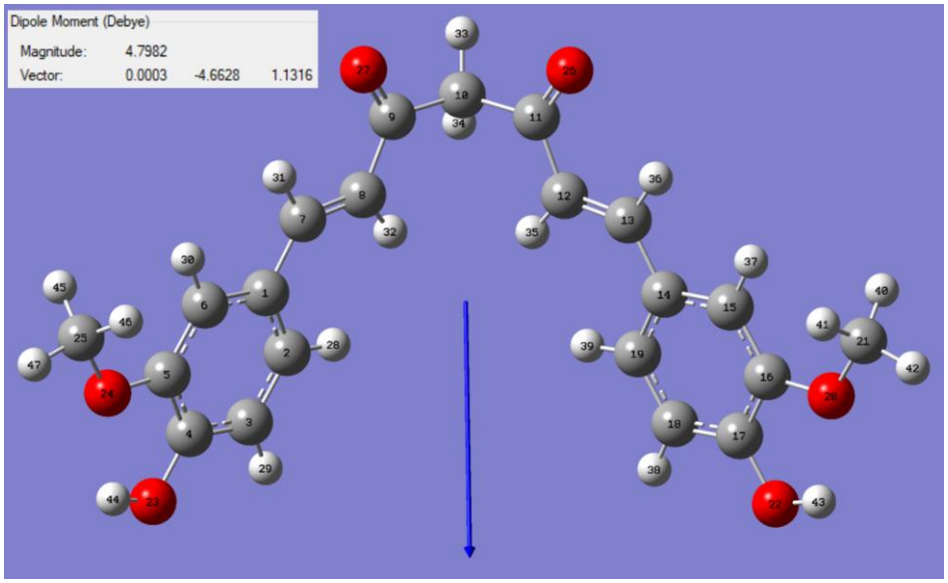
informations sur la réactivité et la polarité d'une molécule et reflète la distribution des charges moléculaires. Il est donné sous forme de vecteur en trois dimensions et peut donc être utilisé comme descripteur pour décrire le mouvement des charges à travers la molécule. Le moment dipolaire total peut être calculé à l'aide de l'équation suivante :

$\mu_{tot} = ( \mu_x^2 + \mu_y^2 + \mu_z^2 )^{½}$ *(1)*

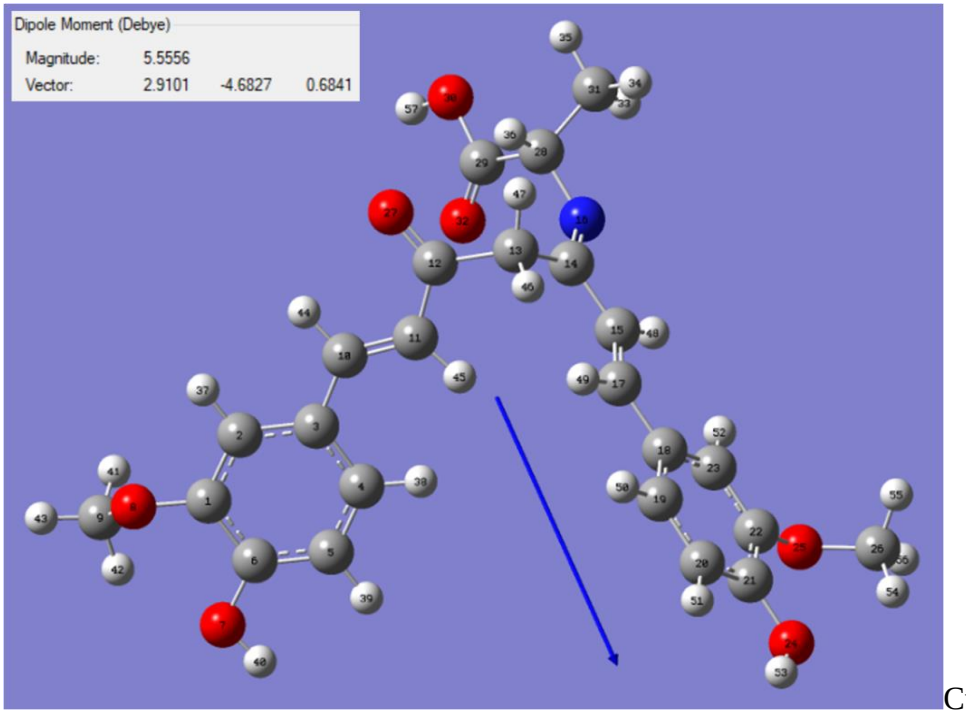
Le tableau 7 montre les composantes du moment {$\mu_i$ (i = x, y, z)} et le moment dipolaire total $\mu_{tot}$ pour les trois composés Cur, Cur-Ala et Cur-Leu. D'après le tableau 7, la valeur calculée du moment dipolaire pour Cur-Ala (5,5555 D) est supérieure à celle de Cur (4,7981 D) mais inférieure à la valeur calculée pour Cur-Leu (7,9229D). Cette variation peut être expliquée par la différence d'électronégativité causée par les atomes d'oxygène et par la différence d'électropositivité entre les trois molécules. Les résultats obtenus montrent que les bases de Schiff étudiées possèdent une polarité élevée par rapport au Cur. Cette polarité leur permet d'interagir avec les milieux environnants de manière plus importante que la Cur. La plus grande valeur du moment dipolaire est observée pour le composant $\mu_y$ pour le Cur-Leu ($\mu_y$ 5,9306D), $\mu_x$ ($\mu_x$ 2.9100D) pour Cur-Ala et $\mu_z$ ($\mu_z$ 1.1316D) pour la Cur (Figure III.C.3).

**Tableau III.C.5.** Calculs par B3LYP/6-31G++ (d, p) des moments dipolaires électriques (Debye) pour la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu.

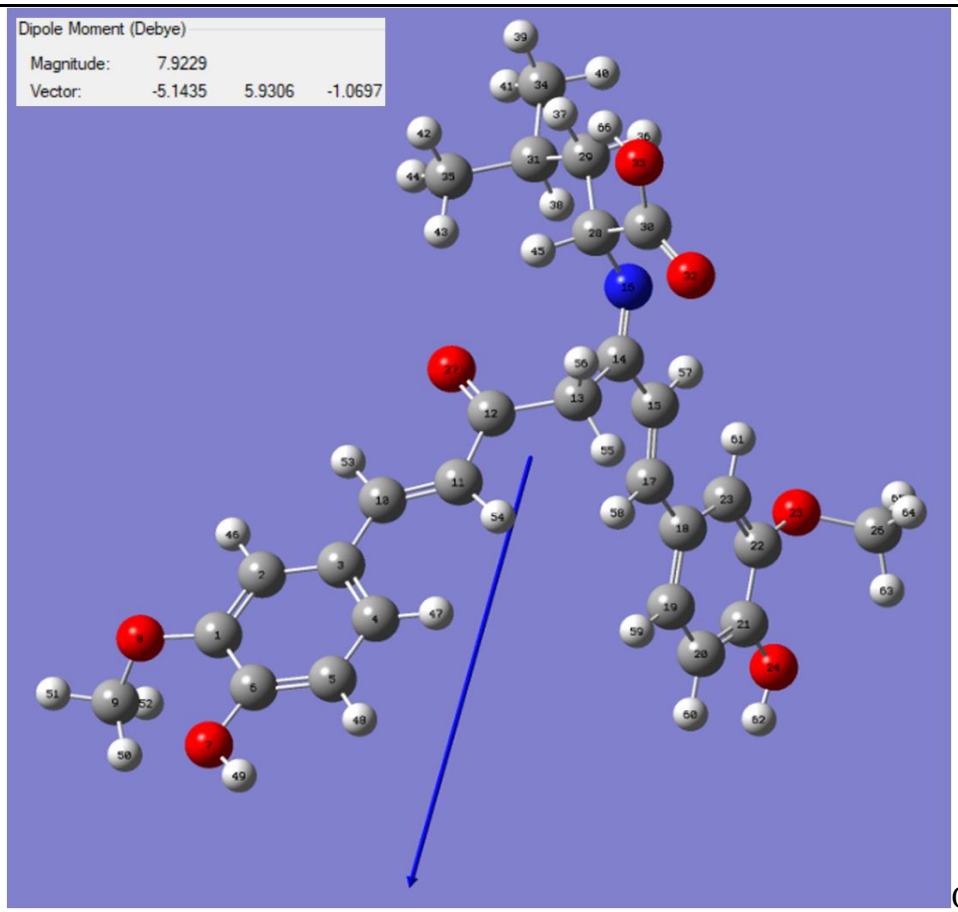
| **Parameters** | **Cur** | **Cur-Ala** | **Cur-Leu** |
|---|---|---|---|
| $\mu_x$ | 0.0003 | 2.9100 | -5,1435 |
| $\mu_y$ | -4.6627 | -4.6826 | 5,9306 |
| $\mu_z$ | 1.1316 | 0.6841 | -1,0697 |
| **$\mu_{tot}$** | 4.7981 | 5.5555 | 7,9229 |


Dipole Moment (Debye)
Magnitude: 4.7982
Vector: 0.0003 -4.6628 1.1316

Cur


Dipole Moment (Debye)
Magnitude: 5.5556
Vector: 2.9101 -4.6827 0.6841

Cur-Ala

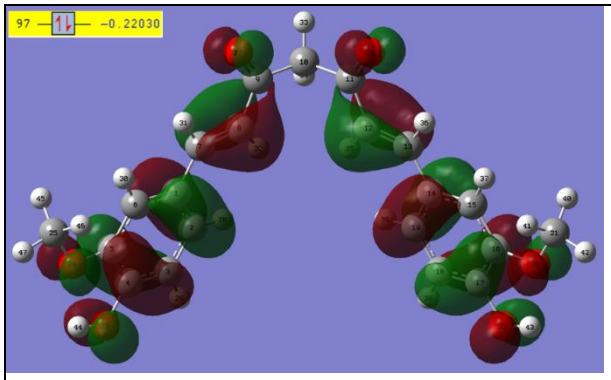



Cur-Leu

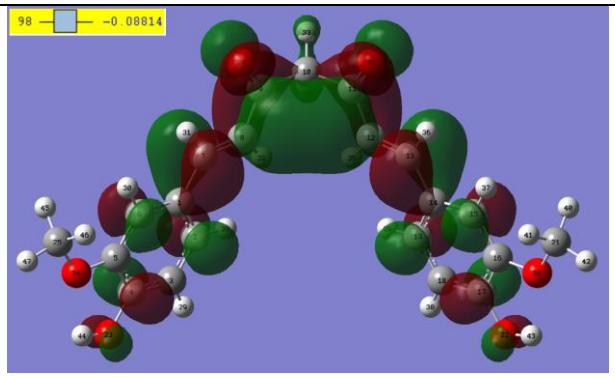
**Figure III.C.3.** Moments dipolaires de Cur, Cur-Ala et Cur-Leu calculés au niveau B3LYP/6-31++G(d,p).

**III.C.5. Les orbitales moléculaires**

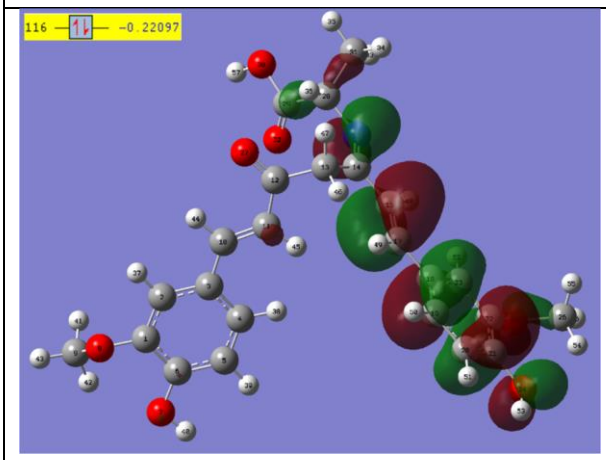
Les orbitales moléculaires frontières (FMO) sont des orbitales cruciales pour une molécule. Les orbitales moléculaires HOMO et LUMO d'une molécule jouent un rôle très important dans les propriétés optiques et électroniques, la chimie quantique, les mécanismes biologiques [9–12], en ce qui concerne les réactions chimiques, les propriétés électriques et optiques. L'HOMO représente la capacité de don d'électrons d'une espèce chimique, tandis que le LUMO est la capacité d'acceptation d'électrons [13–15]. L'HOMO et le LUMO sont les principales orbitales qui participent à la stabilité chimique et qui nous renseignent sur la stabilité cinétique et la réactivité chimique de la molécule. L'orbitale moléculaire la plus occupée (HOMO) et l'orbitale moléculaire inoccupée la plus basse (LUMO) sont calculées par la méthode de la théorie fonctionnelle de la densité (DFT) avec la corrélation fonctionnelle (B3LYP)/6-31G++(d,p). Sur la base de la structure optimisée, les surfaces de HOMO et LUMO de Cur, Cur-Ala et Cur-Leu ont été présentées dans la Figure III.C.4. Les zones rouges et vertes dans la Figure III.C.4 expriment des MOs avec des phases complètement opposées. La phase positive est exprimée par la couleur rouge tandis que la couleur verte correspond à la phase négative. Il est clair que les niveaux HOMO et LUMO sont principalement distribués sur le système $\pi$ de la molécule Cur. Dans le cas des molécules Cur-Ala et Cur-Leu, on peut voir que l'HOMO est situé presque dans la moitié de la molécule qui admet la base de Schiff, tandis que le LUMO est situé principalement dans l'autre moitié de la molécule.



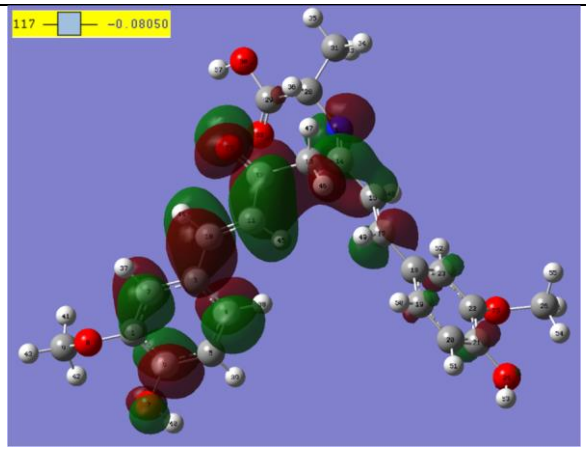

HOMO$_{Cur}$



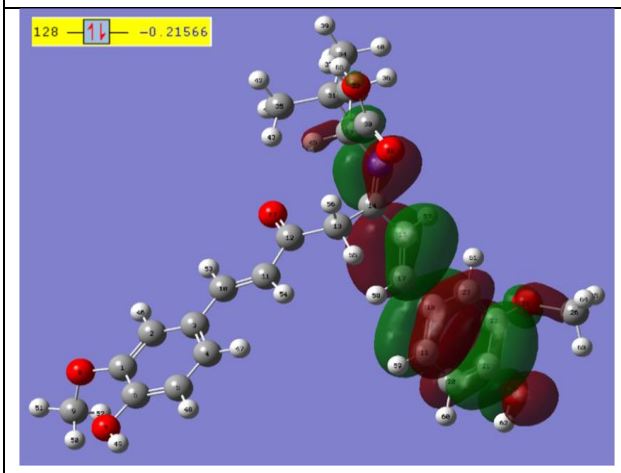

LUMO$_{Cur}$



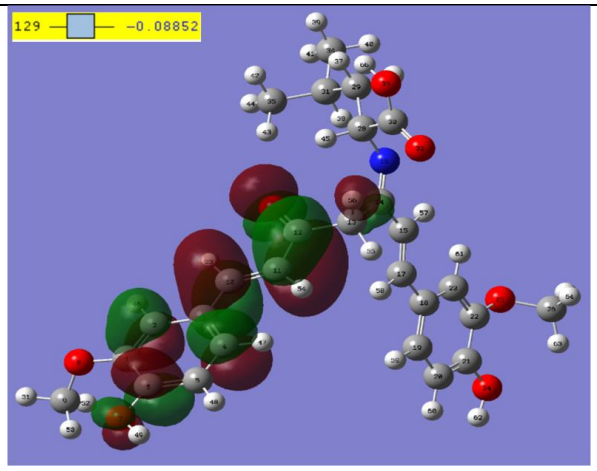

HOMO$_{Cur\text{-}Ala}$




LUMO$_{Cur\text{-}Ala}$




HOMO$_{Cur\text{-}Leu}$




LUMO$_{Cur\text{-}Leu}$

**Figure III.C.4.** Orbitales moléculaires HOMO-LUMO de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu calculés au niveau B3LYP/6-31G++(d,p).

Les énergies HOMO et LUMO indiquent la capacité d'un composé à donner et à recevoir des électrons. Des valeurs plus faibles de LUMO conduisent la molécule à accepter des électrons, tandis que des valeurs élevées d'$E_{HOMO}$ conduisent la molécule à donner des

électrons. Selon le tableau III.C.6, Cur-Leu est la molécule la plus adaptée pour accepter des électrons ($E_{LUMO}$ = -0,08852 a.u.) par rapport à la Cur ($E_{LUMO}$ = -0.08814 a.u.) et au Cur-Ala ($E_{LUMO}$ = -0.08050 a.u.), de même qu'elle est la plus adaptée pour donner des électrons ($E_{HOMO}$ = -0,21566 a.u.) par rapport à la Cur ($E_{HOMO}$ = -0.22030 a.u.) et au Cur-Ala ($E_{HOMO}$ = -0.22097 a.u.). Le gap énergétique ou l'écart énergétique ($\Delta E = E_{HOMO}-E_{LUMO}$) est un paramètre important pour la réactivité chimique et la stabilité structurelle. Une valeur élevée de l'écart énergétique rend la molécule plus stable chimiquement et moins réactive, tandis qu'une valeur plus faible de $\Delta E$ la rend plus réactive et moins stable. Les résultats du tableau III.C.6 indiquent que l'écart énergétique des molécules Cur-Leu, Cur et Cur-Ala est de 0,12714 u.a., 0,13216 u.a. et 0,14047 u.a., respectivement. La valeur inférieure de l'écart énergétique HOMO et LUMO montre que la base de Schiff Cur-Ala présente une stabilité élevée et une faible réactivité chimique que celles de la Cur et Cur-Leu.

**Tableau III.C.6.** $E_{HOMO}$, $E_{LUMO}$, écart énergétique et propriétés moléculaires associées de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu calculés par l'ensemble de base B3LYP/6-31++G(d,p)

| **Énergies moléculaires (*a.u.*)** | **Cur** | **Cur-Ala** | **Cur-Leu** |
|---|---|---|---|
| $E_{LUMO}$ | -0.08814 | -0.08050 | -0,08852 |
| $E_{HOMO}$ | -0.22030 | -0.22097 | -0,21566 |
| Écart énergétique (Δ) | 0,13216 | 0,14047 | 0,12714 |
| Potentiel d'ionisation (I) | 0,2203 | 0,22097 | 0,21566 |
| Affinité des électrons (A) | 0,08814 | 0,0805 | 0,08852 |
| Dureté globale (η) | 0,06608 | 0,070235 | 0,06357 |
| Douceur globale (S) | 7,566585956 | 7,11895778 | 7,86534529 |
| Potentiel chimique (μ) | -0,15422 | -0,150735 | -0,15209 |
| Electrophilicité (ω) | 0,179962231 | 0,16175013 | 0,1819362 |
| Electronégativité (χ) | 0,15422 | 0,150735 | 0,15209 |

### III.C.6. Descripteurs de réactivité globale

La stabilité et la réactivité du système moléculaire peuvent être prédites par des descripteurs de réactivité globale [16]. De plus, les descripteurs de réactivité chimique globale des molécules étudiées tels que l'affinité électronique (AE), le potentiel d'ionisation (IP), la douceur chimique (S), le potentiel chimique (μ), l'indice d'électrophilie (ω) et la dureté chimique (η) ont été réalisés à l'aide de l'énergie des orbitales HOMO et LUMO. Les

descripteurs de la réactivité chimique et de la stabilité des molécules basés sur la DFT ont été calculés par rapport aux équations (2)-(7) selon le théorème de Koopman [17] :

$$IP = -E_{HOMO} \qquad (2)$$

$$EA = -E_{LUMO} \qquad (3)$$

$$\eta = E_{LUMO} - E_{HOMO} \qquad (4)$$

$$\omega = \mu^2 / 2\eta \qquad (5)$$

$$\mu = (E_{HOMO} + E_{LUMO}) / 2 \qquad (6)$$

$$\chi = -\mu = (IP + EA) / 2 \qquad (7)$$

Les valeurs calculées des potentiels d'ionisation, des affinités électroniques, de la dureté chimique, du potentiel chimique ainsi que de l'indice d'électrophilie et de la douceur chimique des molécules étudiées sont présentées dans le Tableau III.C.6 Le potentiel d'ionisation (IP) et l'affinité électronique (EA) d'une espèce chimique fournissent des informations importantes sur sa capacité à donner ou à accepter une charge. Le potentiel d'ionisation d'un composé est l'énergie minimale qu'il faut lui donner pour arracher un électron. L'affinité électronique représente la tendance d'un atome ou d'une molécule neutre à accepter un électron supplémentaire. Une faible valeur des potentiels d'ionisation reflète un bon caractère à céder des électrons, tandis qu'une valeur élevée de l'affinité électronique reflète un bon caractère à accepter des électrons. Dans les approches de la théorie des orbitales moléculaires simples, le potentiel d'ionisation (IP) est lié à l'énergie HOMO ($E_{HOMO}$) par le théorème de Koopmanns et l'énergie LUMO ($E_{LUMO}$) a été utilisée pour estimer l'affinité électronique (EA) [17].

Selon le Tableau III.C.6, l'IP de Cur-Leu (0,21566 u.a.) est inférieur à celles de la Cur (0,2203 u.a.) et à la Cur-Ala (0,22097 u.a.). On peut dire que la base de Schiff Cur-Ala nécessite plus d'énergie pour arracher un électron dans l'état fondamental par rapport à la Cur et à la Cur-Leu. Dans le cas de l'affinité électronique, l'EA de la Cur-Leu (0,08852 u.a.) est supérieur à celles de la Cur (0,08814 u.a.) et à la Cur-Ala (0,0805 u.a.), on peut donc dire que Cur-Leu présente un meilleur effet électro-accepteur que la Cur et Cur-Ala, ceci est dû au fait que Cur-Ala et Cur présentent moins d'énergie (EA) pour accepter un électron à l'état fondamental par rapport à la Cur-Leu.

La dureté chimique (η) et la douceur (S) sont des propriétés importantes pour interpréter la stabilité et la réactivité des molécules. La dureté chimique signifie la résistance au changement de la distribution des électrons ou du transfert de charge. La dureté globale (η)

qui est égale à la moitié de l'écart énergétique HOMO-LUMO peut être considérée comme un critère de stabilité important. Une grande valeur de η implique généralement une grande stabilité et une faible réactivité chimique. Les molécules molles à faible écart énergétique sont favorables à une réaction facile, tandis que les molécules dures sont plus stables et moins réactives. Selon les résultats du Tableau III.C.6, Cur-Ala (η = 0,070235 u.a.) semble être plus stable que Cur (η = 0,06608 u.a.) et plus stable aussi que la molécule Cur-Leu (η = 0,06357 u.a.). Cur-Ala présente une valeur de dureté plus élevée que celles de la Cur et Cur-Leu. Par conséquent, Cur et Cur-Leu réagissent plus facilement avec d'autres systèmes par rapport à la Cur-Ala.

L'indice d'électrophilie (ω) est un paramètre important pour étudier la réactivité des molécules organiques qui participent à des réactions polaires [18]. L'indice d'électrophilie (ω) mesure la tendance d'une espèce à recevoir des électrons. L'indice d'électrophilie global correspond à la stabilisation de l'énergie lorsque le système reçoit une charge électronique supplémentaire de l'environnement [19]. Une valeur élevée de (ω) révèle que le composant est un bon électrophile et à l'inverse une valeur faible de (ω) révèle que le composant est un bon nucléophile. Selon le Tableau III.C.6, Cur-Leu a une valeur d'indice d'électrophilie plus élevée (0,1819362 u.a.) par rapport à la Cur (0,17996 u.a.) et Cur-Ala (0,16175 u.a.). Puisque $\omega_{Cur\text{-}Leu} > \omega_{Cur} > \omega_{Cur\text{-}Ala}$, nous constatons que Cur-Leu a une plus grande capacité d'acceptation des électrons que la Cur et Cur-Ala. Ce résultat est en bon accord avec la prédiction (EA). Cur et Cur-Ala (avec les deux cycles benzéniques latéraux) ont une réactivité élevée en raison du caractère électrophile des deux cycles phényles et du caractère nucléophile des atomes d'oxygène et d'azote (Cur-Ala). Les doubles liaisons carbone-oxygène et carbone-azote sont facilement attaquées par une variété de molécules électrophiles et nucléophiles.

Le potentiel chimique (IP) reflète la tendance des électrons à fuir d'un système en équilibre. Plus le potentiel électronique d'un composé est élevé, moins il est stable ou plus il est réactif [20]. Le Tableau III.C.6 révèle que le potentiel chimique de Cur-Ala (-0,15073 u.a.) est plus élevé que celui de Cur (-0,15422 u.a.) et de la Cur-Leu (-0,15209 u.a.). Ceci est en accord étroit avec les valeurs prédites de la dureté globale. L'électronégativité d'une molécule est définie comme la valeur négative de son potentiel chimique [21–24] (Pauling, 1960) et la valeur moyenne des énergies HOMO et LUMO est liée à l'électronégativité (v) définie par Mulliken [25]. L'électronégativité mesure le pouvoir d'un atome d'attirer les électrons vers lui. Le Tableau III.C.6 montre que Cur-Ala a une valeur d'électronégativité inférieure (0,150735 a.u.) à celle de Cur (0,15422 a.u.), donc Cur est considéré comme le meilleur attracteur d'électrons par rapport à Cur-Ala. Ce résultat est en bon accord avec le calcul (EA).

**III.C.7. Propriétés optiques non linéaires**

Les applications évolutives de la modulation électro-optique, du mélange de fréquences, de la génération d'harmoniques et de l'amélioration des débits de données liés à la technologie de la communication potentielle, nécessitent des recherches pour aboutir à des matériaux ayant de bonnes propriétés optiques non linéaires (ONL) [26–28]. La structure moléculaire, qui dispose de groupements donneurs et accepteurs à des emplacements appropriés, est la principale caractéristique de l'ONL, qui peut être encore optimisée en étendant la conjugaison p [15,29]. Le calcul théorique joue un rôle important dans la compréhension de la relation structure-propriété qui est capable d'aider à la conception de nouveaux matériaux NLO. L'effet NLO peut également être associé à la structure de type "push-pull".

Comme prévu, les meilleurs donateurs interagissent avec les meilleurs accepteurs conduisant aux fortes liaisons hydrogène mentionnées. Pour les matériaux organiques NLO, des études théoriques et expérimentales sont réalisées afin de comprendre les effets microscopiques origine du comportement non linéaire (Albota et al., 1998 ; Krishnan et al., 1980). Les paramètres de l'ONL en ce qui concerne les molécules Cur, Cur-Ala et Cur-Leu ont été calculés au niveau de la théorie B3LYP et de l'ensemble de base 6-31G++ (d,p) afin de déterminer leur intérêt en tant que matériaux de l'ONL. Certains descripteurs de la chimie quantique tel que la polarisabilité moyenne (α), l'anisotropie de la polarisabilité (Δα) ainsi que la valeur moyenne de la première hyperpolarisabilité <β> ont été exploités pour comprendre les propriétés ONL dans de multiples études computationnelles[30] [7].

La polarisabilité isotrope ($\beta_{tot}$), hyperpolarisabilité de premier ordre (α) tenseur, peut être obtenu à l'aide des équations suivantes :

$$<\alpha> = 1/3(\alpha_{xx}+ \alpha_{yy}+ \alpha_{zz}) \quad (8)$$

$$\Delta\alpha = 1/\sqrt{2}[(\alpha_{xx}- \alpha_{yy})^2 + (\alpha_{xx}- \alpha_{zz})^2 +(\alpha_{yy}- \alpha_{zz})^2 + 6\alpha^2_{xz}+ 6\alpha^2_{xy}+ 6\alpha^2_{yz} ]^{1/2} \quad (9)$$

$$<\beta_{tot}>= [( \beta_{xxx}+ \beta_{xyy}+\beta_{xzz})^2 + ( \beta_{yyy}+ \beta_{yzz}+\beta_{yxx})^2 +( \beta_{zzz}+ \beta_{zxx}+\beta_{zyy})^2]^{1/2} \quad (10)$$

**Tableau III.C.7.** la Polarisabilité et la première hyperpolarisabilité de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu par DFT/B3LYP6-31G++(d,p).

| Parameters | Cur | Cur-Ala | Cur-Leu |
|---|---|---|---|
| $\alpha_{xx}$ | -105.5414 | -169.1978 | -192.1427 |
| $\alpha_{yy}$ | -195.4289 | -171.5459 | -179.1515 |
| $\alpha_{zz}$ | -148.0654 | -188.7550 | -218.9946 |
| $\alpha_{xz}$ | 0.0013 | 23.8002 | 15.6769 |
| $\alpha_{yz}$ | -14.3390 | -3.3728 | -21.1938 |
| $\alpha_{xy}$ | 0.0015 | -6.1979 | -13.0943 |
| <α>(a.u.) | **-149,6785** | **−176.4995** | **−196.7629** |
| <α>(e.s.u.) | **$-2{,}2182\times10^{-23}$** | **$-2{,}6157\times10^{-23}$** | **$-2{,}9160\times10^{-23}$** |
| Δα(a.u.) | **81,7465** | **46.8059** | **61.9503** |
| Δα(e.s.u.) | **$1{,}2114\times10^{-23}$** | **$6{,}9366\times10^{-24}$** | **$9.1810\times10^{-24}$** |
| | | | |
| $\beta_{XXX}$ | -0.0437 | 72.4745 | -102.2298 |
| $\beta_{XXY}$ | -57.5424 | -55.2262 | 179.6650 |
| $\beta_{XYY}$ | 0.0160 | 40.3889 | 19.9196 |
| $\beta_{YYY}$ | -136.7436 | -102.8991 | 150.4276 |
| $\beta_{XXZ}$ | 245.6147 | -69.6682 | -85.1750 |
| $\beta_{XYZ}$ | -0.0061 | -55.4619 | -52.3694 |
| $\beta_{YYZ}$ | -29.5560 | -33.9990 | 15.3200 |
| $\beta_{XZZ}$ | 0.0113 | 14.9367 | -130.9633 |
| $\beta_{YZZ}$ | -11.9264 | -20.5488 | 70.0420 |
| $\beta_{ZZZ}$ | 33.4463 | -16.5443 | 38.4004 |
| $\beta_{TOTAL}$(a.u.) | **323,6916** | **250.4158** | **454.5136** |
| $\beta_{TOTAL}$(e.s.u.) | **$2{,}7964\times10^{-30}$** | **$2{,}1634\times10^{-30}$** | **$3{,}9266\times10^{-30}$** |
| Urea (e.s.u.) | **$1.947\text{x}10^{-31}$** | | |

La première hyperpolarisabilité est un tenseur de troisième rang qui peut être représenté par des 3×3×3 matrices. Les 27 composants de la matrice 3D peut être réduite à 10 composants en raison de la symétrie de Kleinman (Powell, 2010). La sortie gaussienne 09 fournit 10 composantes de cette matrice comme βxxx, βxxy, βxyy, βyyy, βxxz, βxyz, βyyz, βxzz, βyzz, βzzz, respectivement. Les valeurs des polarisations (α), l'anisotropie de la

polarisabilité (Δα) et de l'hyperpolarisabilité de premier ordre (β) sont exprimées en unités atomiques (u.a.), puis elles ont été traduites en unités électrostatiques (esu) (α : 1 a.u. = 0,1482 $\times 10^{-24}$ esu ; β : 1 a.u. = 8,6393 $\times 10^{-33}$esu) [8]. Les composantes calculées sont énumérées dans le tableau Tableau III.C.6. La valeur calculée de α concernant la molécule Cur (-149,6785 a.u. et -2,2182$\times 10^{-23}$e.s.u.) est plus élevée par rapport à celles du Cur-Ala (−176.4995 a.u. et -2,6157$\times 10^{-23}$ e.s.u.) et de Cur-Leu (−196.7629 a.u. et -2,9160$\times 10^{-23}$ e.s.u.). La même chose pour Δα, la valeur calculée de Δα concernant la molécule Cur (81,7465 a.u. et 1,2114$\times 10^{-23}$ e.s.u.) est plus élevée par rapport à celles du Cur-Leu (61.9503 a.u. et 9.1810$\times 10^{-24}$ e.s.u.) et du Cur-Ala (46.8059 a.u. et 6,9366$\times 10^{-24}$ e.s.u.).

La première valeur d'hyperpolarisabilité $\beta_{tot}$ de la Cur-Leu (**454.5136** a.u. et **3,9266×10$^{-30}$** e.s.u.) est plus élevée par rapport à celles de la Cur (**323,6916** a.u. et **2,7964×10$^{-30}$** e.s.u.) et de la Cur-Ala (**250.4158** a.u. et **2,1634×10$^{-30}$** e.s.u.). L'urée est l'une parmi les molécules de référence employées dans l'étude des propriétés d'OLN des systèmes moléculaires. Elle est donc souvent employée comme valeur seuil à des buts comparatifs. La polarisation moyenne, l'anisotropie de la polarisation et l'hyperpolarisabilité de premier ordre pour la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu sont plus importantes que celles de l'urée ($\beta_{tot}$ de l'urée est de 1.947 $\times 10^{-31}$ e.s.u. obtenu par la méthode B3LYP/6-31G(d,p). L'hyperpolarisabilité statique de premier ordre de la molécule CUR est ∼14 fois supérieure à celle de l'urée. La valeur βtotal calculée pour le Cur-Ala se révèle presque 11 fois supérieures à la valeur βtotal de l'urée, la βtotal pour la Cur-Leu est ∼20 fois supérieure à celle de l'urée. Les résultats révèlent que la molécule Cur-Leu présente la meilleure propriétés NLO par rapport à la molécule Cur et à la Cur-Ala , ainsi qu'ils possèdent tous les trois de meilleures propriétés NLO que le composé de référence l'urée. Donc on peut constater que les trois composés Cur, Cur-Ala et Cur-Leu peuvent être employés comme de véritables candidats pour les matériaux NLO.

### III.C.8. Potentiel électrostatique moléculaire de surface

Le potentiel électrostatique de surface moléculaire (MESP) est considéré comme un outil important pour analyser les modèles de liaison ainsi que la réactivité moléculaire [31]. Il est exprimé sur la surface d'un composant par la distribution de la charge totale (électron + noyaux). Les surfaces MESP donnent également une méthode visuelle pour voir et interprète la polarité relative des molécules ainsi que l'emplacement des potentiels électrostatiques positifs et négatifs [32]. Les valeurs du potentiel électrostatique sont exprimées par les différents couleurs sur le Mapp du composant. Un potentiel électrostatique négatif reflète une attraction du proton par la forte densité d'électrons dans un composé dont la région est colorée

par le rouge, alors qu'un potentiel électrostatique positif reflète une répulsion du proton par les noyaux des atomes dans les régions à faible densité d'électrons où la charge nucléaire est incomplètement protégée. La surface bleu est caractéristique pour une zone à un potentiel électrostatique positif alors qu'un potentiel électrostatique neutre est corrélé par une surface verte [33]. L'étude de la surface MESP d'un composé est très nécessaire pour interpréter ses propriétés physicochimiques, Une région qui présente un potentiel électrostatique positif est attribuée aux attaques des nucléophiles, alors qu'une région à un potentiel électrostatique négatif est attribuée aux attaques des électrophiles.

Selon la Figure III.C.5, la Cur présente des zones à potentiel électrostatique négatif colorées par le rouge qui correspond aux atomes d'oxygène des groupements cétonique. Ces régions sont sensibles aux attaques des électrophiles. Le reste de la surface moléculaire présente un potentiel électrostatique neutre coloré en vert sauf les groupements CH3 latéraux et l'hydrogène des groupements hydroxyle latéraux qui présentent des zones à potentiel électrostatique positif colorée par le bleu et qui sont sensibles à l'attaques des nucléophiles. Le composé Cur-Ala présente des zones à potentiel électrostatique positif colorées par le bleu qui correspond aux atomes d'hydrogène des groupements hydroxyles latéraux. Ces régions sont sensibles aux attaques des nucléophiles. Le groupement cétonique du Cur-Ala présente un potentiel électrostatique moins négatif (colorées en orange) que celui de la Cur, le groupement carboxyle du Cur-Ala présente aussi un potentiel électrostatique négatif coloré par l'orange, cette région est sensible aux attaques des électrophiles. Le composé Cur-Leu présente des zones à potentiel électrostatique positif colorées par le bleu qui correspond aux atomes d'hydrogène des groupements hydroxyles latéraux. Ces régions sont sensibles aux attaques des nucléophiles. Le groupement cétonique ainsi que le groupement carboxyle de la molécule Cur-Leu présentent un potentiel électrostatique moins négatif (colorées en orange) que celui de la Cur, ces régions sont sensibles aux attaques des électrophiles.

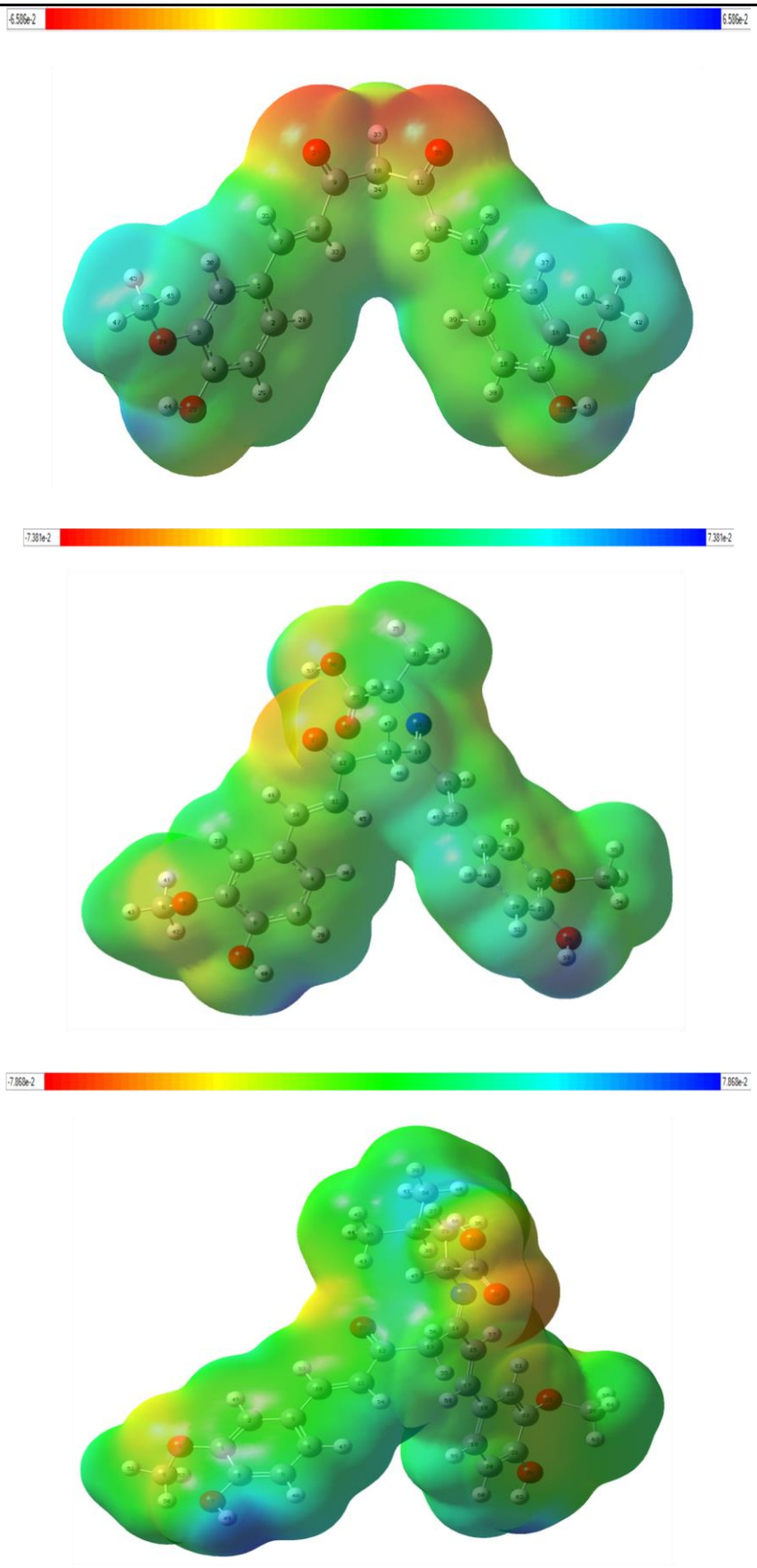



**Figure III.C.5.** Potentiel électrostatique moléculaire de surface pour la cur, Cur-Ala et Cur-Leu calculé au niveau B3LYP/6-31G++(d,p).

# *Partie D : Calculs théorique de la Curcumine et ses dérivés par Docking moléculaire*

## III.D.1. Introduction

La curcumine et ses dérivés [34] sont rapportés dans la littérature comme des substances ayant une activité anti-inflammatoire remarquable [35,36]. Des études montrent que la suppression de la fraction b-dicétone de la curcumine préserve ou renforce l'activité anti-inflammatoire de la molécule analogue [37,38]. Pour comprendre la relation entre l'activité biologique et le phénomène au niveau moléculaire, une étude in silico a été réalisée en choisissant comme cible la prostaglandine E synthase-1 microsomale (mPGES-1) qui représente une enzyme clé dans le phénomène de l'inflammation [39]. Il est rapporté que la mPGES-1 joue un rôle important dans de nombreuses maladies, telles que l'inflammation, la douleur, la fièvre, l'apnée, le cancer, l'arthrite, le gonflement, les troubles osseux, les accidents vasculaires cérébraux et la septicémie [40–46] . En revanche, l'inhibition de la mPGES-1 est proposée comme une alternative prometteuse et plus sûre aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) traditionnels [47].

## III.D.2. Étude par Docking moléculaire l'inhibition de la mPGES-1 par les composés Cur, Cur-Ala et Cur-Leu

L'étude in silico a été réalisée à l'aide du logiciel MVD qui a confirmé une excellente précision de Docking par rapport à d'autres logiciels de Docking moléculaire [48]. La structure de la protéine importée de la PDB est complexée avec son inhibiteur 4UK. Ce dernier est considéré comme une molécule inhibitrice de référence. Le 4UK (N-[4-(4-chlorophényl)-1H-imidazol-2-yl]-2-(difluorométhyl)-5-{[(2-méthylpropanoyl)amino] méthyl}benzamide) inhibe la mPGES-1 en se liant au site actif de la protéine cible. Il est donc utilisé pour localiser les coordonnées du site actif. La mPGES-1 est un homotrimère qui contient trois poches différentes situées à l'interface entre deux chaînes dans lesquelles une molécule de GSH est présente comme co-substrat. La cavité est petite, et elle est partiellement occupée par la molécule de GSH. Comme rapporté[49–53], le site actif est défini par Arg70, Arg110, Arg126, Ser127, Tyr130, Thr131, et Gln134 sur la chaîne A et Tyr28, Ile32, Arg38, Phe44, Asp49, et His53 sur la chaîne B. La structure de la protéine avec son site actif est montrée dans la Figure III.D.1.

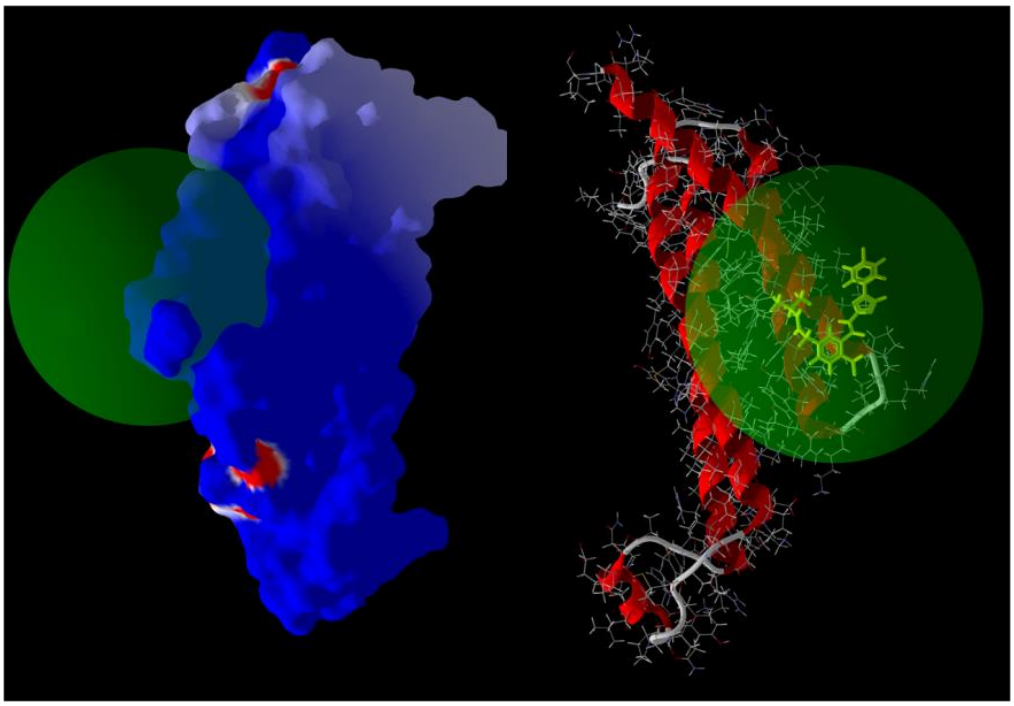


**Figure III.D.1.** La sphère verte définissant le site de liaison utilisé pour le docking moléculaire : coordonnées (13.08, 15.62, 30.17) ; rayon 15A°, protéine targuet (mPGES-1 ; PDB ID : 5BQH).

Tout d'abord, le processus de docking a été validé en extrayant la molécule de référence et en réalise un re-docking dans le site actif de la protéine. Les paramètres sont ajustés pour obtenir une valeur d'écart quadratique moyen (RMSD) inférieure à 2 Å [24]. Le logiciel de docking MVD a reproduit avec succès la même pose expérimentale pour le ligand de référence. Ce résultat indique que la méthode de docking utilisée est valable pour le lancement des autres molécules. La figure Figure III.D.2 montre la superposition de la pose de la molécule de référence re-dockée dans le site actif sur son conformère expérimental. Ensuite, le docking de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu a été réalisé.

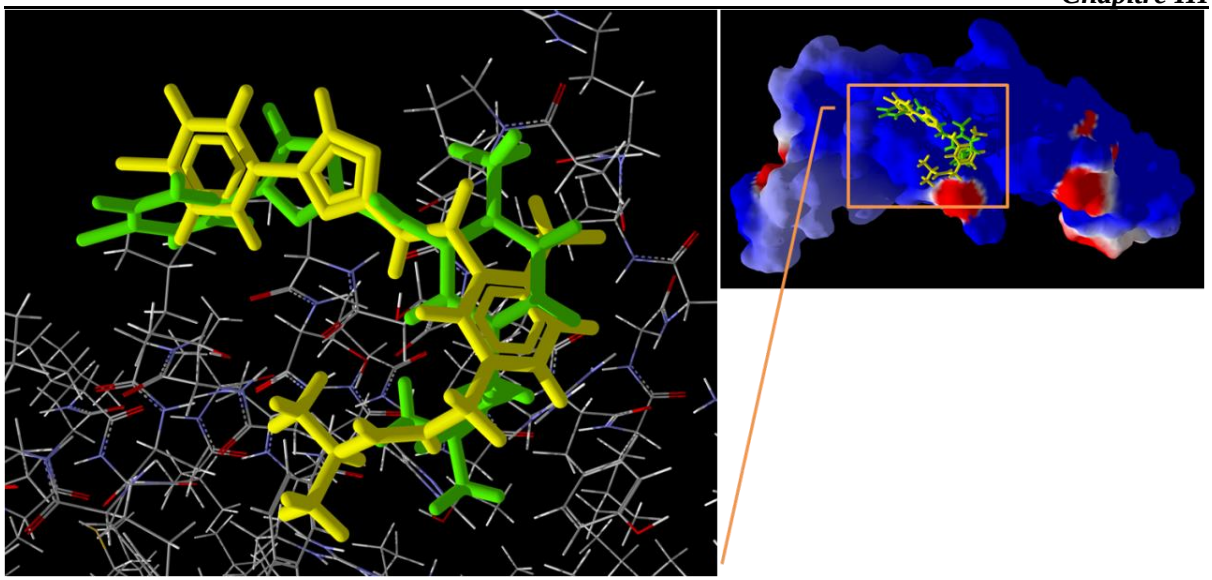


**Figure III.D.2.** Pose du re-docking de la molécule de référence (vert) superposée à la pose expérimentale (jaune) dans le site actif de la protéine cible mPGES-1 (PDB ID : 5BQH (RMSD 2A°).

Les résultats sont présentés dans le tableau III.D.1. Les poses d'amarrage sont classées en fonction du score MolDock puis du score Rerank pour plus de précision. Les valeurs du score MolDock sont comprises entre -56,647 Kcal/mol et -99,838 Kcal/mol. La valeur la plus négative reflète la conformation la plus stable [2]. La molécule Cur-Leu présente le meilleur score de docking (score MolDock = -99,838 Kcal/mol, score Rerank = -73,287 Kcal/mol), suivi par Cur-Ala (score MolDock = -81,415 Kcal/mol, score Rerank = -55,840 Kcal/mol) ensuite la Cur (score MolDock = -78,712 Kcal/mol, score Rerank = -61,768 Kcal/mol) et dans la dernière position la molécule de référence (4UK : score MolDock = -78,712 Kcal/mol, score Rerank = -61,768 Kcal/mol). La Cur, Cur-Ala et le Cur-Leu présentent des scores de docking nettement meilleurs que ceux obtenus pour la molécule de référence 4UK.

**Tableau III.D.1.** Scores de Docking (kcal/mol) et contribution des différents descripteurs d'énergie à l'interaction molécule-cible de la Cur, Cur-Ala et du Cur-Leu à travers la prostaglandine E synthase-1 microsomale (mPGES-1 ; PDB ID : 5BQH).

| Molecules | Score MolDock | Score ReRank | Energie H-Bond | Energie stérique (PLP) | Energie Stérique LJ 12-6 | Energie Electrostatique |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Molécule de référence** | -56,647 | -51,559 | -2,108 | -58,066 | -18,446 | 0,000 |
| **Cur** | -78,712 | -61,768 | -5,766 | -86,866 | -19,238 | 0,000 |
| **Cur-Ala** | -81,415 | -55,840 | -6,175 | -74,552 | -25,209 | 0,000 |
| **Cur-Leu** | -99,838 | -73,287 | -10,686 | -97,666 | -27,030 | 0,000 |

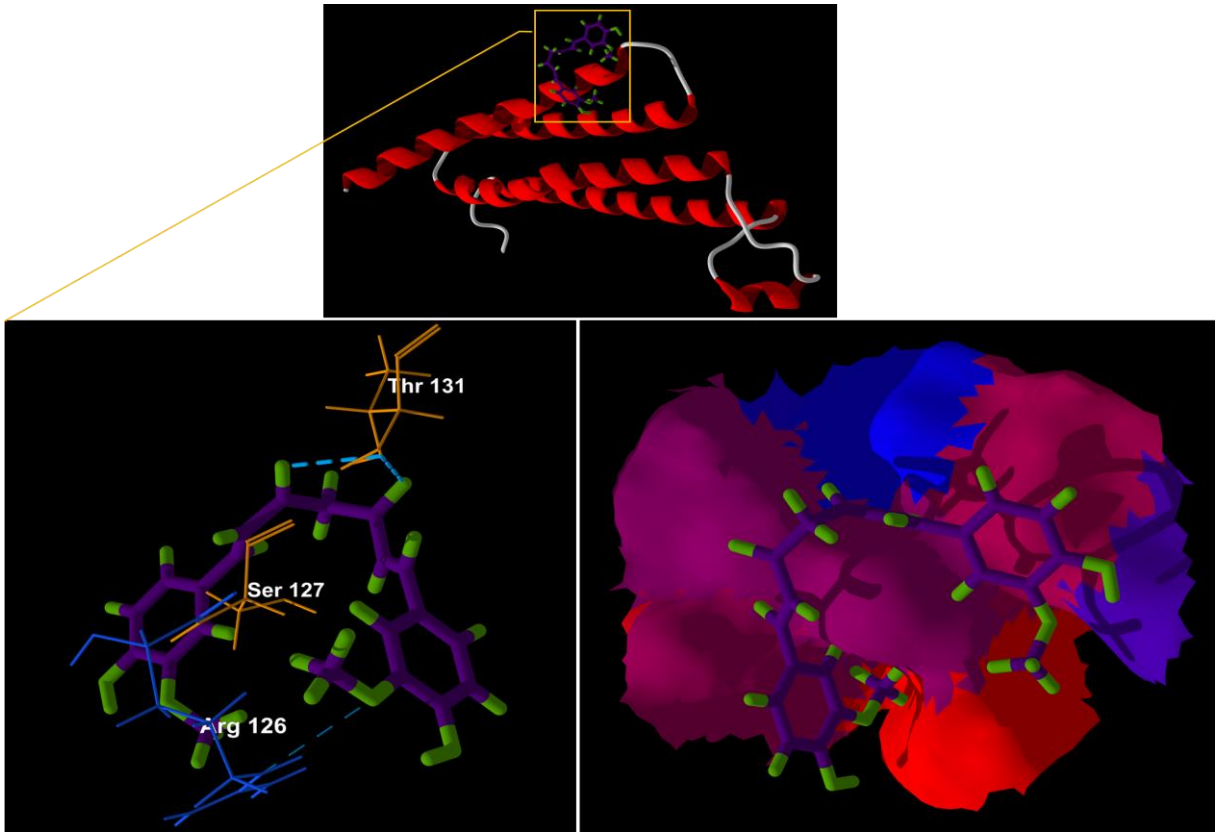



**Figure III.D.3.** Pose de la Cur dans le site actif de la mPGES-1, les interactions par les liaisons hydrogène sont présentées sous forme de lignes pointillées bleues (résidus d'interaction : Arg 126 et Thr 131).

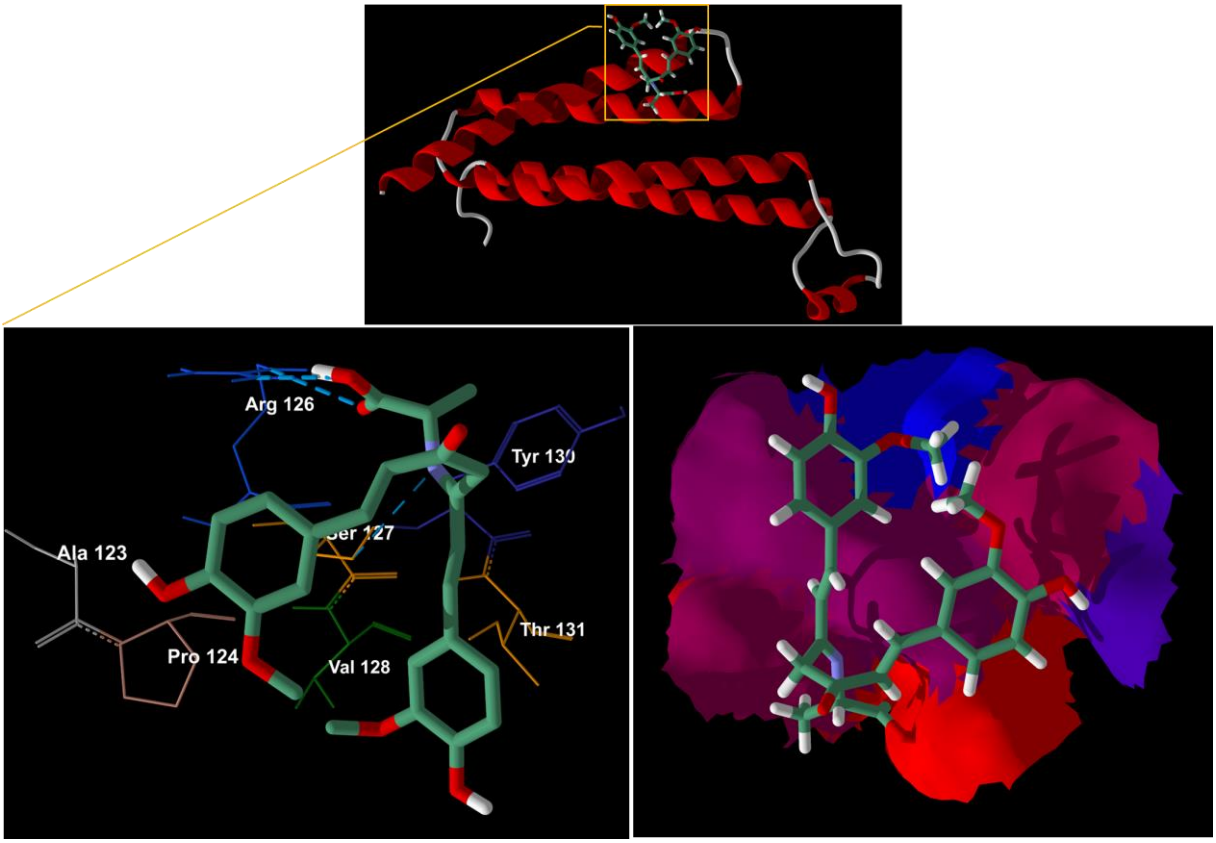



**Figure III.D.4.** Pose de la Cur-Ala dans le site actif de la mPGES-1, les interactions par les liaisons hydrogène sont présentées sous forme de lignes pointillées bleues (résidus d'interaction : Arg 126 et Ser 127).

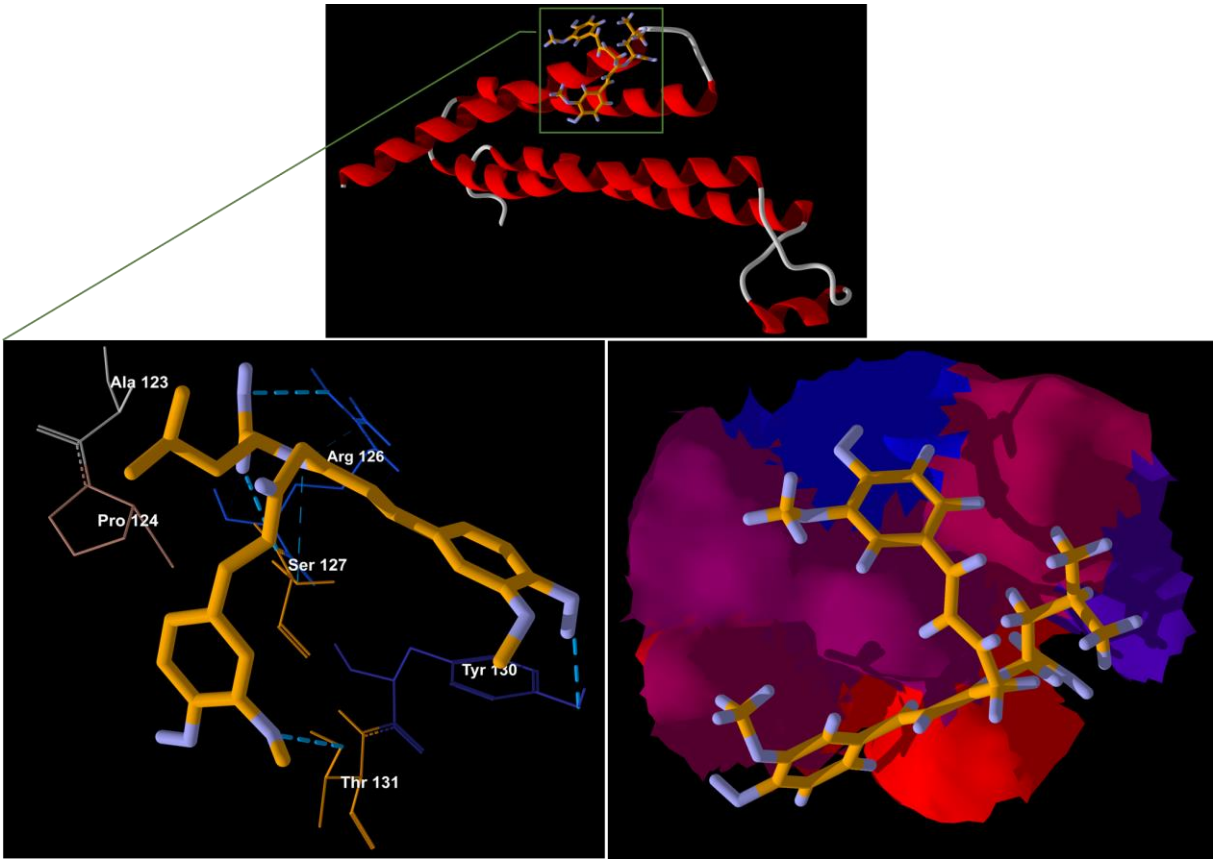



**Figure III.D.5.** Pose de la Cur-Leu dans le site actif de la mPGES-1, les interactions par les liaisons hydrogène sont présentées sous forme de lignes pointillées bleues (résidus d'interaction : Arg 126, Thr 131, Ser 127 et Tyr 130).

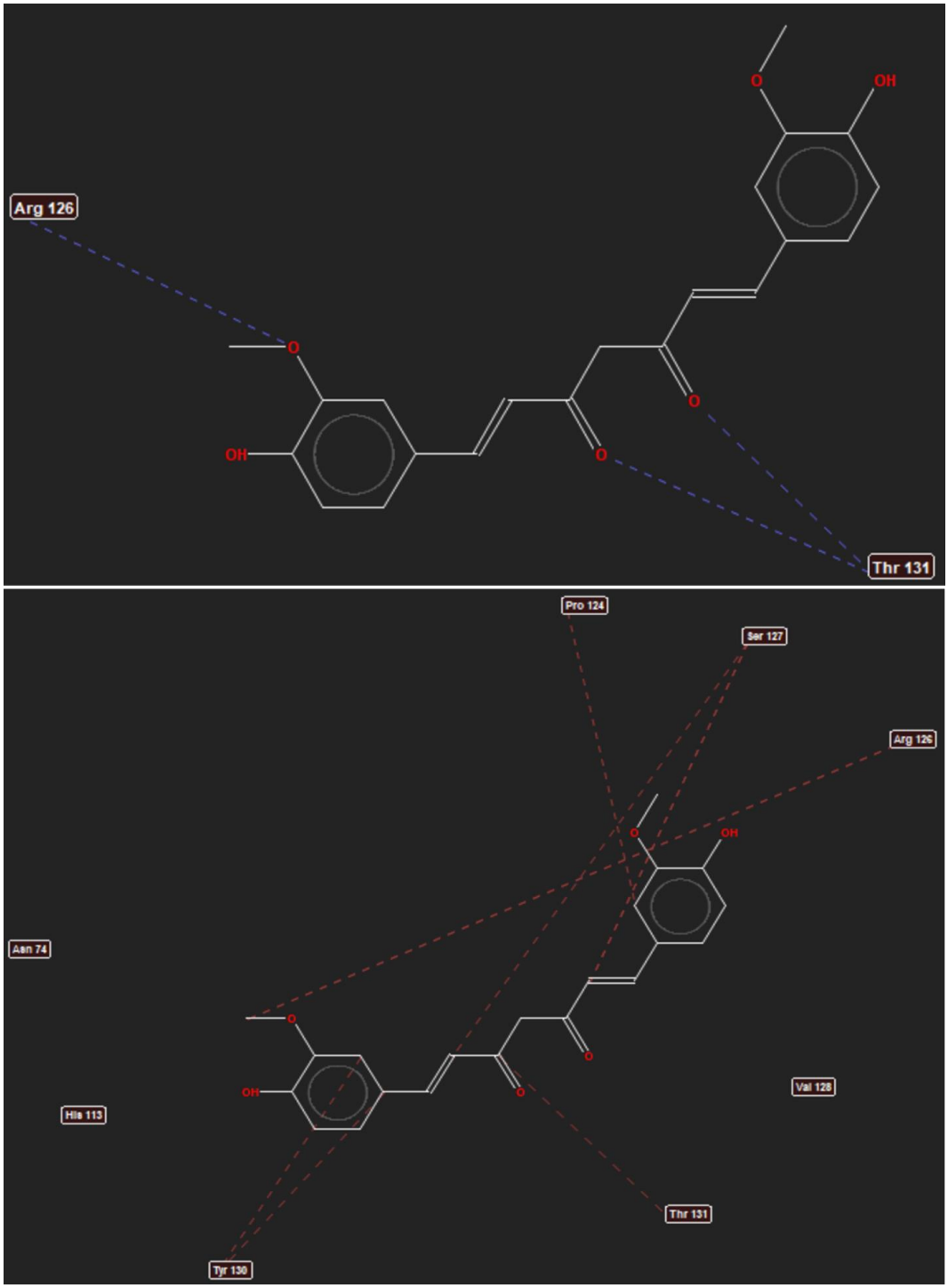



**Figure III.D.6.** Diagramme d'interaction entre la Cur et les résidus de la mPGES-1 : les interactions stériques sont représentées par des lignes pointillées rouges et les liaisons hydrogène par des lignes pointillées bleues.

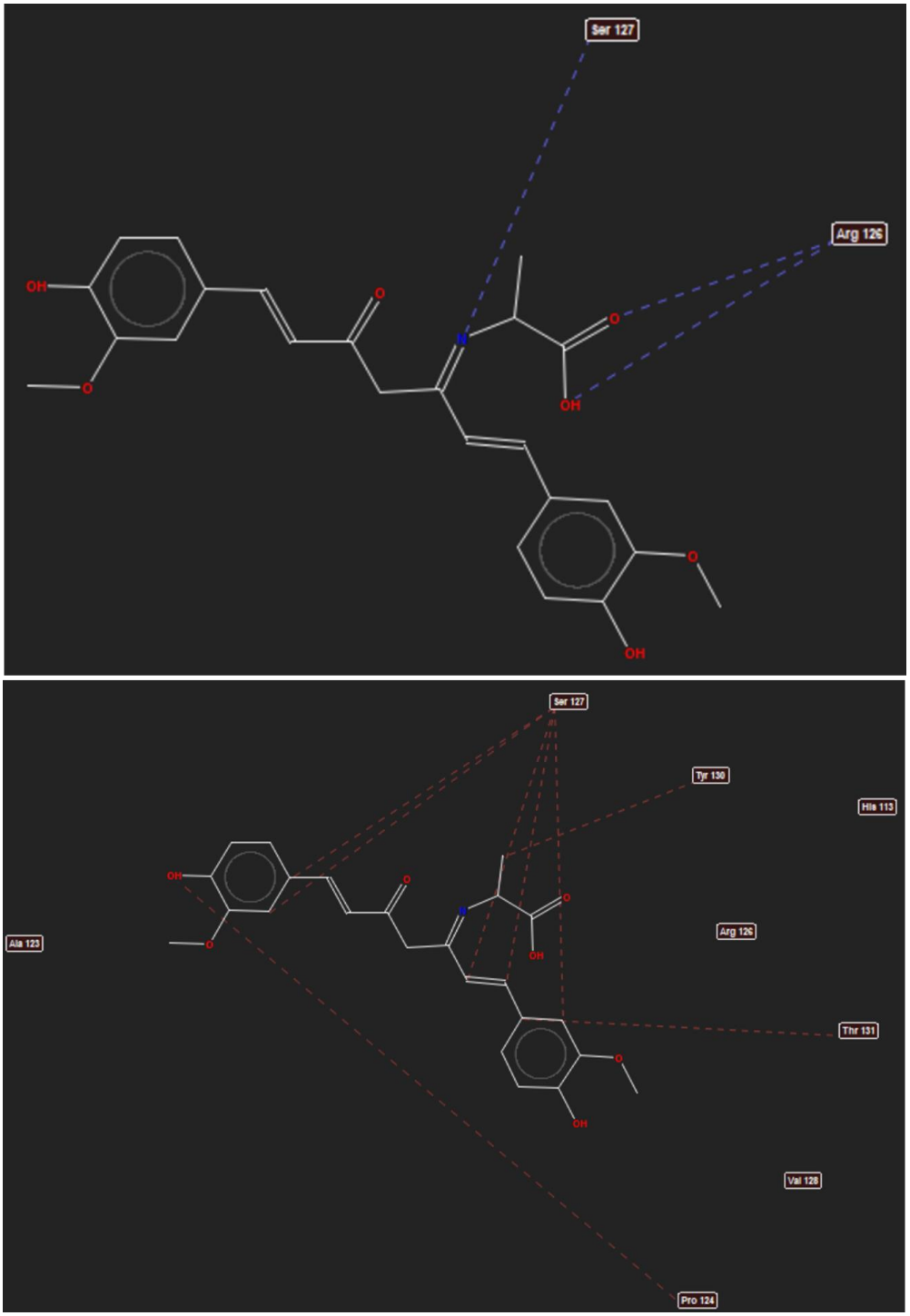



**Figure III.D.7.** Diagramme d'interaction entre la Cur-Ala et les résidus de la mPGES-1 : les interactions stériques sont représentées par des lignes pointillées rouges et les liaisons hydrogène par des lignes pointillées bleues.

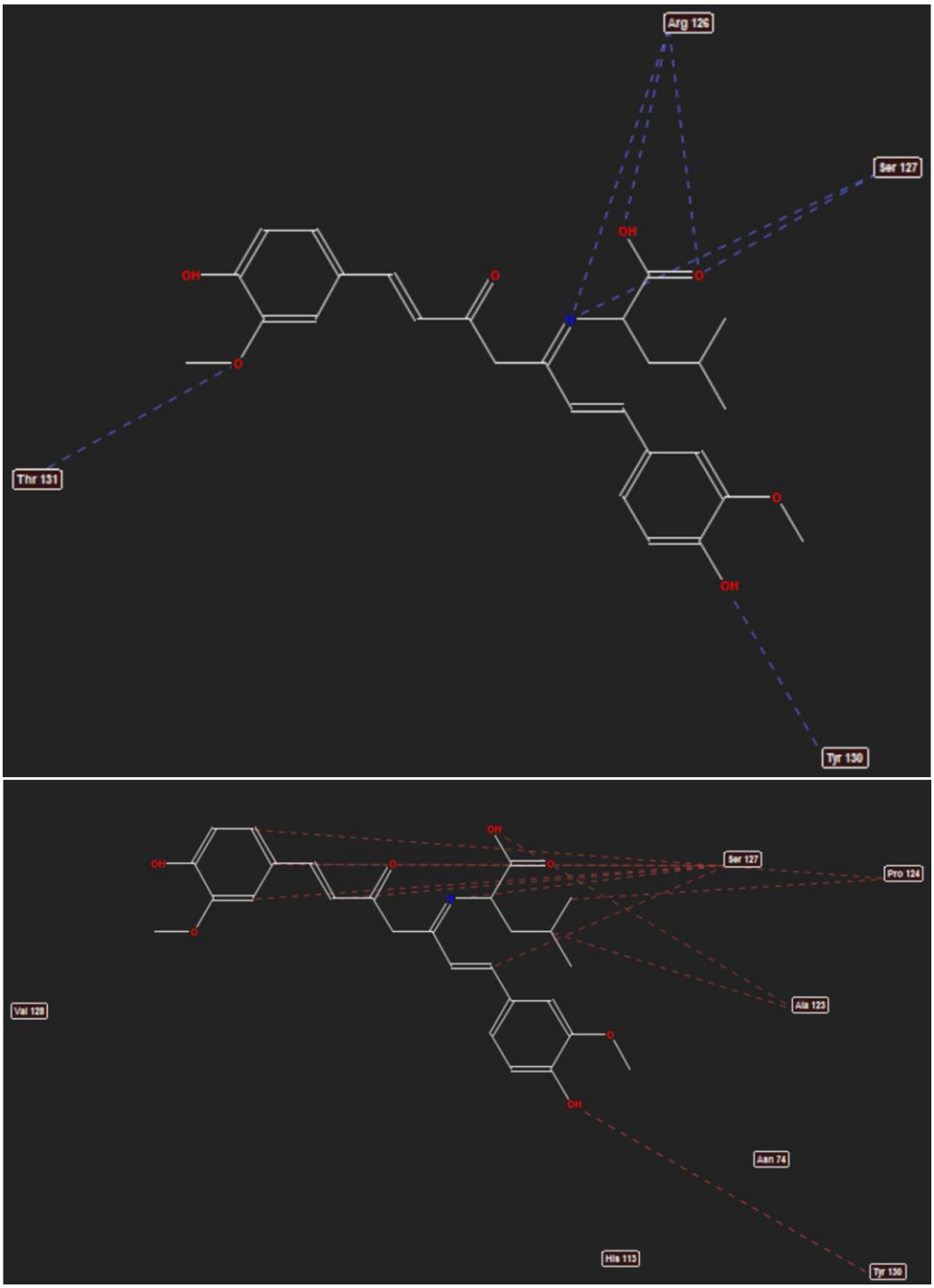



**Figure III.D.8.** Diagramme d'interaction entre la Cur-Leu et les résidus de la mPGES-1 : les interactions stériques sont représentées par des lignes pointillées rouges et les liaisons hydrogène par des lignes pointillées bleues.

**Tableau III.D.2.** Énergies des principaux résidus d'interaction du site actif de la protéine cible mPGES-1 pour chaque ligand docké.

| **Molécule de référence 4UK** | | **Cur** | | **Cur-Ala** | | **Cur-Leu** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Résidus** | **Energie** | **Résidus** | **Energie** | **Résidus** | **Energie** | **Résidus** | **Energie** |
| **Arg 126** | -2,06238 | **Ala 123** | -5.01719 | **Ala 123** | -2.19325 | **Ala 123** | -6.78468 |
| **Leu 132** | -1,29069 | **Arg 126** | -7.18053 | **Arg 126** | -11.9676 | **Arg 122** | -0.798439 |
| **Pro 124** | -12,9991 | **Asn 74** | -2.14333 | **Asn 74** | -1.73946 | **Arg 126** | -17.785 |
| **Ser 127** | -17,8302 | **His 113** | -2.28252 | **His 113** | -1.79231 | **Asn 74** | -2.48844 |
| **Thr 131** | -5,15861 | **Pro 124** | -16.0856 | **Pro 124** | -9.52978 | **His 113** | -0.470649 |
| **Tyr 130** | -4,10028 | **Ser 127** | -20.1313 | **Ser 127** | -22.2602 | **Ile 125** | -1.39473 |
| **Val 128** | -12,9426 | **Thr 131** | -11.5669 | **Thr 131** | -9.47968 | **Pro 124** | -17.6344 |
| | | **Tyr 130** | -21.7491 | **Tyr 130** | -15.5605 | **Ser 127** | -22.7093 |
| | | **Val 128** | -4.87408 | **Val 128** | -5.14047 | **Thr 131** | -8.54123 |
| | | | | | | **Tyr 130** | -20.6659 |
| | | | | | | **Val 128** | -8.28821 |

En examinant les différents termes d'énergie pour chaque molécule (Tableau III.D.1), les trois molécules Cur-Leu, Cur-Ala et Cur montrent une forte interaction par liaison hydrogène (Cur-Leu : énergie $H_{BOND}$ = -10,686 Kcal/mol, Cur-Ala : énergie $H_{BOND}$ = -6,175 Kcal/mol et Cur : énergie $H_{BOND}$ = -5,766 Kcal/mol) par rapport à celle de la molécule de référence (énergie $H_{BOND}$ = -2. 108 Kcal/mol), ceci s'explique par le fait que :

- la Cur-Leu forme 7 liaisons hydrogène avec les résidus protéiques, selon les Figures III.D.5 et III.D.8**,** le résidu protéique Arg 126 forme trois liaisons Hydrogène avec la Cur-Leu (une liaison avec la fonction imine et deux liaisons avec la fonction carboxylique de la base de Schiff), le résidu protéique Ser 127 forme deux liaisons Hydrogène avec la Cur-Leu (une avec la fonction imine et l'autre avec l'oxygène libre

de la fonction carboxylique), le résidu protéique Tyr 130 forme une liaison Hydrogène avec une fonction OH latéral et finalement le résidu protéique Thr 131 forme une liaison Hydrogène avec le groupement méthoxy latérale du notre base de Schiff.

- La Cur-Ala forme trois liaisons Hydrogène avec les résidus protéique, selon les figures III.D.4 et III.D.7 le résidu Arg 126 forme deux liaisons Hydrogène avec la molécule Cur-Ala (avec l'oxygène libre et l'Hydroxyle de la fonction carboxylique), ainsi que le résidu protéique Ser 127 forme une liaison Hydrogène avec le doublet libre de la molécule d'azote ( fonction imine de la Cur-Ala ).
- La Cur forme trois liaisons Hydrogène avec les résidus protéique, selon les figures III.D.3 et III.D.6, le résidu protéique Thr 131 forme liaisons Hydrogène avec les deux fonctions cétoniques de la molécule Cur, ainsi que le résidu protéique Arg 126 forme une autre liaison Hydrogène avec l'oxygène du groupement méthoxy latérale de la molécule Cur.
- Le 4UK interagit avec le résidu protéique Ser127 en formant une seule liaison hydrogène.

D'autre part, concernant l'énergie stérique, la molécule Cur-Leu présente l'énergie stérique la plus négative (-97,666 Kcal/mol) suivie par la Cur avec une énergie de -86,866 Kcal/mol, ensuite vient la molécule Cur-Ala avec une énergie de -74,552 Kcal/mol. Ces trois valeurs d'énergies semblent être meilleures que celle observée avec la molécule de référence 4UK (-58,066 Kcal/mol). Ces résultats indiquent que les molécules Cur, Cur-Ala et Cur-Leu sont plus stables dans le site actif par rapport à la molécule de référence 4UK. Les résultats du tableau III.D.2 montrent que la molécule Cur-Leu interagit avec une énergie stérique élevée, les résidus les plus interactifs étant Ser 127 (-22.7093 Kcal/mol), Tyr 130 (-20.6659 Kcal/mol) et Arg 126 ( -17.785 Kcal/mol). Puis la molécule Cur vient en deuxième position avec une interaction remarquable via Tyr 130 (-21.7491 Kcal/mol), Ser 127 ( -20.1313 Kcal/mol) et Pro 124 (-16.0856 Kcal/mol) ...etc. La molécule Cur-Ala occupe le troisième rang avec des interactions stériques avec des résidus protéique tel que Ser 127 (-22.2602 -22.2602), Tyr 130 (-15.5605 Kcal/mol) et Arg 126 (-11.9676 Kcal/mol).

## *Partie E : Activités biologiques des molécules étudiées :*

### III.E.1. Introduction :

Dans cette étude, nous avons étudiés l'intérêt ou l'efficacité de la Curcumine et ces deux dérivées synthétisées sur l'activité antioxydante par des différentes méthodes, l'inhibition de l'Acétyle cholinestérase et butyryl cholinestérase ainsi que l'activité antibactérienne.

## *III.E.2. L'activité antioxydante :*

Les antioxydants sont des agents qui piègent les métabolites réactifs de l'oxygène, empêchent leur production ou améliorent les capacités des antioxydants endogènes [54,55]. Les antioxydants peuvent réduire la dégénérescence neuronale et empêcher la progression de la maladie d'Alzheimer [56]. La maladie d'Alzheimer (MA) est un trouble cérébral neurodégénératif progressif qui détériore progressivement la mémoire d'une personne et sa capacité à effectuer les activités de la vie quotidienne[57]. Le traitement le plus courant de la maladie d'Alzheimer est composé de médicaments connus sous le nom d'inhibiteurs de l'acétylcholinestérase[58]. La stratégie de prévention de la maladie est donc devenue une préoccupation majeure et permanente, ce qui a entraîné la recherche de nouveaux agents thérapeutiques. Actuellement, une large gamme des méthodes analytiques est disposée pour la détection in vitro et in vivo du pouvoir antioxydant sur des substances d'intérêt biologique. À ce propos, les tests les plus couramment utilisés : la capacité de piégeage des radicaux (DPPH, ABTS ), la capacité réductrice des ions cuivriques(CUPRAC) et ferriques (FRAP et PHENANTHROLINE). De plus, les valeurs d'IC50 et A0.5, qui font référence à la plus petite concentration d'antioxydants nécessaires pour 50% de réactivité, ont été calculées. L'efficacité des propriétés antioxydantes est inversement corrélée avec leurs IC50 et A0.5. Une valeur IC50 ou A0.5 inferieures indiquent une activité plus élevée.

### III.E.2.1. Activité anti-radicalaire

Les capacités de piégeage des radicaux libres ont été mesurées à l'aide des radicaux $DPPH^{\bullet}$,

$ABTS^{+\bullet}$ et $GOR^{\bullet}$. Les résultats de ces tests sont exprimés en IC50.

### III.E.2.1.1. Activité de piégeage de radical DPPH

Pour déterminer la capacité antioxydante de la Cur et les bases de Schiff Cur-Ala et Cur-Leu à neutraliser les radicaux libres, une des méthodes les plus fréquemment employées a été utilisée : le test DPPH (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) [59]. Lorsque le DPPH réagit avec une molécule capable de donner un atome d'hydrogène, il est réduit et la solution passe du violet au jaune, comme mesuré spectrophotométriquement [60]. Les données relatives à l'activité antioxydante des molécules cibles, exprimées en $IC_{50}$, sont présentées dans le Tableau E.1.

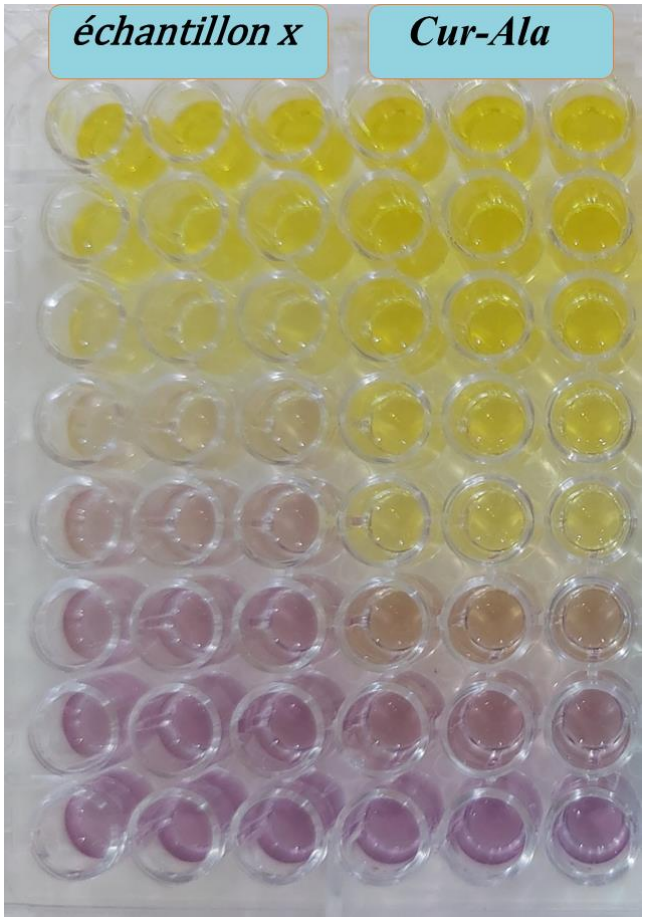



**Figure III.E.1 :** Test DPPH.

**Tableau III.E.1:** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des composes Cur, Cur-Ala et Cur-Leu et des standards BHT et BHA.

| Composé | % Inhibition (teste DPPH ) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 12.5 µg | 25 µg | 50 µg | 100 µg | 200 µg | 400 µg | 800 µg | $IC_{50}$ µM |
| Cur-Ala | 30,57±2,17 | 39,99±2,02 | 80,54±0,74 | 82,29±0,10 | 82,41±0,20 | sat | sat | 27,52±0,08 |
| Cur | 24,42±0,99 | 50,86±0,43 | 76,49±0,65 | 84,64±0,29 | sat | sat | sat | 24,60±0,21 |
| Cur-Leu | 15,37 ± 0,74 | 24,52 ± 0,19 | 41,36 ± 0,47 | 65,01 ± 0,33 | 82,45 ± 0,34 | 85,45 ± 0,57 | sat | 70,39±0,67 |
| BHA[b] | 76,55±0,48 | 79,89±0,26 | 81,73±0,10 | 84,18±0,10 | 87,13±0,17 | 89,36±0,19 | 90,14±0,00 | 6.14±0.41 |
| BHT[b] | 49,09±0,76 | 72,63±2,06 | 88.73±0,89 | 94.00±0,31 | 94.97±0,08 | 95.38±0,41 | 95.02±0,23 | 12.99±0.41 |

Sat : saturation de la solution

Selon le Tableau III.E.1, les trois composés testés ont de très bonnes activités antioxydantes. la molécule Cur a une valeur d'IC50 (24,60±0,21 µM) sembable à celle du Cur-Ala (27,52±0,08µM), alors que l'$IC_{50}$ de la molécule Cur-Leu (70,39±0,67 µM) est supérieur au deux $IC_{50}$ de la molécule Cur et Cur-Ala. Les $IC_{50}$ des trois composés sont élevées par rapport à celle du BHT standard (12.99±0.41 µM) et du BHA standard (6.14±0.41 µM). L'ajout de l'acide aminé alanine sur la curcumine ne change pas l'activité anti radicalaire DPPH et il la laisse meilleure tel qu'elle est.

### III.E.2.1.2. Test de piégeage des radicaux ABTS

La technique de piégeage du radicale ABTS est l'une des techniques les plus utilisées pour déterminer la capacité antioxydante du don d'hydrogène et de la rupture de chaîne d'oxydation [61].

**Tableau III.E.2** : Pourcentages d'inhibition du radical libre ABTS en fonction des concentrations des composés Cur, Cur-Ala et Cur-Leu et des standards BHT et BHA

| **Compo-sés** | **% Inhibition (test ABTS )** | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 12.5 µg | 25 µg | 50 µg | 100 µg | 200 µg | 400 µg | 800 µg | **$IC_{50}$ µM** |
| **Cur** | 38,53±0,18 | 61,35±0,63 | 86,14±1,44 | 90,88±0,80 | sat | sat | sat | 19,42±0,3 |
| **Cur-Ala** | 58,19±0,66 | 74,42±0,47 | 89,40±0,37 | 92,10±0,50 | sat | satr | sat | < 12,5 |
| **Cur-Leu** | 17,75 ± 2,28 | 28,69 ± 0,45 | 48,38 ± 0,09 | 75,05 ± 0,09 | 90,31 ± 0,41 | sat | sat | 57,21±0,29 |
| **BHT** | 69.21±0,40 | 78.23±1,34 | 88.12±1,28 | 88,76±3,07 | 90.85±1,74 | 90.95±0,51 | 96.68±0.39 | 1.29±0.30 |
| **BHA** | 92.83±1,42 | 94.68±0,42 | 94.95±0,90 | 95.32±0,25 | 95.59±0,47 | 95.83±0,15 | 95,86±0,10 | 1.81±0.10 |

Sat: saturation de la solution

Selon le tableau, les molécules Cur, Cur-Ala et Cur-Leu présentent une très bonne activité antioxydante, l'$IC_{50}$ de la molécule Cur (19,42±0,3 µM) et la Cur-Ala (< 12,5 µM) sont meilleurs par rapport à celle de la molécule Cur-Leu (57,21±0,29 µM). Les $IC_{50}$ de la Cur et de la Cur-Leu sont supérieures par rapport à l'$IC_{50}$ du BHA (1.81±0.10±0,29 µM) et

BHT (1.29±0.30±0,29 µM). La molécule Cur-Ala présente un caractère antioxydant assez bien par rapport à nôtres standards.

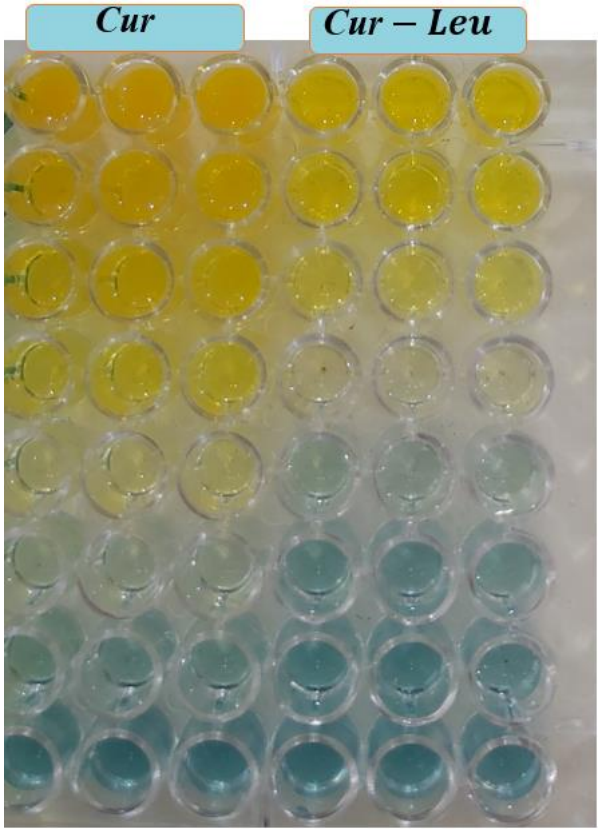



**Figure III.E.2 :** Test ABTS.

### III.E.2.2. Activité réductrice

Le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle. Différentes études ont indiqué que la capacité de don d'électrons des composés bioactifs est associée à une activité antioxydante [15,16]. La capacité réductrice des produits synthétisés a été mesurée à l'aide des tests de CUPRAC, FRAP et phénanthroline. Les résultats de ces tests exprimés en $A_{0.5}$, la valeur $A_{0.5}$ est définie comme étant la concentration du substrat qui donne une absorbance de 0,50.

#### III.E.2.2.1. Test de l'activité réductrice de l'ion cuprique (CUPRAC)

Le test de CUPRAC (CUPric Reducing Antioxydant Capacity) est l'une des méthodes les plus utilisées pour la détection de l'activité antioxydante.

**Tableau III.E.3:** Pouvoir réducteur cuivrique (CUPRAC) exprimé en absorbance de la Cur, Cur-Ala, Cur-Leu et des standards BHT et BHA.

| molécules | Absorbances (CUPRAC) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 12.5 µg | 25 µg | 50 µg | 100 µg | 200 µg | 400 µg | 800 µg | $A_{0.50}$ |
| Cur-Ala | 0,39±0,01 | 0,66±0,01 | 1,14±0,02 | 1,82±0,04 | 2,83±0,04 | 3,81±0,15 | 4,13±0,05 | 18,13±0,72 |
| Cur | 0,31±0,00 | 0,54±0,00 | 0,93±0,01 | 1,58±0,13 | 2,70±0,28 | 3,89±0,01 | 4,05±0,03 | 24,06±0,22 |
| Cur-Leu | 0,17±0,00 | 0,27±0,01 | 0,43±0,00 | 0,73±0,00 | 1,19±0,02 | 1,95±0,08 | 2,53±0,35 | 63,00±1,2 |
| BHA[b] | 1,12±0,05 | 1,95±0,31 | 3,14±0,46 | 3,58±0,42 | 3,35±0,20 | 3,77±0,19 | 3,92±0,13 | 5,35±0,71 |
| BHT[b] | 1.41±0.03 | 2.22±0.05 | 2.42±0.02 | 2.50±0.01 | 2.56±0.05 | 2.86±0.07 | 3.38±0.13 | 8.97±3.94 |

Selon le tableau, les trois composés testés présentent également une forte activité antioxydante. La base de Schiff synthétisée Cur-Ala a une activité antioxydante supérieure à celle de la Cur (18,13±0,72 µM vs 24,06±0,22 µM) et comparable à celles des standards BHT et BHA (17.97±0.66 µM et 16.62±0.79 µM respectivement) alors que l'A0.50 de la Cur a une activité antioxydante supérieur ou comparable à celles des standards BHT et BHA. La base de Schiff synthétisée Cur-Leu (63,00±1,2 µM) a une activité antioxydante supérieure à celles de la Cur et Cur-Ala et aussi supérieur par rapport au standards BHT et BHA.

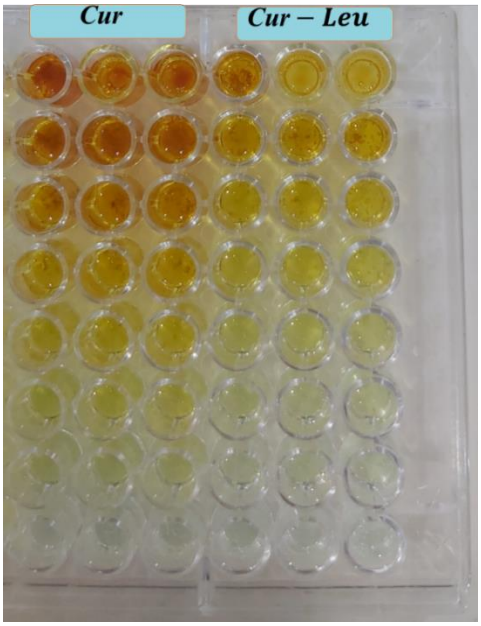



**Figure III.E.3 :** Test CUPRAC.

### III.E.2.2.2. Le Test phénanthroline pour l'activité antioxydante

Les résultats du test phenanthroline pour l'activité antioxydante pour la molécule Cur et pour les bases de Schiff Cur-Ala et Cur-Leu synthétisées sont représentés par l'absorbance $A_{0.5}$ mesurée en fonction de la concentration de ces composés et des standards BHT et BHA.

**Tableau III.E.4** : Pouvoir réducteur du Fer (test phenanthroline) de la Cur, Cur-Ala, Cur-Leu, Ascorbic acid et α-Tocopherol.

| Composés | Absorbances dans l'essai de phenanthroline | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 3.125 µg | 6.25 µg | 12.5 µg | 25 µg | 50 µg | 100 µg | 200 µg | $A_{0.5}$ µg/mL |
| Cur-Ala | 0,33±0,01 | 0,38±0,01 | 0,42±0,00 | 0,53±0,00 | 0,85±0,05 | 1,30±0,20 | 1,97±0,11 | 22,46±0,88 |
| Cur | 0,16±0,01 | 0,21±0,01 | 0,32±0,00 | 0,54±0,01 | 0,95±0,05 | 1,64±0,08 | 2,39±0,09 | 23,45±0,56 |
| Cur-Leu | 0,12±0,00 | 0,13±0,01 | 0,18±0,01 | 0,24±0,01 | 0,35±0,00 | 0,55±0,00 | 1,20±0,13 | 90,92±2,75 |
| Acide Ascorbique | 0,35±0,05 | 0,46±0,03 | 0,84±0,12 | 0,93±0,30 | 1,18±0,34 | 1,37±0,20 | 1,44±0,21 | 6.77±1.15 |
| α-Tocopherol | 0.11±0,00 | 0.16±0.00 | 0,21±0,03 | 0,35±0,03 | 0,73±0,03 | 1,37±0,08 | 1,81±0,09 | 34.93±2.38 |

Selon le tableau E.4, les deux molécules Cur et Cur-Ala montrent toujours une bonne activité antixydante avec ces valeurs comparables d'$A_{0.50}$ (23,45±0,56 µM vs 22,46±0,88 µM respectivement) avec une légère diminution par rapport au standard α-Tocopherol (34.93±2.38 µM) et une légère augmentation par rapport au standard l'Acide Ascorbique (6.77±1.15 µM ).

La molécule Cur-Leu présente aussi un bon caractère anti oxydant avec une Absorbance de 90,92±2,75 mais elle est supérieure à celles de la Cur, Cur-Ala et les deux standards.

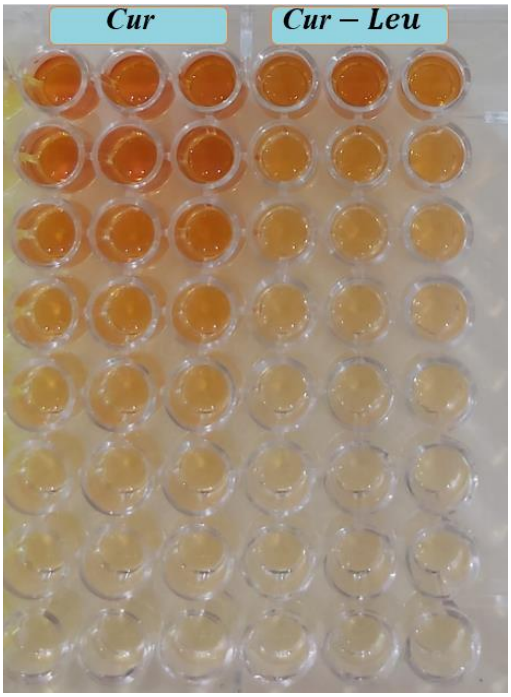



**Figure III.E.4 :** Test Phénanthroline.

## *III.E.3. Activité antimicrobienne*

L'activité antibactérien *in vitro* des composés étudiés a été testée contre diverses espèces bactériennes telles que *B. subtilis, S. aureus, E. coli, K. pneumoniae et P. aeruginosa*. L'amoxicilline est utilisée comme un étalon positif. La présence de zones claires indique que les composés sont actifs. Une étude comparative des activités de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu a montré une activité antibactérienne modérée à excellente (Tableau III.E.5). Les deux bases de Schiff Cur-Ala et Cur-Leu ont montré une zone d'inhibition >25 mm contre *K. pneumonia* et une zone d'inhibition de 13 à 26 mm contre les autres espèces bactériennes. La Cur présente une activité modérée contre toutes les autres espèces bactériennes.

**Tableau III.E.5.** Diamètres de zones d'inhibition bactérienne (mm) de la Cur, Cur-Ala et Cur-Leu.

| **Zones d'inhibition (mm)** | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Comps.** | ***B. subtilis*** | | ***S. aureus*** | | ***E. coli*** | | ***K. pneumonae*** | | ***P. aeruginosa*** | |
| **Conc.** | 50 µg/mL | 100 µg/mL | 50 µg/mL | 100 µg/mL | 50 µg/mL | 100 µg/mL | 50 µg/mL | 100 µg/mL | 50 µg/mL | 100 µg/mL |
| **Cur** | 8 | 10 | 9 | 14 | 13 | 16 | 11 | 17 | 9 | 13 |
| **Cur-Ala** | 12 | **22** | 11 | **13** | 14 | **20** | 16 | **26** | 12 | **18** |
| **Cur-Leu** | 13 | **25** | 17 | **24** | 20 | **26** | 18 | **30** | 15 | **22** |
| **Amoxiciline** | | 20 | | 23 | | 22 | | 26 | | 23 |
| **DMSO** | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

D'après l'observation, la plus forte inhibition de la croissance bactérienne est due au caractère lipophile des molécules. La variation de l'efficacité de différents composés contre les différents organismes dépend soit de l'imperméabilité des cellules bactériennes, soit des différences dans les ribosomes des cellules microbiennes. L'ordre d'activité des composés étudiés est le suivant : Cur-Ala >Cur-Ala>Cur.

Les bases de Schiff Cur-Ala et Cur-Leu et la Cur ont été testées également pour leurs activité antifongique contre des espèces fongiques telles que *C. albicans* et *A. niger*. Les activités de ces molécules ont été comparées à celles du médicament standard (Nystatine). Les résultats indiquent que toutes les molécules testées ont une activité significative contre les deux espèces fongiques. L'activité est beaucoup plus forte pour la Cur-Leu et Cur-Ala, alors que la Cur a moins d'activité. Les bases de Schiff synthétiser ont montré une très bonne

activité antifongique contre *C. albicans* et *A. niger* par rapport à celle de la Cur (Tableau III.E.6).

**Tableau III.E.6.** Activité antifongique de Cur , Cur-Ala et Cur-Leu.

| **Zones d'inhibition (mm)** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Comps** | ***C. albicans*** | | ***A. niger*** | |
| **Conc.** | **50 µg/mL** | **100 µg/mL** | **50 µg/mL** | **100 µg/mL** |
| Cur | 7 | 14 | 12 | 18 |
| Cur-Ala | 10 | 15 | 16 | 24 |
| Cur-Leu | 13 | 20 | 21 | 30 |
| Nystatin | | 17 | | 20 |

Une comparaison globale des données observées révèle que les bases de Schiff Cur-Leu et Cur-Ala présentent une excellente activité antimicrobienne et peuvent être testée pour d'autres études *in vivo* et peuvent être utilisée comme médicament. Récemment, des preuves des effets antimicrobiens produits par les bases de Schiff ont été fournies. Il convient de noter que, dans la plupart des cas, une activité plus élevée a été rapportée pour la fonction imine. Il existe plusieurs travaux de recherche sur l'importance du groupe imine ou azométhine (>C=N–) présent dans les bases de Schiff et les auteurs décrivent ce groupe fonctionnel comme clé de leur activité antimicrobienne. La présence d'électrons non appariés sur l'atome d'azote du fragment azométhine donne une forte interaction avec les bases de Schiff [62] [63] [5] [64] [65] [66].

Les effets de la polarité de la molécule pénétrante sur le processus de perméation membranaire sont souvent discutés. La perméabilité à travers les membranes lipidiques est un processus biologique fondamental et dépend de nombreux facteurs tels que la solubilité, la lipophilie et le volume moléculaire. L'un des paramètres les plus importants est le moment dipolaire. Lorsqu'une molécule traverse la membrane, la molécule pénétrante exerce un changement radical dans son environnement, passant d'hydrophile à hydrophobe, puis de nouveau à hydrophile. L'environnement polaire devrait induire le moment dipolaire moléculaire ; cependant, les champs de force additifs sont conçus pour fournir une interaction efficace sans prise en compte explicite de la polarité [67]. Plusieurs recherches récentes décrivent l'importance du moment dipolaire dans la détermination de l'activité biologique. De nombreux composés ont montré une corrélation directe entre le moment dipolaire, la perméation de la membrane microbienne et l'activité biologique. Les 4-arylthiosemicarbazides

ont montré un effet antifongique élevé contre les espèces de Candida, comme décrit par Siwek et al [68]. Les composés actifs se distinguent également par un moment dipolaire élevé. Quiroga et al ont montré qu'il existe une corrélation entre l'activité antifongique des dérivés des pyrazolo [3,4-b] pyridines [69] [70] [71] [72] et les paramètres quantitatifs comme le moment dipolaire. Ashtekar et coll. ont étudié l'activité antifongique du 1,3,4-oxadiazole [73]. Les résultats suggèrent que le moment dipolaire a une contribution positive à l'activité antifongique de l'oxadiazole. Les calculs théoriques effectués par Deng et al [74] ont indiqué que le moment dipolaire est le paramètre le plus indépendant affectant l'activité antibactérienne. Ils ont trouvé une corrélation positive : l'activité antibactérienne augmente avec un moment dipolaire. L'analyse QSAR rapportée par Soliman QSAR sur cinq ligands de thiourée substitués par N-alkyle (L) et leurs complexes pour étudier leur activité antibactérienne contre E. coli et P. aeruginosa [75], a montré que l'augmentation du moment dipolaire de ces composés a augmenté les activités antibactériennes des dérivés de la thiourée (L). Dans notre cas, les bases de Schiff Cur-Leu et Cur-Ala ont des valeurs de moment dipolaire plus élevé (7,9229D/Cur-Leu et 5,555 D/Cur-Ala), révélant que ces composés ont une capacité d'interaction plus élevée avec le milieu environnant et une plus grande capacité de liaison résultant en des effets biologiques supérieurs.

**REFERENCE :**

[1] A. Kajal, S. Bala, S. Kamboj, N. Sharma, V. Saini, S. Bases, A Versatile Pharmacophore, J. Catal. 2013 (n.d.).

[2] W. Qin, S. Long, M. Panunzio, S. Biondi, Schiff bases: A short survey on an evergreen chemistry tool, Molecules. 18 (2013) 12264–12289.

[3] K. Muzammil, P. Trivedi, D.B. Khetani, Synthesis and Characterization of Schiff base m-nitro aniline and their complexes, Res. J. Chem. Sci. 5 (2015) 52–55.

[4] B.G. Kolapwar, Study of schiff base compounds and its derivatives, Anveshana's Int. J. Res. Pharm. Life Sci. 2 (2017) 15–18.

[5] A. Hameed, M. Al-Rashida, M. Uroos, S. Abid Ali, K.M. Khan, Schiff bases in medicinal chemistry: a patent review (2010-2015), Expert Opin. Ther. Pat. 27 (2017) 63–79.

[6] S. Mishra, D. Chaturvedi, N. Kumar, P. Tandon, H.W. Siesler, An ab initio and DFT study of structure and vibrational spectra of γ form of oleic acid: comparison to experimental data, Chem. Phys. Lipids. 163 (2010) 207–217.

[7] I.G. Csizmadia, Theory and practice of MO calculations on organic molecules. Volume I, (1976).

[8] H. Layaida, A. Hellal, N. Chafai, I. Haddadi, K. Imene, B. Anis, E. Mouna, C. Bensouici, W. Sobhi, A. Attoui, Synthesis, spectroscopic characterization, density functional theory study, antimicrobial and antioxidant activities of curcumin and alanine-curcumin Schiff base, J. Biomol. Struct. Dyn. (2022) 1–16.

[9] D.C.M. Glory, R. Madivanane, K. Sambathkumar, Electronic Structure Investigations of 3 and 5-Diamino-1, 2, 4-Triazole By UV–Visible, NMR Spectral Studies and Homo-Lumo Analysis by AB Initio and DFT Calculations, Elixir Comp. Chem. 89 (2015) 36730–36741.

[10] Z. Demircioğlu, Ç.A. Kaştaş, O. Büyükgüngör, The spectroscopic (FT-IR, UV–vis), Fukui function, NLO, NBO, NPA and tautomerism effect analysis of (E)-2-[(2-hydroxy-6-methoxybenzylidene) amino] benzonitrile, Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc. 139 (2015) 539–548.

[11] H. Ebrahimi, J.S. Hadi, H.S. Al-Ansari, A new series of Schiff bases derived from sulfa drugs and indole-3-carboxaldehyde: Synthesis, characterization, spectral and DFT computational studies, J. Mol. Struct. 1039 (2013) 37–45.

[12] S. Kumar, V. Saini, I.K. Maurya, J. Sindhu, M. Kumari, R. Kataria, V. Kumar, Design, synthesis, DFT, docking studies and ADME prediction of some new coumarinyl linked pyrazolylthiazoles: Potential standalone or adjuvant antimicrobial agents, PLoS One. 13 (2018) e0196016.

[13] M.R.S.A. Janjua, M.U. Khan, B. Bashir, M.A. Iqbal, Y. Song, S.A.R. Naqvi, Z.A. Khan, Effect of π-conjugation spacer (CC) on the first hyperpolarizabilities of polymeric chain containing polyoxometalate cluster as a side-chain pendant: A DFT study, Comput. Theor. Chem. 994 (2012) 34–40.

[14] M. Khalid, H.M. Lodhi, M.U. Khan, M. Imran, Structural parameter-modulated nonlinear optical amplitude of acceptor–π–D–π–donor-configured pyrene derivatives: A DFT approach, RSC Adv. 11 (2021) 14237–14250.

[15] M.U. Khan, M. Khalid, M. Ibrahim, A.A.C. Braga, M. Safdar, A.A. Al-Saadi, M.R.S.A. Janjua, First theoretical framework of triphenylamine–dicyanovinylene-based nonlinear optical dyes: structural modification of π-linkers, J. Phys. Chem. C. 122 (2018) 4009–4018.

[16] R.H. Al-Asadi, B.A. Saeed, T.A. Fahad, Molecular structure, vibrational spectroscopic and HOMO/LUMO studies of some organotellurium compounds by quantum chemical investigations, Eur. J. Chem. 6 (2015) 248–253.

[17] T. Koopmans, The classification of wave functions and eigen-values to the single electrons of an atom, Physica. 1 (1934) 104–113.

[18] P. Pérez, L.R. Domingo, A. Aizman, R. Contreras, The electrophilicity index in organic chemistry, in: Theor. Comput. Chem., Elsevier, 2007: pp. 139–201.

[19] R.G. Parr, RGP-J. of the AC Society, and undefined 1983,“, Absol. Hardness

Companion Param. to Absol. Electronegativity," ACS Publ. 105 (1983) 7512–7516.

[20] R.G. Parr, W. Yang Density-Functional Theory of Atoms and Molecules Oxford, (1989).

[21] R.P. Iczkowski, J.L. Margrave, Electronegativity, J. Am. Chem. Soc. 83 (1961) 3547–3551.

[22] R.G. Parr, R.A. Donnelly, M. Levy, W.E. Palke, Electronegativity: the density functional viewpoint, J. Chem. Phys. 68 (1978) 3801–3807.

[23] K. Indira Priyadarsini, Chemical and structural features influencing the biological activity of curcumin, Curr. Pharm. Des. 19 (2013) 2093–2100.

[24] H.A. Vogel, J. Pelletier, Curcumin-biological and medicinal properties, J. Pharma. 2 (1815) 24–29.

[25] R.S. Mulliken, A new electroaffinity scale; together with data on valence states and on valence ionization potentials and electron affinities, J. Chem. Phys. 2 (1934) 782–793.

[26] E.M. Breitung, C.-F. Shu, R.J. McMahon, Thiazole and thiophene analogues of donor− acceptor stilbenes: molecular hyperpolarizabilities and structure− property relationships, J. Am. Chem. Soc. 122 (2000) 1154–1160.

[27] Z. Peng, L. Yu, Second-order nonlinear optical polyimide with high-temperature stability, Macromolecules. 27 (1994) 2638–2640.

[28] N. Tsutsumi, M. Morishima, W. Sakai, Nonlinear optical (NLO) polymers. 3. NLO polyimide with dipole moments aligned transverse to the imide linkage, Macromolecules. 31 (1998) 7764–7769.

[29] M.R.S.A. Janjua, M. Amin, M. Ali, B. Bashir, M.U. Khan, M.A. Iqbal, W. Guan, L. Yan, Z.M. Su, A DFT study on the two-dimensional second-order nonlinear optical (NLO) response of terpyridine-substituted hexamolybdates: Physical insight on 2D inorganic-organic hybrid functional materials, Eur. J. Inorg. Chem. (2012) 705–711. https://doi.org/10.1002/ejic.201101092.

[30] M. Albota, D. Beljonne, L. Brdas, J.E.J. Ehrlich, J.Y. Fu, A.A. Heikal, S.E. Hess, T. Kogej, M.D. Levin, S.R. Marder, Design of organic molecules with large two-photon absorption cross sections, Science (80-. ). 281 (1998) 10–1126.

[31] S.R. Gadre, C.H. Suresh, N. Mohan, Electrostatic potential topology for probing molecular structure, bonding and reactivity, Molecules. 26 (2021) 3289.

[32] S.R.M.W. FX, Spectrometric Identification of Organic Compounds 6 th John Wiley & SonsNew York. Silverstein, RM and Webster, FX, editors.(1998) Spectrometric Identification of Organic Compounds, (1998).

[33] A.J. Garza, G.E. Scuseria, S.B. Khan, A.M. Asiri, Assessment of long-range corrected functionals for the prediction of non-linear optical properties of organic materials, Chem. Phys. Lett. 575 (2013) 122–125.

[34] S. HARIMURTI, W. SETYONUGROHO, A. PRAMONO, ENERGY SAVINGS ON CURCUMINE DERIVATIVE GAMAVUTON-0 SYNTHESIS USING MICROWAVE IRRADIATION, Int J App Pharm. 11 (2019) 155–158.

[35] V.A. Rosyidi, N. Yuniarti, Z. Ikawati, Activity of Gamavuton-O as Anti Rheumatoid Arthritis on Female Wistar Rat Induced by Complete Freund's Adjuvant with Parameter Suppression of Cytokine IL-1β Level in Joints Tissue, (n.d.).

[36] J.J. Sardjiman, Synthesis of some new series of curcumin analogues, antioxidative, antiinflammatory, antibacterial activities and qualitative-structure activity relationships [Thesis], Yogyakarta Univ. Gadjah Mada. (2000).

[37] G. Liang, L. Shao, Y. Wang, C. Zhao, Y. Chu, J. Xiao, Y. Zhao, X. Li, S. Yang, Exploration and synthesis of curcumin analogues with improved structural stability both in vitro and in vivo as cytotoxic agents, Bioorg. Med. Chem. 17 (2009) 2623–2631.

[38] J. Bhaliya, V. Shah, Identification of potent COVID-19 main protease (Mpro) inhibitors from curcumin analogues by molecular docking analysis, Int J Adv Res, Ideas Innov Technol. 6 (2020) 664–672.

[39] K. Tsuge, T. Inazumi, A. Shimamoto, Y. Sugimoto, Molecular mechanisms underlying prostaglandin E2-exacerbated inflammation and immune diseases, Int. Immunol. 31 (2019) 597–606.

[40] H. Oshima, M. Oshima, K. Inaba, M.M. Taketo, Hyperplastic gastric tumors induced by activated macrophages in COX-2/mPGES-1 transgenic mice, EMBO J. 23 (2004) 1669–1678.

[41] S. Uematsu, M. Matsumoto, K. Takeda, S. Akira, Lipopolysaccharide-dependent prostaglandin E2 production is regulated by the glutathione-dependent prostaglandin E2 synthase gene induced by the Toll-like receptor 4/MyD88/NF-IL6 pathway, J. Immunol. 168 (2002) 5811–5816.

[42] D. Kamei, M. Murakami, Y. Nakatani, Y. Ishikawa, T. Ishii, I. Kudo, Potential role of microsomal prostaglandin E synthase-1 in tumorigenesis, J. Biol. Chem. 278 (2003) 19396–19405.

[43] D. Kamei, K. Yamakawa, Y. Takegoshi, M. Mikami-Nakanishi, Y. Nakatani, S. Oh-Ishi, H. Yasui, Y. Azuma, N. Hirasawa, K. Ohuchi, Reduced pain hypersensitivity and inflammation in mice lacking microsomal prostaglandin e synthase-1, J. Biol. Chem. 279 (2004) 33684–33695.

[44] Y. Ikeda-Matsuo, A. Ota, T. Fukada, S. Uematsu, S. Akira, Y. Sasaki, Microsomal prostaglandin E synthase-1 is a critical factor of stroke-reperfusion injury, Proc. Natl. Acad. Sci. 103 (2006) 11790–11795.

[45] M. Murakami, I. Kudo, Recent advances in molecular biology and physiology of the prostaglandin E2-biosynthetic pathway, Prog. Lipid Res. 43 (2004) 3–35.

[46] D. Claveau, M. Sirinyan, J. Guay, R. Gordon, C.-C. Chan, Y. Bureau, D. Riendeau, J.A. Mancini, Microsomal prostaglandin E synthase-1 is a major terminal synthase that is selectively up-regulated during cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin E2 production in the rat adjuvant-induced arthritis model, J. Immunol. 170 (2003) 4738–4744.

[47] M. Wang, G.A. FitzGerald, Cardiovascular biology of microsomal prostaglandin E synthase-1, Trends Cardiovasc. Med. 20 (2010) 189–195.

[48] R. Thomsen, M.H. Christensen, MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking, J. Med. Chem. 49 (2006) 3315–3321.

[49] T. Sjögren, J. Nord, M. Ek, P. Johansson, G. Liu, S. Geschwindner, Crystal structure of microsomal prostaglandin E2 synthase provides insight into diversity in the MAPEG superfamily, Proc. Natl. Acad. Sci. 110 (2013) 3806–3811.

[50] G. Lauro, V. Cantone, M. Potenza, K. Fischer, A. Koeberle, O. Werz, R. Riccio, G. Bifulco, Discovery of 3-hydroxy-3-pyrrolin-2-one-based mPGES-1 inhibitors using a

multi-step virtual screening protocol, Medchemcomm. 9 (2018) 2028–2036.

[51] G. Lauro, S. Terracciano, V. Cantone, D. Ruggiero, K. Fischer, S. Pace, O. Werz, I. Bruno, G. Bifulco, A Combinatorial Virtual Screening Approach Driving the Synthesis of 2, 4-Thiazolidinedione-Based Molecules as New Dual mPGES-1/5-LO Inhibitors, ChemMedChem. 15 (2020) 481–489.

[52] M.G. Chini, C. Ferroni, V. Cantone, P. Dambruoso, G. Varchi, A. Pepe, K. Fischer, C. Pergola, O. Werz, I. Bruno, Elucidating new structural features of the triazole scaffold for the development of mPGES-1 inhibitors, Medchemcomm. 6 (2015) 75–79.

[53] G. Lauro, M. Manfra, S. Pedatella, K. Fischer, V. Cantone, S. Terracciano, A. Bertamino, C. Ostacolo, I. Gomez-Monterrey, M. De Nisco, Identification of novel microsomal prostaglandin E2 synthase-1 (mPGES-1) lead inhibitors from Fragment Virtual Screening, Eur. J. Med. Chem. 125 (2017) 278–287.

[54] Y.-Z. Fang, S. Yang, G. Wu, Free radicals, antioxidants, and nutrition, Nutrition. 18 (2002) 872–879. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0899-9007(02)00916-4.

[55] R. Mittler, Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, Trends Plant Sci. 7 (2002) 405–410. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9.

[56] B. Frank, S. Gupta, A review of antioxidants and Alzheimer's disease, Ann. Clin. Psychiatry. 17 (2005) 269–286.

[57] A. Serrano-Pozo, M.P. Frosch, E. Masliah, B.T. Hyman, Neuropathological Alterations in Alzheimer Disease, Cold Spring Harb. Perspect. Med. . 1 (2011). https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006189.

[58] M. Singh, M. Kaur, H. Kukreja, R. Chugh, O. Silakari, D. Singh, Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: From nerve toxins to neuroprotection, Eur. J. Med. Chem. 70 (2013) 165–188. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.09.050.

[59] O.P. Sharma, T.K. Bhat, DPPH antioxidant assay revisited, Food Chem. 113 (2009) 1202–1205. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008.

[60] R.W. Holtz, In vitro methods to screen materials for anti-aging effects, in: Ski. Aging Handb., Elsevier, 2009: pp. 329–362.

[61] L.P. Leong, G. Shui, An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets, Food Chem. 76 (2002) 69–75.

[62] J. Ceramella, D. Iacopetta, A. Catalano, F. Cirillo, R. Lappano, M.S. Sinicropi, A Review on the Antimicrobial Activity of Schiff Bases: Data Collection and Recent Studies, Antibiotics. 11 (2022). https://doi.org/10.3390/antibiotics11020191.

[63] C.M. da Silva, D.L. da Silva, L. V Modolo, R.B. Alves, M.A. de Resende, C.V.B. Martins, Â. de Fátima, Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities, J. Adv. Res. 2 (2011) 1–8. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jare.2010.05.004.

[64] D. Iacopetta, R. Lappano, A. Mariconda, J. Ceramella, M.S. Sinicropi, C. Saturnino, M. Talia, F. Cirillo, F. Martinelli, F. Puoci, C. Rosano, P. Longo, M. Maggiolini, Newly Synthesized Imino-Derivatives Analogues of Resveratrol Exert Inhibitory Effects in Breast Tumor Cells, Int. J. Mol. Sci. 21 (2020). https://doi.org/10.3390/ijms21207797.

[65] K.S. Munawar, S.M. Haroon, S.A. Hussain, H. Raza, Schiff bases: multipurpose pharmacophores with extensive biological applications, J Basic Appl Sci. 14 (2018) 217–229.

[66] K. Rana, A. Pandurangan, N. Singh, A.K. Tiwari, A systemic review of schiff bases as an analgesic, anti-inflammatory, Int. J. Curr. Pharm. Res. 4 (2012) 5–11.

[67] W. Shinoda, Permeability across lipid membranes, Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Biomembranes. 1858 (2016) 2254–2265.

[68] A. Siwek, J. Stefańska, K. Dzitko, A. Ruszczak, Antifungal effect of 4-arylthiosemicarbazides against Candida species. Search for molecular basis of antifungal activity of thiosemicarbazide derivatives, J. Mol. Model. 18 (2012) 4159–4170. https://doi.org/10.1007/s00894-012-1420-5.

[69] J. Quiroga, Y. Villarreal, J. Gálvez, A. Ortíz, B. Insuasty, R. Abonia, M. Raimondi, S. Zacchino, Synthesis and antifungal in vitro evaluation of pyrazolo [3, 4-b] pyridines derivatives obtained by Aza-Diels–Alder reaction and microwave irradiation, Chem. Pharm. Bull. 65 (2017) 143–150.

[70] E.E. Elboray, R. Grigg, C.W.G. Fishwick, C. Kilner, M.A.B. Sarker, M.F. Aly, H.H. Abbas-Temirek, XY–ZH compounds as potential 1, 3-dipoles. Part 65: atom economic

cascade synthesis of highly functionalized pyrimidinylpyrrolidines, Tetrahedron. 67 (2011) 5700–5710.

[71] S. Huang, R. Lin, Y. Yu, Y. Lu, P.J. Connolly, G. Chiu, S. Li, S.L. Emanuel, S.A. Middleton, Synthesis of 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-5-isoquinolin-4-ylpyrazolo [1, 2-b] pyridine, a potent cyclin dependent kinase 1 (CDK1) inhibitor, Bioorg. Med. Chem. Lett. 17 (2007) 1243–1245.

[72] S.-A. Thompson, P.B. Wingrove, L. Connelly, P.J. Whiting, K.A. Wafford, Tracazolate reveals a novel type of allosteric interaction with recombinant γ-aminobutyric acidA receptors, Mol. Pharmacol. 61 (2002) 861–869.

[73] R.B. Nawale, S.S. Ashtekar, QSAR study on 2, 5-disubstituted 1, 3, 4-oxadiazoles as antifungal agents., Int. J. Res. Pharm. Chem. 4 (2014) 26–33.

[74] S. Deng, X. Zeng, W. Hu, X. Liu, DFT-based QSAR study of copper (II) complexes with quinolones and nitrogen-donor heterocycles, in: 2012 Int. Conf. Biomed. Eng. Biotechnol., IEEE, 2012: pp. 153–156.

[75] S.M. Soliman, DFT study on the biological activity of some N-alkyl substituted thiourea derivatives and their zinc chloride complexes, Asian J. Chem. 26 (2014) 1161.

# *Conclusion générale*

Les objectifs des travaux de recherche présentés dans cette thèse sont, l'extraction de curcumine de curcuma, l' étude comparatif entre deux méthodes d'extraction, extraction par macération à froide qui dit conventionnelle et l'extraction assisté par micro-onde qui dit nouvelle , la synthèse de nouveaux dérivés bases de Schiff, l'étude théorique des propriétés caractéristique de curcumine et ses dérivés par une méthode de calcul théorique usuelle dans le monde de la modélisation moléculaire (la DFT) , la prédiction des propriétés biologique de ces molécules par des outils de Docking moléculaire et enfin, l'évaluation *in vitro,* des activité biologique (l'activité antibactérienne et antioxydante).

L'extrait de *curcuma longa L*. présenté sous forme pate marron orange, a été obtenu avec des rendements convenables par les deux techniques d'extraction, mais l'extraction assisté par micro-onde donne un meilleur résultat par rapport au d'autre procédé, Ceci confirme l'avantage de cette technique que ce soit de coté rendement élevé, durée coutre et aussi de coté environnementale.

La curcumine a été identifiée par des techniques de caractérisation usuelles, à savoir la détermination de son point de fusion, et d'autre part, par sa caractérisation par la spectroscopie IR, UV. Nous avons constaté que la température de fusion trouvée, est identique à celle donnée par littérature, elle est entre 182 et 184°C. On a aussi essayé de voir la solubilité de notre extrait dans des solvants couramment utilisés, on a trouvé que la curcumine est soluble dans les solvants organiques polaires et insolubles dans les solvants apolaires et aussi dans l'eau. Le spectre IR expérimental obtenu est conforme au spectre IR théorique de cette molécule. L'analyse par l'UV-vis, a été utilisé en analyse qualitative pour avoir les bandes d'absorption caractéristiques, et en analyse quantitative pour calculer le coefficient d'extinction molaire ($\varepsilon$= 6620 $mol^{-1}$.cm).

Deux nouvelles bases de Schiff dérivées de la curcumine ont été synthétisées à partir de et de la L-alanine et de la L-leucine, à reflux et sous micro-ondes avec d'excellents rendements. La caractérisation structurale des molécules obtenues a été réalisée à partir de leurs analyses élémentaires, des techniques spectrales FTIR, UV-Vis et $^{13}$C-NMR et $^{1}$H-NMR.

A l'aide du logiciel GAUSSIAN 09 avec la fonction hybride BLY3P et la base 6-31 G (d, p), nous avons tout d'abord optimisé les structures des molécules de curcumine, Cur-Ala et

Cur-Leu. On a fait une étude géométrique pour déterminer les longueurs de liaison et les angles, sur ces molécules, on a trouvé que la fonctionnalisation du groupement carbonyle de la curcumine a influé considérablement la géométrie de la molécule de base.

Dans ce travail nous avons réalisé aussi une étude théorique des propriétés de Docking moléculaire de la curcumine et ses dérivés vis-à-vis mPGES1 en utilisant le logiciel Molegro. A partir des résultats obtenus, on a conclu que toutes les la molécules étudiées ont une action inhibitrice contre la prostaglandine microsomiale 1 meilleur que l'inhibiteur de référence 4UK.

L'évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis les bactéries, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Serratia* montre que la curcumine et ses dérivés ont un pouvoir antibactérien modérément inhibiteur entre 16mm et 20mm. Les résultats de l'activité antioxydante montrent que la curcumine et ses dérivés sont d'excellents inhibiteur du radical DPPH, ABTS, CUPRAC …etc.,

Quant aux perspectives de ce travail, elles peuvent s'articuler autour des points suivants :

- Il est très intéressant de faire une optimisation des conditions de travail.
- Caractérisation du produit obtenu par d'autres techniques telles que la RMN-2D, DRX.
- Synthétiser des complexes à partir de ce ligand.
- Etude par DFT de l'effet des solvants polaire et apolaire.
- Etude par DFT de l'effet de différentes températures.

# Annexe A

## Spectres $^{1}$H RMN du Cur, Cur-Ala et Cur-Leu

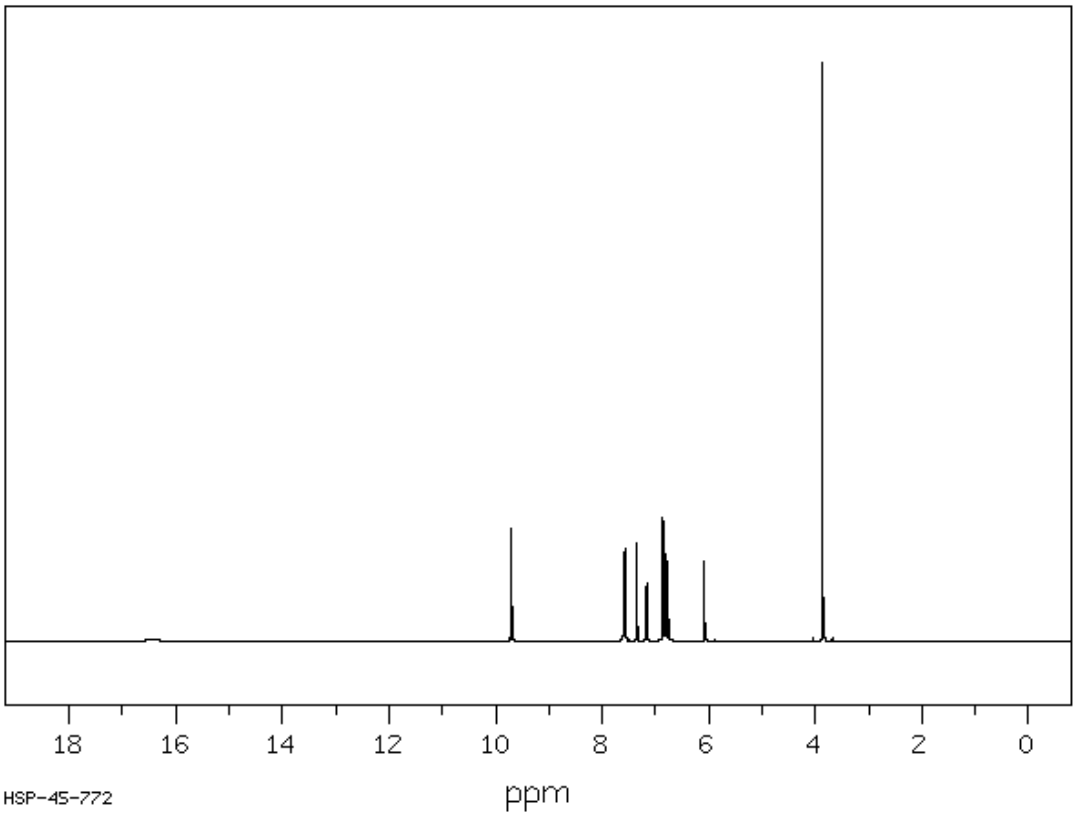



**Figure 1 :** Spectre $^{1}$H RMN de la molécule Cur.

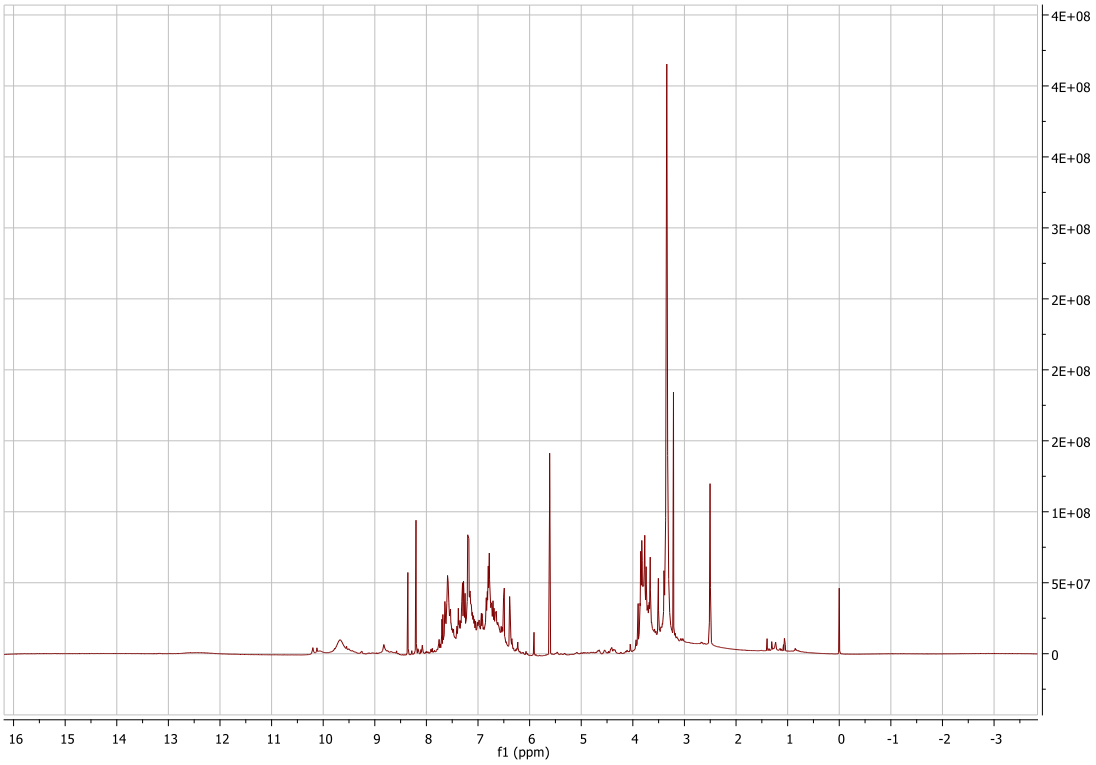



**Figure 2 :** Spectre $^{1}$H RMN de la molécule Cur-Ala.

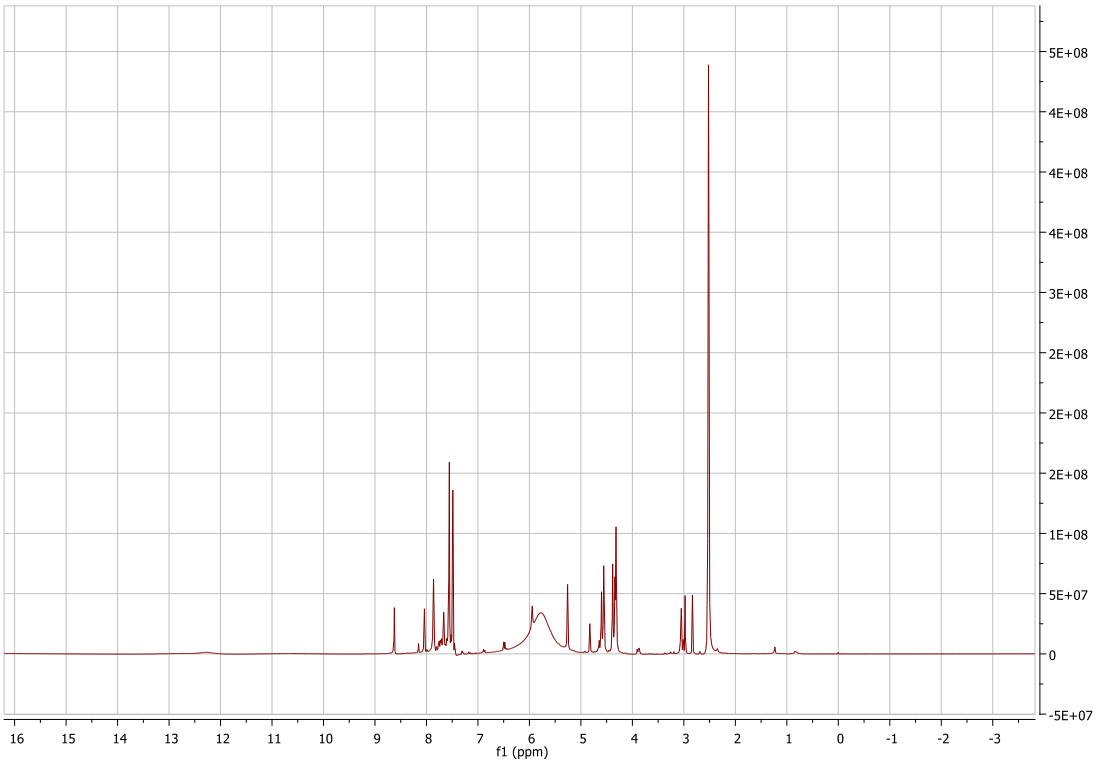



**Figure 3 :** Spectre $^{1}$H RMN de la molécule Cur-Leu.

## Spectres $^{13}$C RMN du Cur, Cur-Ala et Cur-Leu :

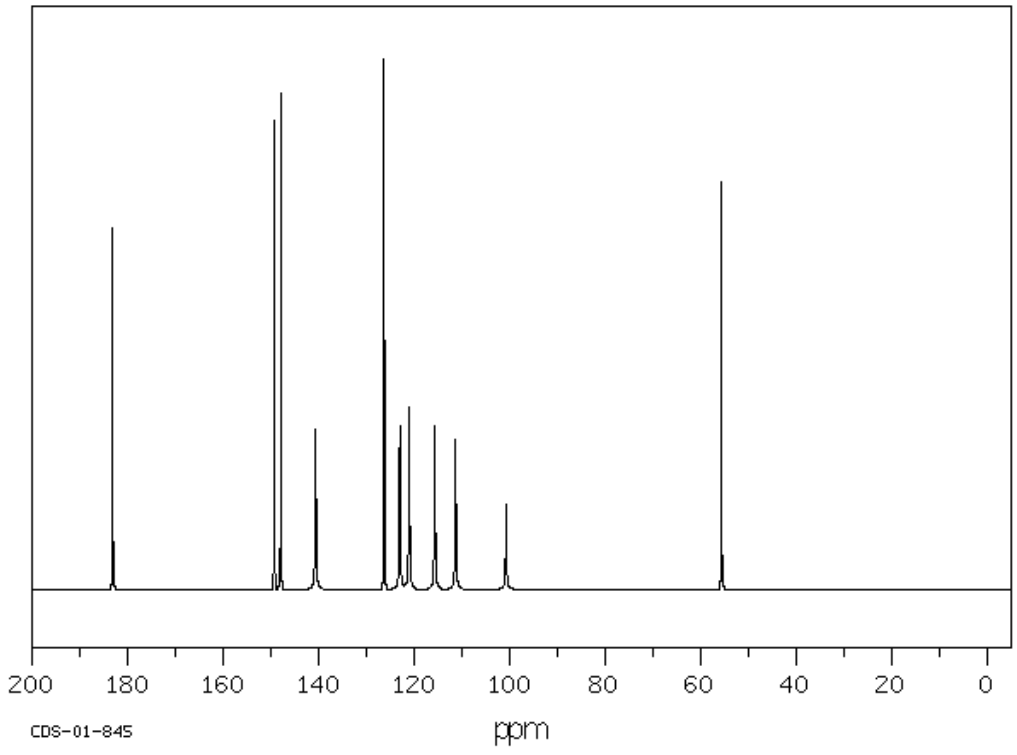



**Figure 4 :** Spectre $^{13}$C RMN de la molécule Cur.

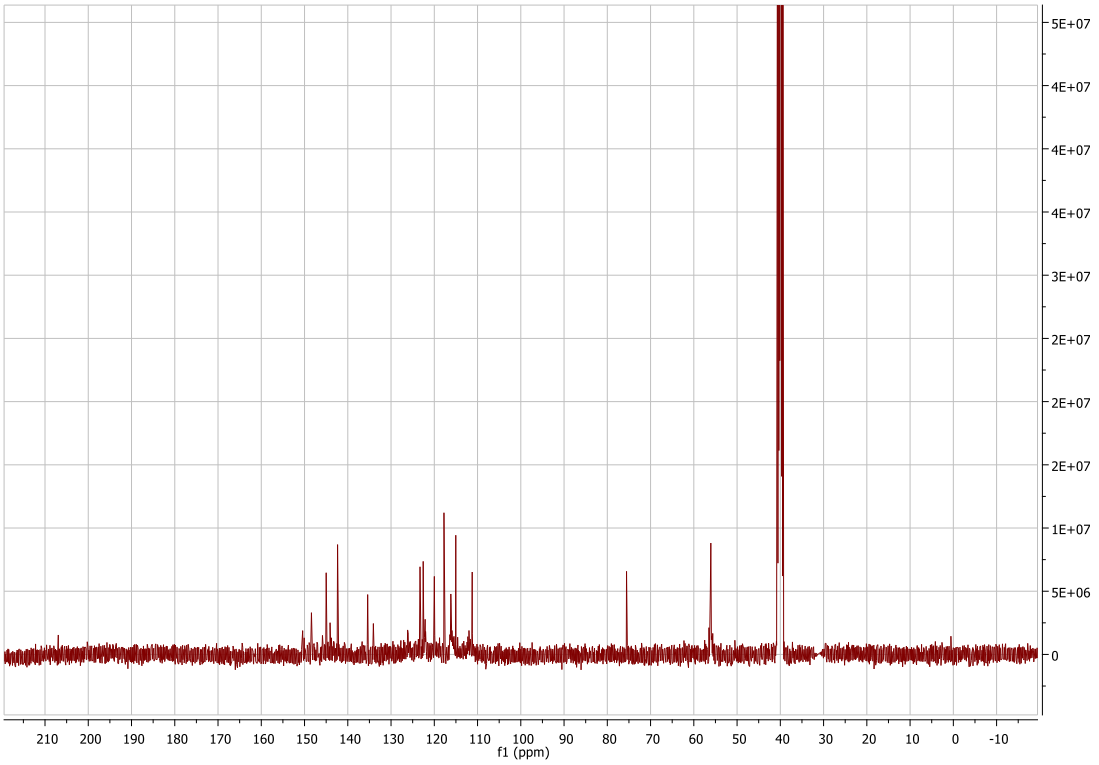



**Figure 5 :** Spectre $^{13}C$ RMN de la molécule Cur-Ala.

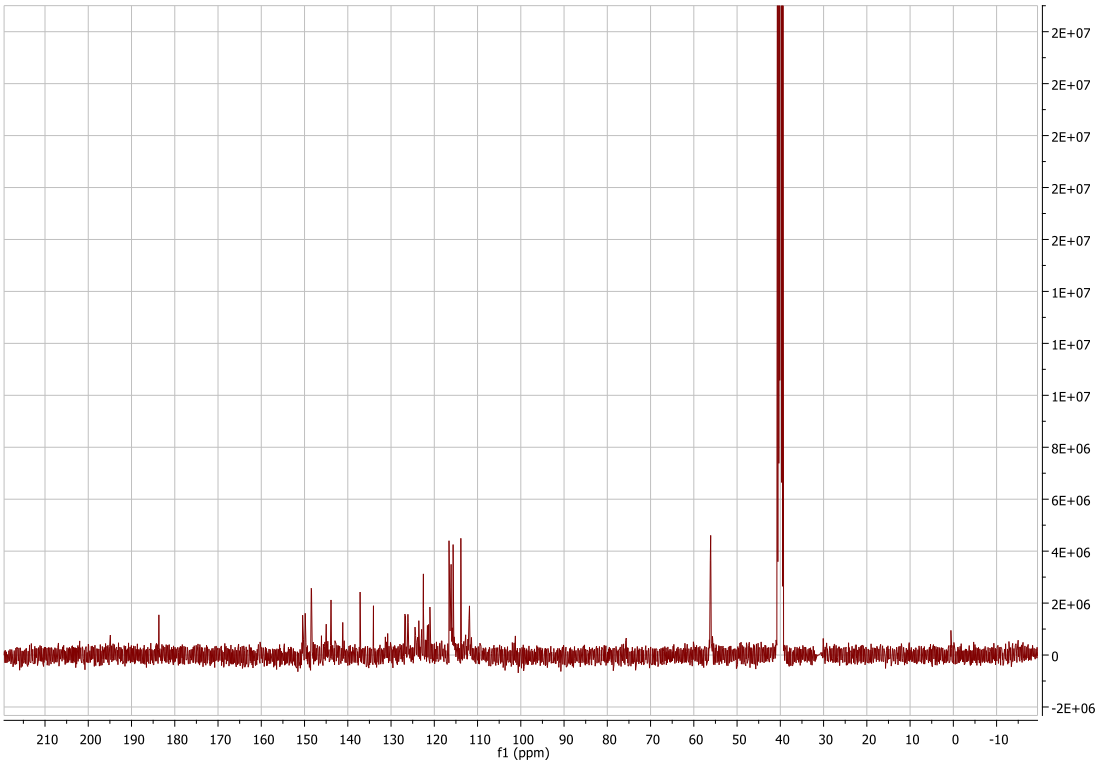



**Figure 6 :** Spectre $^{13}C$ RMN de la molécule Cur-Leu.

**الملخص:**

في هذا العمل، و بعد استخلاص جزيئة الكركمين من نبات الكركم، قمنا بتصنيع قاعدتي شيف جديدتين مشتقتين من الكركمين و من L-alanine و L-leucine ، تحت شروط تحضير عادية وباستعمال اشعة الميكروويف مع مردود جد ممتازة. تم إجراء التوصيف الهيكلي للجزيئات التي تم الحصول عليها من تحليلاتها الأولية ، بتقنيات طيفية FTIR و UV-Vis و $^{13}$C-NMR و $^{1}$H-NMR. تم فحص قواعد شيف (Cur-Ala و Cur-Leu) والكركمين (Cur) بحثًا عن نشاطها المضاد للميكروبات ضد بعض الكائنات المجهرية المسببة للأمراض المهمة سريريًا: *Bacillus subtilis* و *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Aspergillus niger* و *Candida albicans*. كشفت النتائج على أن قواعد شيف كانت أكثر نشاطًا من الكركمين. ووجد انه يمكن أن تعزى الأنشطة المضادة للبكتيريا والفطريات لـ Cur-Ala و Cur-Leu إلى عزمها ثنائي القطب الأكبر ، كما هو موضح في الحسابات النظرية. بالإضافة إلى ذلك ، تمت دراسة النشاط المضاد للأكسدة لقواعد شيف والكركمين بواسطة DPPH ، وتقليل الأيونات النحاسية من قدرة مضادات الأكسدة وتقنيات o-phenanthroline. تشير النتائج إلى أن Cur-Ala و Cur-Leu و Cur تظهر أنشطة مضادة للأكسدة أكثر من مضادات الأكسدة القياسية (BHT و BHA). تم فحص حسابات المعلمات الكيميائية الكمومية لـ Cur-Ala و Cur-Leu و Cur بواسطة DFT باستخدام طريقة المجموعة B3LYP / 6-31G ، لحساب الهيكل الأمثل ، الشحنات الذرية ، MESP ، واصفات التفاعل العالمية و الخصائص الحرارية الجزيئية للجزيئات المستهدفة.

**الكلمات المفتاحية :**

الاستخلاص ، قواعد شيف ، الكركمين ، ألانين ، ليسين ، DFT، الإرساء الجزيئي ، الأنشطة البيولوجية

**Résumé:**

Dans ce travail, après l'extraction de la curcumine à partir de curcuma, deux nouvelles bases de Schiff dérivées de la curcumine ont été synthétisées à partir de et de la L-alanine et de la L-leucine, à reflux et sous micro-ondes avec d'excellents rendements. La caractérisation structurale des molécules obtenues a été réalisée à partir de leurs analyses élémentaires, des techniques spectrales FTIR, UV-Vis et $^{13}$C-NMR et $^{1}$H-NMR. Les bases de Schiff (Cur-Ala, Cur-Leu) et la curcumine (Cur) ont été criblées pour leur activité antimicrobienne *vis-à-vis* de certains micro-organismes pathogènes cliniquement importants : *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* et *Candida albicans*. Le résultat a révélé que les bases de Schiff étaient plus actives que la curcumine. Les activités antibactériennes et antifongiques de Cur-Ala et Cur-Leu peuvent être attribuées à son plus grand moment dipolaire, comme le montrent les calculs théoriques. En outre, l'activité antioxydante des bases de Schiff et de la curcumine a été étudiée par DPPH, les ions cuivriques réduisant la capacité antioxydante et les techniques d'o-phénanthroline. Les résultats indiquent que Cur-Ala, Cur-Leu et Cur présentent plus d'activités antioxydantes que les antioxydants standards (BHT et BHA). Les calculs des paramètres chimiques quantiques de Cur-Ala, Cur-Leu et Cur ont été étudiés par DFT en utilisant la méthode d'ensemble de base B3LYP/6-31G (d,p) pour calculer la structure optimisée, les charges atomiques, MESP, les descripteurs de réactivité globale et les propriétés thermomoléculaires de molécules cibles.

**Mots clés :**

Extraction, bases de Schiff, curcumine, L-alanine, L-leucine, DFT, Docking moléculaire, activités biologiques

**Abstract:**

In this work, a two novel Schiff-basse derived from curcumin and L-Alanine and L-Leucine was synthesized under microwave conditions in excellent yield. The structural characterization has been carried out from their elemental analyses, FTIR, UV–Vis and $^{13}$C-NMR and $^{1}$H-NMR spectral techniques. The Schiff bases (Cur-Ala, Cur-Leu) and curcumin (Cur) have been screened for their antimicrobial activity toward some pathogens clinically important microorganisms: *Bacillus subtilis, Escherichia coli and Staphylococcus aureus, Aspergillus niger and Candida albicans*. Result found that the Schiff bases were more active than the curcumin. The antibacterial and antifungal activities of Cur-Ala and Cur-Leu can be attributed to its greatest dipole moment, as shown by theoretical calculations. Also, the antioxidant activity of Schiff bases and curcumin were studied by DPPH, cupric ion reducing antioxidant capacity and o-phenanthroline techniques. Results indicate that Cur-Ala, Cur-Leu and Cur show more antioxidant activities than the standard antioxidants (BHT and BHA). Quantum chemical parameter calculations of Cur-Ala, Cur-Leu and Cur have been investigated by DFT using B3LYP/6-31G (d,p) basis set method to calculate the optimized structure, atomic charges, MESP, global reactivity descriptors and thermomolecular proprieties of target molecules.

**Keywords:**

Extraction, Schiff bases, curcumin, L-alanine, L-leucine, DFT, molecular docking, biological activities