

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIER ET DE RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Laboratoire de recherche Physique Chimie Moléculaire et Macromoléculaire

(LCPMM)



Faculté des sciences

Département de chimie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master

en chimie Appliquée

Intitulé

Synthèse, caractérisation et activité antioxydante d'une série de nitrones phénoliques

Par : Behlouli Rima

Soutenu publiquement le 02-10-2019 devant le jury :

M^{ER} AIT YAHIA Ahmed

M^{elle} KADRI Farida

M^{me} HAMZA Kahina

MAA à USDB1

MAA à USDB1

MAA à USDB1

Président

Examinatrice

Promotrice

Année universitaire

2018 / 2019

REMERCIEMENTS

En tout premier lieu, je remercie **ALLAH**, tout puissant, de m'avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Je remercie profondément madame et monsieur **Alit Yahia** pour leur encadrement, leur soutien scientifique et humain, leur disponibilité tout au long de cette recherche. J'ai bien apprécié leur sympathie et leurs esprits critiques qui ont contribué à améliorer la qualité de ce travail.

L'occasion m'est donnée pour exprimer mes vifs remerciements à Mme **KADRI Farida** qui a accepté de me faire l'honneur de juger ce modeste travail.

Je tiens à remercier vivement le responsable de laboratoire de recherche monsieur **Bellal.R** pour nous avoir facilité l'accès à son laboratoire.

Également monsieur **Boulahouache.A** pour ses conseils et son soutien pendant le cursus universitaire.

Aussi, mes remerciements vont à ma proche famille, parents, frères et sœur pour leurs encouragements et leur patience.

Don oublier mes amis proche et loin qui ont apporté leur aide et leur contribution.

UN GRAND MERCI À TOUS ET À TOUTES.



Dédicaces

Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que je Dédie:

A ma chère mère, l'être le plus cher pour moi, le plus honnête, J'espère que je suis la bonne fille que tu a tant espéré d'avoir. Chère mère; ta valeur est grande pour moi. A mon père, je ne peux jamais imaginer une vie sans toi, merci pour ta patience, pour ton soutien infini; pour tes conseils d'or tout à la langue de ma vie, j'espère que je serai une source de fierté pour toi. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour qui'ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A ma grande sœur « Amina »

A Mes frères « Riadh, Hamadou, Chouaïbe »

A mes meilleures amies Madina, Amel, Manel , Imen, Hanan, Kenza, yousra, Nassiba »

A mdm Hamza.K qui m'a encouragée, aidée durant ce travail.

A tous mes amis (es), a toute ma famille. Et à toutes les personnes qui me connaît. A tous mes enseignants, je leurs exprime ma profonde gratitude. A tous la promotion de chimie appliquée 2018/2019

Merci

Ryma/B



Résumé

Les dérivés phénoliques sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et plus particulièrement leurs propriétés piègeurs de radicaux libres. Cette propriété des nitrones a été utilisée en biologie pour détecter la présence de radicaux libres oxygénés et également pour protéger les cellules contre un stress oxydant. Dans ce cadre, les travaux décrits dans ce manuscrit sont centrés sur la recherche de nouvelles molécules duales qui rassemble les deux fonctions.

Dans la première partie de ce mémoire nous avons réalisé la synthèse des différents nitrones phénoliques par Condensation des différents aldéhydes aromatiques sur la β -phénylhydroxylamine. Tous les produits synthétisés ont été caractérisés par spectroscopiques IR et UV. Cela nous a permis de vérifier l'existence des fonctions nitrones.

Dans la deuxième partie nous avons effectué l'évaluation de l'activité antioxydant des nitrones synthétisé par trois tests chimiques, la méthode de blanchiment β -carotène, la méthode de FRAP « ferric reducing antioxydant » et la méthode de piégeage du radical libre DPPH « 1,1-diphenyl-2 picrylhydrazule ». Ces tests ont montré que les nitrones phénolique ont un bon pouvoir antioxydant. Ce pouvoir peut être renforcé par l'addition d'un groupement méthoxy à l'ortho de la fonction hydroxyle. L'utilisation des nitrones bis fonctionnelle à montrés son efficacité avec les méthodes qui reposent sur le mécanisme de Transfer d'hydrogène.

Mots clés : nitrone, antioxydant, phénol, DPPH, FRAP, β -carotène

Summary

Phenolic derivatives are known for their antioxidant properties and more particularly their free radical scavenging properties. This property of nitrones has been used in biology to detect the presence of oxygen free radicals and also to protect cells against oxidative stress. In this context, the works described in this manuscript are centered on the search for new dual molecules that brings together the two functions.

In the first part of this thesis we realized the synthesis of different phenolic nitrones by Condensation of different aromatic aldehydes on β -phenylhydroxylamine. All

synthesized products have been characterized by IR and UV spectroscopy. This allowed us to verify the existence of nitrone functions.

In the second part we carried out the evaluation of the antioxidant activity of the synthesized nitrones by three chemical tests, the β -carotene bleaching method, the FRAP method "ferric reducing antioxidant" and the method of trapping of the free radical DPPH « 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine. These tests showed that phenolic nitrones have a good antioxidant power. This power can be enhanced by the addition of a methoxy group to the ortho of the hydroxyl function. The use of functional bis nitrones has shown its effectiveness with methods that rely on the mechanism of hydrogen transfer.

Key words: nitrone, antioxidant, phenol, DPPH, FRAP, β -carotene

ملخص

تشتهر مشتقات الفينول بخصائصها المضادة للأكسدة وبصفة خاصة خواصها في إزالة الجذور الحرة. تم استخدام خاصية النيترون في علم الأحياء للكشف عن وجود جذور خالية من الأوكسجين وكذلك لحماية الخلايا من الإجهاد التأكسدي. في هذا السياق، تتركز الأعمال الموضحة في هذه المخطوطة على البحث عن جزيئات مزدوجة جديدة تجمع بين الوظيفتين.

في الجزء الثاني أجرينا تقييم نشاط مضادات الأكسدة من النيترونات توليفها ثلاثة اختبارات كيميائية، طريقة تبييض بيتا كاروتين، طريقة فراپ " الحد من مضادات الأكسدة الحديدية " وطريقة اصطياد الراديكالي الحر دي دي پ هاء " 1,1-ثنائي فنيل-2 بيكريل هيدرازيل " وقد أظهرت هذه الاختبارات أن النيترونات الفينولية لديها قوة مضادات الأكسدة جيدة. يمكن تعزيز هذه القوة من خلال إضافة مجموعة ميثوكسي إلى أورثو وظيفة الهيدروكسيل.

استخدام بييس نيترون التطبيقية أظهرت كفاءتها مع الطرق التي تستند إلى آلية نقل الهيدروجين

الكلمات المفتاحية: النيترون، مضادات الأكسدة، الفينول، دي پ هاء، فراپ، بيتا كاروتين

Table de matières

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Abréviations et symbole

Introduction générale

Chapitre I : Etude bibliographique

I.1.	Définition	1
I.2.	Nomenclature	1
I.3.	Synthèse et méthodes de synthèse des nitrones	2
I.3.1.	Méthode d'oxydation.....	2
a)	Oxydation des imines.....	3
b)	Oxydation des amines secondaire.....	4
I.3.2.	Condensation des aldéhydes ou des cétones avec les hydroxylamines.....	4
I.3.3.	Alkylation d'oximes	5
I.3.4.	Autre méthode	6
I.4.	Domaine d'application et les propriétés des nitrones.....	6
I.4.1.	Antioxydants et piégeage	6
I.4.2.	Inhibiteurs de corrosion acide et microbienne.....	7
I.4.3.	Nitronne dans la chimie des polymères synthétiques.....	7

I.4.4. Les nitrones en thérapeutique.....	8
---	---

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Appareillages et produits	9
II.1.1. Produits	9
II.1.2. Appareils	9
II.2. Synthèse de la β -phénylhydroxylamine	10
II.3. Condensation des aldéhydes aromatiques sur la β - phényl hydroxylamine.....	12
II.4. Pouvoir antioxydant des nitrones phénoliques	13
II.4.1. La méthode de piégeage du radical DPPH	13
II.4.2 La méthode de Test de blanchissement du β - carotène	14
II.3.3. La méthode FRAP (Pouvoir antioxydant réducteur ferrique)	15

Chapitre III : résultats et discussion

III.1. Introduction.....	17
III.2. Préparation des nitrones.....	17
III.3. Préparation de la β -phénylhydroxylamine.....	17
III.4. Condensation des aldéhydes sur la β - phényl hydroxylamine	18
III.5 Caractérisation spectroscopique des nitrones	19
III.6 Caractérisation par spectrophotométrie d'UV-visible	23
III.7. Activité antioxydant	26
III.7.1. La méthode de piégeage du radical DPPH.....	26
III.7.2. La méthode de Test de blanchissement du β - carotène.....	29
III.7.3. La méthode FRAP (Ferric reducing antioxidant power).....	30

Conclusion générale

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure I.1 :	Formes de résonance des nitrones.	1
Figure I.2 :	Isomérisation E/Z de différents types de nitrones.	1
Figure I.3 :	Réaction d'oxydation d'hydroxylamines.	2
Figure I.4 :	Réaction d'oxydation par [HgO]	3
Figure I.5 :	Synthèse des nitrones par oxydation d'imines	3
Figure I.6 :	Synthèse des nitrones par oxydation d'amines secondaires.	4
Figure I.7 :	Formation d'aldonitrone condensation par d'aldéhyde sur hydroxylamines-N-substituées	4
Figure I.8 :	Formation de cétonitrones par condensation de cétone sur l'hydroxylamine	5
Figure I.9 :	Formation de nitrone par l'alkylation d'oxime	5
Figure I.10 :	Condensation des réactifs de Grignard.	6
Figure II.1 :	Mélange réactionnel.	10
Figure II.2 :	a) Filtration sous vide, b) Décantation.	11
Figure II.3 :	Séchage et filtration du mélange réactionnel.	11
Figure II.4 :	Etape de récupération de β -phénylhydroxylamine.	12
Figure II.5 :	a) recristallisation β -phénylhydroxylamine ; b) β -phénylhydroxylamine ; c) β -phénylhydroxylamine dans l'éthanol.	12
Figure III.1 :	Synthèse de la β -phénylhydroxylamine.	17
Figure III.2 :	Condensation des aldéhydes sur la β -phénylhydroxylamine.	18
Figure III.3 :	Spectre IR en pastille de KBr de Nitrone I, II et III.	20
Figure III.4 :	Spectre IR en pastille de KBr de Nitrone IV, V et VI.	21
Figure III.5 :	Spectre IR en pastille de KBr de Nitrone VII et VIII.	22
Figure III.6 :	Spectre UV des nitrones I, II, III et IV synthétisés dans l'éthanol	23
Figure III.7 :	Spectre UV des nitrones V, VI, VII et VIII synthétisés dans l'éthanol	24
Figure III.8 :	Spectre d'adsorption en UV-Visible et structure chimique du radical libre DPPH• à l'état radicalaire et réduit.	27
Figure III.9 :	Histogramme de la variation de l'activité antioxydante des nitrones et des antioxydants de référence testés par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.	27

- Figure III.10 :** Mécanisme de piégeage du radical libre DPPH par un 28
groupement phénolique.
- Figure III.11 :** Histogramme de la variation de l'activité antioxydante des 29
nitrones et des antioxydants de référence testés par la méthode
de blanchiment de β -carotène.
- Figure III.12 :** Histogramme de la variation de l'activité antioxydante des 30
nitrones et des antioxydants de référence testés par la méthode
FRAP.

Liste des tableaux

Tableau II.1 :	Produits utilisés ainsi que leurs origines et leurs degrés de pureté.	9
Tableau II.2 :	Quantités de réactifs utilisés et de nitrones obtenues en grammes et en mole	13
Tableau II.3 :	Absorbance en UV à 517 nm des solutions des nitrone et des antioxydants de référence lors du test de piégeage de radicale libre DPPH.	14
Tableau II.4 :	Absorbance en UV à 490 nm des solutions des nitrone et des antioxydants de référence lors du test blanchissement du β - carotène	15
Tableau II.5 :	Absorbance en UV à 700 nm des solutions des nitrone et des antioxydants de référence lors du test FRAP.	16
Tableau III.1 :	Caractéristiques physiques et rendement de la β -phénylhydroxylamine.	17
Tableau III.2 :	Nomenclatures et structures des mononitrones et bisnitrones synthétisées	18
Tableau III.3 :	Aspects, Formule brute, rendements (Rdt), points de fusion (P_f)	19
Tableau III.4 :	Les transitions électroniques des nitrones Synthétisés.	24

Liste des abréviations

PBN	l'α-phényl-N-tertbutylnitrone
DPPH	2,2-Diphénylpicrylhydrazyl
FRAP	Pouvoir antioxydant réducteur ferrique
TCA	L'Acide Trichloroacétique
BHT	Butyle Hydroxyle Toluène
KBr	Bromure de potassium
IRTF	Infrarouge à Transformer de Fourier
UV-Vis	Ultra - Violet- Visible
MgO	L'oxyde de magnésium
Alk	Alkyle
Ar	aromatique
RPE	Résonance paramagnétique électrique
ZnO	L'oxyde de zinc
DRO	Dérivé réactif de l'oxygène
Fe³⁺_ TPTZ	fer 2, 4,6-tripyridyls-triazine
g	Gramme
V	Volume
pH	Potentiel hydrogène
Rdt	Rendement
H	Heure
Min	Minute
P_f	Point de fusion
Z	Cis
E	Trans
α	Alpha
β	Bêta
R	Radicale
ppm	partie par million
mol	Mole
ph	Phényle
%	Pourcentage

°	Degré
°C	Degré Celsius
TA	Température Ambiante
T	Température
nm	Nanomètre
µm	Micromètre
ml	Millilitre
Cm	Centimètre
λ	Longueur d'onde
Abs	Absorbance
l	La largeur de cuve
c	La concentration
g/mol	Gramme par mole
m	Masse
N.I	C, N-diphénylnitrone
N.II	C-p-méthoxy phényl N-phényl nitrone
N.III	C-p-hydroxy phényle N-phényl nitrone
N.IV	C-3,4-dihydroxy phényl N-phényl nitrone
N.V	C-4-hydroxy 3-méthoxy phényl N-phényl nitrone
N.VI	C-3, 4, 5-triméthoxy phényl N-phényl nitrone
N.VII	3,5-dimethoxy-4-hydroxy phényl N-phényl nitrone
N.VII	C-4 hydroxy 3-oxo phényl N-phényl nitrone

Introduction générale

Les nitrones sont des intermédiaires synthétiques très électrophiles importants qui ont servi d'une manière extensive en chimie organique. Elles peuvent réagir comme des 1,3-dipôle avec une grande variété de dipôlarophiles pour donner différents produits bioactifs. [1]

Les nitrones ne représentent pas seulement un outil largement utilisé pour la détection des radicaux libres, mais comme agents chimiothérapeutiques prometteurs au niveau cérébral et autres pathologies. Au cours des dernières années, de nombreuses preuves ont montré que les radicaux libres jouent un rôle majeur dans le vieillissement et les maladies dégénératives telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, la cataracte, le déclin du système immunitaire et le dysfonctionnement cérébral. Heureusement, la formation de radicaux libres est contrôlée naturellement par divers composés bénéfiques appelés antioxydants. [2]

Malgré la grande capacité que possèdent ces nitrones à piéger de nombreux radicaux libres présentent quelques limitations, les recherches visent à synthétiser de nouvelles nitrones plus performantes pour le piégeage de spin dans les milieux biologiques. Cette nouvelle gamme présente une activité antioxydante remarquable.

Les antioxydants, principalement le 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle et les caroténoïdes β -carotène, suscitent un intérêt grandissant pour leur rôle dans la résistance des végétaux et animaux aux stress environnementaux. Mais surtout, l'intérêt généralisé pour les antioxydants s'explique par leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. [3]

L'évaluation du pouvoir antioxydant est réalisée en utilisant plusieurs méthodes du piégeage du radical libre telles que le DPPH, le test de FRAP et par le β -carotène.

L'objectif de ce travail entrepris dans ce mémoire consiste à la synthèse et caractérisation de nouveaux nitrones phénolique et ses activités antioxydantes.

Ce manuscrit est organisé en quatre parties suivantes :

- Le premier chapitre qui présentera un rappel bibliographique sur les nitrones et ses propriétés, leurs méthodes de synthèse et leurs applications.
- Le deuxième chapitre sera consacré à la description des matériels, produits et des protocoles utilisés pour la synthèse d'une série de nitrones

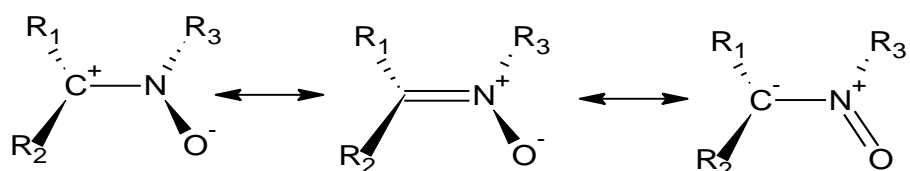
phénoliques, les techniques expérimentales utilisées et le procédé d'évaluation de stress antioxydant et les techniques de caractérisations utilisées.

- Le troisième chapitre sera dédié à la discussion des résultats de la synthèse et la caractérisation d'une série de nitrones phénolique, et le développement de ses activités antioxydantes. On terminera par une conclusion générale.

Etude bibliographique

I.1.Définition :

Les nitrones sont des composé les plus efficace aux capacités multifonction, agissant à la foi comme piègeage à spin radicalaire et à 1,3 dipôle qui subissent des ré action de cycloaddition, Elles peuvent réagir avec une grande variété de dipôlarophiles pour donner différents produits bioactifs [4].

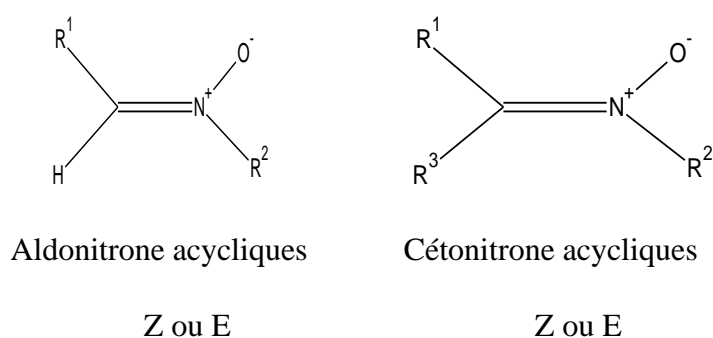


FigureI.1 : Formes de résonance des nitrones.

I.2.Nomenclature :

Il existe deux types de nitrones. Les aldonitrones (R3 = H) sont similaires aux aldéhydes et les cétonitrones (R3 = Alk, Ar) aux cétones. Elles peuvent être cycliques ou acycliques. Dans le cas des nitrones cycliques, l'isomère E est le seul possible (figure I.2) [6].Les termes généraux Aldo- et Céto-nitrones sont utilisés à l'occasion pour distinguer ceux avec ou sans proton sur le α -carbone, respectivement [4].

Les nitrones acycliques peuvent se trouver sous la forme des isomères Z et/ou E. Dans le cas des aldonitrones l'isomère très majoritaire est le Z sauf lorsqu'un groupement électroattracteur est en α de l'atome d'azote. Dans ce cas, les deux isomères sont présents en mélange.Lescétonitrones acycliques sont le plus généralement sous forme d'un mélange d'isomères Z et E [5].



FigureI.2 : Isomérisation E/Z de différents types de nitrones.

I.3.Synthèse et méthodes de synthèse des nitrones :

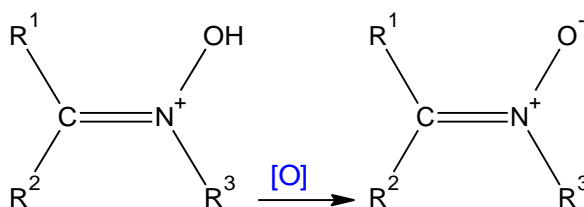
Les composés azotés sont très répandus dans la nature. Lorsqu'ils possèdent une chiralité intéressante, ils sont alors très recherchés pour la synthèse des composés énantiomériquement purs. Il n'est donc pas surprenant que l'addition stéréosélective aux doubles liaisons C=N soit considérée maintenant comme une des réactions parmi les plus importantes de la synthèse asymétrique.

Les additions nucléophiles sur les doubles liaisons carbones azote comme celles des imines, oximes, hydrazones et seld'imminiumont été étudiées en détail ; par contre les nitrones ont été peu examinées, elles n'ont reçu qu'une faible attention jusqu'à une durée pas très espacée dans le temps, car elle remonte à peu près aux vingt dernières années[6].

Une variété des méthodes de synthèse des nitrones qui enrichissent ce domaine de recherche, avec un nombre élevé de produits. Les plus utilisées étant les réactions d'oxydation des amines et des hydroxylamines ainsi que les condensations des hydroxylamines avec les aldéhydes ou les cétones [6].

I.3.1.Méthode d'oxydation :

Une des méthodes d'oxydation les plus communément utilisées dans la synthèse des nitrones est l'oxydation des hydroxylamines N, N-bisubstituées[6]. Nombreux agents oxydants peuvent être utilisés : l'eau oxygénée, l'hydroperoxyde de tertio-butyle, le ferrocyanure de potassium, le dioxyde de plomb, le periodate de sodium ou l'oxyde d'argent.



FigureI.3 : Réaction d'oxydation d'hydroxylamines.

Cette méthode de synthèse des nitrones est spécialement recommandable dans la conversion des hydroxylamines cycliques en nitrones cycliques, des rendements élevés sont observés si l'oxydant est HgO.

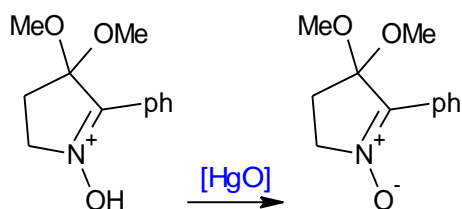


Figure I.4 : Réaction d'oxydation par [HgO].

a) Oxydation des imines :

Larson et al [7] ont développé une méthode de synthèse des nitrones cycliques à partir des imines correspondantes. Ces composés ont une activité anti-stroke (endommagement cellulaire) potentiel [8].

L'oxydation des imines en nitrones est difficile. Dans le cas des nitrones acycliques, les réactifs oxydants classiques tels que les complexes de molybdène, l'oxone, le peroxyde d'hydrogène, le diméthyldioxirane, ou les peracides conduisent majoritairement aux oxaziridines (figure I.5) [5].

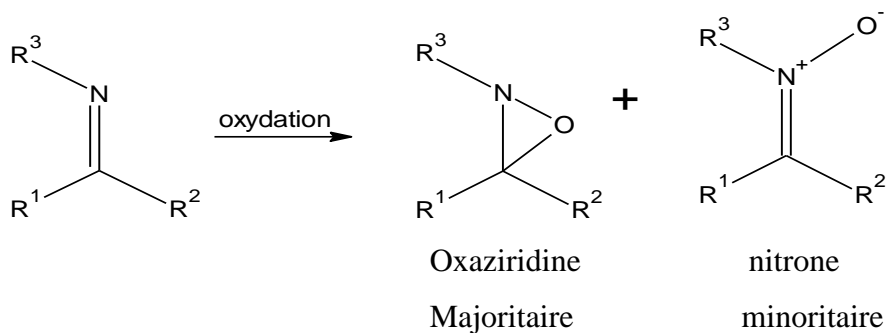


Figure I.5 : Synthèse des nitrones par oxydation d'imines.

b) Oxydation des amines secondaires :

L'oxydation d'amine secondaire utilisant le complexe (MTO/Urée, H₂O) a montré son efficacité et sa non-toxicité pour la préparation des nitrones à partir des amines secondaires [8]. La nitronne la plus substituée ou la plus conjuguée est obtenue majoritairement (figure I.6).

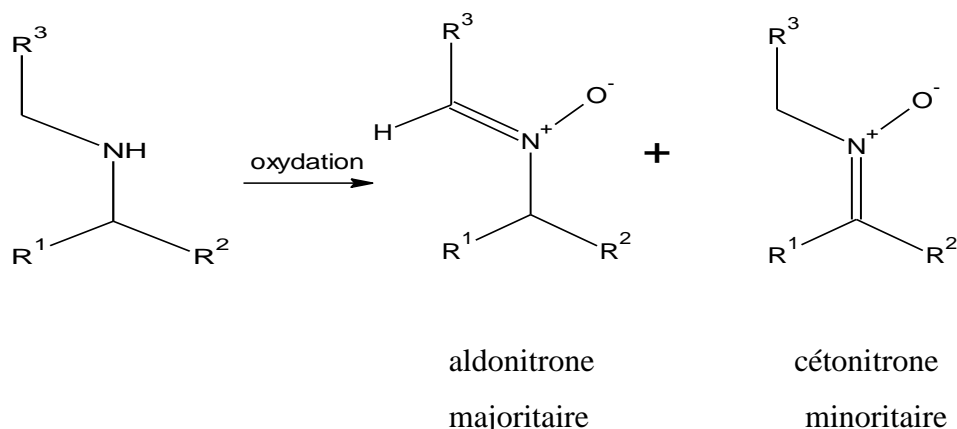


Figure I.6 : Synthèse des nitrones par oxydation d'amines secondaires.

I.3.2. Condensation des aldéhydes ou des cétones avec les hydroxylamines :

a) Aldéhydes :

Les nitrones sont facilement disponibles à partir de la réaction entre les aldéhydes et les hydroxylamines-N-substituées [8]. Les aldéhydes réagissent rapidement et quantitativement à température ambiante avec des hydroxylamines monosubstituées, cette condensation donne presque toujours la formation de l'isomère Z, sauf dans le cas où le carbone terminal de la nitronne est attaché à un phényle 2,6-disubstitué ou à des substituants attracteurs conjugués (figure I.7) [1].

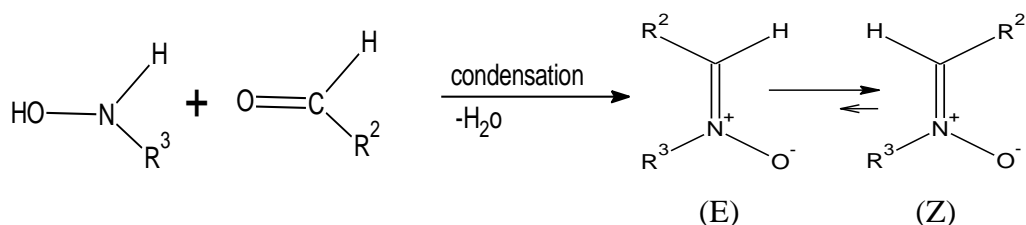


Figure I.7 : Formation d'aldonitronne condensation par d'aldéhyde sur hydroxylamines-N-substituées.

b) Cétone :

Le procédé le plus simple et le plus général pour l'obtention des nitrones est la condensation d'une hydroxylamine N- substituée avec un aldéhyde ou une cétone.

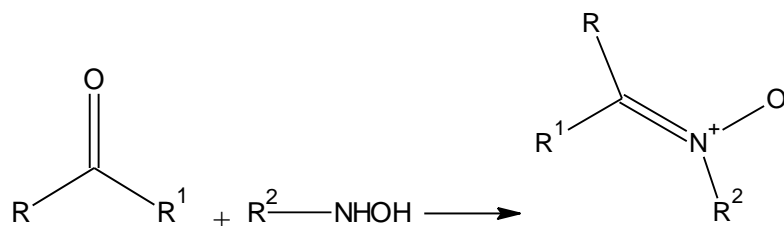


Figure I.8 : Formation de cétonitrones par condensation de cétone sur l'hydroxylamine.

Des rendements élevés, supérieurs à 80 % sont obtenus pour cette transformation, ce qui fait de cette méthode la plus efficace pour la synthèse de ces produits. Cependant, cette stratégie peut présenter dans certains cas quelques inconvénients :

- Comme les cétones sont moins réactives que les aldéhydes, l'augmentation température ou l'addition d'un acide de Lewis est nécessaire pour la condensation.
- Les substituants volumineux dans n'importe quel produit de départ entraînent une gêne stérique et rendent la réaction difficile.
- Dans certains cas, l'obtention de quelques hydroxylamines comme produit de réaction peut être complexe [6].

I.3.3. Alkylation d'oximes :

D'autres méthodes de préparation de nitrones Dans certains cas, l'alkylation d'une oxime est possible pour préparer la nitronne correspondant. Cette méthode présente l'inconvénient d'être en compétition avec l'O-alkylation qui est généralement plus favorisée [6].

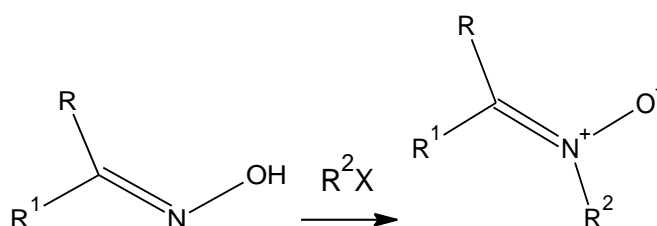


Figure I.9 : Formation de nitronne par l'alkylation d'oxime.

I.3.4. Autre méthode :

La condensation des réactifs de Grignard avec le composé α -chloronitrosés, permet aussi l'obtention des nitrones [7].

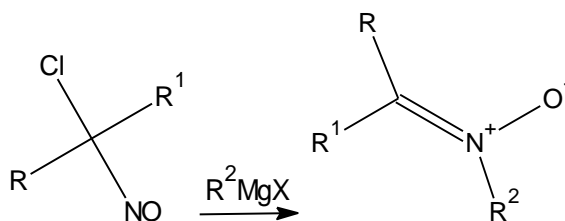


Figure I.10 : Condensation des réactifs de Grignard.

I.4. Domaine d'application et les propriétés des nitrones :

La nitron a beaucoup éprouvé l'attention en raison de ses nombreuses applications en tant que 1,3-dipôle dans la synthèse de composés hétérocycliques et les bioactives. Grâce à sa structure distincte, la nitron peut également être utilisée comme ligand en chimie inorganique. Les nitrones présentent de nombreuses propriétés telles que ; activité antioxydantes, le piégeage des radicaux libre, l'activité antimicrobiennes, inhibiteurs efficaces de la corrosion acide et microbienne [1].

I.4.1. Antioxydants et piégeage :

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre la production d'espèces oxygénées et les réactifs antioxydants. Ce phénomène est associé à de nombreuses pathologies telles que des maladies neurodégénératives et cardiovasculaires ou des cancers. Pour contrecarrer les dégâts causés par le stress oxydant, l'utilisation d'antioxydants synthétiques s'est avérée intéressante, il est alors possible de modifier les propriétés physico-chimiques des antioxydants et de leur assurer un meilleur ciblage cellulaire et tissulaire [9].

L' α -phényl-N-tert-butyl nitron (PBN), qui présente une bonne activité pharmacologique contre les dégâts liés aux radicaux libres, et qui est également utilisée en tant que sonde analytique pour l'identification d'espèces radicalaires par la technique de piégeage de spin couplée à la résonance paramagnétique électronique (RPE) [9].

I.4.2. Inhibiteurs de corrosion acide et microbienne :

Il a été rapporté que certains composés nitrones peuvent former des complexes stables avec les ions Cu (II), Ni (II), Co (II) et Cr (III), ce qui est utile pendant l'inhibition de la corrosion acide pour les inhibiteurs interagissant avec le métal. Ils peuvent donc être des inhibiteurs de corrosion potentiels. Certains N-diphényle nitrones ont été utilisés en tant qu'inhibiteurs de corrosion pour l'acier doux dans des acides organiques, et leur inhibition modérée à élever dans une solution d'acide formique à 20% acide acétique à une concentration de 50 à 150 ppm [10].

I.4.3. Nitrone dans la chimie des polymères synthétiques :

Les nitrones sans doute ; sont l'un des composés les plus efficaces aux capacités multifonctionnelles, agissant à la fois comme piège à spin radicalaire et à 1,3 dipôle. Contrairement à leur polyvalence de synthèse potentielle, l'application des nitrones à la chimie des polymères synthétiques en est encore à ses balbutiements et son potentiel réel reste à explorer [11].

La première application dans ce domaine a été à base de polymères. Généralement ; la synthèse de ces matériaux a été réalisée en polymérisant des monomères vinyliques à base d'aldéhyde via une polymérisation radicalaire classique suivie de réactions de condensation du poly (aldéhyde) avec un excès de N-alkyl hydroxylamines donnant des poly (nitrones). Ces matériaux ont été générés pour les objectifs spécifiques susmentionnés à l'époque, bien que peu de travail ait été consacré à des matériaux tels que les travaux de suivi. Néanmoins, de tels poly (nitrones) pourraient avoir le potentiel de susciter des applications dans le domaine de la synthèse, compte tenu des développements récents en chimie macromoléculaire impliquant des nitrones.

Ritter et Vretik [12] ont décrit un mécanisme de croissance par étapes via des réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire entre des nitrones bi fonctionnelles et des composés bis-maléimide formant des polymères interconnectés par des cycles isoxazolidine.

Aucun catalyseur n'a été utilisé dans ces réactions, mais des conditions sans oxygène et des temps de réaction longs. Ces polymères de croissance par étapes ont été décrits comme ayant de bonnes performances pour la formation de revêtement sur des surfaces de verre, la réaction réussie de cycloaddition impliquant des nitrones à l'échelle macromoléculaire.

Dans le contexte de la chimie des clics et compte tenu du succès de la cycloaddition analogue azide-alcyne, les nitrones en tant qu'énophiles pourraient devenir des fonctionnalités utiles à des fins de conjugaison de polymères. Il convient de noter qu'une réaction de cycloaddition analogue avec les oxydes de nitrile a récemment été mise au point en tant qu'outil permettant de modifier les polymères de groupes terminaux [11].

I.4.4. Les nitrones en thérapeutique :

Les nitrones ont la formule chimique générale $X - CH = NO - Y$. Ils ont d'abord été utilisés pour piéger les radicaux libres dans les systèmes chimiques, puis ultérieurement dans les systèmes biochimiques. Plus récemment, plusieurs nitrones, dont l' α -phényl-tert-butylnitron (PBN), ont démontré une activité biologique puissante dans de nombreux modèles animaux expérimentaux.

De nombreuses maladies liées au vieillissement, notamment les accidents vasculaires cérébraux, le développement d'un cancer, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer, sont connues pour avoir des niveaux élevés de radicaux libres et de stress oxydatif. Certains dérivés de la PBN sont nettement plus puissants que la PBN et ont fait l'objet d'un important développement commercial pour les accidents vasculaires cérébraux [13].

Des recherches récentes ont montré que les nitrones apparentées à la PBN avaient également une activité anticancéreuse dans plusieurs modèles de cancer expérimentaux et avaient un potentiel thérapeutique dans certains cancers. De plus, des observations récentes ont montré que les nitrones agissent en synergie avec des antioxydants dans la prévention des pertes auditives aiguës induites par le bruit. La base mécanistique de la puissante activité biologique des nitrones liées à la PBN n'est pas connue [13].

Bien que les nitrones liés à la PBN réduisent le stress oxydatif et les dommages oxydatifs, leur puissante activité anti-inflammatoire biologique et leur capacité à modifier les processus de signalisation cellulaire ne peuvent pas être facilement expliquées par les notions conventionnelles de biochimie du piégeage de radicaux libres [13].

Matériels et méthodes

II.1. Appareillages et produits :

II.1.1. Produits :

Les produits utilisés dans notre travail et leurs origines sont rassemblés dans le tableau (II.1) :

Tableau II.1 : produits utilisés ainsi que leurs origines et leurs degrés de pureté.

Etape	Produits	Origine	Pureté (%)
Synthèse de la β -phénylhydroxylamine	Ethanol absolu	Sigma-Aldrich	99,9
	Diéthyléther	Sigma-Aldrich	99,5
	Ether de pétrole	Sigma-Aldrich	95
	Nitrobenzène	Panreac PA	99,5
	Chlorure d'ammonium (NH ₄ Cl)	Sigma-Aldrich	99,5
	Zinc en poudre	Panreac PA	99
	Chlorure de sodium	Sigma-Aldrich	99
	Sulfate de sodium Na ₂ SO ₄	Sigma-Aldrich	99
Condensation des aldéhydes	Acétate d'éthyle	Sigma-Aldrich	99,5
	Benzaldéhyde	Sigma-Aldrich	99
	p-methoxybenzaldehydes	Sigma-Aldrich	99
	p-hydroxybenzaldehyde	Sigma-Aldrich	99
	3,4-dihydroxy benzaldehyde	Sigma-Aldrich	99
	Vanilline	Sigma-Aldrich	98
	3,4,5-trimethoxybenzaldehyde	Sigma-Aldrich	99
	syringaldehyde	Sigma-Aldrich	99
	4-hydroxy isophtaldehyd	Sigma-Aldrich	99
Activité antioxydante	Chloroforme	Pro labo	99,6
	DPPH	Fluka	99
	β -carotène	Pro labo	99,5
	Acide linoléique	Fluka	98
	Tween 40	Pro labo	98
	FeCl ₃	Fluka	99
	[K ₃ Fe(CN) ₆]	Fluka	99
	TCA	Fluka	99
	Vitamine C	Sigma-Aldrich	99
	2,6di-tert-butyl-4-methyl phenol (BHT)	Aldrich	99

II.1.2. Appareils

Les différents appareils utilisés pour nos analyses sont :

- Les points de fusion des nitrones synthétisés ont été mesurés en tube capillaire, à l'aide d'un appareil de type STUART.

- Les spectres Infra Rouge des nitrones ont été réalisés à l'aide d'un appareil de marque IR-FT JASCO-4100. Les composés solides sont greffés sur des pastilles en KBr. Les nombres d'onde des bandes de vibration d'élongation (ν) sont donnés en cm^{-1} .
- Les spectres UV- visible ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, de marque SHIMADZU, type UV-1201 à mono faisceaux.

II.2. Synthèse de la β -phénylhydroxylamine

Dans un erlenmeyer de 500 ml, on fait couler 25 g de chlorure d'ammonium, 200 ml d'eau distillée et 50 g (41,6 ml/0,41mol) de nitrobenzène, sous agitation en ajoutant 59 g (0,83 mol) de zinc en poudre en petites quantités jusqu'à ce que la quantité soit complètement terminée. La vitesse d'agitation doit être contrôlée de manière à ce que la température du mélange reste entre 60°C et 65°C . [1]

On continue l'agitation pendant 15min additionnels pour que la réaction de réduction se termine.

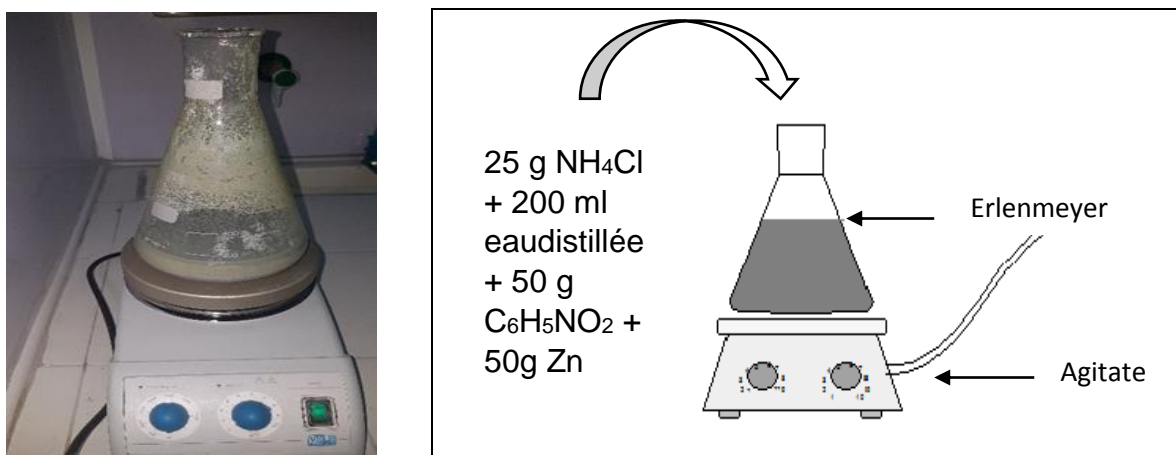


Figure II.1 : Mélange réactionnel.

On filtre le mélange sous vide et on lave le zinc oxydé avec 100 ml d'eau chaude. Le filtrat est saturé avec 300 g de chlorure de sodium et extrait avec le diéthyle éther pour éliminer toute trace de composés inorganiques à l'aide d'une ampoule à décanté [1].

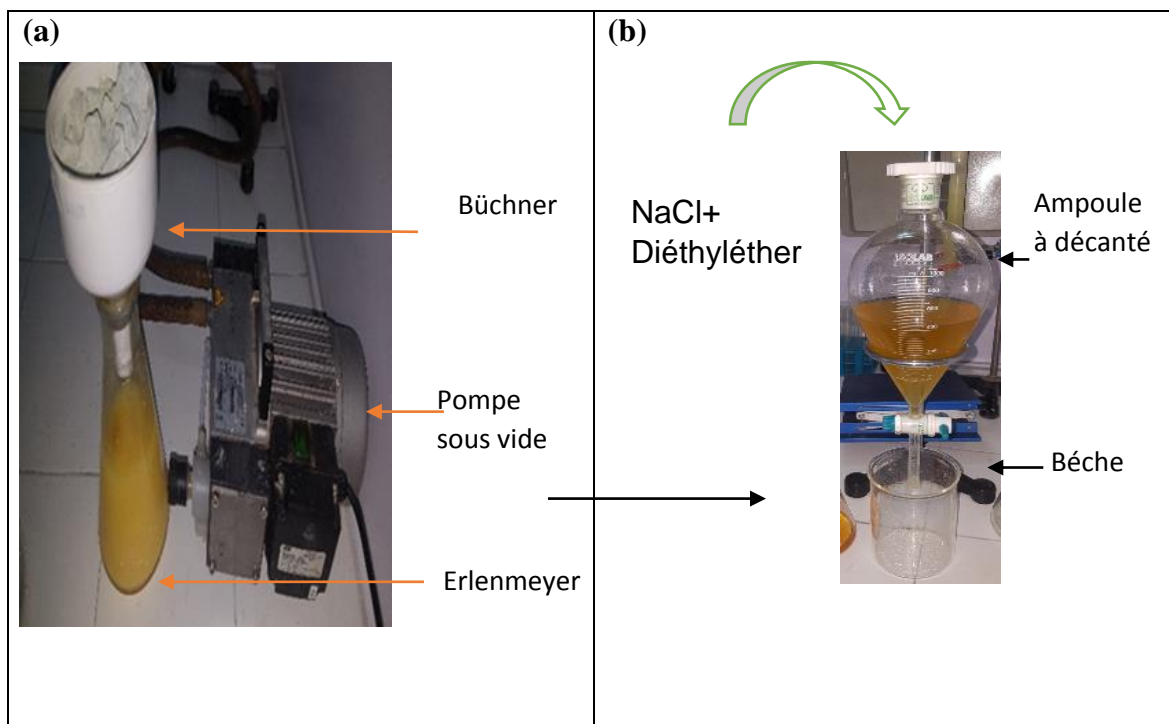


Figure II.2 : a) Filtration sous vide, b) Décantation.

Ensuite la phase organique récupérée et séchée avec du sulfate de sodium sous agitation. Après filtration, on évapore à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif pour obtenir un solide jaunâtre. [1]

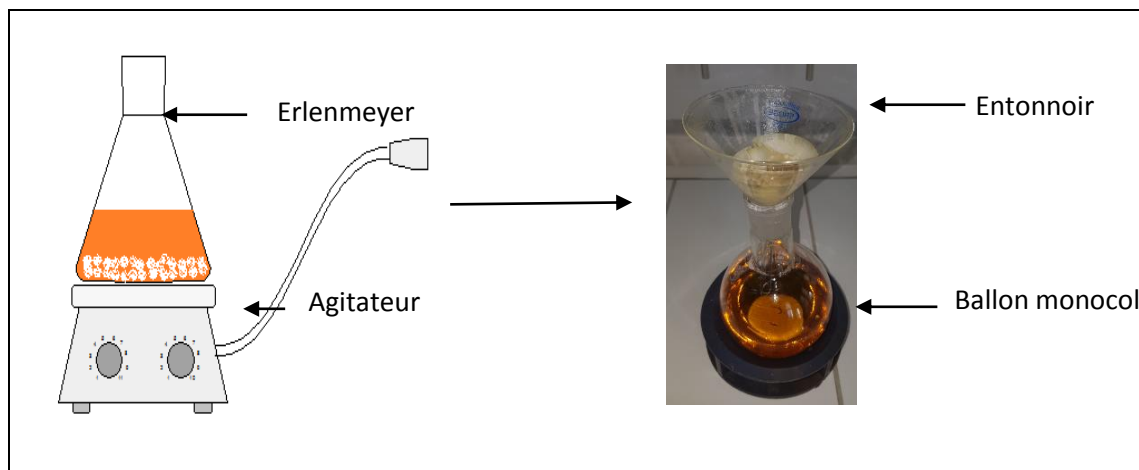


Figure II.3 : Séchage et filtration du mélange réactionnel.

On évapore à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif pour obtenir un solide jaunâtre.

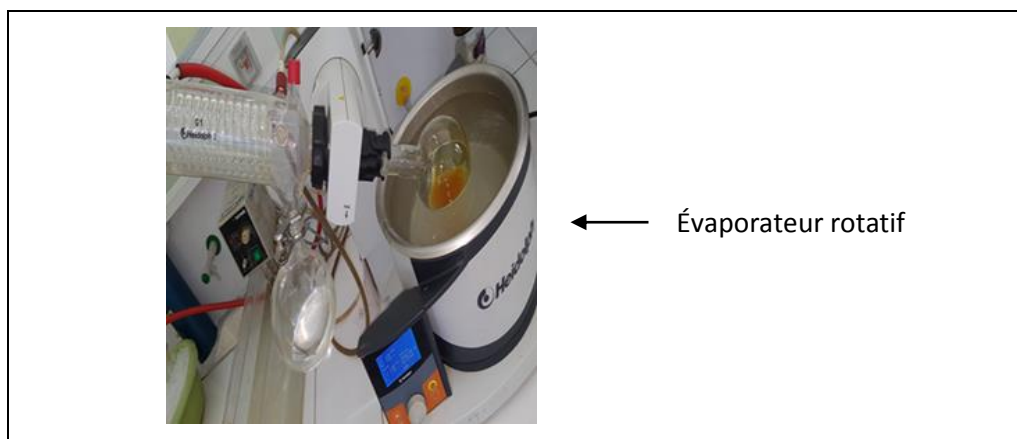


Figure II.4 : Etape de récupération de β -phénylhydroxylamine.

La recristallisation de ce dernier dans l'éther de pétrole nous donne 23.55 g de β -phénylhydroxylamine sous forme de cristaux blancs, ensuite transformer dans 70 ml d'éthanol. [1]

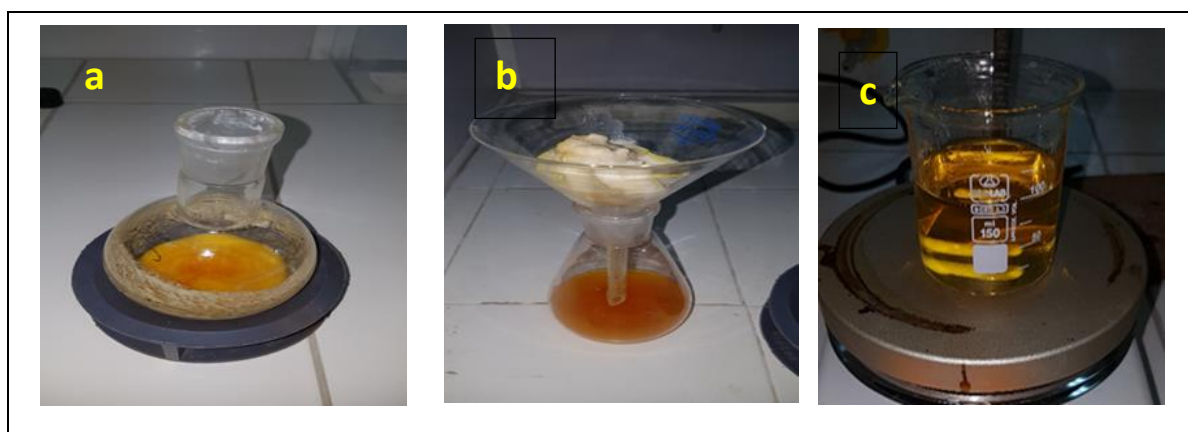


Figure II.5 : a) recristallisation β -phénylhydroxylamine ; b) β -phénylhydroxylamine ; c) β -phénylhydroxylamine dans l'éthanol.

II.3. Condensation des aldéhydes aromatiques sur la β -phénylhydroxylamine

La série de nitrones est synthétisée par condensation des aldéhydes aromatiques sur la β -phénylhydroxylamine, Ces nitrones ont été purifiées par recristallisation dans l'acétate d'éthyle. Cette synthèse a été réalisée selon le mode opératoire général suivant [14] :

A une solution d'aldéhyde approprié dans l'éthanol (50 ml), on ajoute une solution de β -phénylhydroxylamine dans l'éthanol (50 ml). On maintien ce mélange sous agitation à

température ambiante pendant 6 h. On laisse décanter à température ambiante. On filtre et on récupère un composé solide. Le tableau (II.2) rassemble les quantités des réactifs utilisés pour la préparation des nitrones et les produits obtenus [14] :

Tableau II.2. Quantités de réactifs utilisés et de nitrones obtenues en grammes et en moles.

Nitronne	Mélange réactionnel	Quantité utilisée (g)	Nombre de moles	Y _{thé}	Y _{exp}
I.	β-phénylhydroxylamine	3	0,0275	44,33	23,66
	Benzaldehyde	2,918	0,0275	5,421	
II.	β-phénylhydroxylamine	3	0,0275	44,33	23,66
	p-methoxybenzaldehydes	3,744	0,0275	6,246	
III.	β-phénylhydroxylamine	3	0,0275	44,33	23,66
	p-hydroxybenzaldehyde	3,358	0,0275	5,861	0,18
IV.	β-phénylhydroxylamine	3	0,0275	44,33	23,66
	3,4-dihydroxy benzaldehyde	3,729	0,0275	6,300	
V.	β-phénylhydroxylamine	3	0,0275	44,33	23,66
	4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde	4,238	0,0275	6,686	
VI.	β-phénylhydroxylamine	3	0,0275	44,33	23,66
	3, 4,5-trimethoxybenzaldehyde	5,394	0,0275	7,896	3,16
VII.	β-phénylhydroxylamine	3	0,0275	44,33	23,66
	3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzaldehyde	5,037	0,0275	5,391	0,48
VIII.	β-phénylhydroxylamine	3	0,0275	44,33	23,66
	4-hydroxy isophthalaldehyde	4,128	0,0275	6,631	

II.4. Pouvoir antioxydant des nitrones phénoliques

Le pouvoir antioxydant de notre nitronne a été testé par trois méthodes :

- La méthode de piégeage du radical libre 2, 2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).
- La méthode de blanchissement de la β-carotène.
- La méthode de réduction de fer ferrique (FRAP).

II.4.1. La méthode de piégeage du radical DPPH

La mesure de l'activité antiradicalaire a été testée selon la méthode de Blois [15].

Une solution de radical DPPH a été préparée en dissolvant 4 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol sous agitation, ensuite on mesure son absorbance à 517nm pour s'assurer que son absorbance est de 0,557. [16]

Des solutions de nitrones synthétisées à (5×10^{-3} M) ont été préparées dans 10 ml d'éthanol (solutions mère).

Les solutions de référence choisies sont le BHT et la vitamine C.

Dans des tubes à essai secs et stériles, on introduit un volume de 200 µl des solutions à tester. Nous avons ajouté 800 µL d'éthanol et 1 ml de la solution de DPPH. L'ensemble du système a ensuite été agité, puis les tubes ont été maintenus dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. [16]

A la fin, l'absorbance UV à $\lambda_{\max} = 517$ nm a été mesurée. Trois analyses ont été effectuées pour chaque solution testée. L'activité anti-oxydante (AA) a été calculée à partir de l'équation suivante [16] :

$$AA (\%) = [(Abs \text{ blanc} - Abs \text{ tester}) / Abs \text{ blanc}] \times 100(1)$$

Où, Abs_{blanc} et Abs_{tester} représentent les absorbances de la solution à blanc (DPPH dans l'éthanol) et de la solution à examiner, respectivement.

Les résultats sont réunis dans le tableau suivant :

Tableau II.3 : Absorbance en UV à 517 nm des solutions des nitrones et des antioxydants de référence lors du test de piégeage de radicaux libres DPPH.

Solutions testées	N.I	N.II	N.III	N.IV	N.V	N.VI	N.VII	N.VIII	PBN	BHT	Vitamine C
Abs 1	0,52	0,52	0,43	0,09	0,09	0,52	0,30	0,09	0,56	0,14	0,10
Abs 2	0,52	0,50	0,44	0,11	0,13	0,48	0,28	0,07	0,53	0,11	0,08
Abs 3	0,51	0,46	0,46	0,10	0,13	0,48	0,28	0,07	0,51	0,09	0,04

II.4.2. La méthode de Test de blanchissement du β - carotène

2 mg de β -carotène ont été dissous dans 1 ml de chloroforme. La solution obtenue a été introduite dans un ballon contenant 25 µL d'acide linoléique et 200 µL de Tween 40. Après évaporation du chloroforme, 100 ml d'eau distillée ont été ajoutés avec une agitation vigoureuse. De cette nouvelle solution, 2.5 ml sont transférés dans des tubes, et 350 µL des solutions de nitrone et du témoin BHT, vit C et la nitrone PBN, préalablement préparées, sont ajoutés. Ces tubes ont été maintenus dans l'obscurité à température ambiante pendant 48 heures. Par la suite, l'absorbance a été mesurée à 490 nm. [17]

L'activité antioxydante relative est calculée selon l'équation suivante :

$$AAR = (Abs\ tester / Abs\ BHT) \times 100$$

Où ;

AAR : activité anti-oxydante relative ;

Abs_{tester} : absorbance de l'échantillon après 48 heures ;

Abs_{BHT} : absorbance du BHT après 48 heures.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau II.4 : Absorbance en UV à 490 nm des solutions des nitrone et des antioxydants de référence lors du test blanchissement du β- carotène.

Solutions testées	N.I	N.II	N.III	N.IV	N.V	N.VI	N.VII	N.VIII	PBN	BHT	Vitamine C
Abs 1	0,11	0,12	0,11	0,12	0,20	0,07	0,08	0,18	0,08	0,14	0,10
Abs 2	0,11	0,11	0,12	0,09	0,28	0,08	0,08	0,195	0,07	0,15	0,10
Abs 3	0,11	0,11	0,11	0,13	0,25	0,08	0,10	0,18	0,08	0,15	0,10

II.4.3. La méthode FRAP (Pouvoir antioxydant réducteur ferrique) :

Pour évaluer l'activité antioxydante des nitrones synthétisées par la méthode de réduction d fer, nous avons choisi la méthode suivante [16].

• Préparation de la solution tampon

Elle est préparée à partir des deux solutions ci-dessous :

- 125,5ml de KH₂PO₄ (di-hydrogéné phosphate de potassium) à M/15 (9,08g de KH₂PO₄ par litre).
- 74,5ml de Na₂HPO₄ (di-sodium hydrogéné phosphate) à M/15 (8,47g de Na₂HPO₄ par litre).

• **Préparation des solutions mères :**

Les solutions utilisées sont décrites comme suit :

- Solution de FeCl₃ (0,1%) : 1g de FeCl₃ dans 1000ml d'eau distillée.
- Solution K₃Fe(CN)₆ (1%) : 10g de K₃Fe(CN)₆ dans 1000ml d'eau distillée.
- Solution de trichloracétique (10%) : 100g de TCA dans 1000ml d'eau distillé.

A 200 µL de la solution de nitrone (solution mère) et les solutions de référence, on introduit dans des tubes à essai, On rajoute 1ml de K₃Fe(CN)₆ puis 1ml d'une solution tampon de pH = 6,6. L'ensemble est chauffé à 60°C au bain-marie pendant 20min, après refroidissement, on ajoute 1ml de TCA. Le mélange est, par la suite, centrifugé à une vitesse de 3000 tr/min pendant 10min [16].

On prélève 1ml de surnageant, auquel on ajoute 1ml d'eau distillées et 0,1ml de FeCl₃ (la coloration vire au bleu). Enfin, nous réalisons, pour l'échantillon ainsi préparé, la mesure de la DO à 700nm. Ces mesures sont répétées trois fois pour chaque concentration afin de prendre la valeur moyenne. Les résultats de la méthode de FRAP sont réunis dans le tableau suivant [16] :

Tableau II.5 : Absorbance en UV à 700 nm des solutions des nitrone et des antioxydants de référence lors du test FRAP.

Solutions testées	N.I	N.II	N.III	N.IV	N.V	N.VI	N.VII	N.VIII	PBN	BHT	Vitamine C
Abs 1	0,10	1,11	0,98	1,4	1,21	0,11	0,31	1,09	0,16	1,04	1,10
Abs 2	0,13	1,10	1,05	1,34	1,11	0,14	0,30	0,83	0,13	0,83	1,01
Abs 3	0,03	1,90	1,09	1,31	1,07	0,13	0,29	0,88	0,11	1,10	1,05

Résultats et discussion

Chapitre I

III.1. Introduction :

L'étude de l'activité antioxydante des nitrones est le sujet de recherche de plusieurs équipes. Plusieurs structures de ces molécules ont été proposées (nitrones à base de produits naturels tels que les sucres et le cholestérol, nitrones à propriétés tensioactives...etc.

Dans notre travail, nous avons synthétisé des nitrones phénoliques qui associe le pouvoir antioxydant très importants des phénols à celui des nitrones, ces derniers, par synergie donnerons en principe une très bonne activité antioxydante [18].

III.2. Préparation des nitrones

Les nitrones sont facilement obtenus à partir de la réaction de condensation entre les aldéhydes et les hydroxylamines-N-substituées. Dans notre travail, nous avons choisi la β -phényl hydroxylamine avec une série d'aldéhydes phénolique.

III.3. Préparation de la β -phénylhydroxylamine

La β -phénylhydroxylamine est un réactif sensible à la lumière et la température [19]. Cette dernière, est préparée par réduction du nitrobenzène avec du zinc en poudre en présence du chlorure d'ammonium. La réaction de réduction de nitrobenzène en β -phénylhydroxylamine est donnée ci-dessous :

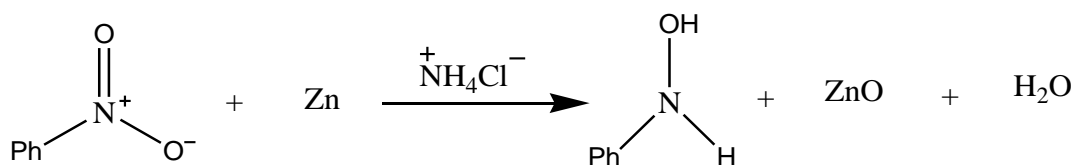


Figure III.1. Synthèse de la β -phénylhydroxylamine.

Les caractéristiques physiques de la β -phénylhydroxylamine sont regroupées dans le tableau (III.1).

Tableau III.1 : Caractéristiques physiques et rendement de la β -phénylhydroxylamine.

Aspect et couleur	Rdt (%)	Pf (°C)
Cristaux blancs	66.44	82

III.4. Condensation des aldéhydes sur la β- phényl hydroxylamine

Cette condensation se fait en solubilisant les deux réactifs dans l'éthanol absolu à température ambiante. Ainsi, nous avons obtenu une série de nitrones.

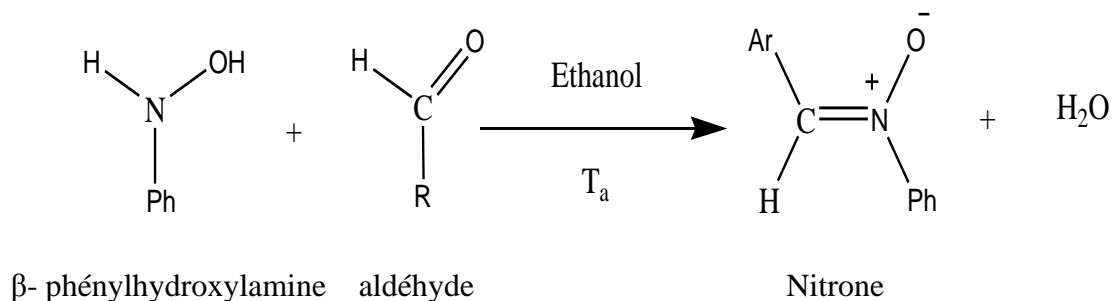
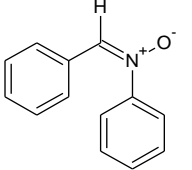
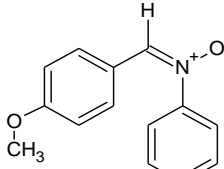
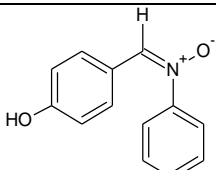
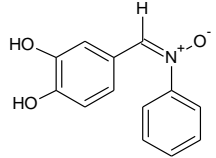
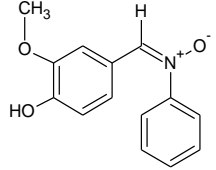


Figure III.2 : Condensation des aldéhydes sur la β- phénylhydroxylamine.

Tableau III.2 : Nomenclatures et structures des mononitrones et bisnitrones synthétisées.

Nitronne	Nom systématique	Structure	Formule chimique	Masse molaire g/mol
N.I	C, N-diphénylnitronne		C ₁₃ H ₁₁ ON	197,12
N.II	C-p-méthoxy phényl N-phényl nitronne		C ₁₄ H ₁₃ O ₂ N	227,12
N.III	C-p-hydroxy phényle N-phényl nitronne		C ₁₃ H ₁₁ O ₂ N	213,11
N.IV	C-3,4-dihydroxy phényl N-phényl nitronne		C ₁₃ H ₁₁ O ₃ N	229,1
N.V	C-4-hydroxy 3-méthoxy phényl N-phényl nitronne		C ₁₄ H ₁₃ O ₃ N	243,11

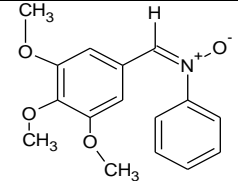
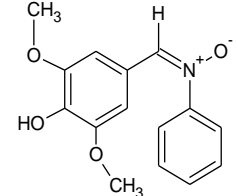
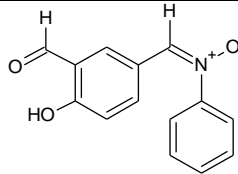
N.VI	C-3, 4, 5-triméthoxy phényl N-phényl nitrone		C ₁₆ H ₁₇ O ₄ N	287,12
N.VII	3,5-dimethoxy-4-hydroxy phényl N-phényl nitrone		C ₉ H ₁₀ O ₄ N	196,05
N.VIII	C-4 hydroxy 3-oxo phényl N-phényl nitrone		C ₁₄ H ₁₁ O ₃ N	241,11

Tableau III.3 : Aspects, Formule brute, rendements (Rdt), points de fusion (P_f).

Nitronne	Formule brute	Aspect	Rdt (%)	P _f (°C)
N.I	C ₁₃ H ₁₁ ON	Cristaux blanc	66	125
N.II	C ₁₄ H ₁₃ O ₂ N	Cristaux blanc	59	120
N.III	C ₁₃ H ₁₁ O ₂ N	Cristaux brun	71	-
N.IV	C ₁₃ H ₁₁ O ₃ N	Poudre jaune	25	205,4
N.V	C ₁₄ H ₁₃ O ₃ N	Cristaux jaune	65	232
N.VI	C ₁₆ H ₁₇ O ₄ N	Cristaux jaunâtre	40,20	141,8
N.VII	C ₉ H ₁₀ O ₄ N	Cristaux blanc	8,90	114
N.VIII	C ₁₄ H ₁₁ O ₃ N	Poudre orange	44	192

III.5. Caractérisation spectroscopique des nitrones :

Les nitrones synthétisées ont été caractérisées par l'analyse spectroscopique Infrarouge à Transformé de Fourier.

L'analyse spectroscopie Infrarouge a Transformé de Fourier nous a permis de donner des informations structurales sur les molécules des nitrones synthétisés. D'après les spectres d'infrarouge que nous avons obtenus et l'étude alternative [8], il existe quatre types de vibrations qui sont répétés dans les huit spectres des nitrones situés dans les domaines 3424-3065 cm⁻¹, 1600-1580 cm⁻¹, 1500-1400 cm⁻¹, 1292-1263 cm⁻¹ et 1140-1045 cm⁻¹ qui indiquent respectivement l'existence des groupements fonctionnels tels que ; C-OH, C=N, C=C, C-OCH₃ et le groupement N-O.

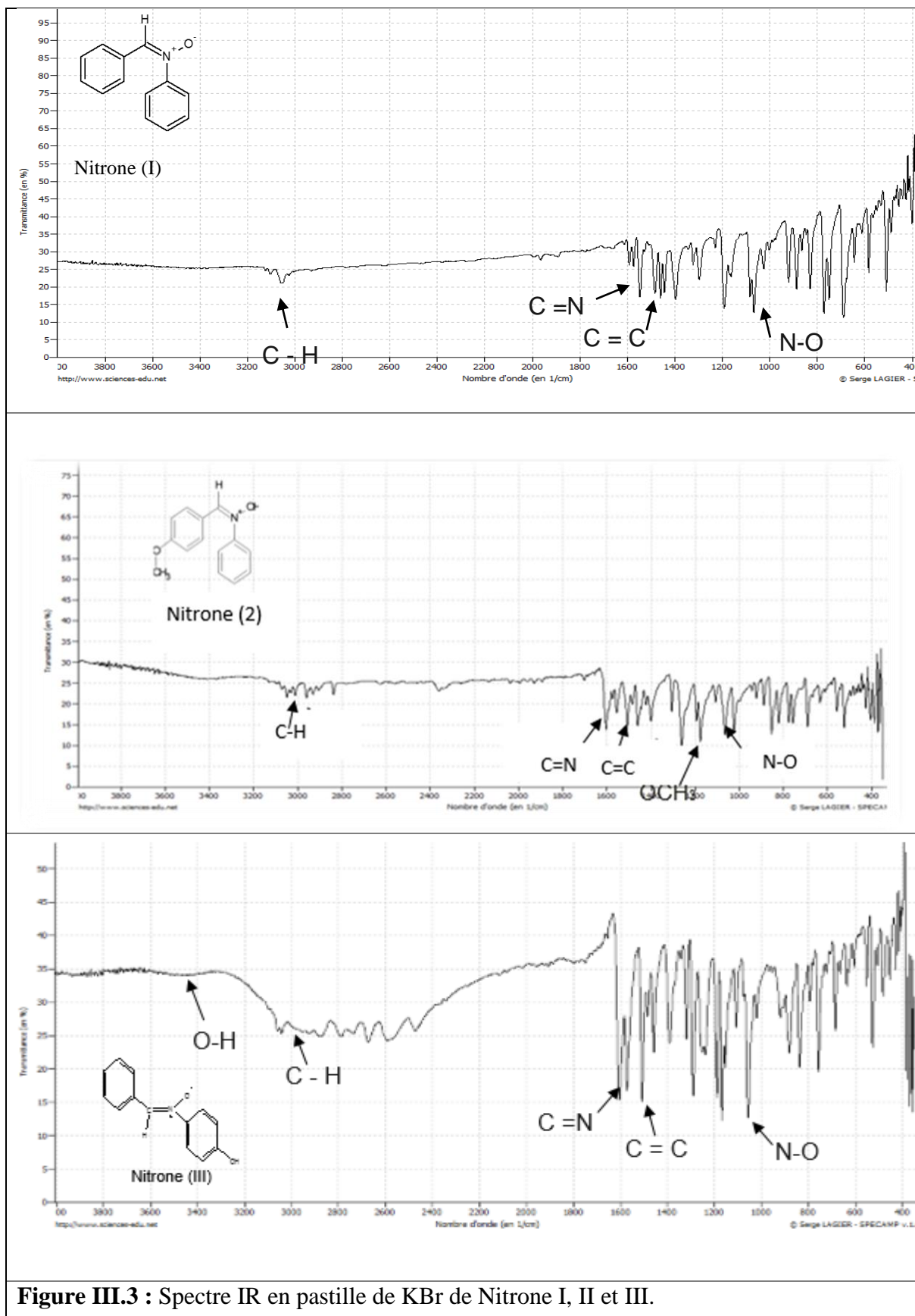


Figure III.3 : Spectre IR en pastille de KBr de Nitron I, II et III.

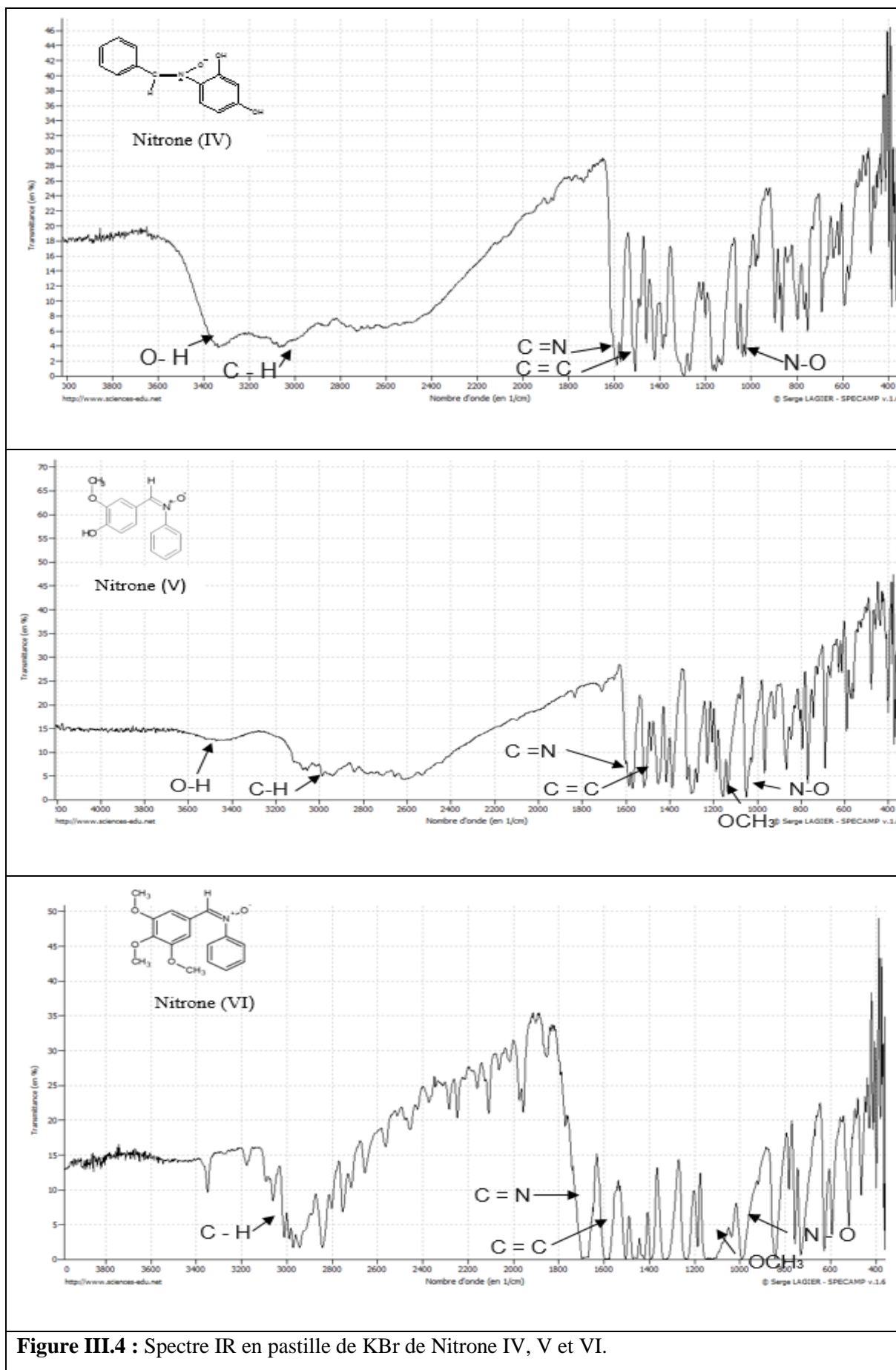


Figure III.4 : Spectre IR en pastille de KBr de Nitronne IV, V et VI.

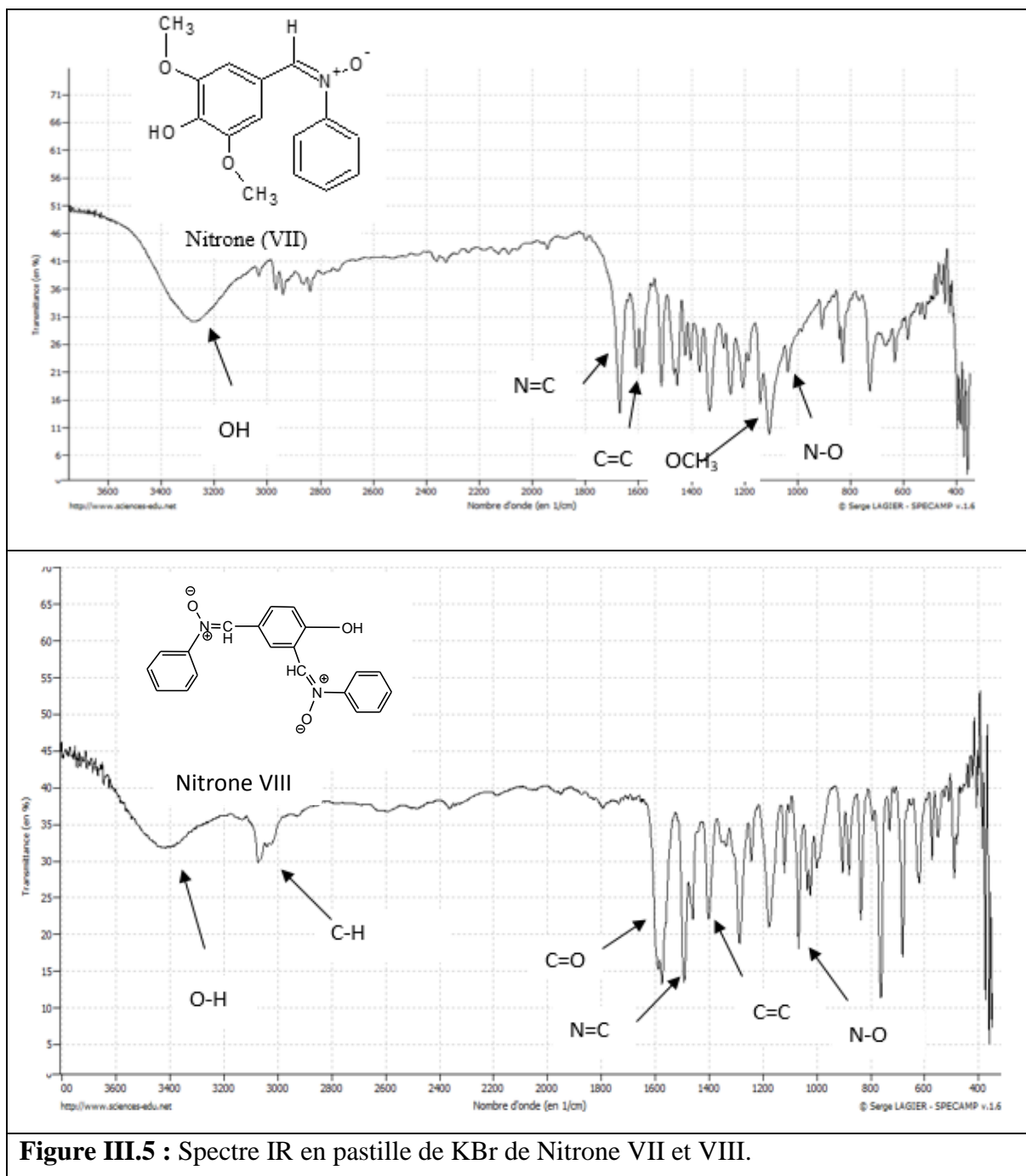


Figure III.5 : Spectre IR en pastille de KBr de Nitron VII et VIII.

III.6. Caractérisation par spectrophotométrie d'UV-visible :

Les analyses optiques dans les spectres illustrés dans la figure (III.10) et (III.11)

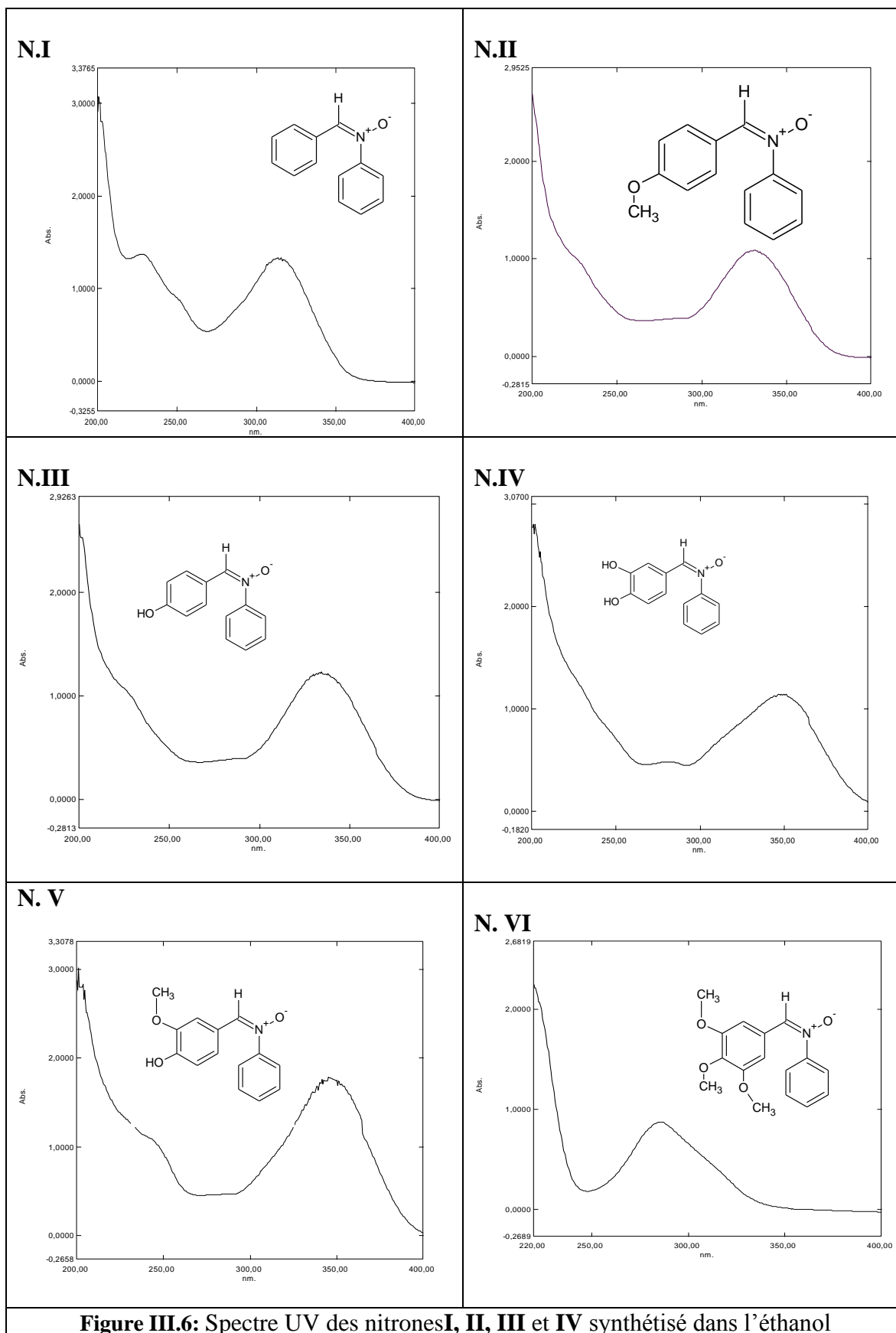
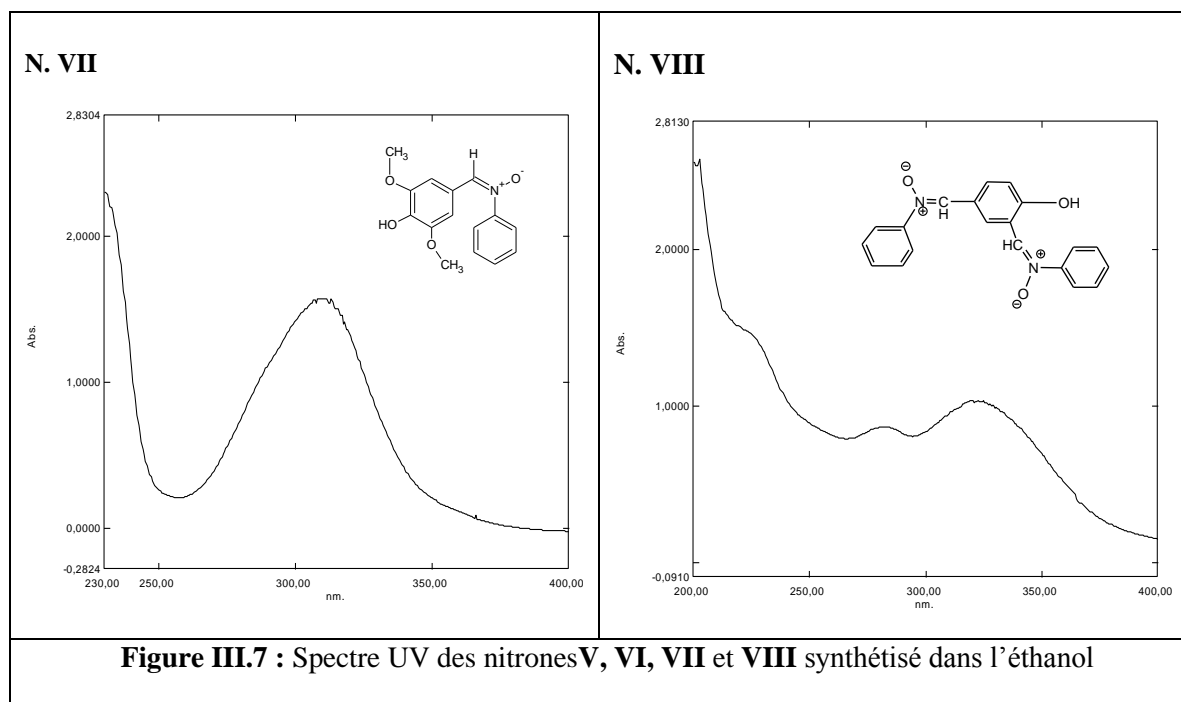


Figure III.6: Spectre UV des nitrones I, II, III et IV synthétisé dans l'éthanol



L'analyse spectrophotométrique UV-Visible nous a permis de localiser les bandes d'absorption caractéristiques des nitrones synthétisés. Le tableau ci-dessous représente les valeurs des longueurs d'onde de transitions électroniques $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$ dans le domaine compris entre 200 à 400 nm.

Tableau III.4. Les transitions électroniques des nitrones synthétisés

Nitrone	$\pi \rightarrow \pi^*$ $\lambda(\text{nm})$	$n \rightarrow \pi^*$ $\lambda(\text{nm})$
N.I	227	313,5
N. II	286	331
N.III	287	334,5
N.IV	279,5	349,5
N.V	287	345
N.VI	Faible	286
N.VII	Faible	311,5
N.VIII	282,5	322,5

Les bandes d'absorptions de transitions électroniques $\pi \rightarrow \pi^*$ attribuées aux cycles aromatiques dans chaque molécule de nitroène, tandis que les bandes d'absorptions de transition électroniques $n \rightarrow \pi^*$ concerne toute la molécule.

Chapitre II

III.7. Activité antioxydant :

Un antioxydant est défini comme une substance capable de réagir avec les radicaux libres, ou d'avoir un pouvoir réducteur permettant de lutter contre le stress oxydatif causé par les radicaux. Où l'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation [20].

Une variété des méthodes utilisées pour mesurer l'activité antioxydante d'un matériau ; telle-que le test de blanchiment de β -carotène, piégeage du radical libre DPPH, la mesure du pouvoir réducteur du fer ferrique FRAP.

Dans notre travail, nous avons utilisé ces trois méthodes pour évaluer l'activité antioxydante des nitrones phénoliques synthétisées. Ces méthodes reposent sur trois mécanismes différents à savoir [18] :

- Mécanisme de réaction SET « simple transfert d'électron » réalisé par la méthode FRAP « Ferric Réducing Antioxydant Power. »
- Mécanisme de réaction HAT « transfert d'atome d'hydrogène réalisé par la méthode de blanchiment β -carotène »
- Mécanisme de réaction HHAT et SET à la fois réalisé par la méthode de piégeage du radical libre DPPH « 1,1-diphényl-2-picrylhydrazole ».

III.7.1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH°) est un radical libre stable en raison de la délocalisation de l'électron sur la molécule. Cette délocalisation lui confère la couleur violette et une absorption maximum vers 515 nm dans le méthanol et l'éthanol (figure III.8). La réduction du DPPH conduit à la 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine incolore (DPPH-H) (figure 19). La réaction de transfert d'hydrogène de l'antioxydant vers le DPPH° est suivie par spectroscopie visible en enregistrant la décroissance de la bande d'absorption du DPPH° à 515 nm [21].

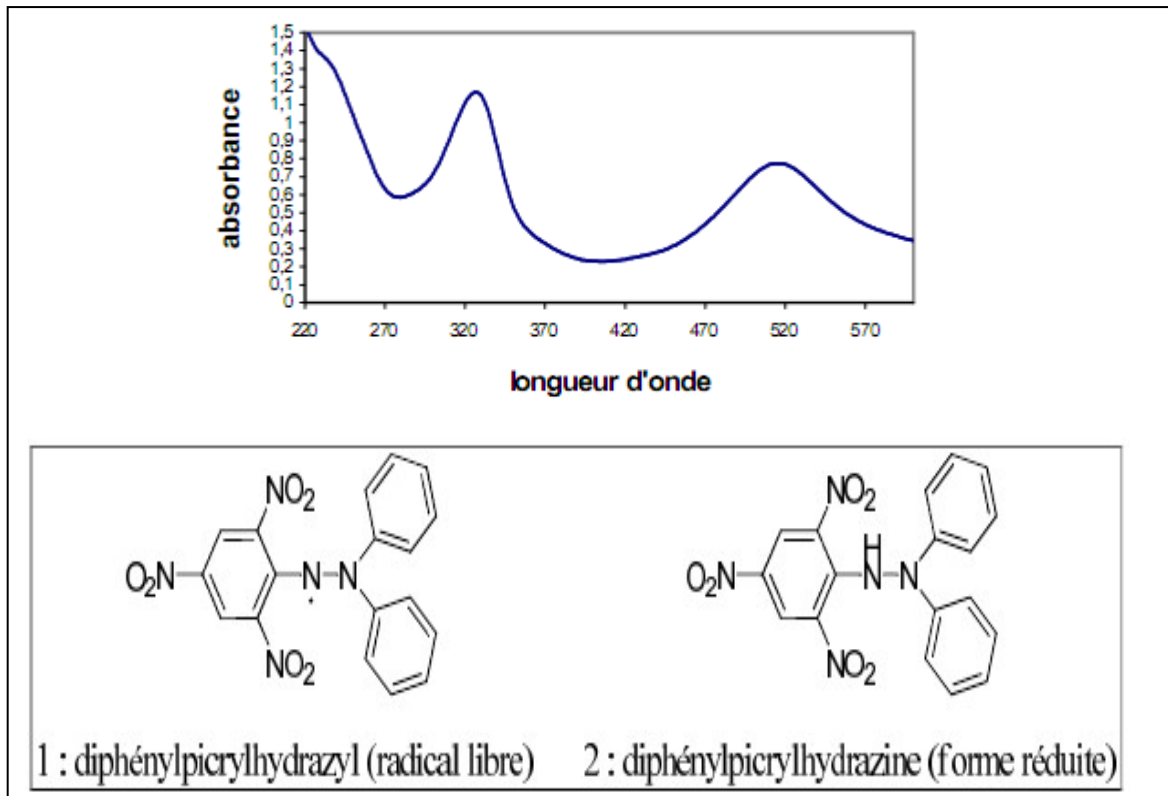


Figure III.8 : Spectre d’adsorption en UV-Visible et structure chimique du radical libre DPPH• à l’état radicalaire et réduit.

L’activité antioxydant des nitrones synthétisées testées avec la méthode du piégeage de radical libre DPPH sont données sur l’histogramme de la figure III.9 :

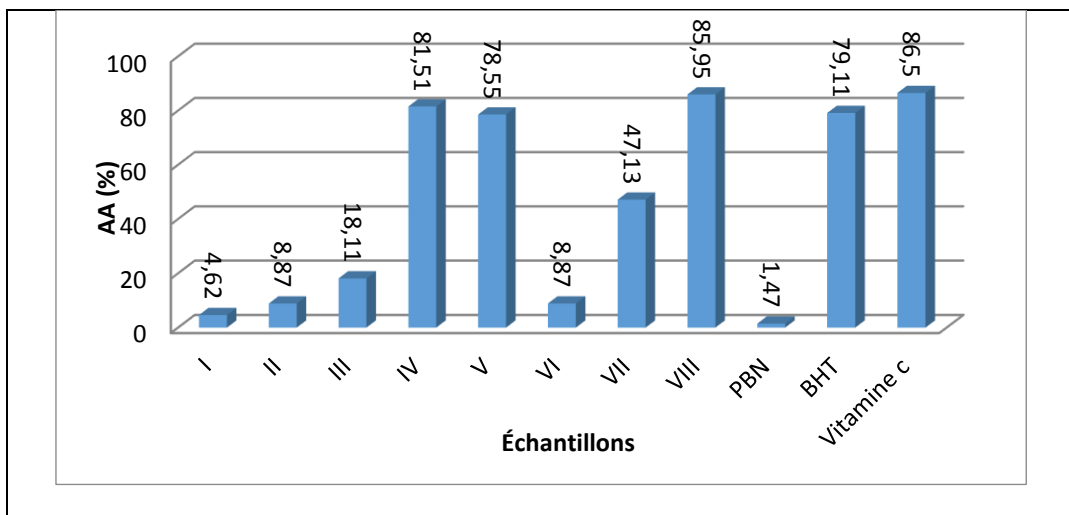


Figure III.9 : Histogramme de la variation de l’activité antioxydante des nitrones et des antioxydants de référence testés par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

Ces résultats montrent que toutes les nitrones synthétisées possèdent un pouvoir de piégeages des radicaux libre. Cette activité varie selon la structure chimique de la nitrones. On remarque que l'introduction du substituant méthoxy (N.II) par rapport à la nitrone phénylée (N.I) réduit cette activité alors que, la fonction hydroxyle l'augmente (N.III). Cela est dû probablement à la double action de cette nitrone (action phénoliques et nitrone).

Le piégeage du radical libre DPPH par les nitrones phénoliques, peut se faire selon deux mécanismes : le premier par capture d'un hydrogène par le groupement phénolique. Les produits de cette réaction sont la forme réduite (RH) du radical DPPH, et le radical $ArO\cdot$ (Forme oxydée). Bien que cette réaction donne naissance à un autre radical libre, celui-ci est moins réactif (Figure III.10).

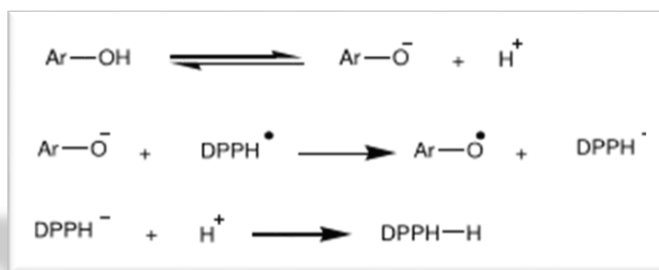
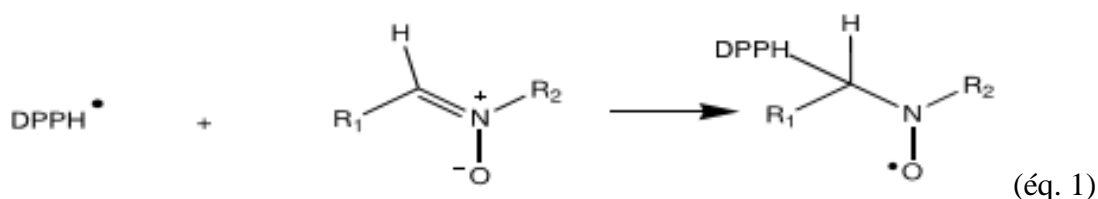


Figure III.10 : mécanisme de piégeage du radical libre DPPH par un groupement phénolique.

Le deuxième mécanisme peut avoir lieu par formation d'un adduit de spin de type nitroxyde par une addition électrophile au carbone situé en position α de l'atome d'azote de la fonction nitrone (éq. 1).



La présence d'une double fonction hydroxy ou d'une fonction méthoxy adjacente à la fonction hydroxy a fait que les nitrones N.IV et N.V présentent des activités aussi importantes que celles des antioxydants de référence. D'autre part, une double fonction nitrone avec la fonction phénolique donne encore des résultats meilleurs.

III.7.2. La méthode de Test de blanchissement du β - carotène

Cette méthode se base sur la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. La dispersion de l'acide linoléique et du β -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween 40. L'addition d'antioxydants induits un retard de la cinétique de décoloration du β -carotène. Cette méthode est sensible, rapide et simple s'agissant d'une mesure spectrophotométrique dans le visible. La couleur jaune si elle persiste, indiquent la présence de substances antioxydants.

Cette méthode a été appliquée sur les nitrones synthétisé avec un suivi de perte de la couleur du β -carotène pendant 2 heures. Ce suivi est estimé par la mesure de l'absorbance des échantillons par spectrophotomètre UV-vis à une longueur d'onde de 490nm [3, 22]

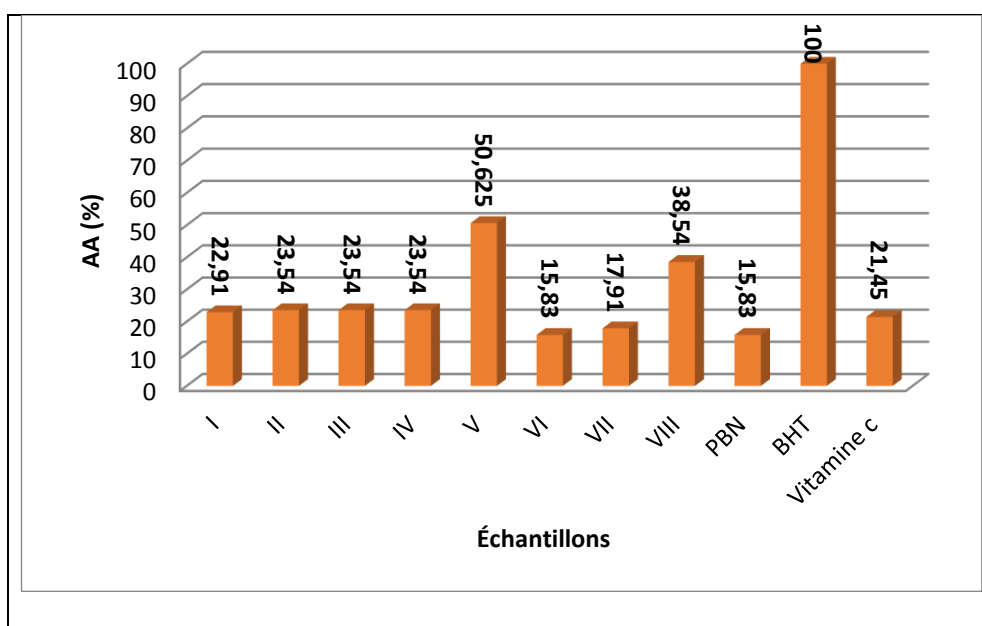


Figure III.11 : Histogramme de la variation de l'activité antioxydante des nitrones et des antioxydants de référence testés par la méthode de blanchiment de β -carotène.

Les résultats de l'histogramme montrent que les nitrones testées ont un bon pouvoir de protection de la β -carotène. Ceci est illustré en comparant l'activité de ces derniers par rapport au contrôle négatif. Néanmoins, ce pouvoir est faible comparé aux antioxydants de référence.

III.7.3. La méthode FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

La méthode de FRAP est un test colorimétrique du transfert d'électrons. C'est une technique simple et rapide, elle repose sur la capacité de passage de la forme ferrique à ferreux de produits testés. Elle consiste à observer le changement d'absorbance dû à la réduction du complexe Fe^{3+} -TPTZ (fer 2, 4,6-tripyridyls-triazine) et l'apparition de la couleur bleue. Les résultats de notre travail sont réunis dans la figure (III.13)

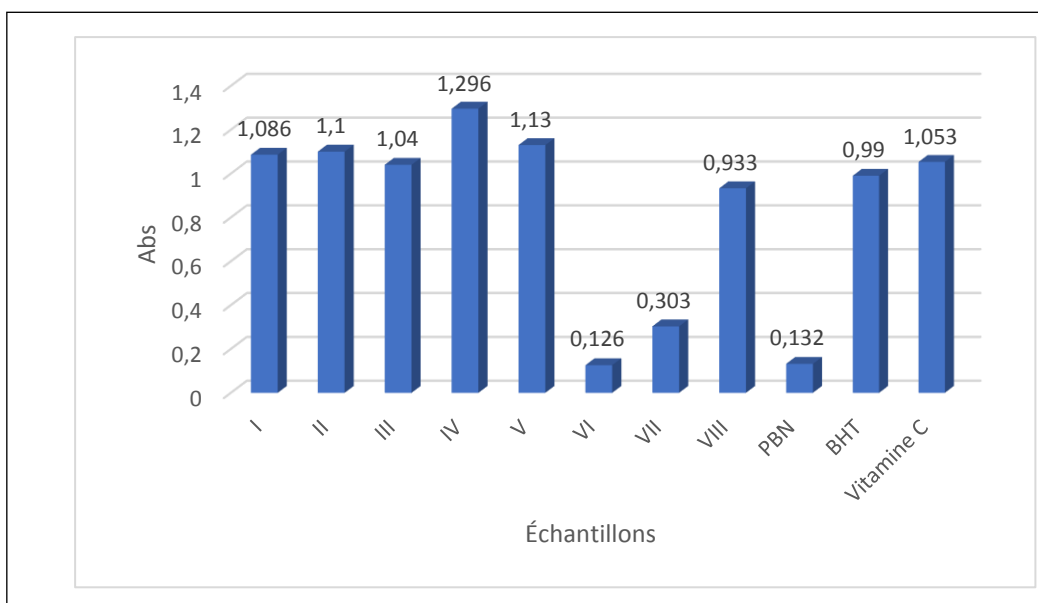


Figure III.12 : Histogramme de la variation de l'activité antioxydante des nitrones et des antioxydants de référence testés par la méthode FRAP.

La comparaison des absorbances du contrôle négatif à celles des nitrones testées montre bien leur pouvoir réducteur. Ce pouvoir est meilleur ou semblable à celui des antioxydants de référence. Contrairement aux résultats des deux méthodes précédentes où on a vu que la bis nitrone présente la meilleure activité. La méthode FRAP a révélé que la nitrone N.V présente une meilleure activité.

Conclusion

L'évaluation de l'activité antioxydant des nitrones synthétisés par trois méthodes qui reposent sur différents mécanismes, nous a permis de conclure que les nitrones phénolique ont un bon pouvoir antioxydant. Ce pouvoir peut être renforcé par l'addition d'un groupement méthoxy à l'ortho de la fonction hydroxyle. La nitrone ainsi obtenu (N.V) à montrer de très bonne activité par les trois méthodes utilisées. L'utilisation des nitrones bis fonctionnelle (N.VIII) à montrés son efficacité avec les méthodes qui repose sur le mécanisme de Transfer d'hydrogène.

Conclusion général

Conclusion générale

L'objectif du travail présenté dans ce mémoire est d'évaluer l'activité antioxydante d'une série de nitrones phénoliques synthétisées au niveau de notre laboratoire.

- La synthèse de la B-phénylhydroxylamine par la réduction du nitrobenzène avec du zinc en présence du chlorure d'ammonium. Nous avons ensuite, réalisé une condensation d'une série d'aldéhydes aromatiques sur la β -phényl hydroxylamine afin d'obtenir une série des nitrones phénoliques de différents groupements fonctionnels. Ces nitrones ont été purifiées par recristallisation dans l'acétate d'éthyle. Les rendements obtenus sont très satisfaisants.
- L'étude de l'activité antioxydante réalisée par trois tests chimiques, a révélé que les nitrones phénoliques synthétisées présentent une activité meilleure que celle de la PBN (nitrone de référence).
- L'ensemble des résultats obtenus sont avérés très encourageants, et ouvre la voie à de nombreuses perspectives. Il serait intéressant de varier les applications des nitrones synthétisées et de tester leur activité anti-cancers.

Références bibliographiques

- [1] Guernah. C, "évaluation de l'activité antimicrobienne d'une série de nitrones C-phénoliques," *Mémoire magister, chimie Org. appliqué, ENS kouba-alger*, 1978.
- [2] Ali K. Atoui, Abdelhak Mansouri, George Boskou, Panagiotis Kefalas. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. Received 24 November 2003; received in revised form 28 January 2004; accepted 28 January 2004.
- [3] IBTISSEM TOLBZA. Détermination d'un méta-paramètre pour l'estimation de la capacité antioxydante globale des thizanes et jus. Mai 2016.
- [4] A. Padwa and W. H. Pearson, *Applications synthétiques de la chimie de la 1,3-cycloaddition dipolaire aux hétérocycles et aux produits naturels*. J. Wiley, 2002.
- [5] Emilie RACINE, "REACTIVITE DES NITRONES CYCLIQUES À SIX CHAINONS DERIVEES DE SUCRES VIS-A-VIS DE SmI2 ET DE REACTIFS NUCLEOPHILES. SYNTHÈSE D'IMINOSUCRES Directeur," *These Dr. Org. Fourier – Grenoble I*, p. 370, 2009.
- [6] M. R. née C. MERIEM, "synthèse et réactivité des nitrones," *mémoire de magister, chimie organique appliqué .abou bekr belkaid-tlemcen*. 2006.
- [7] Larsen, R. D.; Reamer, R. A.; Carley, E. G. *J. Org. Chem.* 1991. 56. 6034-6038.
- [8] A. K. Nacereddine, "Synthèse des isoxazolidines par réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 entre nitrones et oléfines," *Mémoire de Magister, Badji-Mokhtar Annaba*, 2007.
- [9] M. Rosselin, "Conception de nitrones amphiphiles aux propriétés de piégeage et antioxydantes supérieures," Dec. 2014.
- [10] S. Chen, K. Zhao, and G. Chen, "Synthesis and Application of Phenyl Nitronone Derivatives as Acidic and Microbial Corrosion Inhibitors," *J. Chem.*, vol. 2015, pp. 1–6, Jun. 2015.
- [11] P. Chem, E. H. H. Wong, C. Barner-kowollik, and T. Junkers, "Polymer Chemistry Nitronones in synthetic polymer chemistry" pp. 1008–1017, 2011.
- [12] L. Vretik and H. Ritter, *Macromolecules*, 2003, 36, 6340–6345.
- [13] R. A. Floyd, R. D. Kopke, C. Choi, S. B. Foster, S. Doblas, and R. A. Towner, "Free Radical Biology & Medicine Nitronones as therapeutics," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 45, no. 10, pp. 1361–1374, 2008.
- [14] K. HAMZA, A. TOUATI, A. AIT YAHIA, A. MEKLAT « Mise En Evidence De L'Activité Antimicrobienne De Deux Séries De Nitronnes Et D'Isoxazolidines Synthetisees ». 2008 pp.67.
- [15] M.S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*.

181 (1958) 1199.

- [16] HAMZA Kahina, TOUATI Abdelkader, MEKLAT Atika, AIT YAHIA Ahmed, BOURAS Nouredine, BALTAS Michel and MOULAY Saâd « Antimicrobial and antioxidant activities of a series of aromatic nitrones ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF A SERIES OF AROMATIC NITRONES ».2018 pp.29 pp30.
- [17] S. Athamena, I. Chalghem, A. Kassah-Laouar ,S. Laroui et S. Khebri activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de cuminum cyminum L. *Lebanese Science Journal, Vol. 11, No. 1, 2010.*
- [18] Kahina hamza, Study of the reactivity of aromatic nitrones towards acrylonitrile in microemulsion .these de magister ENS kouba ,2005
- [19] I.Brüning, R. Grashey, H. Hauck, R. Huisgen, and H. Seidl, “2,3,5-Triphenylisoxazolidine,” in *Organic Syntheses*, Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2003, pp. 127–127.
- [20] John W. Hilton, Ph.D. Les antioxydants roles, types et necessites dans les ailments pour animaux de compagnie. *Can Vet J* Volume 30, October 1989.
- [21] B. Kedare. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol* (July–August 2011) 48(4):412–422.
- [22] Kazim Husain” The Influence of Oxidative Stress and Natural Antioxidants on Morphometric Parameters of Red Blood Cells, the Hemoglobin Oxygen Binding Capacity, and the Activity of Antioxidant Enzymes”