

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POUPILAIRE MINISTÈRE
DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB BLIDA 1



Faculté des sciences

Département de chimie

MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention de diplôme de

MASTER

EN CHIMIE APPLIQUÉE

Intitulé

**ÉTUDE THÉORIQUE ET PRATIQUE DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE D'UNE SÉRIE DE
NITRONES**

Présenté par :

SEGHIR Sofiane & HALLAL Hamza & MAMMERRI Oualid

Soutenu le 30-09-21 devant les jurys:

M^{me} BESSI Assia	MAA à USDB1	Présidente
M^{er} AIT YAHIA Ahmed	MAA à USDB1	Examineur
M^{me} HAMZA Kahina	MAA à USDB1	Promotrice
M^{me} ATI Fella	MAA à USDB1	CO-Promotrice

Année universitaire :

2020-/-2021

REMERCIEMENTS

Dieu merci pour la santé, la volonté, le courage et la détermination qui nous ont accompagnés tout au long de la préparation de ce mémoire de Master et qui nous ont permis d'achever ce modeste travail..

Nous remercions également les membres de jury d'avoir consacré de leur temps pour l'évaluation notre modeste travail. En ce moment précis.

Nous tenons à remercier tout d'abord notre promotrice **Mdm K.HAMZA** et la Co-promotrice **F.ATI** et **MONSIEUR A.AIT YAHIA** pour le temps qu'ils ont consacré à nous apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche.

Nous tenons à remercier toutes les enseignent de département chimie de Blida et les ingénieur de laboratoire n°: 05 pour leur soutien durent nous années d'études .

toutes nos pensées vont vers nos honorables parents en reconnaissance à leur esprit de sacrifice et de dévouement ainsi qu'à leur soutien constant –moral et matériel- et ce, pour nous avoir permis de construire un certain avenir et en même temps réaliser nos rêves. A la fin, nous remercions tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce projet.

MERCI A TOUS ET A TOUTES

DÉDICAS

Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail :

À l'être le plus cher de ma vie , ma mère.

À mon cher père , pour le goût à l'effort qu'il a suscité en moi , de par sa rigueur.

À mon frère « Mohammed » , sa femme et son fils.

À mes deux sœurs.

À mes meilleurs amis « Yacine et Mustapha »

À tous mes amis

À toute la famille HALLAL

À mdm HAMZA.K et mdm ATIF qui m'ont encouragé et aidé durant ce travail.

MERCI

Hamza.H

Avec les sentiments d'amour et de gratitude les plus sincères

Je dédie ce modeste travail

A ma très chère mère pour son amour, ses prières et ses sacrifices.

A mon très cher père a qui a veillé, tout ou long de ma vie, a c que

Je n'eusse besoin de rein.

A ma femme et, mes deux enfants DJOUAD et AMIR que dieu les protège.

A mon frère et mes sœurs.

A toute la famille SEGHIR.

A tous mes amis.

A mon binômes HALLAL et MAMMERI pour sa patience et volonté et toutes ses familles.

A tous qui ont contribué dans ma formation depuis mon enfance

Et pendant tous les niveaux.

A tous ceux que j'ai omis de citer

Sofien.S

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents pour leur soutien et leurs prières

A ma chère unique sœur

A mes deux frères

A la mémoire de ma grande maman

A mes binômes : Sofien et Hamza

Et à toute la famille MAMMARI

Ainsi à tous les étudiants de la promotion 2020-2021 « Master II chimie appliqué »

Enfin à toutes les personnes que j'ai connues mais que je n'ai pas citées

Oualid.M

Résumé :

Dans le cadre de la découverte d'antioxydants, dans ce travail, nous nous sommes concentrés sur l'évaluation des propriétés antioxydantes de certains composés, à savoir les nitrones. En étudiant l'activité antioxydante de ces composés à l'aide de deux méthodes (DPPH ; FRAP) Pour trouver une relation entre la composition chimique de ces composés et l'activité de piégeage des radicaux libres du DPPH, nous avons utilisé la méthode de calcul théorique DFT Cette activité doit être comparée a celle des antioxydant des références , dans notre travaille nous avons choisis la BHA , BHT et le vit C. Pour classer les composés en termes d'activité antioxydante, il est nécessaire de comparer EC_{50} .

EC_{50} est la concentration qui assure la réduction de 50% de molécules du DPPH dans la solution, déterminée graphiquement .

Mots clés : antioxydants, nitrones , DPPH, FRAP, DFT, EC_{50} .

Abstract :

In the context of the discovery of antioxidants, in this work we focused on the evaluation of the antioxidant properties of certain compounds, namely nitrones. By studying the antioxidant activity of these compounds using two methods (DPPH; FRAP) To find a relationship between the chemical composition of these compounds and the free radical scavenging activity of DPPH, we used the theoretical calculation method DFT This activity must be compared to that of the antioxidant references, in our work we have chosen BHA, BHT and Vit C. To classify the compounds in terms of antioxidant activity, it is necessary to compare EC_{50} .

EC_{50} is the concentration which ensures the 50 % reduction of DPPH molecules in solution, determined graphically.

Key words: antioxidants, nitrones, DPPH, FRAP, DFT

المخلص :

في سياق اكتشاف مضادات الاكسدة ، ركزنا في هذا العمل على تقييم الخصائص المضادة للاكسدة لمركبات معينة و هي النيترونات ، من خلال دراسة النشاط المضاد للاكسدة لهذه المركبات باستخدام طريقتين (ف.ر.ا.ب و د.ب.ب.هـ).

لايجاد علاقة بين التركيب الكيميائي لهذه المركبات و نشاط ازالة الجذور الحرة ل د.ب.ب.هـ استخدمنا طريقة الحساب النظري د ف ت .

يجب مقارنة هذا النشاط بالنشاط الخاص بالمراجع المضاد للاكسدة ، في عملنا اخترنا ب هـ ا, ب هـ ت و فيت س .

لتصنيف المركبات من حيث نشاط مضادات الاكسدة من الضروري مقارنة اس50 .

اس50 هو التركيز الذي يضمن تقليل جزيئات د ب ب هـ بنسبة 50% في المحلول و يتم تحديده بيانيا.

الكلمات المفتاحية : مضادات الاكسدة, النيترون, د ب ب هـ, فراب, د ف ت .

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Table de matières	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Abréviations et symbole	
Introduction générale	

Chapitre I : l'activité antioxydante

I.1	Généralités :	1
I.2	radicaux libres :	1
I.2.1.	Définition	1
I.2.2.	Production des radicaux libres :	2
I.2.3.	Types des radicaux libres :	2
I.2.3.1.	Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) :	2
I.2.3.2.	Espèces réactives de l'azote (ERN) :	3
I.2.4.	Dammage des radicaux libres:	4
I.3	Le stress oxydatif:	4
I.3.1	Définition:	4
I.4	Antioxydantes :	5
I.4.1	Définition :	5
I.4.2	Classement des antioxydantes :	5
I.4.2.1	Antioxydantes synthétiques :	5
I.4.2.2.	Antioxydantes naturels :	5

Chapitre II: les nitrones

II.1	Les nitrones :	7
II.1.1	Définition :	7

II.1.2	Nomenclature :	7
II.1.3	Réactivité des nitrones :	9
II.1.4	Domaine d'application des nitrones :	10
II.1.4.1	Synthèse des molécules bioactifs :	10
II.1.4.2	Piégeage des radicaux libres :	10
II.1.4.3	Applications biologiques :	11
II.1.5	propriétés thérapeutiques :	11

Chapitre III: modélisation de l'activité antioxydant

III.1	Généralité :	12
III.2	Les méthodes quantiques :	13
III.2.1	Les méthodes basées sur DFT (en anglais : Density Functional Theory) :	13
III.3	Modélisation de l'activité antioxydante :	13
III.4	Mécanismes des antioxydantes :	14
III.4.1.	Transfert d'atome d'hydrogène (HAT) :	14
III.4.2	Transfert d'un électron suivi de celui d'un proton (SET-PT) :	14
III.4.3	Transfert d'un proton suivi du départ d'un électron (SPLET) :	15

chapitre IV: matériel et méthodes

IV.1.	Appareillages et produits :	16
IV.1.1	Appareils :	16
IV.1.2	Produits :	16
IV.2.	Méthodes :	17
IV.2.1	Méthode du piégeage du radical libre DPPH :	17
IV.2.2	Mesure pouvoir réducteur du fer ferrique (FRAP) :	18
IV.2.3	Méthodologie des calculs théoriques :	19

chapitre V: Résultat et discussion

V.1. Méthode DPPH :	23
V.2. Test de la réduction du fer (en anglais : ferric reducing-antioxidant power) :.....	27
V.3. Etude de l'activité antioxydante par la DFT :.....	29
V.4. Discussion des résultats théoriques :.....	32
 Conclusion	 37

Conclusion générale

Références bibliographique

Liste des figures

Figure I.1. : Formation des radicaux libres.	1
Figure I.2 : Structures chimiques des antioxydantes naturels.	6
Figure II.1 : Les différents sites réactifs de la nitrone.	7
Figure II.2 : la structure de α ,N diphenyl nitrone.	7
Figure II.3: la structure de α - phényle - α - (p-tolyl) - N- methyl nitrone.	8
Figure II.4: structure de la PBN.	8
Figure II.5 : structure de la DMPO.	8
Figure II.6 : Principe de la technique de piégeage de spin par la PBN.	10
Figure V.1: Principe de la technique de piégeage de spin par la nitrone.	22
Figure V.2 : Réaction des phénols avec le DPPH. En (A) selon le mécanisme HAT « Hydrogène Atome Transfer» et en (B) selon le mécanisme SET « Simple Electron Transfer».	23
Figure V.3 : Modification du DPPH• lors du transfert électronique.	24
Figure V.4 : Géométrie optimisée des nitrones étudiés.	32
Figure V.5 : Numérotation des atomes de la nitrone N-I.	33
Figure V.6 : distribution de la densité de spin des radicaux nitrones.	36

Liste des tableaux

Tableau I.1: Principales sources de production des radicaux libres.....	2
Tableau I.2: Espèces réactives de l'oxygène	3
Tableau I.3 : Espèces réactives de l'azote..	4
Tableau IV.1 : Produits utilisés pour la méthode FRAP et DPPH.	16
Tableau IV.2 : Masse molaires, masses, volumes et concentration des solutions mères des composés testés.	17
Tableau IV.3 : préparation des concentration de solution mère de série nitrones pour la méthode FRAP	19
Tableau V.1 : les structures et les masses molaires des nitrons étudié.	21
Tableau V.2 : Variation de l'activité de série des nitrones en fonction de concentration	24
Tableau V.3 : Les courbes de l'absorbance en fonction de la concentration des nitrons étudié	27
Tableau V.4 : les valeurs de BDE, IP, PDE, PA et ETE en kcal/mol.	34

Liste des abréviations

ERO	Espèces réactives de l'oxygène
ERN	Espèces réactives de l'azote
R [·]	radicale
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
PBN	α -phényle-N-tert-butyl nitrone
DPN	C,N-diphényle nitrone
BHT	butyle hydroxyle toluène
AAR	activité antioxydante relative
FRAP	ferric reducing antioxydante power
DMPO	5,5-diméthyle-1-pyrroline-N-oxide
RPE	résonance paramagnétique électrique
OM	Orbital moléculaire
STZ	streptozotocine
DFT	Density functional theory
HAT	hydrogen atom transfer
SET-PT	single electron transfer-proton transfer
SPLET	sequential proton loss electron transfer
BDE	bond dissociation enthalpy
IP	ionisation potentiel
PDE	proton dissociation enthalpy
PA	proton affinity
ETE	electron transfer enthalpy
SCF	Self consistent field
UV	Ultra - Violet - Visible
ABS	Absorbance
BHT	Béta hydroxy acide

TCA	L'acide trichloroacétique
α	Alpha
pH	Potential hydrogène
ml/min	Millilitre par minute
mg/ml	Milligramme par millilitre
ml	millilitre
nm	nanomètre
mg	milligramme
g/mol	Gramme par mole
mol	Mole
C	Concentration
mg/kg	milligramme par kilogramme
T	Température
°	Degré
°C	Degré celsius
μ l	Microlitre
%	Pourcentage
N-I	C,N-diphényle nitroène
N-II	C-p-méthoxy phényl N-phényl nitroène
N-III	C-3,4-dihydroxy phényl N-phényl nitroène
N-IV	C-3-hydroxy-4-méthoxy phényl N-phényl nitroène
N-V	C-p-hydroxy phényl N-phényl nitroène
N-IV	C-4-hydroxy-3-méthoxy phényl N-phényl nitroène
N-VII	C-3, 4, 5-triméthoxy phényl N-phényl nitroène
N-VIII	C-3,5-diméthoxy-4-hydroxy phényl N-phényl nitroène

Introduction générale :

En raison des progrès réalisés dans de nombreux domaines, les chercheurs, en particulier dans le domaine de la recherche scientifique, ont réalisé de nombreux développements, l'informatique chimique est l'un de ces domaines.

La chimie informatique est une branche de la chimie qui utilise la simulation sur ordinateur pour aider à la résolution de problèmes chimiques. Il utilise des méthodes de chimie théorique, incorporées dans des programmes informatiques, pour calculer les structures et les propriétés des molécules, les résultats informatiques complètent normalement les informations obtenues par des expériences chimiques.

Le stress oxydatif peut être considéré comme un processus chimique très complexe résultant à partir des molécules appelées les radicaux libres. Ces derniers sont produits chaque jour dans l'organisme et qui sont surveillés par les antioxydants.

Afin de limiter les effets néfastes engendrés par le stress oxydant, les chercheurs travaillent depuis de nombreuses années sur l'élaboration d'antioxydants naturels ou synthétiques. Ils étudient également les processus pathologiques liés au stress oxydant afin de mieux comprendre leurs mécanismes et les radicaux impliqués. De nouvelles molécules capables de piéger les radicaux libres d'origine synthétique ont donc vues le jour, c'est le cas des nitrones. Les nitrones sont des antioxydants capables de protéger les cellules contre les dommages induits par un stress oxydant.

Le but de ce travail c'est la comparaison entre l'étude expérimentale et théorique de l'activité antioxydant d'une série de nitrones phénoliques. Les méthodes expérimentales choisies lors de cette étude sont le piégeage du radical libre DPPH et la mesure du pouvoir réducteur. L'étude théorique est basée sur l'utilisation de la DFT.

Notre mémoire est subdivisé en trois parties :

La première partie porte sur l'étude bibliographique des antioxydants, des nitrones et des méthodes de calcul.

La deuxième partie comporte un chapitre sur les matériels utilisés et sur les méthodes suivies. Il sera suivi du chapitre résultats et discussion.

On termine par une conclusion.

Partie bibliographique

CHAPITRE I :

L'activité antioxydante

I.1 Généralités :

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies. Mais l'oxygène peut être également une source d'agression pour ces organismes. En effet des dérivés hautement réactifs de l'oxygène peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons U.V, des radiations ionisantes et des métaux de transition. Les formes de l'oxygène provoquant ces troubles sont: l'oxygène singulet O_2 , le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , les peroxydes alkyles $ROOH$, le radical superoxyde O_2^- , les radicaux hydroxyles HO^{\cdot} , peroxydes ROO^{\cdot} et alkoxydes RO^{\cdot} . Les conséquences au niveau de l'organisme se font ressentir sur l'ADN, les lipides et les protéines. [1]

I.2 radicaux libres :

I.2.1. Définition

Un radical libre est un atome ou une molécule qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non appariés, c'est-à-dire non couplés à un électron de spin opposé. Cela entraîne une très haute réactivité chimique avec les éléments voisins. [2.3] Les espèces radicalaires sont électrophiles et vont chercher à arracher un électron à une molécule voisine afin d'apparier leur électron célibataire. Cet état est donc seulement transitoire, de l'ordre de la microseconde [4], car le radical soit accepter un autre électron, soit transférer le ou les électrons libres sur une autre molécule (lipide, protéine, acide nucléique) afin de rapparier son ou ses électrons célibataires et d'obtenir ainsi un état plus stable.[5] Il s'agit donc d'un intermédiaire de la réaction. Cela va entraîner une réaction en chaîne qui va produire de nouveaux radicaux libres car la molécule agressée par le radical libre devient à son tour radicalaire.

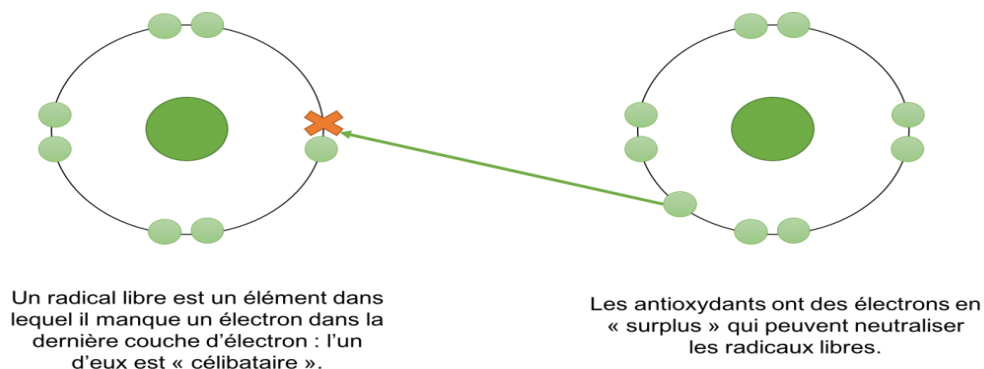


Figure I.1 : Formation des radicaux libres.

I.2.2. Production des radicaux libres :

La production de ces espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d' O_2 pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respirations oxydatives. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau, au niveau de la mitochondrie. Elle peut alors être à l'origine de la production des radicaux libres oxygénés.

Les autres sources de production des radicaux libres sont représentées dans le tableau 1. Elles sont classées en deux catégories :

- les sources endogènes : les radicaux libres sont des produits des réactions de l'organisme,
- les sources exogènes : les êtres vivants sont exposés quotidiennement à des polluants (Fumée de cigarette, rayons ultraviolets, radiations...) susceptibles d'être à l'origine de la production des radicaux libres, une fois dans l'organisme [6].

Tableau I.1: Principales sources de production des radicaux libres.

Sources endogènes	Production des radicaux libres lors des respirations oxydatives (mitochondries) Cellules phagocytaires Métabolisme de l'acide arachidonique Système xanthine/Xanthine oxydase
Sources exogènes	Rayonnement électromagnétique Métaux de transition Pesticides Médicaments...

I.2.3. Types des radicaux libres :

On peut distinguer différents types des radicaux libres :

I.2.3.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) :

- Les ERO sont une famille d'entités chimiques regroupant les dérivés non radicalaires et les radicaux libres oxygénés (tableau I.2) [7]. En effet, la molécule d'oxygène diatomique (O_2) ne

réagit pas spontanément avec d'autres molécules, car elle contient 2 électrons non appariés (bi-radical). Pour permettre la réaction de l'oxygène avec les molécules organiques, il y a 2 possibilités: la molécule organique est transformée en une mono-radical (une molécule contenant 1 électron non apparié) par l'élimination de 1 électron (oxydation), et / ou l'oxygène est converti en mono-radical par l'addition de 1 électron (réduction) [8].

L'oxygène, en tant que récepteur final d'électrons dans l'organisme, se transforme en molécules d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Le processus de réduction de l'oxygène en eau n'est toutefois pas parfait car 2 à 3 % de l'oxygène sont transformés en ERO particulièrement réactionnelles [9]. Dans une première étape, le radical libre anion superoxyde est formé, ce qui conduit par la suite à la production d'autres ERO comme le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet, le radical hydroxyle, l'acide hypochloreux, des dérivés nitrés, ... [10]

Tableau I.2: Espèces réactives de l'oxygène [8].

Non radicalaires	Radicaux libres
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)	- Radical superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet -}$)
- Oxygène singulet (1O_2)	- radical peroxylipidique (LOO^{\bullet})
- Acide hypochlorique (HOCl)	- Radical hydroxyle (OH^{\bullet})
- Ozone (O_3)	- Peroxynitrite (ONOO^-)
- Radical oxyde nitrique (NO^{\bullet})	

I.2.3.2. Espèces réactives de l'azote (ERN) ;

Les espèces réactives de l'azote proviennent de la réaction des ROS avec le monoxyde d'azote NO^{\bullet} . Ces réactions sont catalysées par la NO synthase dont il existe 3 types : neuronale, endothéliale ou inducible. Dans des conditions physiologiques, l'oxyde d'azote est faiblement réactif. C'est l'action de l'anion superoxyde sur l'oxyde d'azote qui entraîne la formation de réactifs ayant une réactivité élevée. (Tableau I.3)

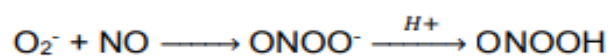


Tableau I.3 : Espèces réactives de l'azote.

Non radicalaires	Radicaux libres
-dioxyde d'azote (NO_2)	-monoxyde d'azote (NO^\cdot)
-trioxyde d'azote (N_2O_3)	
-ion nitrate d'azote (NO_2^-)	
-peroxynitrite (ONOO^\cdot)	

I.2.4. Dommage des radicaux libres:

- La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique [11.12].

I.3 Le stress oxydatif:

I.3.1 Définition:

Le stress oxydatif, appelé aussi stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes de l'organisme en faveur des premiers, ce qui conduit à des dommages cellulaires irréversibles [13]. Le stress oxydatif est un fonctionnement de l'organisme qui est normal tant qu'il ne dépasse pas certaines limites. En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent des radicaux libres qui sont des petites substances chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène, et dont nos cellules savent normalement très bien se débarrasser. Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer [14]

I.4 Antioxydantes :

I.4.1 Définition :

- Par définition un antioxydant est une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc : (i) prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles ou (ii) désactiver directement les ROS.[15]

I.4.2 Classement des antioxydantes :

- Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres.
- Les antioxydants sont classés dans deux catégories différentes (naturelles, synthétiques).

I.4.2.1 **Antioxydantes synthétiques :**

- Les antioxydants synthétiques sont généralement préparés en laboratoire, et principalement à partir des composants chimiques. Dans l'industrie alimentaire, l'ajout d'antioxydants naturels dans les aliments est une technique complètement nouvelle. Depuis à peu près 1980, les antioxydants naturels sont apparus comme alternative aux antioxydants, ils sont aujourd'hui généralement préférés par les consommateurs. Toutefois, le fait de trouver communément une substance dans un aliment ne constitue pas une garantie de son absence totale de toxicité. Les antioxydants synthétiques ont été testés quant à leurs effets carcinogènes ou mutagènes, mais de nombreux constituants naturels des aliments n'ont pas encore été testés.[16]

I.4.2.2. **Antioxydantes naturelles :**

- Les antioxydantes naturelles sont présents presque dans toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux. Le groupe le plus important d'antioxydants naturel comprend la vitamine E (tocophérol), les flavonoïdes et autres composés végétaux. [16].

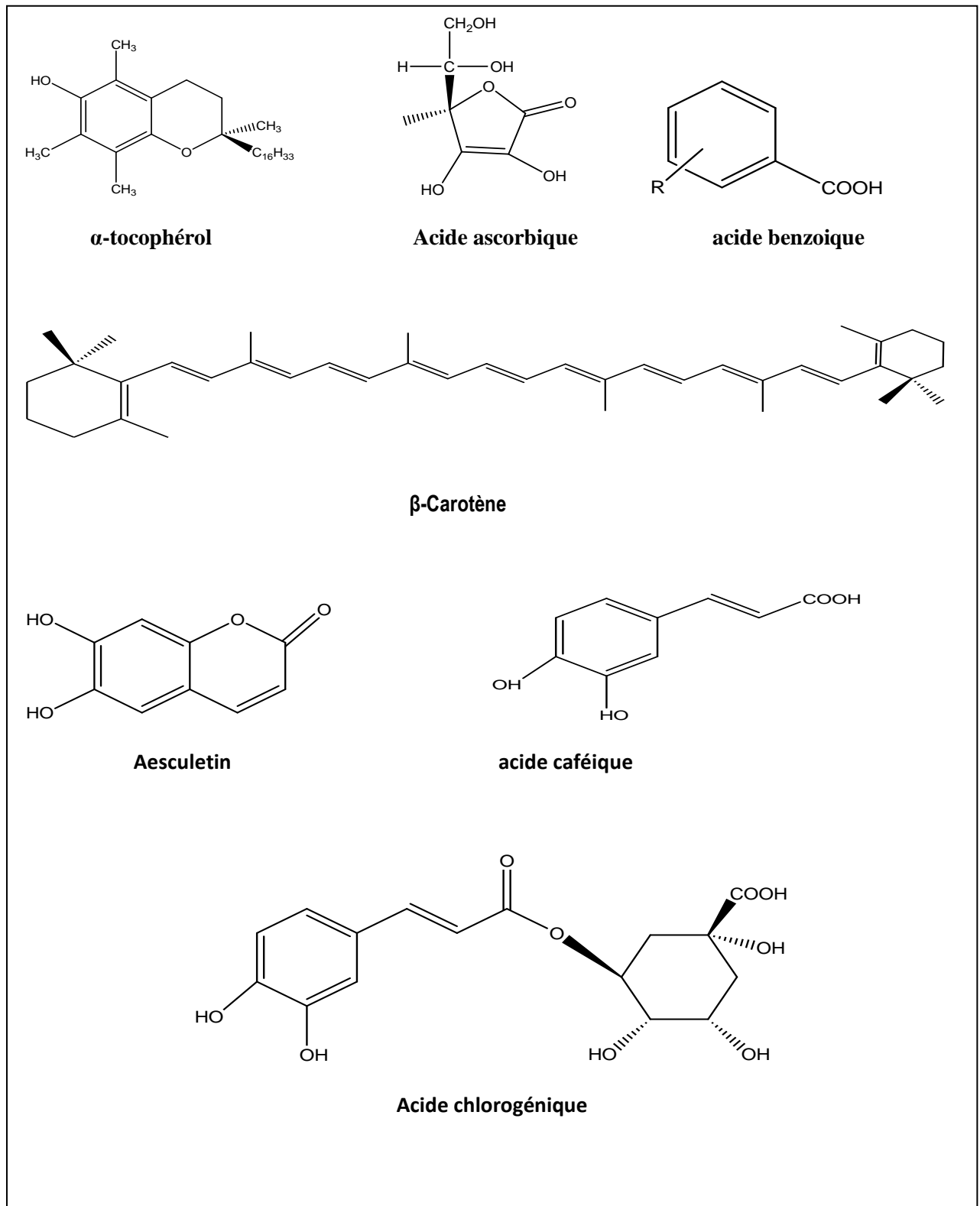


Figure I.2 : Structures chimiques des antioxydants naturels.

CHAPITRE II :

les nitrones

II.1 Les nitrones :

II.1.1 Définition :

- Une nitronne est un amine-oxyde (N-oxyde) d'une imine. C'est un groupe fonctionnel. La structure générale en est $R_1R_2C=NR_3^+O^-$ où R_3 est différent de H. les nitrones sont des molécules caractérisées par la présence d'une fonction $-C=N^+(O^-)$, comportant une double liaison carbone-azote et une liaison covalente entre l'azote et l'oxygène. Les nitrones possèdent différents sites réactifs (figure II.1).

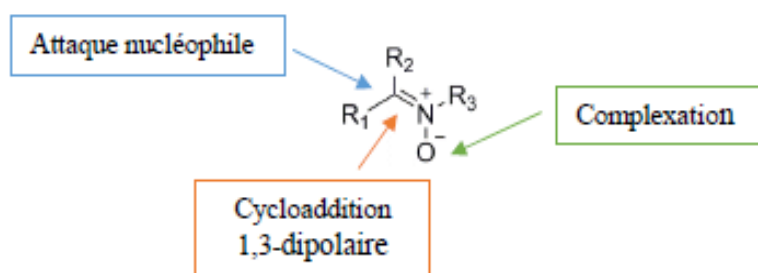


Figure II.1 : Les différents sites réactifs de la nitronne.

II.1.2 Nomenclature :

La nomenclature employée par le résumé chimique est la suivante :

α ,N diphenyl nitrones:

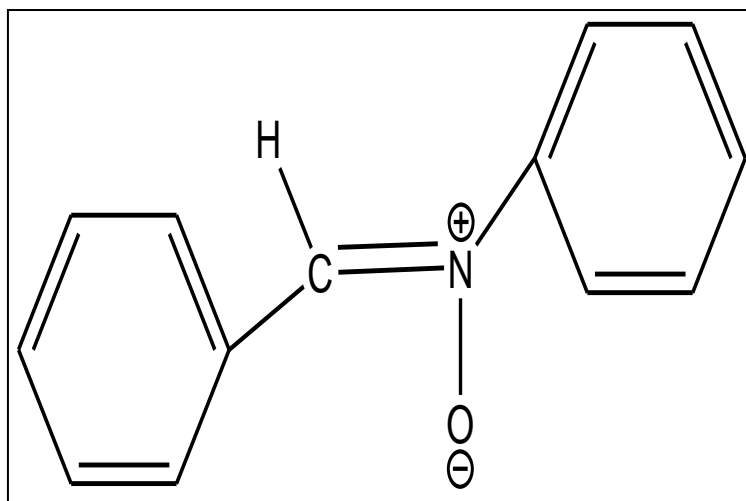


Figure II.2 : la structure de α ,N diphenyl nitronne.

α - phenyl - α - (p-tolyl) - N- methyl nitrones:

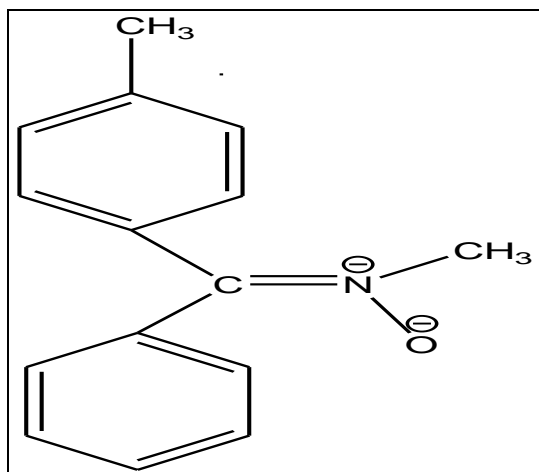


Figure II.3: la structure de α - phényle - α - (p-tolyl) - N- methyl nitrone.

Il existe deux grandes catégories des nitrones :

- les nitrones linéaires

Exemple : dérivés de l' α -Phényle-N-tert-Butyl Nitron (PBN) (figure II.4).

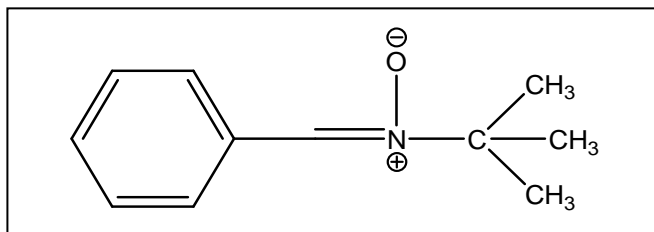


Figure II.4: structure de la PBN.

- les nitrones cycliques :

exemple : dérivés de 5,5-Diméthyle-1-Pyrroline-N-Oxide (DMPO) :

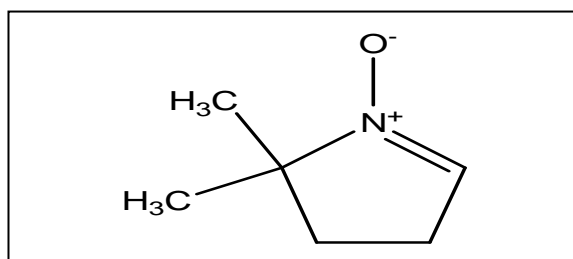


Figure II.5 : structure de la DMPO.

Les nitrones cyclique sont nommés selon la structure parent-hétérocyclique. Des nitrones tardifs ont été également nommés comme C-cyclopropyl N-methyl nitrones ; C,C-dicyclopropyl-N-methyl nitrone.

Les conditions générales, des aldonitrones et des cétonitrones ont été utilisées occasionnellement. Les aldonitrones contiennent un proton sur l'atome de carbone α $\mathbf{R-CH=N^+(O^-)-R_1}$. Tandis que dans les cétonitrones contiennent le carbone α entièrement substitué par des groupes alkyle et ou aryle. $\mathbf{RR_1-C=N^+(O^-)-R_2}$

II.1.3 Réactivité des nitrones :

- Les nitrones réagissent avec les alcynes terminaux ($\mathbf{R-C\equiv CH}$) en présence d'un sel de cuivre pour former des bêta-lactames. Cette réaction est appelée réaction de Kinugasa.

- les vitesses de réaction de la cycloaddition 1,3-dipolaire sont grandement sensible aux caractéristiques électroniques et stériques des dipôles et dipolarophiles qui affectent la nature de l'état de transition. HUISGEN a attribué la variation de la réactivité du esters acryliques méthylés vers cycloaddition avec 1,3-dipôles en grande partie à des facteurs stériques. La constante de vitesse relative pour la réaction de cycloaddition de la C-phényl-N-méthylnitronne diminue à mesure que le nombre des substituants méthyle sur le dipolarophile augmente. Les effets électronique des substituants ont apparemment la plus grande influence sur la réaction de cycloaddition. [20]

Les dipolarophiles tels que les nitriles et les composés carbonylés ne sont généralement pas réactifs dans les cycloaddition 1,3-dipolaire, à moins qu'ils ne soient « activé ». L'activation de tels dipolarophiles se fait principalement au moyen de catalyseurs à l'acide de Lewis.

Les substituants sur les nitrones jouent également un rôle majeur dans la réactivité de ces espèces, selon HUISGEN, les configurations des nitrones sont d'une importance primordiale pour déterminer leur réactivité.

Dans la réactions des aryl-nitrones C-phényle-N-p-substitués avec le crotonate d'éthyle, la vitesse de réaction augmente avec l'augmentation de la capacité d'attraction d'électron des substituantes para sur le N-aryle groupe de ces nitrones. HUISGEN a attribué cette amélioration de la vitesse au gain d'énergie de résonance dû à l'interaction de l'énergie non

partagée, paire d'électron à l'azote trivalent avec R. cette type d'interaction est absent dans les nitrones. Ainsi, plus la capacité du noyau aromatique à accueillir des électrons , alors la force motrice est plus pour les cycloadditions donc la réaction est plus rapide. [17]

II.1.4 Domaine d'application des nitrones :

- Les nitrones présentent plusieurs applications que ce soit en synthèse organique, en piégeage des radicaux libres ou en biologie comme agents thérapeutique.

II.1.4.1 Synthèse des molécules bioactifs :

Les nitrones sont utilisées largement comme intermédiaires réactionnels d'espèces bioactives. Ils sont en général plus réactifs que les imines correspondantes dans les réactions de substitution électrophile aromatique. On cite l'exemple de la synthèse des 3,3'-di-indolylalcanes par cyclisations 1,3-dipolaires entre les noyaux indoliques et les nitrones. Cette préparation passe par un intermédiaire de type sel d'azafulvénium. Les produits formés ont été très étudiés pour leurs propriétés biologiques, anti-inflammatoires Ou Anticancéreuses.[18]

II.1.4.2 Piégeage des radicaux libres :

La technique de piégeage de spin (ou « spin trapping ») est appliquée à la détection et à l'identification des radicaux libres de très courte durée de vie. Le principe consiste à additionner au système étudié une molécule diamagnétique, qui va servir à piéger de façon très rapide un radical libre afin de former un nouveau radical (adduit de spin) beaucoup plus stable (Figure II.6) et observable par RPE.

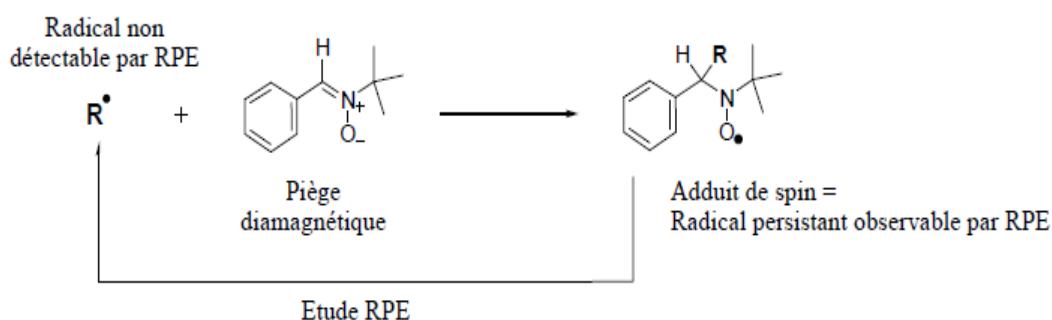


Figure II.6 : Principe de la technique de piégeage de spin par la PBN.

II.1.4.3 Applications biologiques :

- Les nitrones ont été utilisées dans le cadre d'expériences biologiques afin d'évaluer si leurs propriétés de pièges à radicaux libres pouvaient avoir un effet protecteur sur des cellules ou des organismes exposés à un stress oxydant. Les premières recherches ont débuté dès 1985, Lorsque Novelli et al ont découvert que la PBN possédait une activité protectrice dans les cas d'ischémies cérébrales [19], étude qui a été confirmée par McKennie et al.

- C'est ainsi que les espèces radicalaires qui ne sont au départ pas détectables dans le système sont converties en radicaux plus persistants, qui vont quant à eux pouvoir s'accumuler dans le milieu afin d'être étudiés plus facilement. Par conséquent, cette technique offre l'opportunité de simultanément distinguer et quantifier les divers radicaux libres générés dans un milieu biologique.

II.1.5 propriétés thérapeutiques :

- Les nitrones ont été aussi testé comme un agent neuroprotecteur , il a été confirmé le PBN a permet une réduction des dommages causes au cerveau de l'ordre de 30 à 50 % [20]

- Le test d'activité de PBN sur le vision a montré qu'elle est capable de réduire les effets néfastes des radicaux libres sur un modèle expérimental de dégénérescence rétinienne, qui consiste à exposer des rats à une lumière intense.[21]

- Il a été démontré que la PBN est capable d'inhiber cette hyperglycémie induite par la streptozotocine (STZ) tout en réduisant très fortement la production des radicaux. [22]

- De nombreuses études ont mis en évidence le fait que l'administration de PBN chez des sujets âgés s'accompagnait d'un allongement de la durée de vie. En effet, dès 19 Carney et al. [23] démontrèrent pour la première fois les effets bénéfiques d'une administration chronique de PBN sur la restauration des fonctions cognitives de rats âgés. Sack et al. [24] ont par la suite démontré que l'administration de PBN à des rats âgés (24 mois) pendant plus de 9 mois permettait d'augmenter de façon étonnante leur durée de vie (4 fois plus de sujets en vie à la fin de l'étude), entraînant de surcroît l'augmentation des performances cognitives des rats traités. Enfin, Saito et al. [25] sont arrivés à prolonger de deux mois la durée de vie de rats âgés (30 ou 32 mois) en leur faisant absorber de manière journalière de la PBN contenue dans l'eau qu'ils buvaient.

CHAPITRE III :
Modélisation de l'activité
antioxydante

III.1 Généralité :

- Avec l'arrivée des méthodes théoriques de calcul de plus en plus sophistiquées et les ressources de computation plus accessibles, la chimie informatique est maintenant devenue un outil de plus en plus utile à la fois pour l'industrie et le milieu académique.[26]

- La modélisation par ordinateur d'une molécule implique généralement une présentation graphique de la géométrie ou de la configuration des atomes de la molécule, suivie de l'application d'une méthode théorique.[27]

- La modélisation moléculaire est un terme général qui englobe différentes techniques de graphisme moléculaire et de chimie computationnelle permettant d'afficher, simuler, analyser, calculer et stocker les propriétés des molécules .[28]

- La modélisation moléculaire est une méthode qui permet la détermination de la structure et de l'énergie d'entités moléculaires.

- avec le développement de la chimie computationnelle basée sur la théorie fonctionnelle de la densité (DFT), les résultats théoriques sont souvent utilisés pour expliquer d'avantage les résultats expérimentaux ou prédire l'activité antioxydante des nitrones [29].

- Trois mécanismes antioxydants clés impliqués dans le processus de désactivation des radicaux libres sont le transfert d'atome d'hydrogène (HAT), le transfert d'un seul électron suivi du transfert de proton (SET-PT) et le transfert séquentiel d'électron à perte de proton (SPLET). La HAT est une réaction en une étape liée à l'enthalpie de dissociation des liaisons OH (BDE), tandis que SET-PT et SPLET sont des réactions en deux étapes, la première est liée au potentiel d'ionisation (IP) et à l'enthalpie de dissociation du proton (PDE), et la seconde est liée à l'affinité des protons (PA) et à l'enthalpie de transfert d'électrons (ETE) [30.31].

III.2 Les méthodes quantiques :

- Ces méthodes sont basées sur le calcul des orbitales moléculaires (OM). Leur complexité augmente rapidement avec le nombre d'électrons.

Les principales variantes sont :

- La méthode de Hückel.
- Les méthodes de champ auto-cohérent (en anglais: Self Consistent Field, SCF)
- Les méthodes basées sur la fonctionnelle de la densité (en anglais: Density Functional Theory, DFT).

III.2.1 Les méthodes basées sur DFT (en anglais : Density Functional Theory) :

- La Théorie de la Fonctionnelle de la Densité est devenue, au fil des dernières décennies, un outil théorique qui a pris une place très importante parmi les méthodes utilisées pour la description et l'analyse des propriétés physiques et chimiques pour les systèmes complexes, particulièrement pour les systèmes contenant un grand nombre d'électrons [32.33].

- La DFT est une reformulation du problème quantique à N corps et comme son nom l'indique, c'est une théorie qui utilise uniquement la densité électronique en tant que la fonction fondamentale au lieu de la fonction d'onde.[34]

-L'objectif principal de DFT est de remplacer la fonction d'onde multiélectronique par la densité électronique en tant que quantité de base pour les calculs. Alors que la fonction d'onde multiélectronique dépend de $3N$ variables (où N est le nombre total de particules du système), la densité est en fonction de trois variables qu'elle s'agit d'une quantité plus facile à traiter tant que mathématiquement que conceptuellement.[35]

III.3 Modélisation de l'activité antioxydante :

Lors de la conception des antioxydants de synthèse, il est utile d'examiner quel type de structure moléculaire pourrait être potentiellement optimal. De manière générale, les composés contenant des liaisons C-H faibles qui peuvent conduire à des radicaux centrés sur

le carbon $R\cdot$ sont indésirables, car ils sont généralement très réactifs avec l'oxygène moléculaire conduisant à des radicaux peroxy $ROO\cdot$ [36].

III.4 Mécanismes des antioxydantes :

Les principaux oxydants dans les milieux biologiques sont les radicaux libres et les métaux de transition. Il existe trois mécanismes importants :

III.4.1. Transfert d'atome d'hydrogène (HAT) :

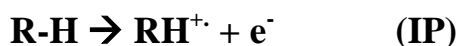
L'antioxydant agit avec le radical libre par transfert d'un atome d'hydrogène via la rupture homolytique de la liaison N-H dans l'amine ou la liaison O-H dans les composés phénolique. L'énergie de dissociation homolytique de la liaison OH (BDE) écrit par :



Plus la BDE est faible plus son caractère donneur d'hydrogène est fort.

III.4.2 Transfert d'un électron suivi de celui d'un proton (SET-PT) :

Deux réactions montrent une dissociation inhomogène de l'hydrogène, réaction est mesurée par une IP et réaction par une PDE :



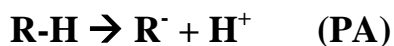
Le potentiel d'ionisation (PI) d'une molécule est l'énergie minimale qu'il faut lui fournir pour arracher un électron. Plus un composé aromatique est substitué par des groupements donneurs d'électrons, plus son PI est faible et plus son caractère réducteur est grand. Il peut alors subir une oxydation mono-électronique qui conduit au radical correspondant [37].

L'enthalpie de dissociation protonique (PDE) est un paramètre thermodynamique caractérise la 2^{ème} partie de mécanisme SET-PT.

III.4.3 Transfert d'un proton suivi du départ d'un électron (SPLET) :

Ce mécanisme (SPLET) représente également un mécanisme de dissociation inhomogène qu'est décrit par une PA et une ETE . L'anion \mathbf{R}^- et le radical-cation $\mathbf{ROH}^{+\bullet}$ ainsi formés sont généralement des entités stables.

L'affinité protonique (PA) et l'enthalpie de transfert de l'électron (ETE) sont des paramètres Thermodynamiques qui caractérisent le mécanisme SPLET.



Le résultat net SPLET est à nouveau le même que dans HAT. La formation du radical correspondant.

Partie Expérimental

CHAPITRE IV :

Matériels et méthodes

Notre travail expérimental à été au niveau du laboratoire physico-chimique moléculaire et macromoléculaire (LCPMM) de l'université de SAAD DAHLEB Blida.

IV.1.Appareillages et produits :

IV.1.1 Appareils :

- Les spectres UV-Visible ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.
- Une balance analytique de marque "EXPLORER" a été utilisée pour Les différentes pesées.
- L'étude des conformations du point de vu énergétique a été réalisée sur le logiciel Gaussian 98 et Gaussian 09.
- La représentation des molécules est réalisée grâce au logiciel Gauss View 5.0

IV.1.2 Produits :

Les produits utilisés dans cette expérience est représentants dans le tableau IV.1 suivant :

Tableau IV.1 : Produits utilisés pour la méthode FRAP et DPPH.

	Produits	
La série de nitrones étudiés	- N-I	C,N-diphényle nitrone
	- N-III	C-3,4-dihydroxy phényl N-phényl nitrone
	- N-IV	C-3-hydroxy-4-méthoxy phényle N-phényl nitrone
	- N-VI	C-4-hydroxy 3-méthoxy phényl N-phényl nitrone
	- N-VII	C-3, 4, 5-triméthoxy phényl N-phényl nitrone
	- N-VIII	C-3,5-dimethoxy-4-hydroxy phényl N-phényl nitrone
Méthode DPPH	BHT	2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol
	BHA	2-tert-Butyl-4-hydroxyanisole and 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole (mélange)
	VIT E	(2R)-2, 5, 7,8-tétraméthyl-2-[(4R,8R)-4,8,12-triméthyltridécyl]-3,4-dihydrochromén-6-ol
	VIT C	(5R)-5-((11S)-1,2-dihydroxyéthyl)-3,4-dihydroxy-5-hydrofuran-2-one
	Ethanol	Ethanol
	DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle
Méthode	FeCl ₃	Chlorure de fer(III)
	(K ₃ Fe(CN) ₆)	Ferricyanure de potassium

FRAP	TCA	Acide trichloracétique
	BHT	2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol
	BHA	2-tert-Butyl-4-hydroxyanisole and 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole (mélange)

IV.2. Méthodes :

IV.2.1 Méthode du piégeage du radical libre DPPH :

La mesure de l'activité anti-radicalaire a été testée selon la méthode de LeBois [38].

- 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 517 nm pour s'assurer que son absorbance est de 0,557 [39].
- Des solutions mères des nitrones ont été préparées. Le choix de la concentration de ces solutions est basé sur les tests préliminaires des solutions qui donnent un intervalle d'activité de 5 à 90 %. Ce qui nous permettra d'évaluer la valeur d'EC₅₀, La même méthode est suivie pour les composés de références (BHT, BHA et Vit C). Ainsi, les concentrations des solutions mères utilisées sont données dans le tableau suivant.

Tableau IV.2 : Masse molaires, masses, volumes et concentration des solutions mères des composés testés.

Composé testé	MM g/moles	Masses et volumes utilisés	Concentration moles/l
N-I	197.12	49 mg dans 5 ml	0.0500
N-III	229.23	1.6 mg dans 50 ml	0.0001
N-IV	243.26	6.2 mg dans 5 ml	0.0050
N-VI	243.26	62.5 mg dans 10 ml	0.0050
N- VII	316.35	7.9 mg dans 5 ml	0.0050
N-VIII	332.35	8.9 mg dans 10 ml	0.0030
Anisol	243.26	500 mg dans 1 ml	2.0600
Gaïacol	197.12	49 mg dans 5 ml	0.0500
Vit C	243.26	6.25 mg dans 5ml	0.0050

- les solutions filles sont préparées en prélevant différents volumes des solutions mères qu'on introduit dans des tubes à essai secs et stériles. Ces solutions sont ajustées à 1 ml avec de l'éthanol. A la fin 1 ml de la solution de DPPH est rajoutée à tous les tubes. L'ensemble du système a ensuite été mis sous agitation, puis les tubes ont été maintenus dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min [40].

- L'absorbance en UV-Visible à $\lambda_{\max} = 517$ nm est mesurée. Trois analyses ont été effectuées pour chaque solution testée. L'activité antioxydante (AA) a été calculée à partir de l'équation suivante [40]:

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

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.

IV.2.2 Mesure pouvoir réducteur du fer ferrique (FRAP) :

Pour évaluer l'activité antioxydante des nitrones par la méthode de réduction de fer, nous avons suivi le Protocole suivant [40].

• Préparation de la solution tampon

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

- 125,5 ml de KH_2PO_4 (di-hydrogène phosphate de potassium) à M/15 (9,08g de KH_2PO_4 par litre).
- 74,5 ml de Na_2HPO_4 (di-sodium hydrogène phosphate) à M/15 (8,47g de Na_2HPO_4 par litre).

• Préparation des solutions mères :

Les solutions utilisées sont décrites comme suit :

- Solution de $FeCl_3$ (0,1%) : 1 g de $FeCl_3$ dans 1000 ml d'eau distillée.
- Solution $K_3Fe(CN)_6$ (1%) : 10 g de $K_3Fe(CN)_6$ dans 1000 ml d'eau distillée.
- Solution de trichloracétique (10%) : 100 g de TCA dans 1000 ml d'eau distillé.
- Les solutions des nitrones et des antioxydants de référence sont préparées selon les masses données :

Préparation solutions mère :

On prépare une solution mère de $5 \cdot 10^{-3}$ mol/l

Après les concentration préparé dans la méthode DPPH on préparé les concentration de tableau IV.3 suivante :

Tableau IV.3 : préparation des concentration de solution mère de série nitrones pour la méthode FRAP

Série nitrone	Préparation
N-I	2 μ l dilué dans 20 ml
N-III	100 μ l dilué dans 10 ml
N-IV	10 μ l dilué dans 10 ml.
N-VI	10 μ l dilué dans 10 ml
N-VII	10 μ l dilué dans 10 ml
N-VIII	20 μ l dilué dans 10 ml

.Préparation des solutions filles :

Pour chaque solution mère on prépare une série de concentration :

0.4 ml de solution mère.

0.3 ml de solution mère + 0.1 ml d'éthanol.

0.2 ml de solution mère + 0.2 ml d'éthanol.

0.1 ml de solution mère +0.3 ml d'éthanol.

0.04 ml de solution mère + 0.36 ml d'éthanol

on introduit dans des tubes à essai les solutions filles , On rajoute 1 ml de $K_3Fe(CN)_6$ puis 1 ml d'une solution tampon de pH = 6,6. L'ensemble est chauffé à 60 °C au bain-marie pendant 20 min, après refroidissement, on ajoute 1 ml de TCA. Le mélange est, par la suite, centrifugé à une vitesse de 3000 tr/min pendant 10 min [38].

On prélève 1 ml de surnageant, auquel on ajoute 1 ml d'eau distillées et 0,2 ml de $FeCl_3$ (la coloration vire au bleu). Enfin, nous réalisons, pour l'échantillon ainsi préparé, la mesure de la DO à 700 nm. Ces mesures sont répétées trois fois pour chaque concentration afin de prendre la valeur moyenne [38]:

IV.2.3 Méthodologie des calculs théoriques :

Nous nous somme intéressés dans cette partie de notre étude à l'évaluation de l'activité antioxydante d'une série de nitrones en utilisant la méthode DFT (Density functional theory).

Les calculs ont été effectués en phase gazeuse et sur les conformations les plus stables des composés étudiés.

Les descripteurs théoriques de l'activité antioxydante ont été déterminés au niveau B3LYP/6-311++G(d,p) afin de relier le pouvoir antioxydant aux propriétés énergétiques et structurales de la molécule.

Nous avons réalisés nos calculs au moyen du Gaussian 09. Les molécules neutres, ont été optimisées par les deux méthodes PM6 et DFT (B3LYP/6-311++G(d,p)) et les structures ont été visualisés avec GaussView5.0.

Le formalisme UHF a été utilisé pour les radicaux et les radicaux cations, de plus, chaque état stationnaire a été caractérisé comme un vrai minimum sur la surface d'énergie potentielle par un calcul de fréquence.

Dans ces calculs, l'enthalpie du proton H^+ , du radical $H\cdot$ et celle de l'électron étant prises des références [39.40.41.42] et valent respectivement: 0.0024 Ha , -0.499 Ha et 0.0012 Ha.

a) Logiciel Gaussian :

Gaussian est un logiciel de chimie numérique d'étude et de modélisation moléculaire basé sur les lois fondamentales de la mécanique quantique, il nous permet de pronostiquer : les énergies, les structures moléculaires, les fréquences de vibration de systèmes moléculaires complexes et d'anticiper leurs propriétés chimiques.

b) La base 6-311G :

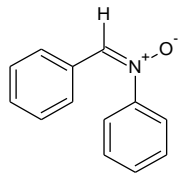
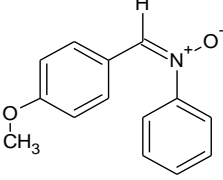
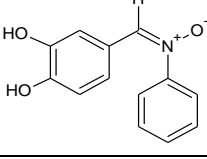
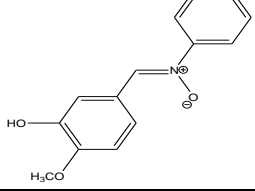
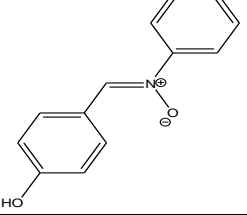
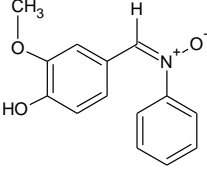
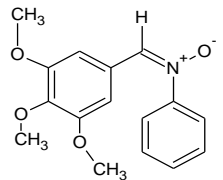
Dans la base 6-311G, chaque orbitale de cœur est représentée par six gaussiennes et chaque orbitale de valence par trois gaussiennes « interne » et une gaussienne « externe ». Dans la base 6-311G, encore plus étendue, chaque orbitale de valence est représentée par cinq gaussiennes, réparties en trois groupes.

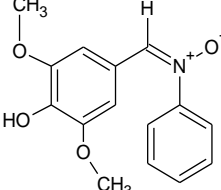
CHAPITRE V :

Résultats et discussions

Le but de notre travail est l'étude expérimentale et quantique de l'activité antioxydante d'une série de nitrones. L'étude expérimentale est réalisée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH et la méthode de la mesure du pouvoir réducteur du fer ferrique L'étude quantique est réalisée par DFT. La liste des nitrones à étudier est donnée dans le tableau N° V.1 :

Tableau V.1 : les structures et les masses molaires des nitrons étudié.

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		$C_{14}H_{13}O_2N$	227,12
N.III	C-3,4-dihydroxy phényl N-phényl nitronne		$C_{13}H_{11}O_3N$	229.1
N.IV	C-3-hydroxy-4-méthoxy phényle N-phényle nitronne		$C_{14}H_{13}O_3N$	243,11
N.V	C-p-hydroxy phényle N-phényle nitronne		$C_{16}H_{17}O_4N$	287,12
N.VI	C-4-hydroxy 3-méthoxy phényl N-phényl nitronne		$C_{14}H_{13}O_3N$	243.11
N-VII	C-3, 4, 5-triméthoxy phényl N-phényl nitronne		$C_{16}H_{17}O_4N$	316.35

N-VIII	3,5-dimethoxy-4-hydroxy phényl N-phényl nitrone		C ₁₅ H ₁₅ O ₄ N	332.35
--------	--	---	--	--------

L'étude expérimentale de l'activité du piégeage des radicaux libres des nitrones est très étudié [****]. Seulement, aucun travail sur cette étude par DFT n'a été réalisé. D'autre part, la série de nitrone choisie a pour bute d'associer le pouvoir antioxydant de la fonction nitrone et celle de la fonction phénolique :

En effet, la présence de la fonction nitrone permet la réaction avec le radical libre par l'intermédiaire du carbone situé en position α de l'atome d'azote, ce qui conduit à la formation d'un adduit de spin de type nitroxyde de l'atome d'hydrogène qui se trouve à deux liaisons du groupement nitroxyde nommé hydrogène β (figure V.1).

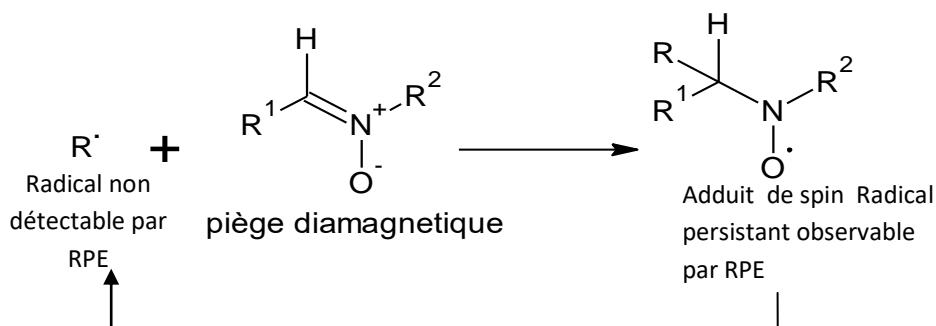


Figure V.1: Principe de la technique de piégeage de spin par la nitrone.

La deuxième action est relative à la présence de la fonction phénol. Cette dernière connue par sa forte capacité à piéger les radicaux libre selon le mécanisme présenté dans le schéma.V.2.

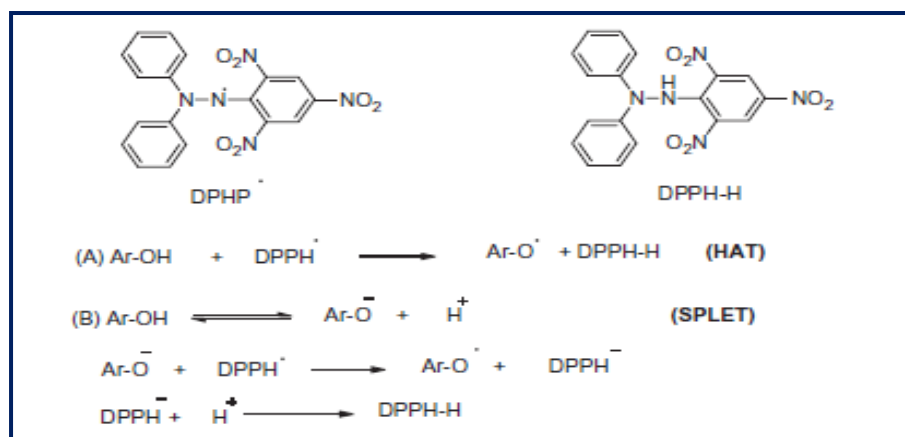


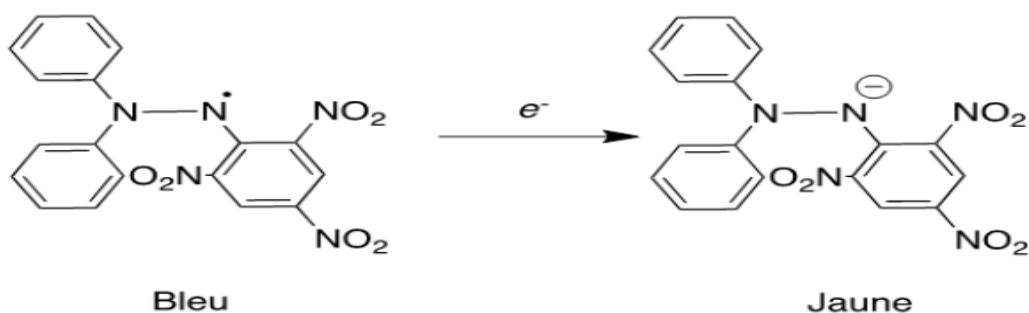
Figure V.2 : Réaction des phénols avec le DPPH. En (A) selon le mécanisme HAT « Hydrogène Atome Transfer » et en (B) selon le mécanisme SET « Simple Electron Transfer ».

V.1 Méthode DPPH :

Le principe de ce test se résume en la capacité du composé testé à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction) voir figure V.3. Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie. L'absorbance est mesurée à 517 nm. L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I %) est ensuite calculée selon la relation suivante :

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

Où, $\text{Abs}_{\text{blanc}}$ et $\text{Abs}_{\text{tester}}$ représentent les absorbances de la solution à blanc (DPPH dans l'éthanol) et de la solution à examiner, respectivement



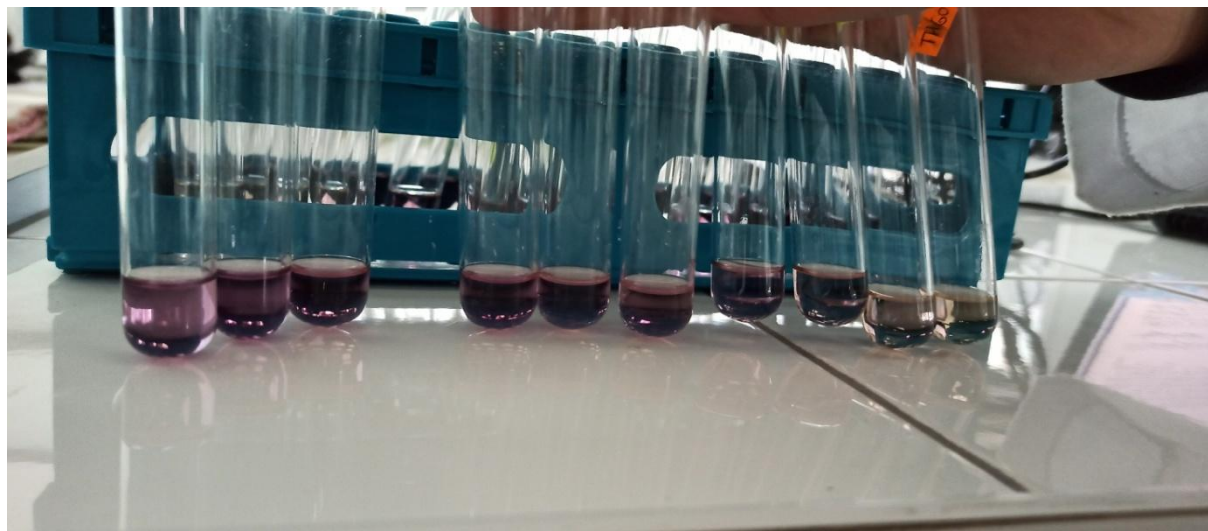


Figure V.3 : Modification du DPPH• lors du transfert électronique.

Les résultats de la variation de l'activité en fonction des différentes concentrations des nitrones (N-I, N-III, N-IV, N-VI, N-VII et N-VIII) et les antioxydants de références (BHT, BHA et Vit C) sont donnés dans le tableau V.2.

Une courbe de la variation de ces activités en fonctions de la variation de la concentration des différents composés testés sont données dans Le tableau V.2. Cela, nous permettra d'obtenir l'index EC_{50} . Ce paramètre est défini comme la concentration requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50 %. Les valeurs des EC_{50} obtenus sont regroupés dans le tableau N° V.2

Tableau V.2 : Variation de l'activité de série des nitrones en fonction de concentration

Composé	Concentration mol/ml	Activité %	EC_{50} mol/ml	Activité (%) = f([concentration mol/ml])
N-III	0	0	9,97607163E-6	
	1,745E-6	9,31713		
	3,49E-6	16,49306		
	5,235E-6	28,24074		
	6,98E-6	37,5		
	8,725E-6	43,69213		
	1,047E-5	52,60417		
	1,396E-5	65,21991		
	2,094E-5	77,83565		
	2,792E-5	81,07639		
N-IV	0	0	4,1344397E-4	
	1,2825E-5	5,71249		
	2,565E-5	12,8688		
	5,13E-5	15,50534		

	7,695E-5	21,09228		
	1,026E-4	23,28939		
	1,2825E-4	26,55367		
	2,565E-4	37,47646		
	5,13E-4	57,75267		
	7,695E-4	69,24043		
	0,00103	74,5135		
	0,00128	77,08726		
N-VIII	0	0	1,38420344E-4	
	2,6779E-5	11,00917		
	5,3558E-5	22,78287		
	8,0337E-5	28,84811		
	1,07116E-4	40,26504		
	1,33895E-4	48,52192		
	2,00842E-4	71,6106		
	2,6779E-4	84,1998		
	3,34738E-4	88,68502		
N-I	0	0	0,00704035568	
	6,2125E-4	6,31769		
	0,00124	10,83032		
	0,00186	16,96751		
	0,00248	20,57762		
	0,00373	30,86643		
	0,00497	38,80866		
	0,00745	52,16606		
	0,00994	71,48014		
	0,01243	80,1444		
N-VII	0	0	>7,485E-4	
	1,2475E-5	1,95003		
	2,495E-5	2,86411		
	7,485E-5	11,39549		
	9,98E-5	12,91895		
	1,2475E-4	14,38147		
	4,99E-4	29,73796		
	7,485E-4	48,50701		

N-VI	0	0	0,00174844721	
	1,026E-4	3,93996		
	3,078E-4	4,94059		
	4,104E-4	6,62914		
	5,13E-4	10,81926		
	7,695E-4	19,63727		
	0,00103	20,26266		
	0,00141	29,26829		
	0,0018	52,78299		
guaiacol	0,000000E+00	0	6,55171421E-4	
	8,055486E-05	9,76563		
	1,611097E-04	18,48958		
	2,013872E-04	34,96094		
	3,222194E-04	39,84375		
	4,027743E-04	42,57813		
	1,611097E-03	77,86458		
	2,416646E-03	82,03125		
	2,013872E-02	87,5651		
	2,819420E-02	88,28125		
anisol	0,00	0	**	
	0,23	0		
	0,46	0		
	0,69	0		
	0,92	0		
	1,16	0		
	1,39	0		
	1,62	6,26039		
	1,85	7,3864		

** : pour une concentration de 1.85 mol/l l'activité ne dépasse pas 7.4%

Les résultats de l'activité du piégeage du radical libre DPPH montre l'effet synergique de la fonction nitro et phénolique. En effet, en comparant l'activité de la nitro N-III à celle de la nitro N-I.

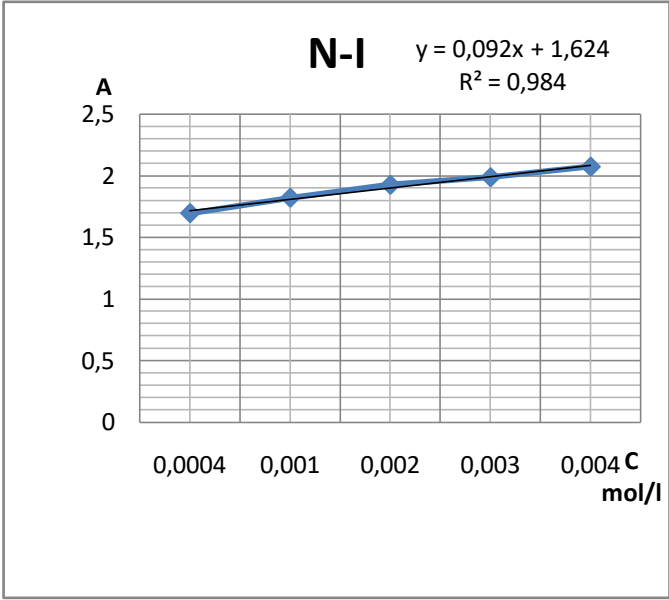
D'autre part, on remarque que le doublement du groupement hydroxy donne de meilleurs résultats que l'addition de la fonction méthoxy.

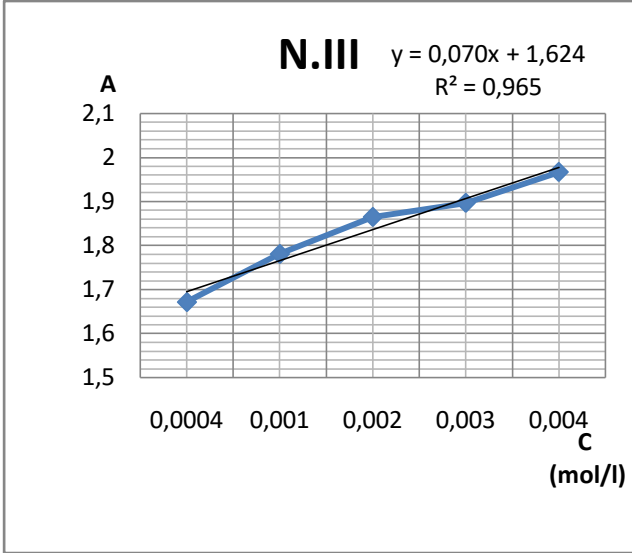
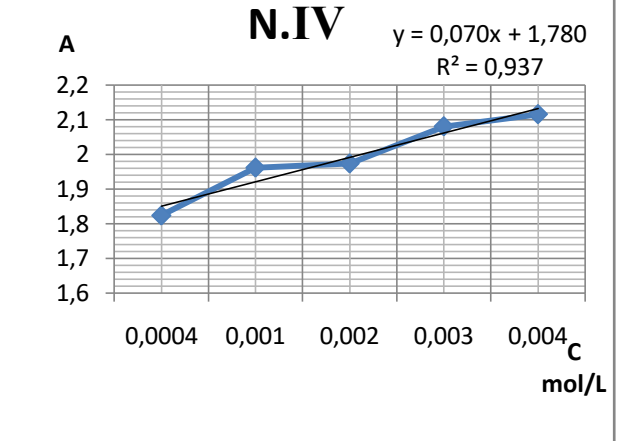
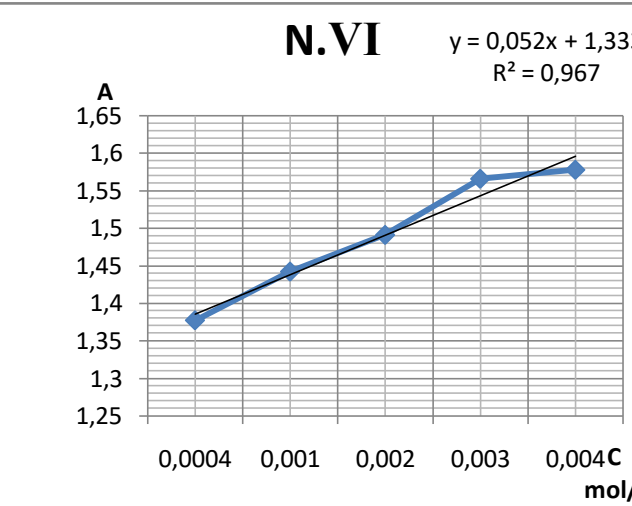
La nitro N-III présente une activité meilleure que celle de BHT. Cela est dû à la présence de la fonction phénol et deux fonctions nitro.

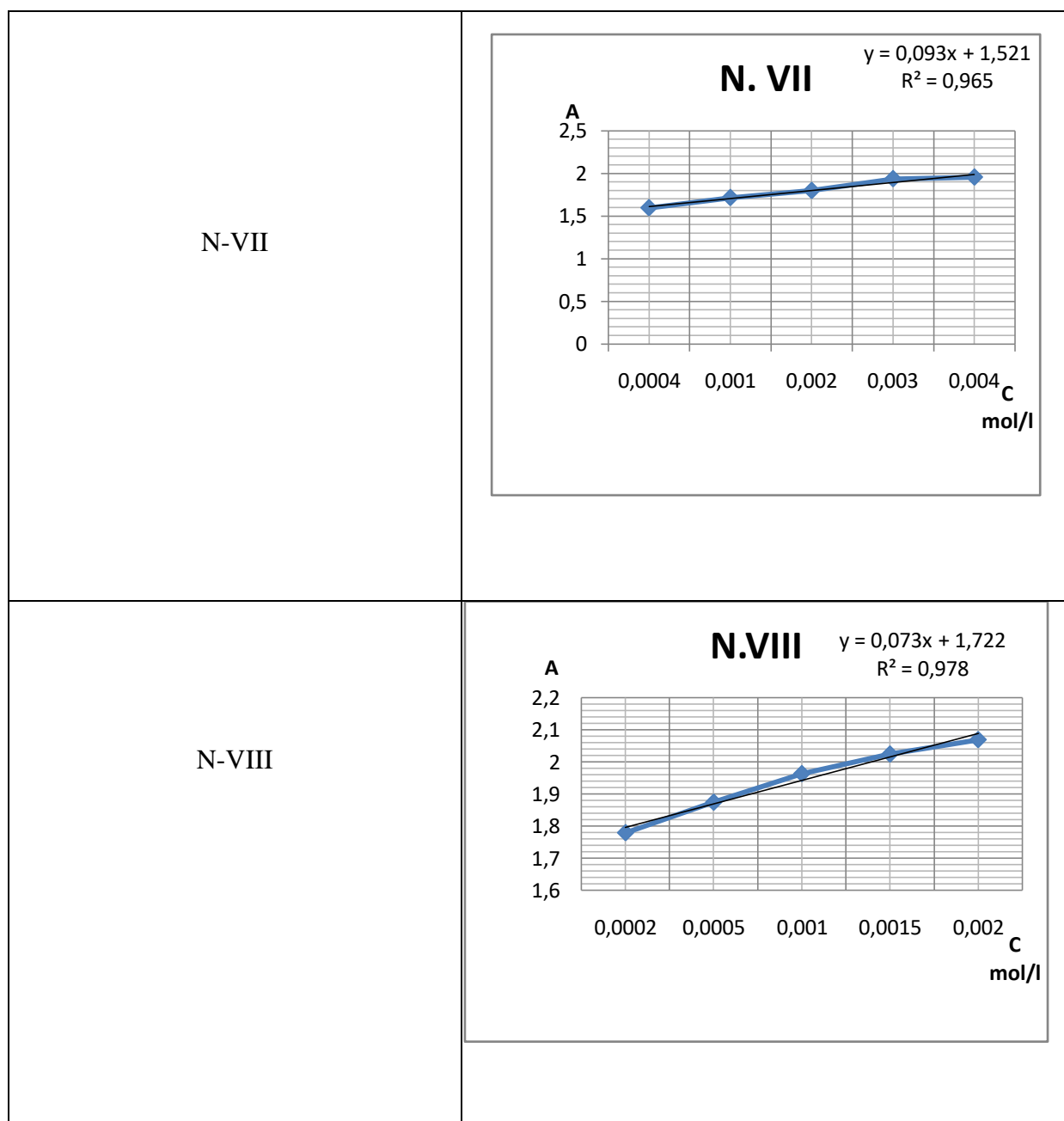
V.2 Test de la réduction du fer (en anglais : Ferric reducing-antioxidant power)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique est développée pour mesurer la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{+2}). En effet, le (Fe^{+3}) participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. La réduction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique en couleur bleu vert du fer ferreux. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspondante à une augmentation du pouvoir réducteur des antioxydants testés [26]. L'absorbance à 700 nm de chaque nitrone testée et des antioxydants de référence par cette méthode est donnée dans le tableau suivant :

Tableau V.3 : Les courbes de l'absorbance en fonction de la concentration des nitrons étudié

Nitrons étudié	Les courbes d'absorbance en fonction de concentration												
N-I	 <p>N-I $y = 0,092x + 1,624$ $R^2 = 0,984$</p> <table border="1"> <caption>Données du graphique</caption> <thead> <tr> <th>Concentration C (mol/l)</th> <th>Absorbance A</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0,0004</td> <td>1,7</td> </tr> <tr> <td>0,001</td> <td>1,8</td> </tr> <tr> <td>0,002</td> <td>1,9</td> </tr> <tr> <td>0,003</td> <td>2,0</td> </tr> <tr> <td>0,004</td> <td>2,1</td> </tr> </tbody> </table>	Concentration C (mol/l)	Absorbance A	0,0004	1,7	0,001	1,8	0,002	1,9	0,003	2,0	0,004	2,1
Concentration C (mol/l)	Absorbance A												
0,0004	1,7												
0,001	1,8												
0,002	1,9												
0,003	2,0												
0,004	2,1												

N-III	<p>N.III $y = 0,070x + 1,624$ $R^2 = 0,965$</p>  <table border="1"><thead><tr><th>C (mol/l)</th><th>A</th></tr></thead><tbody><tr><td>0,0004</td><td>1,68</td></tr><tr><td>0,001</td><td>1,78</td></tr><tr><td>0,002</td><td>1,88</td></tr><tr><td>0,003</td><td>1,90</td></tr><tr><td>0,004</td><td>1,98</td></tr></tbody></table>	C (mol/l)	A	0,0004	1,68	0,001	1,78	0,002	1,88	0,003	1,90	0,004	1,98
C (mol/l)	A												
0,0004	1,68												
0,001	1,78												
0,002	1,88												
0,003	1,90												
0,004	1,98												
N-IV	<p>N.IV $y = 0,070x + 1,780$ $R^2 = 0,937$</p>  <table border="1"><thead><tr><th>C (mol/L)</th><th>A</th></tr></thead><tbody><tr><td>0,0004</td><td>1,82</td></tr><tr><td>0,001</td><td>1,98</td></tr><tr><td>0,002</td><td>1,98</td></tr><tr><td>0,003</td><td>2,08</td></tr><tr><td>0,004</td><td>2,12</td></tr></tbody></table>	C (mol/L)	A	0,0004	1,82	0,001	1,98	0,002	1,98	0,003	2,08	0,004	2,12
C (mol/L)	A												
0,0004	1,82												
0,001	1,98												
0,002	1,98												
0,003	2,08												
0,004	2,12												
N-VI	<p>N.VI $y = 0,052x + 1,333$ $R^2 = 0,967$</p>  <table border="1"><thead><tr><th>C (mol/l)</th><th>A</th></tr></thead><tbody><tr><td>0,0004</td><td>1,38</td></tr><tr><td>0,001</td><td>1,45</td></tr><tr><td>0,002</td><td>1,50</td></tr><tr><td>0,003</td><td>1,58</td></tr><tr><td>0,004</td><td>1,58</td></tr></tbody></table>	C (mol/l)	A	0,0004	1,38	0,001	1,45	0,002	1,50	0,003	1,58	0,004	1,58
C (mol/l)	A												
0,0004	1,38												
0,001	1,45												
0,002	1,50												
0,003	1,58												
0,004	1,58												



Les résultats de la mesure du pouvoir réducteur montrent que l'absorbance augmente avec l'augmentation de la concentration. Cela témoigne du bon pouvoir réducteur des nitrones testées. Cette activité n'est pas très sensible à la variation de la structure de la nitrone.

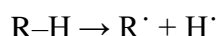
V.3 Etude de l'activité antioxydante par la DFT :

Afin de corréler l'activité antioxydante expérimentale d'une molécule avec sa structure chimique, nous pouvons utiliser plusieurs indices ou descripteurs, tels que:

- L'enthalpie de dissociation de la liaison hydrogène (de l'acronyme anglais Bond Dissociation Enthalpy : BDE)
- Le potentiel d'ionisation (Ionisation Potential : IP).
- Affinité protonique (Protonic Affinity : PA).
- L'enthalpie de dissociation du proton (Proton Dissociation Enthalpy : PDE).
- L'enthalpie de transfert de l'électron (Electron Transfer Enthalpy : ETE).

Le choix du descripteur est lié au type de mécanisme. La désactivation des radicaux libres se fait selon trois mécanismes :

Transfer d'atome d'hydrogène (HAT:hydrogen atom transfer):



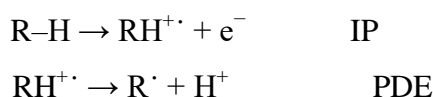
Ce mécanisme est étudié en calculant et comparant les valeurs de la BDE de chaque antioxydant étudié. Cette valeur est calculée comme suit :

$$BDE = H(R\cdot) + H(H\cdot) - H(R-H)$$

Avec :

- $H(R\cdot)$ L'enthalpie du radical,
- $H(R-H)$ l'enthalpie de la molécule neutre
- $H(H\cdot)$ l'enthalpie de l'atome d'hydrogène ($H(H\cdot) = -0.5$ Hartree)

Transfert d'un électron suivi de celui d'un proton (de l'anglais Single Electron Transfer – Proton Transfer: SET-PT) :



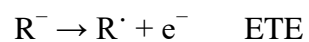
Ce mécanisme est étudié en calculant et comparant les valeurs de la PDE :

$$PDE = H(R\cdot) + H(H^{+}) - H(RH^{+\cdot})$$

Avec :

- $H(R\cdot)$ l'enthalpie du radical,
- $H(H^{+})$ l'enthalpie du proton,
- $H(RH^{+\cdot})$ l'enthalpie du radical cation

Transfert d'un proton suivi du départ d'un électron (de l'anglais Sequential Proton Loss Electron Transfer: SPLET) :



$$\text{PA} = H(\text{R}^-) + H(\text{H}^+) - H(\text{R-H})$$

Avec :

- $H(\text{R}^-)$ l'enthalpie de l'anion
- $H(\text{H}^+)$ l'enthalpie du proton
- $H(\text{R-H})$ l'enthalpie de la molécule neutre

Dans ces calculs, l'enthalpie du proton $H(\text{H}^+)$ et celle de l'électron $H(\text{e}^-)$ étant prises respectivement : -1.48 Kcal/mol et -0.75 kcal/mol.

On calculons les grandeurs énergétique : BDE , PDE, IP, PA et ETE pour déterminé le groupement OH le plus réactif.

V.4 Discussion des résultats théoriques :

La géométrie des molécules optimisées est donnée dans la figure (V.4) suivante :

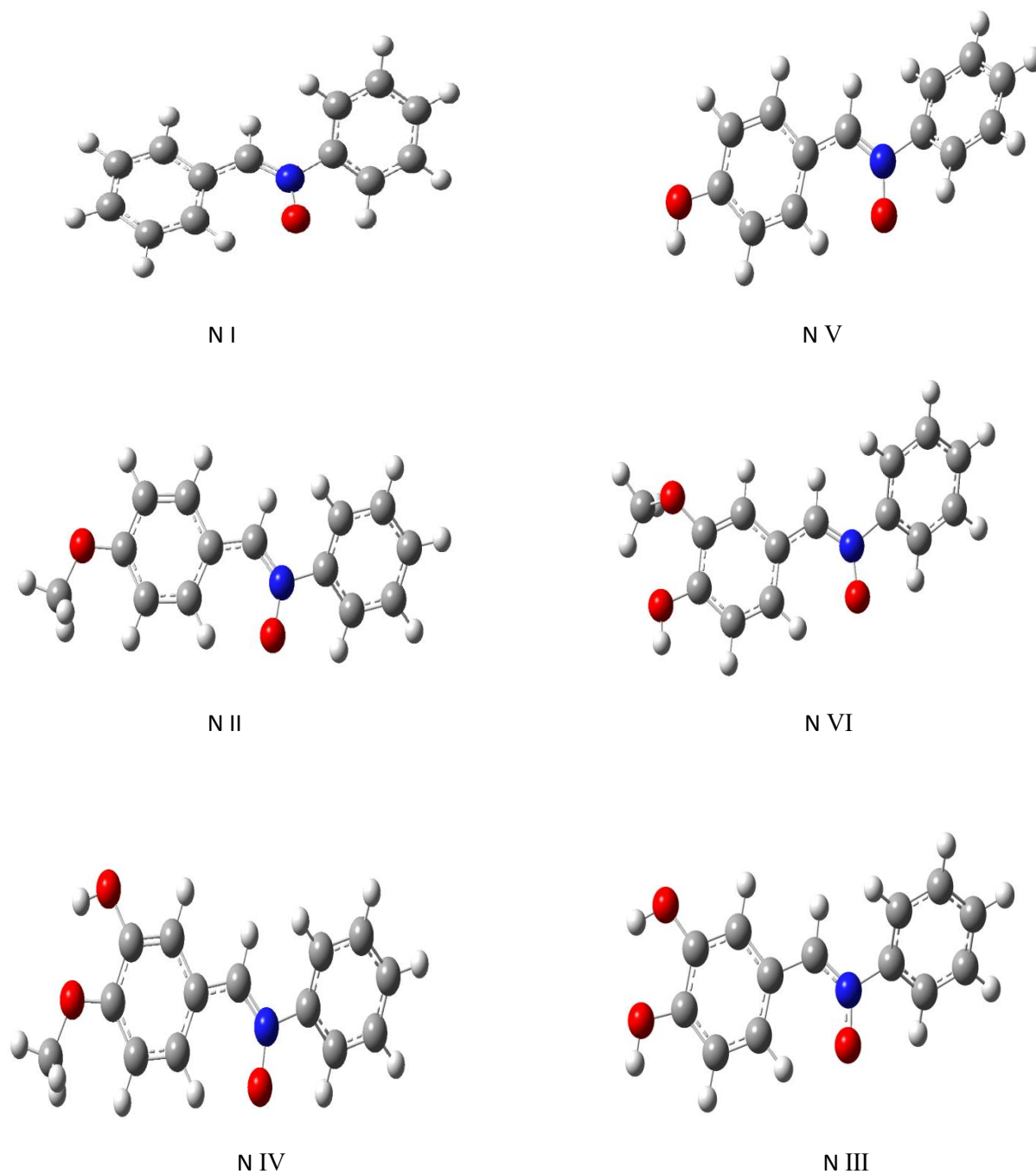


Figure V.4 : Géométrie optimisée des nitrones étudiés

La numérotation des atomes est représentée sur la figure V.5

L'optimisation des nitrones montre une géométrie complètement plane de la fonction

$C=N^+-O^-$ et le phenyl lié à C-N, avec un angle dièdre ($D_{12-74-10}=3.46^\circ$) ce qui confère à ces structures une meilleure délocalisation des électrons π . Par contre le groupement phenyl lié à N n'est pas plan avec la fonction N^+-O^- avec un angle dièdre ($D_{10-4-1-3}=35.25^\circ$).

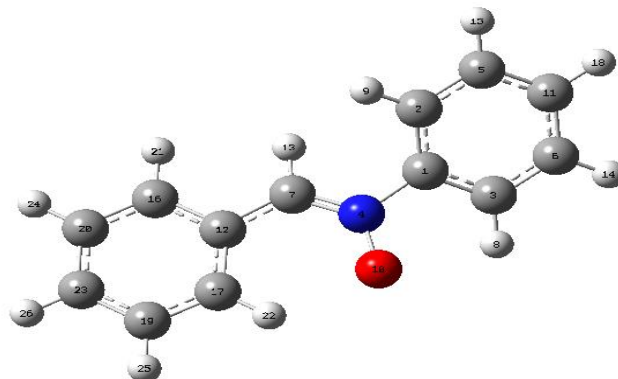


Figure V.5 : Numérotation des atomes de la nitrone N-I

Pour déterminer le groupement OH le plus réactif. Nous avons calculé les grandeurs énergétique : BDE , PDE, IP, PA et ETE en utilisant les formules suivantes :

$$\mathbf{BDE= H(R^\cdot) + H(H^\cdot) - H(R-H)}$$

$$\mathbf{IP= H(R^{+\cdot}) + H(e^-) - H(R-H)}$$

$$\mathbf{PDE= H(R^\cdot) + H(H^+) - H(R^{+\cdot})}$$

$$\mathbf{PA= H(R^\cdot) + H(H^+) - H(R-H)}$$

$$\mathbf{ETE= H(R^\cdot) + H(e^-) - H(R^\cdot)}$$

Avec :

$H(R^{+\cdot})$: l'enthalpie de radical cation.

$H(R-H)$: l'enthalpie de la molécule neutre.

$H(H^\cdot)$: l'enthalpie de radical d'hydrogène.

$H(H^+)$: l'enthalpie de proton.

$H(e^-)$: l'enthalpie d'électron.

$H(R^\cdot)$: l'enthalpie de radical.

$H(R^-)$: l'enthalpie de l'anion.

Les résultats de calcul des descripteurs BDE, IP, PDE, PA et ETE sont rassemblés dans le tableau 2 suivant :

Tableau V.4 : les valeurs de BDE, IP, PDE, PA et ETE en kcal/mol.

Composé/descripteur	BDE	IP	PDE	PA	ETE	IP+PDE	PA+ETE
N-I	109.18	170,12	250,29	366,31	54,10	420.41	420.41
N-II	108.57	560,02	-165,09	340,86	54,07	394.93	394.93
N-III	69,45	162,56	218,59	319,47	61,68	381.15	381.15
N-IV	83.36	159,60	260,30	368,03	51,86	419.90	419.89
N-V	72.51	161,20	222,99	324,17	60,02	384.19	384.19
N-VI	76.76	162,83	225,56	327,22	61,17	388.39	388.39
Anisole	94.35	186.22	224.14	175.35	215.70	410.35	410.36
Guaiacol	75.05	175.35	215.70	348.51	42.54	391.05	391.05

1/ Le mécanisme HAT

Les résultats donnés dans le tableau 2 montrent que :

1/ Pour les nitrones qui ne possèdent pas de liaison OH (NI et N II), les BDEs de C-H sont très élevées (109.18 Kcal/mol et 108.57 Kcal/mol), Ces nitrones ne possèdent pas des propriétés antioxydantes.

2/ Les nitrones possédant des liaisons O-H donnent l'ordre de BDEs suivant :

$$BDE_{N-III} < BDE_{N-V} < BDE_{N-VI} < BDE_{N-IV}$$

La BDE la plus faible (69.45 Kcal/mol) est attribuée à la nitrone N-III, plus faible que celle de la vitamine C (74.54Kcal/mol) et la vitamine E (72 Kcal/mol). [43]

La BDE la plus grande est attribuée à N-IV (83.36Kcal/mol).

La BDE de N-III (69.45 Kcal/mol) est inférieure à celle de N -VI (76.76 Kcal/mol) d'environ 7 Kcal/mol. Cela montre que le faite d'ajouter un groupement OH en position méta de la fonction nitrone augmente les propriétés antioxydantes.

La comparaison entre les BDE de N-V (72.51 Kcal/mol) et N-VI (76.76Kcal/mol) montre que la présence d'un groupement methoxy en position méta de la fonction nitrone diminue la BDE d'environ 4 Kcal/mol.

La comparaison entre N- IV (83.36 Kcal/mol) et N-V (72.51 Kcal/mol) montre que la position du groupement OH influence sur les propriétés antioxydantes des nitrones du faite que la BDE est beaucoup plus faible quand le OH est en position para de la fonction nitrone.

Cette tendance de la variation de la BDE en fonction de la structure est expliquée par la distribution de la densité de spin (figure V.6). Plus la densité de spin est délocalisée plus le radical est stable.

En comparant les BDE de l'anisole (94.35 Kcal/mol) et du guaiacol (75.05 Kcal/mol) avec les nitrones N- II et N- IV, N-V respectivement, nous pouvons conclure que les propriétés antioxydantes vont être plus fortes si le guaiacol est introduit dans une fonction nitrone par sa position méta par rapport au methoxy. (La BDE passe de 75.05 Kcal/mol à 72.51 Kcal/mol). Par contre l'introduction de l'anisole dans une fonction nitrone n'améliore pas ses capacités antioxydantes.

Les résultats obtenus théoriquement sont en bon accord avec ceux du test DPPH.

2/ Le mécanisme SET-PT

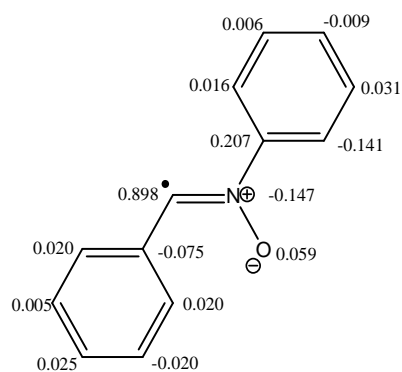
Ces nitrones sont caractérisés par des IP_S caractéristiques des composés aromatiques (~8 eV), à l'exception N II qui présente une IP beaucoup plus élevée (~ 24 eV).

Nous remarquons que la variation d'IP ne suit pas le même ordre de variation que la BDE. De plus, l'énergie requise pour ce mécanisme est plus grande que l'énergie requise pour le mécanisme HAT. Cela montre que le mécanisme HAT est le plus favorable en phase gazeuse.

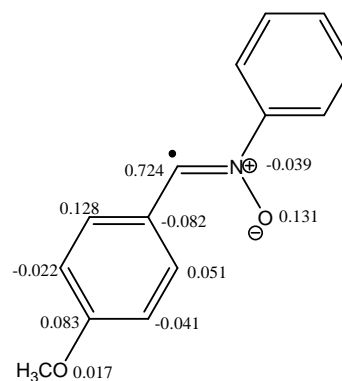
3/ Le Mécanisme SPLET

À travers les résultats du tableau V.4, nous remarquons que la première étape de ce mécanisme nécessite une énergie très élevée par rapport au mécanisme SET-PT et HAT, donc ce mécanisme est peu probable en phase gazeuse.

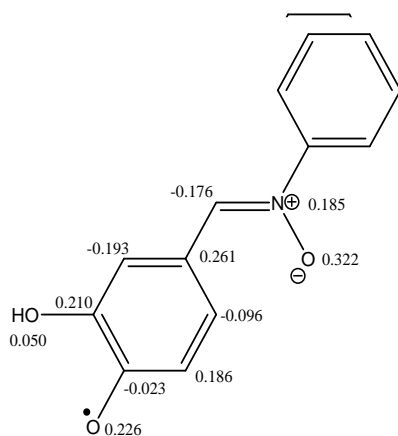
On a présenté les spins densité des radicaux de chaque nitrone dans la figure V.6 :



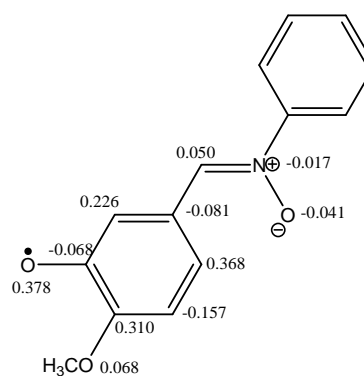
Radical I



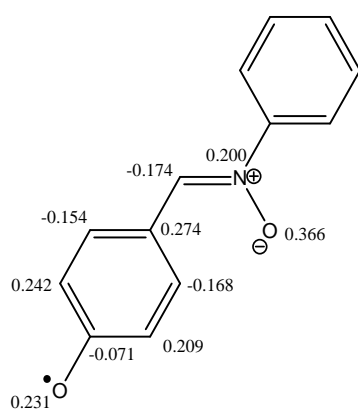
Radical II



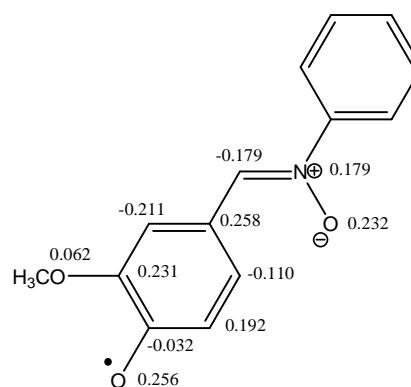
Radical III



Radical IV



Radical V



Radical VI

Figure V.6 : distribution de la densité de spin des radicaux nitrones.

Conclusion :

Dans notre étude nous avons comparé l'activité antioxydante d'une série de nitroène qui à été testé par la méthode DPPH et FRAP. Les résultats de calcul théorique montrent que le N-III est à un pouvoir antioxydant plus important que les autres composés de la série nitroène et c'est ce qui a été confirmé par l'étude de test DPPH.

Donc les résultats obtenus théoriquement sont en bon accord avec ceux des pratiques.

Le choix de mécanisme HAT pour la comparaison théorique par ce que le HAT besoin moins d'énergie pour la formation de radical par rapport à d'autre mécanisme SPLET et SET-PT qui nécessite plus d'énergie.

Après l'étude on peut conclure que l'augmentation de pouvoir antioxydant est liée à la présence des liaisons O-H.

L'augmentation des liaisons O-H provoque l'augmentation de l'activité antioxydante.

Conclusion générale.

Le but de notre travail est l'étude expérimentale et théorique de l'activité antioxydante d'une série de nitrones phénoliques.

L'étude expérimentale est réalisée par deux méthodes. La méthode du piégeage du radical libre DPPH et la méthode de mesure du pouvoir réducteur du fer ferrique.

La première méthode est très sensible à la variation de la structure. L'addition d'une fonction phénol à la fonction nitronne donne un effet synergique positif. Aussi si on double le groupement hydroxy porté sur le phényle du carbone en α ou si on double la fonction nitronne on obtient des activités semblables à celles des antioxydants de référence.

La deuxième méthode donne des activités proches l'un de l'autre. La variation de la structure n'influe pas trop sur le pouvoir réducteur.

L'étude quantique de l'activité antioxydante montre une bonne corrélation entre les valeurs d' EC_{50} et celle des BDE. Elle montre aussi que le mécanisme HAT est le plus favorable.

En perspective on se propose d'étudier l'activité antioxydante de ces nitrones par DFT en prenant en considération l'interaction avec un solvant polaire tel que l'eau ou l'éthanol.

RÉFÉRENCES

- [1] François Nsemi MUANDA, 'Identification de Polyphénols, Évaluation de Leur Activité Antioxydante et Étude de Leurs Propriétés Biologiques', Thèse de Doctorat de l'Université Paul Verlaine-Metz- France, 12, 2010, 239
- [2] LEVERVE, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants ? Cahiers de Nutrition et de Diététique, 44(5), pp.219-224.
- [3] ROCHETTE, L. (2008). Stress oxydant et sepsis. Réanimation.
- [4] Pryor, W.A., 2000. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials, Free Rad. Biol. Med 28: 141-164.
- [5] FONTAINE, E., BARNOUD, D., SCHWEBEL, C. AND LEVERVE, X. (2002). Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique : Antioxydants in critically ill patients. Réanimation, 11(6), PP.411-420.
- [6] Justine, Odile, Carole PASTRE Née, le 25 février 1981 à TOULOUSE (Haute-Garonne).
- [7] Belkheiri, N., 2010. Dérivés phénoliques à activités Antiathérogènes. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, France.
- [8] Jean-Charles, P., 2012. Oxidative Stress, Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 36: 147.
- [9] Koppenol, W.H., 2001. The Haber-Weiss cycle, 70 years later. Redox Rep 6: 229-34.
- [10] Joël, P., Karine, B., Karine, C., Jean-Olivier, D., 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. Nutrition clinique et métabolisme 16: 233-239.
- [11] Nafia I., Nieoullon A., Kerkerian Le Goll L., Had-Aissouni L., 2005. Stress oxydatif cerebral: les astrocytes sont-ils vulnérable aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate, Implications sur la survie neuronale, Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 24 :502-509.
- [12] Boots A.W., Haenen G.R.M.M., Bast A., 2008. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. European journal of pharmacology, 585: 325-337.
- [13] Pincemail J, Meurisse M, Limet R et Defraigne J O (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. Vaisseaux, Cœur, Poumons,
- [14] Chu W L, Lim Y W, Radhakrishnan A K and Lim P E (2010). Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. BMC Complementary and Alternative Medicine, 10 (53), 2-8.
- [15] Thomas Desmier, 'Faculté de Pharmacie Thèse d ' Exercice Par', Theses d'exercice Sur LES ANTIOXYDANTS DE NOS JOURS : DEFINITION ET APPLICATIONS, 2016, 88.
- [16] PELLI K., LYLly M., 2003. Les antioxydants dans l'alimentation. VTT Biotechnology Finlande.

- [17] Bimanand & ; Alexander Zirom, 1980, Syntheses and Cycloadditions of Novel Nitrones, p 20-23.
- [18] Banerji, A.; Mukhopadhyay, A. K. Indian J. Chem. 1982, 21B, 239.
- [19] Novelli G. P., Angiolini P., Tani R., Consales G., Bordi L., Phenyl-t-butyl-nitron is active against traumatic.
- [20] Li P. A., He Q. P., Nakamura L., Csiszar K., Free radical spin trap α -phenyl-N-tert-butyl-nitron inhibits.
- [21] Ranchon I., Chen S., Alvarez K., Anderson R. E., Systemic administration of Phenyl-N-tert-butyl nitron.
- [22] Tabatabaie T., Kotake Y., Wallis G., Jacob J. M., Floyd R. A., Spin trapping agent α -phenyl-N-tert-butyl nitron protects against the onset of drug-induced insulin-dependent diabetes mellitus, FEBS Lett., 1997, 407,148-152.
- [23] Carney J. M., Starke-Reed P. E., Olivier C. N., Landum R. W., Wu J. F., Floyd R. A., Reversal of age-related increase in brain protein oxidation, decrease in enzyme activity, and loss in temporal and spatial memory by chronic administration of the spin-trapping compound α -phenyl-N-tert-butyl-nitron, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1991, 88, 3633,3636.
- [24] Sack C. A., Socci D. J., Crandall B. M., Arendash G. W., Antioxidant treatment with α -phenyl-N-tert-butyl nitron (PBN) improves the cognitive performance and survival of aging rats, Neuroscience Lett., 1996, 205, 181-184.
- [25] Saito K., Yoshioka H., Cutler R. G., A spin-trap, α -phenyl-N-tert-butyl-nitron, extends the life span of mice, Biosci. Biotechnol. Biochem., 1998, 62, 792-794.
- [26] S. Belaidi, Thèse de doctorat, Université de Batna, 2002.
- [27] T. Clark, "Handbook of Computational Chemistry", Edition, Wiley, London, 1985.
- [28] P. Kollman, Acc. Chem. Res., 1996, 29, 46
- [29] Galano, A. et al. Food antioxidants: chemical insights at the molecular level. Annu Rev Food Sci. Technol. 7, 335–352, (2016).
- [30] Vagánek, A., Rimarčík, J., Dropková, K., Lengyel, J. & Klein, E. Reaction enthalpies of OH bonds splitting-off in flavonoids: The role of non-polar and polar solvent. Comput. Theor. Chem. 1050, 31–38, (2014).
- [31] Mazzone, G., Malaj, N., Galano, A. & Russo, N. Antioxidant properties of several coumarin-chalcone hybrids from theoretical insights. RSC Adv. 5, 565–575, (2015).
- [32] R. M. Dreizler, E. K. U. Gross, Density Functional Theory : An Approach to the Quantum Many-Body Problem, Springer-Verlag, Berlin, 1990.

- [33] R. G. Parr, W. Yang, Density-Functional Theory of Atoms and Molecules, Oxford University Press, Oxford, 1989.
- [34] P. Hohenberg, W. Kohn, Phys. Rev. 136 (1964) 864.
- [35] W. Kohn, Rev. Mod. Phys. 71 (1999) 12531266.
- [36] Scaiano J C, Martin A, Yap G P A, Ingold K U A. Carbon-Centered Radical Unreactive Toward Oxygen: Unusual Radical Stabilization by a Lactone Ring. Org. Lett. 2:899-901, 2000.
- [37] A. Sartori-Thiel (2003). "Activités anti-microbiennes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols. Thèse de doctorat: 177.
- [38] M.S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature. 181 (1958) 1199.
- [39] Rimarčík, J.; Lukeš, V.; Klein, E.; Ilčin, M., 2010. Study of the Solvent Effect on the Enthalpies of Homolytic and Heterolytic N–H Bond Cleavage in p-phenylenediamine and Tetracyano-p-phenylenediamine. J.Mol. Struc.THEOCHEM. 952,25 30. <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2010.04.00>
- [40] Bartmess, J. E., 1994. Thermodynamics of the Electron and the Proton. J. Phys. Chem. 98, 6420-6424. <https://doi.org/10.1021/j100076a029>
- [41] Bizarro, M. M.; Costa Cabral, B. J.; dos Santos, R. M. B.; 1999. Martinho Simões, J. A. Substituent Effects on the O–H Bond Dissociation Enthalpies in Phenolic Compounds: Agreements and Controversies. Pure Appl. Chem., 71, 1249–1256. <http://dx.doi.org/10.1351/pac199971071249>
- [42] T. C. Ngo, D. Q. Dao, N. M. Thong and P. C. Nam, Insight of Antioxidant Properties of Non-phenolic Terpenoids Containing in Essential Oils Extracted from the Buds of *Cleistocalyx operculatus*: A DFT study Adv., 2016, DOI: 10.1039/C6RA02683D
- [43] Houssein Boulebd, Comparative study of the radical scavenging behavior of ascorbic acid, BHT, BHA and Trolox: Experimental and theoretical study, Journal of Molecular Structure, Volume 1201, 2020, 127210, ISSN 0022-2860, <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127210>