



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE

LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : de Biochimie - Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologique

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

**ELABORATION ET CARACTERISATION DES COMPOSES D'INTERETS
BIOLOGIQUES.**

Présenté et soutenu par : LAKROUN Manal

Le : 15/09/2020

MAHIMOUD Hadjer

Jury d'évaluation :

President du jury:

SIHEM. HALMI

Maitre de Conférences classe B : Université
Constantine 1

Rapporteur:

OUAHIDA. ZEGHOUAN

Maître de recherche classe A :
Centre de Recherche en Biotechnologie ;
Constantine

Examineur:

CHAWKI. BENSOUICI

Maître de recherche classe B :
Centre de Recherche en Biotechnologie ;
Constantine

Année universitaire

2019- 2020

Remerciement

Tous d'abord, on remercie «ALLAH», le tout-puissant, de nous avoir donné la santé, la vigueur, le courage, la sagesse et la patience pour mener à bien ce travail modeste.

En second lieu, la toute première personne que nous voudrions remercier c'est notre encadreur **Mme. Ouahida ZEGHOUAN** pour sa guidance, pour sa confiance et sa patience qui a été une contribution considérable et sans laquelle ce travail ne pouvait pas être effectué avec succès. Puisse-t-elle trouver dans ce travail toute notre gratitude ainsi qu'un hommage vivant à sa haute personnalité.

Par ailleurs, nous tenons à remercier vivement les membres du jury qui ont manifesté leur intérêt pour notre étude et accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir de leurs suggestions. Nous aimerions tout d'abord remercier **Mme. Sihem HALMI**; Maître de conférences à l'université Constantine 1 d'avoir accepté de présider notre jury. De même, nous remercions **Mr. Chawki BENSOUICI** Maître de recherche B (CRBt), pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions chaleureusement le **Dr. Chawki BENSOUICI**, chef du laboratoire de biochimie du centre de recherche en biotechnologie de nous avoir accueillis, mais également des facilités et de l'aide qu'il nous a accordées durant la période de nos travaux, ainsi que pour son enthousiasme et sa simplicité, ainsi que toute l'équipes de ce labo et le laboratoire de chimie appliquée du Centre de recherche en biotechnologie pour leur accueil, leur sympathie et leurs idées constructives.

Nous tenons à remercier vivement aussi **Mr. Younes Moussaoui** pour l'analyse élémentaire réalisée à la Faculté des Sciences de Gafsa, Tunisie

Et le centre de recherche en biotechnologie Constantine pour le stage et l'encadrement scientifique.

Nous adressons notre sincère gratitude à nos parents qui ont apporté leur contribution pour chaque travail que nous avons effectué.

Sans oublier de remercier tous les enseignants du Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et spécialement tous les enseignants de département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire.

Enfin, nous souhaitons remercier toutes celles et tous ceux ayant participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

Grâce à l'aide de Dieu le tout-puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que

Je dédie :

À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, de ma vie et de mon bonheur :
Maman.

À mon homme de vie, mon éternel exemple, mon appui moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours battu pour me voir réussir, à toi :

Papa.

À mes chères sœurs Aïda et Sara et À mes frère Ahmed Chakib et Mohamed Elhadji pour leurs encouragements permanents.

À ma grand-mère, chérie.

À mes neveux : Zakaria, Anas et Mohamed Nazim.

À ma partenaire Manel qui a partagé à mes côtés les moments difficiles de ce travail et également à sa petite famille.

À mes chères amies proches : Meriem et Bouchra.

Hadjer.



Dédicaces

*L'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin
de ma vie, j'ai pu réaliser ce
Travail que je dédie :*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le
bonheur
De ma vie ma mère
Qui m'a apporté son appui durant toutes mes années
d'étude, pour son sacrifice
Et soutien qui m'a donné confiance, courage et sécurité.*

*A la star de tous les jours qui m'a soutenu même dans
mes pires moments à toi mon cher père.*

A mes chers frères.

*A Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce
mémoire.*

Manal.

Liste des tableaux

Tableau 1. Représentation de la formule chimique, masses molaires et structure 3D des différents ligands	69
Tableau 2. Les sels métalliques et leurs propriétés physico-chimiques.....	70
Tableau 3. Les solvants et leurs propriétés physicochimiques	72
Tableau 4. Les masses pesées de chaque sel métallique et couleur de solution correspondante	73
Tableau 5. Les masses pesées des ligands	74
Tableau 6. Masse utilisée pour chaque complexe.....	77
Tableau 7. Tableaux des dilutions.....	78
Tableau 8. Les bandes expérimentales les plus pertinentes dans le complexe (1).....	84
Tableau 9. Les bandes expérimentales les plus pertinentes dans le complexe (2).....	85
Tableau 10. Valeurs de l'analyse élémentaire pour complexe 01	86
Tableau 11. Valeurs de l'analyse élémentaire pour complexe 02.....	86
Tableau 12. Données cristallographiques et résultats d'affinements	87
Tableau 13. Liaisons hydrogène présentent dans le complexe (1).....	88
Tableau 14. Liaisons hydrogène présentent dans le complexe (2).....	89
Tableau 15. Pourcentage d'inhibition du antiradicalaire DPPH	92
Tableau 16. Inhibition de l'acétylcholinestérase par les complexes 01,02, 03, 04,05, 06 et 07	93
Tableau 17. inhibition de la butyrylcholinestérase par les complexes.....	95
Tableau 18. Inhibition de la tyrosinase	97
Tableau 19. Pourcentages d'inhibition de l'alpha amylase par les composés synthétisés.....	98
Tableau 20. La verrerie utilisée et autres	107
Tableau 21. Masse utilisée pour chaque complexe.....	107

Liste des figures

Figure 1. Tableau périodique ; métaux de transition.....	4
Figure 2. Exemples de configurations électroniques d'état fondamental	6
Figure 3.1. La structure de l'hémoglobine humaine	7
Figure 4. La structure cristalline du cobalt	8
Figure 5. Coordinence des ions de cuivre	10
Figure 6. Relation de la chimie organométallique (complexes avec des liaisons directes métal-carbone) aux principales disciplines liées	13
Figure 7. La structure cristalline de $[\text{Cu}_2(\text{Indo})_4(\text{DMF})_2]$	16
Figure 8. Espèces cycliques comme modèles de salvarsan	17
Figure 9. (a) structure cristalline du complexe $\text{trans}-[\text{Cu}(\text{2-MeIm})_2(\text{acr})_2]$. (b) structure cristalline du complexe $\text{Cis}-[\text{Cu}(\text{2EtIm})_2(\text{acr})_2]$. (c) structure cristalline du complexe $\text{trans}-[\text{Cu}(\text{2-EtIm})_2(\text{acr})_2]$	18
Figure 10. La structure des complexes a, b, c et d	19
Figure 11. (a) Structure cristalline de dichloro-bis (2-methylbenzimidazole)-cobalt(II).....	20
Figure 12. Structure du cis-Bis (dodecylamine) bis (dipyrido[n-a:2',4'-c]phenazine)cobalt(III)	22
Figure 13. La structure du composé 3-(4,4-diferrocenoylbutanamido)-2,4-dihydroxybenzoic acid	23
Figure 14. Complexes métalliques de thiosemicarbazone	23
Figure 15. Complexes anticancéreux	24
Figure 16. La structure du composé Pyridyl-2-carboxamidrazone	25
Figure 17. La structure du composé 2,6-bis (benzimidazo-2-yl) pyridine	25
Figure 18. La structure du composé 6-(2-chlorobenzyl amino) purine.....	26
Figure 19. La structure du composé L: gatifloxacinL': phenanthroline or 2,2'-bipyridylamine	26
Figure 20. Structure de l'acide 2-mercaptosuccinique.....	28
Figure 21. Structure de L'acide gibbérellique	30
Figure 22. Structure de l'acide phtalique	31
Figure 23. (a) Acide phtalique, ellipsoïdes à 99% de probabilité, (b) chaînes liées à l'hydrogène tirées perpendiculairement en a, (c) des points critiques de liaisons intramoléculaires uniques représentés par des sphères jaunes	32

Figure 24. (a) Chaîne polymérique dans le composé 1. (b) Chaîne polymérique dans le composé 2.....	34
Figure 25. (a) Fragment de structure cristallographiquement indépendante dans le composé 3 avec un schéma de numérotation. (b) Chaîne polymérique dans le composé 3.....	34
Figure 26. (a) Fragment de structure cristallographiquement indépendante dans le composé 4. (b)Chaîne polymérique dans le composé 4	35
Figure 27. la structure du ligand l'acide cis-4-aminocyclohexanecarboxylique.....	36
Figure 28. Structure du composé 5,6-Diméthylebenzimidazole	37
Figure 29. Différentes transitions énergétiques pouvant avoir lieu lors d'une analyse Raman. ν_0 correspond à la fréquence d'excitation du laser, ν_{vib} correspond à la fréquence de vibration de la molécule analysée	38
Figure 30. Microscope Raman DXR	39
Figure 31. Comparaison d'un spectre IR et spectre Raman de la molécule tétrachloréthane ..	43
Figure 32. Schéma de principe d'un analyseur CHN automatique type Perkin Elmer	44
Figure 33. Les méthodes de microanalyse de Pregl et de Simon	45
Figure 34. Appareil de microanalyse avec détection chromatographique	46
Figure 35. Diffractomètre Bruker APEXII.....	47
Figure 36. Géométrie de la diffraction, construction d'Ewald.....	48
Figure 37. Principe de la diffraction des RX sur monocristal	48
Figure 38. Indexation	51
Figure 39. Stress oxydant: déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants [80].....	57
Figure 40. Structure de l'atome, l'antioxydant donne de l'électron aux radicaux libres	58
Figure 41. Action du superoxyde dismutase sur l'anion superoxyde.....	59
Figure 42. Action de la glutathion peroxydase [87]	60
Figure 43. Action de la catalase [89].....	60
Figure 44. Réaction de réduction du radical DPPH avec un composé antiradicalaire (AH)..	61
Figure 45. Structure des inhibiteurs de l'AChE	63
Figure 46. Hydrolyse d'ACI par l'AChE	64
Figure 47. La voie de synthèse de mélanine.....	66
Figure 48. Réaction de réduction du radical DPPH avec un composé antiradicalaire (AH)..	76
Figure 49. Représentation des différentes dilutions	78
Figure 50. Schéma représentatif de la plaque de l'activité inhibitrice de l'alpha amylase	79
Figure 51. Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman's	81

Figure 52. Photo par microscopie de la position prise pour l'analyse Raman des structures (1) et (2)	83
Figure 53. Spectre Raman du complexe (1) avec une source excitatrice émettant à 780 nm ..	84
Figure 54. Spectre Raman du complexe (2) avec une source excitatrice émettant à 780 nm ..	85
Figure 55. Description moléculaire du complexe (1), $\text{Cu}(\text{SO}_4)_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_4 \cdot \text{n} \cdot (\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N})_2$.	89
Figure 56. Description moléculaire du complexe (2) ; $[\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2$	90
Figure 57. Profil de la microplaque du test de DPPH.....	91
Figure 58. Profil de microplaque obtenu des douze complexes.....	99
Figure 59. Matériel utilisé dans la réalisation des protocoles expérimentaux.....	106

Abréviations et symboles

A

A : Absorbance.

ABTS:2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

Ach : Acétylcholine.

AchE : Acétylcholinestérase.

AchEI : Acétylcholinestérase inhibiteur.

AChI : Acétylthiocholine iodide.

ACI : iodure d'acétylthiocholine

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ArOH et **RH** : Antioxydant.

B

B12 : cobalamine.

BchE : Butyrylcholinestérase.

BHA : butyl-hydroxy-anisole.

BHT : butyl-hydroxy-toluène.

Bi : deux fois.

BuCI : iodure de butyrylthiocholine.

BL : Blanc.

C

C : Acide ascorbique.

C: Carbone.

C: Chrome.

Ca: calcium.

CI₅₀: Concentration inhibitrice à 50%.

Cl : chlore.

cm : Centimètre.

ChE : inhibiteurs synthétiques de cholinestérases.

ChEs : deux cholinestérases.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

cm³ : Centimètre cube.

CN : numéro de coordination.

CO : Monoxyde de carbone.

Co: cobalt.

CO₂: Dioxyde de Carbone.

CoCl₂ : Chlorure de cobalt.

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

CuCl₂ : Chlorure de cuivre.

Cu : cuivre.

D

D: Diamètre.

DO: Densité optique.

DPPH : 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

DMF : N, N-Diméthylformamide.

DRX: diffraction des rayons X sur monocristal.

DTNB : Acide 5,5'-dithio-bis-[2-nitrobenzoïque].

Abréviations et symboles

E

é : électron.

E : Tocophérol.

ERO : espèces réactives oxygénées.

ET : Transfert d'électron.

EtOH: Ethanol.

F

Fe: Fer.

G

g : Gramme.

GA3 : Acide gibbérellique.

GPX4 : glutathion peroxydase 4.

GsH-Px : Glutathion peroxydase.

GooF, Gof: facteur nommé goodness of fit.

H

H₊ : Hydrogène.

H₂O : Eau distillée.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HCl : Acide chlorhydrique.

hkl : distance interréticulaire

I

I % : Pourcentage d'inhibition.

IC₅₀:Inhibition concentration.

IKI : iode/iodure de potassium.

IR : infra rouge.

K

K : potassium.

L

L : ligand.

L1:ligand 1(L'acide mercaptosuccinique).

L2:ligand 2(l'acide gibbérellique).

L3:ligand 3(l'acide phtalique).

L4:ligand 4(l'acide cis-4-Aminocyclohexan
carboxylique).

L5:ligand 5(5,6- Dimethylbenzimidazole).

l : litre.

M

M : Molarité.

MA : Maladie Alzheimer.

MeOH : Méthanol.

Mg : magnésium.

min : Minute.

ml : Millilitre

mm : Millimètre.

Mn: manganèse.

Mo: Molybdène.

MS : L'acide 2-mercaptosuccinique.

Abréviations et symboles

N

N : azote.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

Na₂HPO₄: ydrogénophosphate de sodium.

NaCl : Chlorure de sodium.

NaH₂PO₄:Dihydrogénophosphate de sodium.

NaHCO₃: Bicarbonate de sodium.

NaOH : Soude.

NH₃ : Ammoniac.

Ni: Nickel.

NO₃ : Nitrate.

nm : Nanomètre.

O

O• : Radical libre d'oxygène.

O₂ : Oxygène.

O₂•- : Radical superoxyde.

OH: Hydroxyl.

OH•: Radical hydroxyl.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

P

PAH : phénylalanine hydroxylase.

Pka : constante de dissociation acide.

PH : Potentiel d'hydrogène.

PR : polyarthrite rhumatoïde.

Ps : produit de synthèse

R

R• : Radical libre.

ROS : dérivés réactifs de l'oxygène.

RX: rayon X.

R : facteurs d'accord ou de fiabilité.

S

S: soufre.

SOD: Superoxyde dismutase.

SO₂: Dioxyde de soufre.

T

TH-1: tyrosine hydroxylase isoformes I.

TRP 1 et 2 : Protéines liées aux tyrosinases 1 et 2.

U

UV : Ultra-violet.

V

V : Volume.

V : Vanadium.

VIH: virus de l'immunodéficience humaine.

Abréviations et symboles

Z

Zn : zinc.

μ

μg/ml : Microgramme par millilitre.

μl : Microlitre.

% : Pourcent et Pourcentage.

> : Supérieur.

± : Plus ou moins.

° C : Degré Celsius.

α : alpha.

σ: Sigma.

ρ: Rhô.

Π : pi.

Remerciements

Dédicace

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations et symboles.....	V

Table des matières

Partie I: Synthèse bibliographique

Chapitre I : Les métaux de transition et complexes organométallique en biologie

Introduction générale.....	1
I. Introduction.....	3
II. Les métaux de transition	3
II.1. Généralités	3
II.2. Les métaux de transition présents dans le corps humain	6
II.2.1. Le cuivre ; Cu.....	9
II.2.1.1. Propriétés physicochimique	9
II.2.1.2. Propriétés biologiques.....	10
II.2.2. Le cobalt; Co.....	11
II.2.2.1. Propriétés physicochimiques	11
II.2.3. Le fer; Fe.....	11
II.2.3.1. Propriétés physicochimiques	11
III. Les complexes organométalliques	12
III.1. Définitions	12
III.2. Historique	14
III.3. Caractéristiques générales	14
III.4. Types de complexes organométalliques	15
III.5. Évaluation biologique et application des complexes organométalliques	15
IV. Les ligands	27
IV.1. Classification des ligands	27

IV.2. L'acide mercaptosuccinique	28
IV.2.1. Définition	28
IV.2.2. Application L'acide mercaptosuccinique	29
IV.3. L'acide gibbérellique	29
IV.3.1. Introduction	29
IV.3.2. Caractéristiques structurale et Propriétés physicochimique.....	29
IV.4. L'acide phtalique.....	31
IV.4.1. Introduction	31
IV.4.2. Structure et caractéristiques chimiques	31
IV.4.3. Domaines d'utilisation	32
IV.4.4. l'interaction de l'acide phtalique avec les métaux de transition.....	33
IV. 5. L'acide cis-4-aminocyclohexanecarboxylique	35
IV.5.1. Propriété de l'acide cis-4-aminocyclohexanecarboxylique	35
IV.6. Le 5,6-Diméthylebenzimidazole	36
IV.6.1. Introduction.....	36
IV.6.2. Structure et propriétés	36
IV.6.3. Activités biologiques / pharmacologiques des analogues du benzimidazoles	37
Chapitre II : techniques de caractérisation; analyse par spectrométrie Raman, analyse élémentaire et diffraction des rayons X sur monocristal	
I. Introduction.....	38
II. Analyse par spectroscopie Raman.....	38
II.1. Principe de la spectrométrie RAMAN.....	38
II.2. Les informations accessibles par spectrométrie Raman	40
II.3. Les caractéristiques de la spectroscopie Raman	40
II.4. Intérêt des spectres Raman	42
III .Analyse élémentaire	43
III.1. Les méthodes historiques de Pregl et Simon.....	44
III.2. Analyseurs organiques élémentaires CHNS – O actuels.....	46

IV .Diffraction des rayons X sur monocristal	47
IV.1. Sélection et montage d'un monocristal	49
IV.2. Études préliminaires	49
IV.3. Collecte et réduction des données	49
IV.3.1. Collecte des données	49
IV.3.2. Réduction des données	50
IV.4. Résolution de la structure	50
IV.4.1. Patterson	51
IV.4.2. Les méthodes directes	52
IV.4.3. Affinement de la structure	53
IV.4.4. Les moindres carrés.....	54
IV.4.5. Les facteurs d'accord ou de fiabilité	55
IV.5. Analyse, interprétation et présentation des résultats	56

Chapitre III : les différentes activités biologique et leurs maladies associées

I. Activités anti-oxydante	57
I.1. Le syndrome de stress oxydatif	57
I.2. Les radicaux libres	58
I.3. Les antioxydants.....	59
I.4.Type d'antioxydant	59
I.5.Tests de l'évaluation des capacités antioxydante	61
I.6.Capacité de piégeage du radical libre DPPH	61
II. Activités anti-cholinestérase.....	62
II.1. Maladie d'Alzheimer	62
II.1.1. Les anticholinestérasique	62
III. Activité antityrosinase.....	64
III.1. La pigmentation.....	64
III.1.2. Introduction	64

III.1.3. La mélanogenèse	65
III.1.4. La synthèse des mélanines.....	65
III.1.5 .Traitement de désordres hyperpigmentaires par inhibition de la tyrosinase	66
V .Activités anti diabétique	67
V.1. la maladie du diabète	67
V.2 .Inhibiteurs enzymatiques	67
V.3. Type d'inhibiteurs enzymatique	68
V.3.1. Alpha-amylase	68
V.4. Test inhibition de l' α -Amylase (in vitro)	68

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes.....	69
I.1. Matériel	69
I.1.1. Solvants et réactifs utilisés	69
I.2. Méthodes	72
I.2.1. Synthèse des complexes	72
I.2.1.1. Préparation des solutions des sels métalliques.....	73
I.2.1.2. Préparation des solutions des ligands.....	73
I.2.1.3. Synthèse des complexes de l'acide mercaptosuccinique	74
I.2.1.4. Synthèse des complexes de l'acide gibbéréllique	74
I.2.1.5. Synthèse des complexes de l'acide phtalique	75
I.2.1.6. Synthèse des complexes de l'acide cis-4-Aminocyclohexanecarboxylique	75
I.2.1.7. Synthèse des complexes à base du 5,6-Dimethylbenzimidazole	75
I.3. Evaluation des activités biologiques in vitro des complexes	75
I.3.1. Activité antioxydante	76
I.3.1.1. Activité antiradicalaire au DPPH	76
I.3.2. Evaluation de l'activité antidiabétique	79

I.3.2.1. Activité inhibitrice de l' α -amylase.....	79
I.3.3. Activité anti-acétylcholinestérase	80
I.3.4. Activité antityrosinase.....	82
I.4. Analyse statistique	82

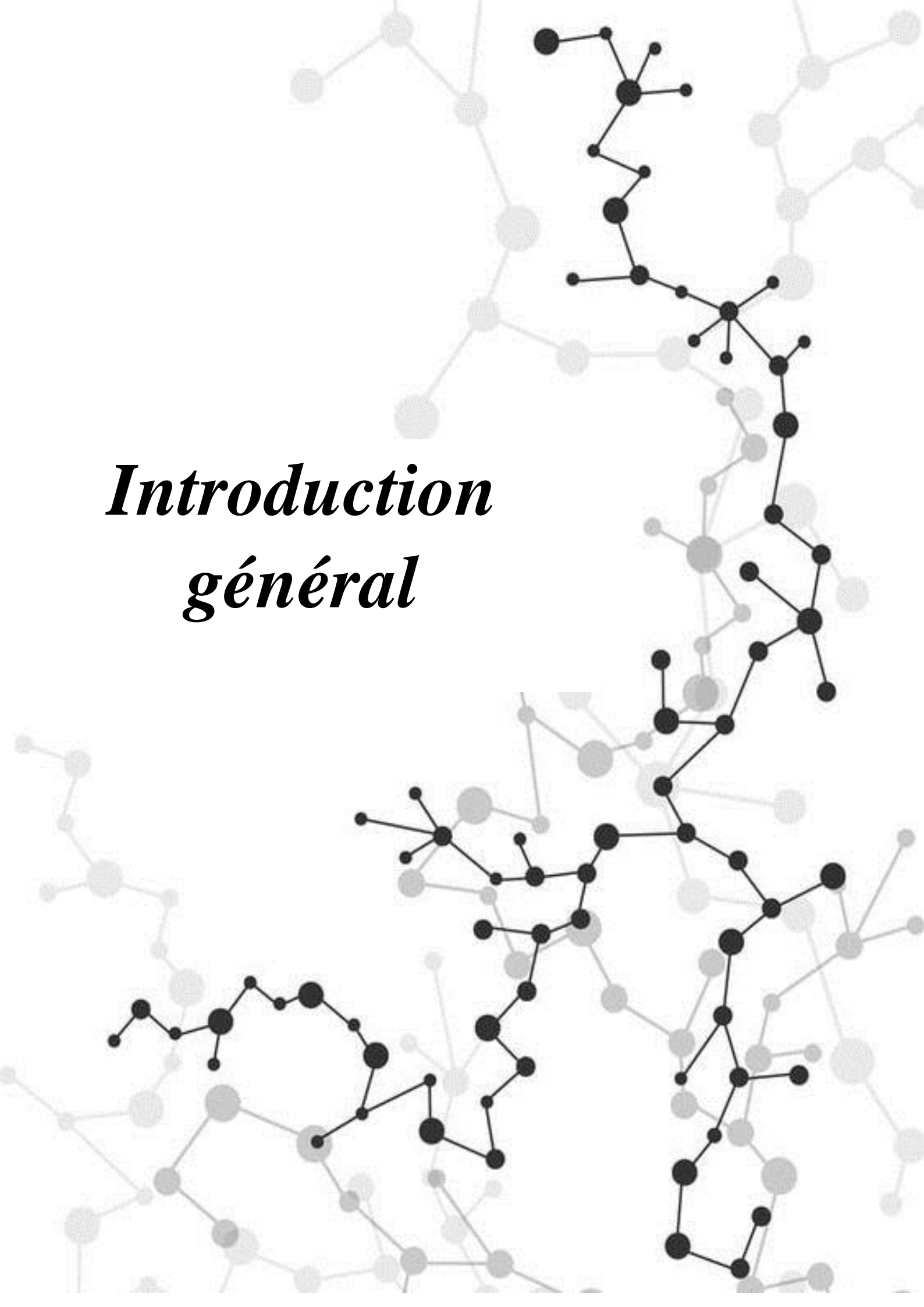
Chapitre II : Résultats et discussion

I. Caractérisation par Spectroscopie Raman	83
I.2. Analyse élémentaire	86
I.3. Etude Cristallographique.....	87
I.3.2. Description de la structure cristalline du complexe (1).....	88
I.3.1. Description de la structure cristalline du complexe (2).....	89
II. Evaluation des activités biologiques in vitro des complexes.....	90
II.1. Etude de l'activité antioxydante.....	90
II.2. Etude de l'activité enzymatique	92
II.2.1. Activité anti acétylcholinestérase	92
II.2. 2.Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase	95
II.2.3. Activité inhibitrice de tyrosinase	97
II.2.4. Activité inhibitrice de l' α -amylase	98
Conclusion.....	102

Référence bibliographique

Annexe

Résumé



*Introduction
général*

Introduction générale

Les organismes vivant, qu'ils soient végétaux ou animaux sont composés de cellules. Ces cellules sont le siège de nombreuses réactions biochimiques. Parmi les molécules qui constituent ces cellules, nous pouvons distinguer une catégorie particulière : les complexes, constitués de cations métalliques et de ligands.

Dans les systèmes biologiques, les cations métalliques jouent un rôle important dans le fonctionnement cellulaire et la transformation des molécules naturelles. En effet, ce sont ces éléments qui confèrent à certaines protéines les propriétés catalytiques et structurales indispensables à leurs activités. Treize métaux sont considérés comme essentiels à la vie. Parmi ces treize éléments neuf métaux appartiennent au bloc d de la classification périodique et existent à l'état de trace (Fe, Zn, Cu) ou d'ultra-trace (V, Cr, Mn, Co, Ni, Mo...) [1].

La chimie et la biologie font aujourd'hui partie intégrante de notre environnement quotidien, ces deux disciplines étant à la croisée de nombreuses industries et de nombreux secteurs.

L'importance des métaux de transition augmente considérablement en biologie, en particulier dans le sous-domaine de la chimie bio-organométallique car il offre un domaine prometteur pour développer de nouveaux médicaments avec des mécanismes d'action inhabituels. Afin de profiter de ses propriétés spéciales, les métaux de transition sont utilisés dans un certain nombre d'applications de santé [2].

Au cours de ces dernières années, des composés organométalliques à base de métaux de transition ayant une importante activité biologique ont été signalés pour des activités : antibactérienne [2], antidiabétique [3], antioxydante [3], anti-inflammatoire [4], comme inhibiteur d'enzymes [5], et bien plusieurs autres activités. Ces derniers ont été aussi introduits comme nouvelles thérapies potentielles contre diverses maladies telles le cancer, le VIH, le paludisme et qu'ont déjà trouvé des applications radiopharmaceutiques et comme antibiotiques [6]. Ainsi qu'exerçant des effets positifs dans le traitement de la maladie d'Alzheimer [4].

En revanche, la synthèse de complexes métalliques bioactifs avec des ligands biologiquement actifs et l'évaluation de leur activité biologique sont le sujet d'intérêt des recherches émergentes actuelles [4]. Non seulement les ligands bioactifs peuvent améliorer leurs profils de bio-activité, mais aussi des ligands inactifs pourrait acquérir des propriétés pharmacologiques [7].

L'objectif du présent travail est la synthèse de nouveaux complexes à base des sels de cuivre, cobalt, et fer avec cinq sorte de différents ligands à savoir, l'acide mercaptosuccinique (**L1**), l'acide gibbéréllique (**L2**), l'acide phtalique (**L3**), l'acide cis-4-Aminocyclohexan carboxylique (**L4**) et le 5,6- Dimethylbenzimidazole (**L5**). Ces complexes seront identifiés par analyse Raman, caractérisés par diffraction des RX, étudiés par cristallographie et par la suite une étude biologique de différentes activités sera effectuée.

Outre l'introduction et la conclusion générale, le présent travail est scindé en deux parties distinctes :


La première partie conçoit une synthèse bibliographique ; elle est répartie en trois chapitres. Le premier présente une mise au point bibliographique sur les complexes organométalliques et leurs intérêts en biologie. Celle-ci est référée par les récents travaux concernant la synthèse, l'identification et l'évaluation biologique des complexes à base de métaux de transition.

Le deuxième chapitre concerne les techniques expérimentales relatives à la collecte et le traitement des données de diffraction des rayons X sur monocristal. Nous introduisons ensuite des notions sur la détermination des structures cristallines. Des approches sur l'analyse Raman et l'analyse élémentaire ont également été envisagées. Le troisième chapitre est consacré aux différentes activités biologiques et de leurs maladies associées,


La deuxième partie est réservée à la partie expérimentale. Nous allons présenter en détail le matériel, les méthodes et le mode de synthèse de ces complexes avec les cinq ligands et les sels métalliques dans différents solvants, tous cela seront dans le premier chapitre. Et dans le chapitre qui suit ; nous allons montrer l'identification des complexes les plus importantes par analyse Raman et analyse élémentaire, et la caractérisation par diffraction des rayons X sur monocristal (DRX).

Nous rapportons aussi en détail l'interprétation et la discussion des activités biologiques intéressante adoptées pour ces complexes.

Une conclusion générale viendra enfin clore l'ensemble du travail réalisé, mettant en exergue ses résultats les plus importants et évoquant et quelques perspectives à venir

The background features a network of interconnected nodes and lines, resembling a molecular structure or a data network. The nodes are represented by circles of varying sizes and shades of gray, while the lines are thin and black. The overall appearance is that of a complex, interconnected system, possibly representing a chemical structure or a network graph.

Partie I :
Synthèse
bibliographique

The background of the slide features a complex molecular structure rendered in black and light gray. The structure consists of interconnected spheres representing atoms and lines representing chemical bonds, forming a network of rings and chains. The overall appearance is that of a ball-and-stick model of a large, possibly organic or organometallic, molecule.

Chapitre I :
Les complexes
organométalliques
et leurs intérêts
biologiques

I. Introduction

Au début de la chimie de coordination [8-10], on tentait d'expliquer la structure et la formation de substances chimiques qui sont aujourd'hui extrêmement simples, mais qu'on appelait auparavant « composés complexes » à cause de la consternation que leur existence générait dans l'esprit des chimistes au début du 20^{ème} siècle car ces substances sont stables et en même temps ce sont des combinaisons de composés chimiques indépendamment stables.

Il est commode mais pas toujours très juste de considérer qu'un composé de coordination est constitué d'un donneur d'électrons (*ligands ou base de Lewis*) et d'un accepteur d'électrons (*atome métallique, cation ou acide de Lewis*). Le donneur en général un atome ou une molécule qui possède des doublets électroniques libres relativement électronégatifs et l'accepteur est soit un métal, soit un métalloïde. Un composé de coordination [11-12], complexe de coordination ou un complexe organométallique se sont des nominations pour la même définition d'un édifice moléculaire formé d'un centre métallique entouré de groupes donneurs d'électrons appelés ligands.

Suivant la nature et la charge de chacun des composants du complexe, celui-ci peut être neutre, chargé positivement ou négativement. Le plus souvent, le métal est chargé positivement (oxydé). Les ligands qui peuvent être soit des ions, des atomes ou des molécules, sont soit neutres, soit chargés (négativement ou positivement).

II. Les métaux de transition

II.1. Généralités

Un métal est un corps simple, solide et cristallin. Les métaux sont classés en plusieurs catégories : les métaux alcalins, les métaux alcalinoterreux et les métaux de transition.

L'UICPA (Union internationale de chimie pure et appliquée) définit les métaux de transition comme des éléments avec une sous-couche « d » incomplète ou des éléments pouvant former des cations avec une sous-couche « d » incomplète.

Les éléments du bloc « d » du tableau périodique ou éléments de transition tiennent ce nom de leur situation dans le tableau périodique placé entre les éléments du bloc « s » et du bloc « p » (**Figure 1**), qui regroupent tous les éléments présents dans le bloc d du tableau périodique, qui s'étend de la colonne 3 à la colonne 12 (périodes 4 à 7) mais qui n'inclut pas

Partie I : Synthèse bibliographique

les lanthanides ni les actinides. Ces éléments de transition forment de nombreux composés de coordination [13-14].

Les éléments de transition ont tous leur orbitale « s » saturée mais, diffèrent par leur orbitale « d » incomplète. C'est précisément cette orbitale qui, parce qu'elle n'est pas totalement remplie, permet aux métaux de transition de former des complexes avec des ligands non métalliques, ils se sont avérés à accepter une paire d'électrons d'une autre molécule, qui est connue comme un ligand ou coordina, avec formation d'une liaison covalente entre ces derniers [15].

Comme tous les métaux, ce sont de bons conducteurs de la chaleur et de l'électricité. Ils sont solides dans les conditions normales de température et de pression, avec une masse volumique et une température de fusion élevée. Ils peuvent former une grande variété d'espèces ioniques dans une gamme d'états d'oxydation étendue, grâce à la faible différence d'énergie entre ces différents états d'oxydation, ce qui donne lieu à des complexes diversement colorés en raison des différentes transitions électroniques au sein de la sous-couche d incomplète [16].

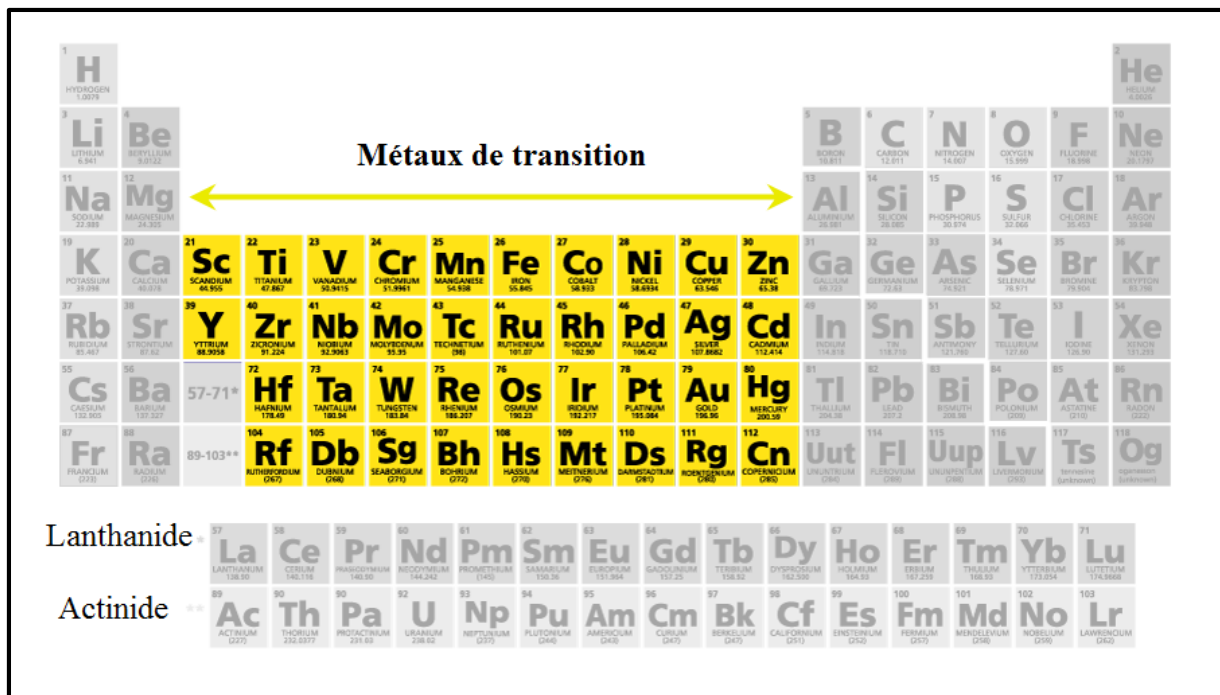


Figure 1. Tableau périodique ; métaux de transition

Partie I : Synthèse bibliographique

Ces métaux représentent de nombreuses propriétés qui confère une utilité à la biologie parmi les quelles en cite brièvement :

- **La charge :** Les ions métalliques sont chargés positivement dans les solutions aqueuses, mais cette charge peut être manipulée en fonction de l'environnement de coordination afin qu'un métal complexé par des ligands puisse être cationiques, anioniques ou neutre.
- **L'interaction avec les ligands :** Les ions métalliques se lient aux ligands par des interactions le plus souvent fortes et sélectives. Les ligands confèrent leur propre fonctionnalité et peuvent régler les propriétés du complexe global qui sont uniques de ceux du ligand ou du métal seul.
- **Structure et liaison :** Les complexes métal-ligand s'étendent une gamme de géométries de coordination qui leur donnent des formes uniques par rapport aux molécules organiques, les longueurs de liaison, les angles de liaison et le nombre de sites de coordination peuvent varier en fonction du métal et de son état d'oxydation.
- **Caractère acide de Lewis :** Les ions métalliques à haute affinité électronique peuvent polariser de manière significative les groupes coordonnés à eux, facilitant les réactions d'hydrolyse.
- **Sous couche d incomplète :** Pour les métaux de transition, le nombre variable d'électrons dans les orbitales de la couche d confère une électronique intéressante et des propriétés magnétiques aux complexes de métaux de transition.
- **Activité redox :** Couplé avec la variabilité des électrons dans la sous couche d, c'est la capacité de nombreux métaux de transitions de subir des réactions d'oxydation et de réduction à un électron. La réactivité des centres métalliques en biologie repose principalement dans leur caractère acide de Lewis ou redox-actif.
Les métaux du bloc « d » peuvent montrer plusieurs états d'oxydation car leurs électrons de valence peuvent être présents dans plus d'un orbitale atomique.
La biologie a profité de ces propriétés chimiques des métaux pour remplir plusieurs rôles fonctionnels [17].
- **Configurations électroniques :** Généralement, les configurations électroniques de l'état fondamental des métaux du bloc « d » de la première, deuxième et troisième rangée suivent le remplissage progressif des orbitales atomiques 3d, 4d et 5d respectivement, à l'exception du chrome (**Figure 2**) [18] .

Partie I : Synthèse bibliographique

Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn
d^1s^2	d^2s^2	d^3s^2	d^5s^1	d^5s^2	d^6s^2	d^7s^2	d^8s^2	$d^{10}s^1$	$d^{10}s^2$

Figure 2.Exemples de configurations électroniques d'état fondamental**II.2. Les métaux de transition présents dans le corps humain**

Les éléments chimiques essentiels à la vie sont répartis en trois grandes parties : les éléments majoritaires (H, C, N, O, S), les macro-minéraux (Na, K, Mg, Ca, Cl...) et les éléments traces dont font partie les métaux de transitions (Fe, Zn, Cu, Mo, Ni, Co, Mn...) [2].

Un grand nombre d'éléments métalliques aujourd'hui appelés oligo-éléments sont nécessaires pour un développement sain des animaux.

Les métaux de transition sont nécessaires à des niveaux infimes pour les fonctions des cellules normales, et comprennent le fer, le cuivre, le manganèse, le zinc, le sélénium, le chrome, nickel le cobalt, et bien d'autres. Ils ont été reconnus et étudié principalement dans le contexte de leur rôle de cofacteur structurel et métabolique pour des biomolécules qui composent les systèmes vivants, ils font partie intégrante de nombreux enzymes, appelés métalloprotéines [19] qui sont des protéines qui peuvent se lier à au moins un ion métallique en tant que cofacteur.

La plupart des métaux de transition, tels que Zn, Fe et Cu, sont hautement toxiques sous leur forme ionique libre, par conséquent les niveaux cellulaires systématiques de ces métaux doivent être activement surveillés. En effet, il existe de nombreuses protéines impliquées dans la détection, le transport et le stockage des ions métalliques dans les systèmes biologiques pour maintenir leurs niveaux homéostatiques, aussi leur carence entraîne une perte cruciale d'activités enzymatiques. Ces éléments essentiels servent comme cofacteurs structuraux pour les protéines et les acides nucléiques [19-20].

De nombreuses protéines dépendent des métaux pour aider à maintenir leurs structures ensemble [20] , mais ils exercent également le rôle de cofacteurs métaboliques des enzymes qui catalysent une multitude de réactions chimiques indispensables à la vie et facilitent les processus essentiels y compris le transport d'oxygène, la synthèse de neurotransmetteurs, le métabolisme, la pigmentation, la coagulation du sang, la construction de la matrice extracellulaire, le développement et bien d'autres processus [21].

Partie I : Synthèse bibliographique

En conséquence, il a été estimé que pas moins de 25 à 50% du protéome utilise des ions de métaux de transition pour exécuter diverses fonctions essentielles aux organismes [22].

Les métaux impliqués dans ces processus biologiques sont, soit liés directement aux protéines, soit à des cofacteurs (comme les porphyrines ou les cobalamines), soit à des clusters, eux-mêmes ligands de protéines. Les principaux atomes ligands des métaux sont l'azote, l'oxygène, le soufre et le carbone.

Il existe de nombreux complexes de fer différents chez l'homme, comme l'hémoglobine (**Figure 3.1**), la myoglobine, la transferrine, la catalase, le cytochrome c (**Figure 3.2**) et bien d'autres complexes [23].

Le cobalt se trouve dans la vitamine B12 (**Figure 4**) [6], une carence en cette dernière provoque la maladie grave de l'anémie pernicieuse chez l'homme, ce qui indique le rôle essentiel du cobalt [23].

Le cuivre est un micronutriment important qui fait partie de plusieurs protéines, parmi celles-ci on trouve la céruloplasmine (elle peut lier au moins six ions de cuivre et elle est impliquée dans les mécanismes de transport du fer) et le cytochrome c oxydase (est un complexe protéinique ancré dans la membrane interne des mitochondries qui catalyse la réduction de l'oxygène moléculaire en eau). Il est impliqué dans l'activation de nombreuses enzymes comme la glutathion peroxydase et l'héphaestine [24].

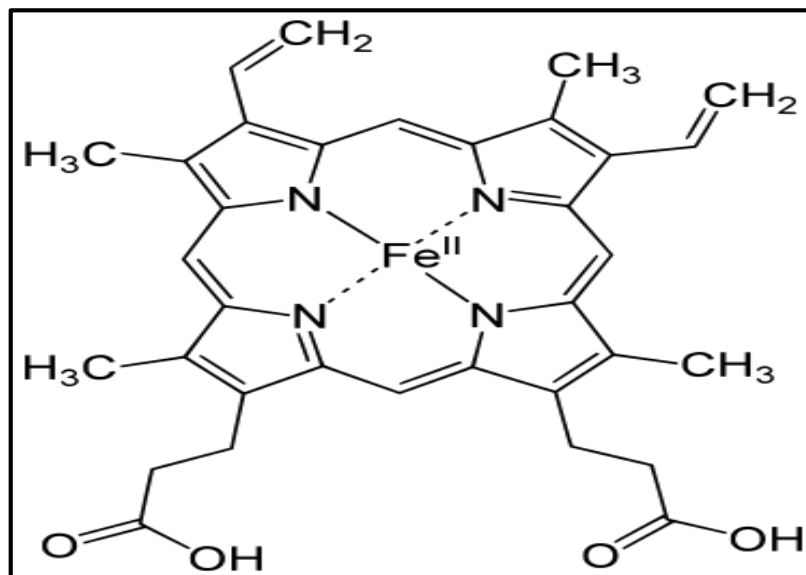


Figure 3.1. La structure de l'hémoglobine humaine

Partie I : Synthèse bibliographique

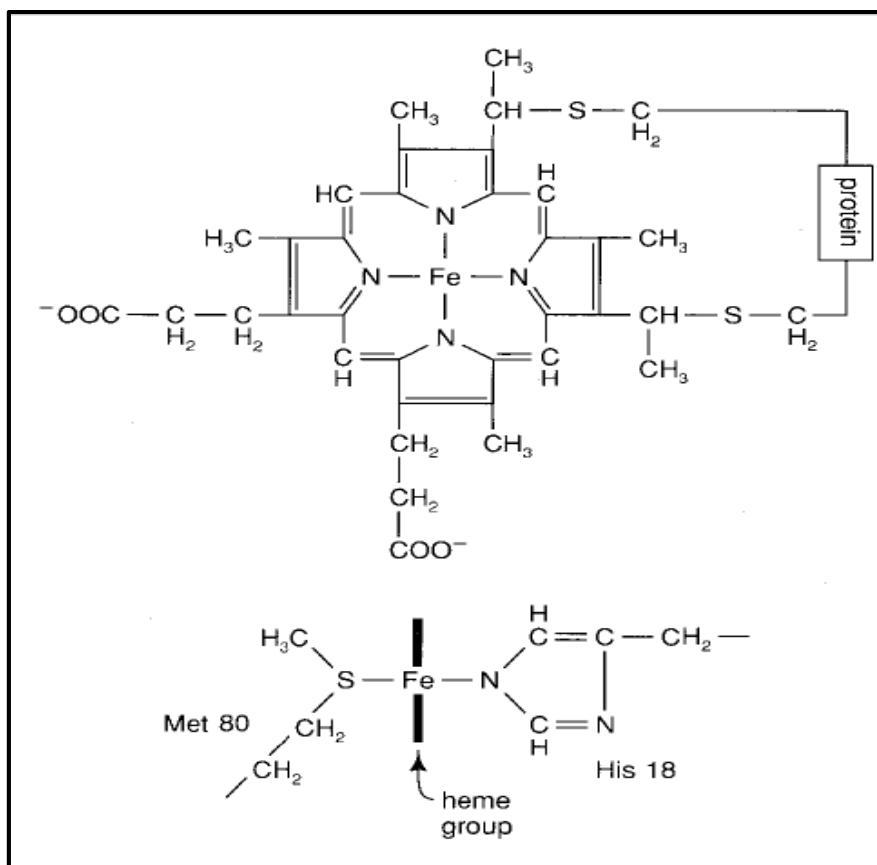


Figure 3.2. Groupe de l'hème et coordination du fer dans le cytochrome c

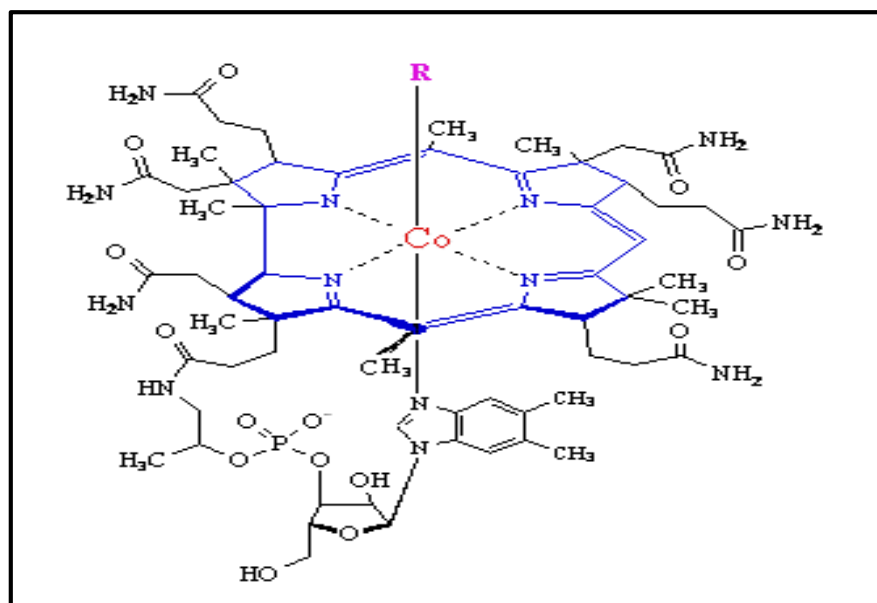


Figure 4. La structure cristalline du cobalt

*Partie I : Synthèse bibliographique***II.2.1. Le cuivre ; Cu****II.2.1.1. Propriétés physicochimique**

Le cuivre est un métal noble qui existe à l'état natif et est exploité depuis plus de 2000 ans. Le mot cuivre et le symbole **Cu** est dérivé du nom Cuprum, ce métal a été trouvé dans plusieurs sites et notamment à Chypre, ce qui lui a donné son nom.

Le cuivre se situe dans la colonne 11, la même colonne que l'argent et l'or. Il appartient au sous-groupe (IB) de la classification périodique et est le numéro 29 des éléments dans le tableau périodique. Il a un poids atomique de 63,54, c'est un lourd métal avec une densité de 8,96 et un point de fusion de 10838°C. Un métal de couleur rougeâtre, il possède une exceptionnelle conductivité thermique et électrique.

Le cuivre présente une riche chimie de coordination, principalement dans les états d'oxydation monovalent (+1) et divalent (+2), un troisième état d'oxydation instable (+3) se produit dans certains composés cristallins. Bien que le cuivre soit un élément relativement inerte, il forme une large gamme de composés cuivreux (Cu I) et cuivrique (Cu II), la plupart des composés cuivreux sont facilement oxydé sous forme cuivrique [25].

Cu (I) : les ions ont une configuration d^{10} et sont capables de former des complexes avec des ligands qui ont des caractéristiques de donneur «molles» telles que celles contenant du thioéther S, P et groupes azotés aromatiques. Ces complexes ont tendance à présenter une géométrie linéaire (numéro de coordination (CN) égal à 2), trigonale (CN=3) ou tétraédrique (CN=4).

Cu (II) : les ions ont une configuration d^9 et des complexes dans lesquels le cuivre a un CN qui varie de quatre à huit, y compris les plus communs de 4 ou 6 qui sont : le plan carré (CN=4), bipyramidal trigonal et arrangements pyramidaux carrés (CN=5), et la géométrie octaédrique (CN=6) (**Figure 5**) [26].

Partie I : Synthèse bibliographique

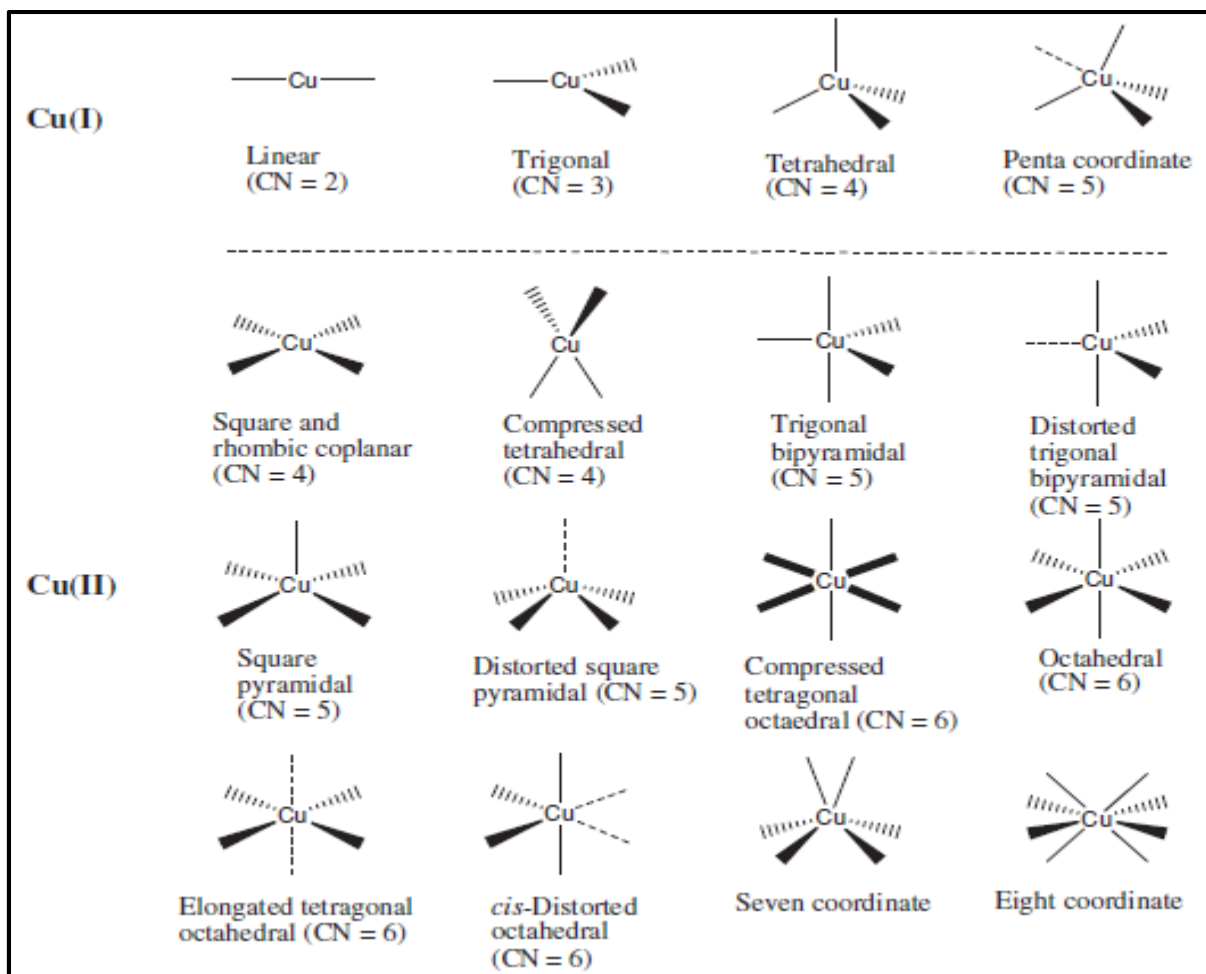


Figure 5. Coordinece des ions de cuivre

II.2.1.2. Propriétés biologiques

Le cuivre est un oligo-élément essentiel, et est un catalyseur important pour la synthèse de l'hème et l'absorption du fer. C'est le troisième oligo-élément abondant dans le corps après le zinc et le fer. Dans le corps humain, la majorité des ions cuivre se trouve sous forme de Cu^{2+} .

Presque toutes les cellules du corps humain utilisent du cuivre, car la plupart du cuivre du corps semble être étroitement lié à plusieurs métalloprotéines différentes.

Le cuivre est utilisé depuis des siècles pour la conservation de l'eau et de la nourriture notamment par l'Égypte ancienne.

Avant la découverte des micro-organismes, l'homme a utilisé des préparations à base de cuivre pour leurs maux de gorge, éruptions cutanées et pour l'hygiène quotidienne [27].

Partie I : Synthèse bibliographique

Historiquement, le cuivre a été utilisé pour soigner les infections et pour le traitement d'une variété de maladies, notamment les ulcères chroniques, les maux de tête, otites, polyarthrite rhumatoïde (PR), le plus souvent sous forme de bracelets et pommades.

Il s'est avéré être un élément métallique multifonctionnel avec également des activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires, et antibactériennes [27].

II.2.2. Le cobalt; Co

II.2.2.1. Propriétés physicochimiques

Le cobalt a été isolé pour la première fois en 1735 par le chimiste suédois Georg Brand. C'est un élément chimique de symbole **Co** et est un métal de transition du bloc d, il est le premier et le plus léger des métaux de transition du groupe 9 avec un numéro atomique de 27, une masse atomique de 58.93, et une configuration atomique de [Ar] 3d⁷4s². Il a une couleur grise argenté, sans odeur, non volatil, chimiquement réactif avec les acides dilués, insoluble dans l'eau à l'exception de la poudre de cobalt ultrafine.

Le cobalt a un seul isotope naturel (Co⁵⁹) stable, mais les douze autres isotopes connus sont radioactifs, leur masse variant de 54 à 64.

Les composés du cobalt peuvent se produire dans divers états d'oxydation (0, +1, +2, +3 et +4) mais les états d'oxydation +2 et +3 sont les plus courantes [28-29].

II.2.3. Le fer; Fe

II.2. 3.1. Propriétés physicochimiques

Le fer est l'élément chimique avec le symbole Fe (latin: ferrum) et le numéro atomique 26. Il fait partie du groupe 8 du tableau périodique avec une configuration électronique [Ar] 3d⁶4s²

Le fer est un métal extrait du minerai de fer et ne se trouve presque jamais à l'état élémentaire libre. Les états d'oxydation du fer les plus élevés sont Fe (VI) et Fe (IV), tandis que le Fe (V) est très rare. Les états d'oxydation +2 pour Fe (II) le fer ferreux et +3 pour Fe (III) le fer ferrique sont les plus courants pour le fer [30].

*Partie I : Synthèse bibliographique***III. Les complexes organométalliques****III.1. Définitions**

Complexe de coordination : il est défini comme une structure chimique constituée d'un atome central ou d'un ion métallique central, associé de manière covalente à des anions ou molécules environnants appelés ligands par des liaisons chimiques [18].

Complexe organométallique : est un composé résultant de la complexation entre les groupes organiques et les atomes des métaux avec formation d'au moins d'une liaison directe métal-carbone [31].

L'ensemble des complexes ont une formule générale comme suit :



M: atome central (métal).

L: ligands pairs (apporte une ou plusieurs paires d'électrons au métal)

X: ligands radicalaires (apporte une ou un nombre impair d'électrons au métal)

z: charge du complexe (si elle n'est pas nulle)

l: nombre de ligands de type L coordonnés

x: nombre de ligands de type X coordonnés [32]

Bio-organométallique : le terme de chimie bioorganométallique a été introduit en 1985 par Gerard Jaouen qui définit un domaine multidisciplinaire dédié à la synthèse et l'étude de biomolécules ou plus précisément les complexes organométalliques biologiquement actifs. Le terme recouvre en fait des complexes formés à l'aide de ligands organométalliques classiques (par exemple CO (carbonyle), alkyles, espèces liées par liaison π) ou des biomolécules (stéroïdes, acides aminés, sucres, peptides, ADN, vitamines, enzymes, anticorps) liés par des liaisons directes métal-carbone (**Figure 6**).

Ce champ interdisciplinaire se situe à la frontière de la chimie, la biochimie, la biologie et la médecine [33].

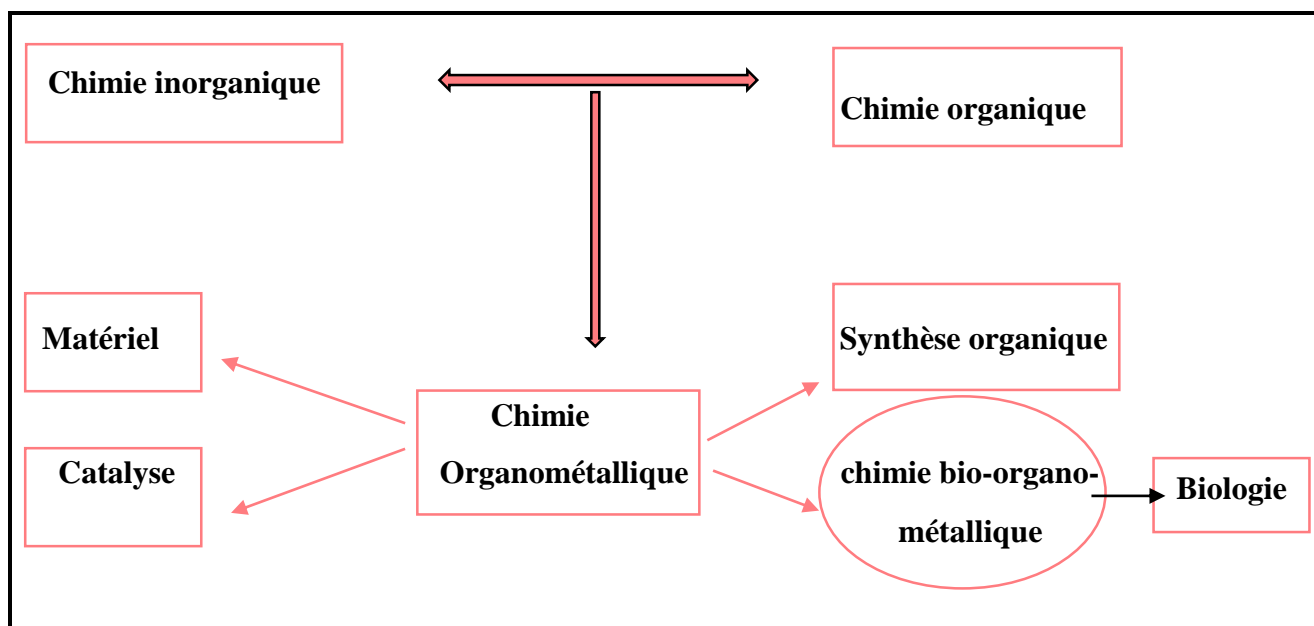


Figure 6. Relation de la chimie organométallique (complexes avec des liaisons directes métal-carbone) aux principales disciplines liées

Et Pour aborder la chimie des complexes, il faut bien connaître les concepts de base de la chimie de coordination. Celle-ci a d'ailleurs été fondée par le chimiste alsacien Alfred Werner (1866-1919, prix Nobel en 1913) [34].

Depuis quelques années, il existe en chimie organométallique un intérêt croissant pour les molécules présentant des fonctions susceptibles de coordonner un métal c'est-à-dire plusieurs sites de coordination.

Le facteur qui peut jouer sur la réactivité des ligands est la présence d'hétéroatomes ; les substrats contenant les éléments comme le soufre ou l'azote peuvent interagir fortement avec le site métallique et ralentir ou bloquer la réaction. Les ligands hétéroatomiques présentent une catégorie très intéressante, pour la préparation des synthons qui sont importants pour l'industrie. En particulier, les aldéhydes, acides ou alcools contenant le groupement aromatique sont des objectifs synthétiques intéressants pour la synthèse de médicaments [25].

*Partie I : Synthèse bibliographique**III.2. Historique*

Le Salvarsan[®] puis le néo-salvarsan, des composés ayant une liaison directe As-C, sont les premiers complexes organométalliques mis au point par Paul Ehrlich et appliqués en chimiothérapie expérimentée [35].

Ces substances chimiques ont été consacrées à la défense contre la syphilis et elles ont contribué de façon déterminante à l'émergence de la chimiothérapie. Néanmoins, les antibiotiques (y compris la pénicilline) furent préférés durant la deuxième guerre mondiale. De 1960 à 1970, la découverte du cisplatine (un produit anti-tumoral) par M. Rosenberg a permis de donner un élan nouveau à l'utilisation des médicaments métalloïdes en tant que métaux de transition et chimie de la coordination. Pendant la même période, il a été découvert de nouveaux types de liaisons métal-carbone, notamment le métallocènes, les carbonyles métalliques et les carbènes métalliques. Les composés organométalliques ont été considérés comme étant instables dans les milieux aqueux et inappropriés pour un système biologique. Gérard Jaouen a défini en 1985 le terme de "chimie bio-organométallique" comme étant la synthèse et l'étude des entités organométalliques présentant un intérêt biologique et médicinal. Trois précédentes revues ont traité du domaine de la chimie bio-organométallique. Cette étude présente les diverses utilisations thérapeutiques des composants biosynthétiques organométallique [35].

III.3. Caractéristiques générales

Les complexes organométalliques présentent des caractéristiques similaires à ceux des complexes métalliques puisqu'ils représentent un sous-groupe des complexes métalliques, les propriétés les plus célèbres des complexes métalliques sont les suivants :

- a. La variété de leurs numéros de coordination et géométries, les réactions prévisibles d'échange de ligands et toutes les caractéristiques des métaux [35].

Toutes ces caractéristiques sont très utiles pour la création de nouveaux pharmacophores non accessibles par des moyens strictement biologiques de synthèse.

Les métaux, par comparaison avec le carbone, permettent d'obtenir une haute diversité structurelle des composants métalliques. Ainsi, par exemple, le centre octaédrique avec six substitués distincts puissent constituer 30 stéréo-isomères comparativement à seulement 2 pour un carbone tétraédrique asymétrique, il offre cependant plusieurs possibilités pour

Partie I : Synthèse bibliographique

organiser les substitués dans l'espace en trois dimensions et par conséquent, pour diriger les ligands vers le récepteur [35].

Cette importante diversité de structures est couramment appliquée par les travaux de *Meggers* sur les complexes de ruthénium comme inhibiteurs de kinases.

- b. Aussi, la capacité de prévoir le ligand, la réaction d'échange fait des complexes métalliques des candidats intéressants pour une synthèse combinée et un screening à grand débit [35].

Enfin les complexes métalliques présentent un intérêt particulier en raison de leurs caractéristiques des métaux, comme la cinétique d'échange de ligands ajustable, par exemple, propriétés catalytiques, les activités redox, acidités de Lewis, un accès aisé aux radicaux, des propriétés magnétiques, des caractéristiques spectroscopiques et des propriétés de la radioactivité. Ces propriétés de métaux autorisent la génération de certaines fonctions sur mesure [35].

III.4. Types de complexes organométalliques

La classe des complexes est fondée en fonction du nombre d'ions centraux (ou d'atomes) contenus dans ces derniers on a :

- Les complexes qui sont structurés selon un ion central unique. Ils sont des complexes monométalliques (aussi appelés mononucléaires) [36].
- Les complexes qui comporte deux ions métalliques ou plus, ici on parle de complexe bimétallique (bi-nucléaire), tri-métallique (tri-nucléaire), polymétallique (polynucléaire) [36].

III.5. Évaluation biologique et application des complexes organométalliques

Les composants organométalliques sont un très grand groupe de matières ayant joué un important rôle de développement dans la chimie. Ils sont utilisés dans une très large mesure en tant que catalyseurs et ce depuis 1985 [35]. Leur importance aussi peut être remarquée par leur présence dans les organismes vivants.

Les composés organométalliques présentent un intérêt biologique, médicale et dans la conception rationnelle de nouveaux médicaments et pharmacophores, ceci est grâce à de

Partie I : Synthèse bibliographique

nombreux propriétés tel la présence d'une variété de nombres de coordination et de géométries, les réactions d'échanges de ligand prévisible et l'ensemble des propriétés caractéristiques des métaux [35] qu'on a déjà cité.

Les composés métallo-organiques à visée thérapeutique que ce soit dans le cadre des thérapies anticancer, d'agents de contraste, dans le traitement des inflammations, des

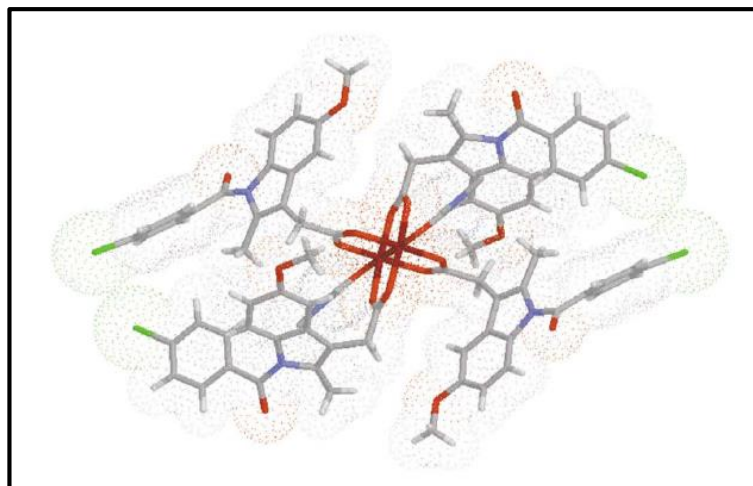


Figure 7. La structure cristalline de $[Cu_2(Indo)_4(DMF)_2]$

agressions infectieuses et/ou d'inhibiteurs enzymatiques ont été largement étudiés.

Le cuivre est l'un des bios métaux les plus importants non seulement en raison de son rôle dans les protéines mais aussi en raison de son potentiel activité synergique avec des médicaments. D'ailleurs les complexes de cuivre ont été développés comme des antimicrobiens mais aussi pour le traitement de maladies impliquant une dyshoméostasie du cuivre qui est étroitement réglementée dans les cellules procaryotes et eucaryotes on assurant des quantités suffisantes pour la biosynthèse des cuproprotéines, tout en limitant la production de stress oxydatif. En outre, de nombreux complexes de cuivre sont actuellement évalués pour une variété d'indications thérapeutiques par exemple, (la maladie d'Alzheimer et la sclérose latérale amyotrophique) qui nécessitent une gamme d'effets pharmacologiques liés au cuivre. En cite à titre d'exemple le complexe $[Cu^{II}(\text{indométacine})_4(\text{DMF})_2]$ qui est utilisé comme médicament anti-inflammatoire non stéroïdien (**Figure 7**) [36].

La résistance aux antibiotiques est aujourd'hui l'une des plus grandes menaces à la santé mondiale et à la sécurité alimentaire, par conséquent le développement de nouveaux antibiotiques ou molécules présentant une activité contre les souches pathogènes devient de

Partie I : Synthèse bibliographique

plus en plus urgent [37]. Une attention de plus en plus importante a été accordée au développement de nouveaux antibiotiques; notamment métallo-pharmaceutiques, les produits de synthèse se virent ainsi d'être d'excellents agents antimicrobiens. Une pléthore de médicaments antibactériens a été synthétisée depuis 1930.

L'un des premiers métallo-drogues thérapeutiques était le salvarsan, un agent antimicrobien à base d'arsenic développé par Paul Ehrlich, il a été testé et publié comme un traitement efficace contre la syphilis [38] (Figure 8).

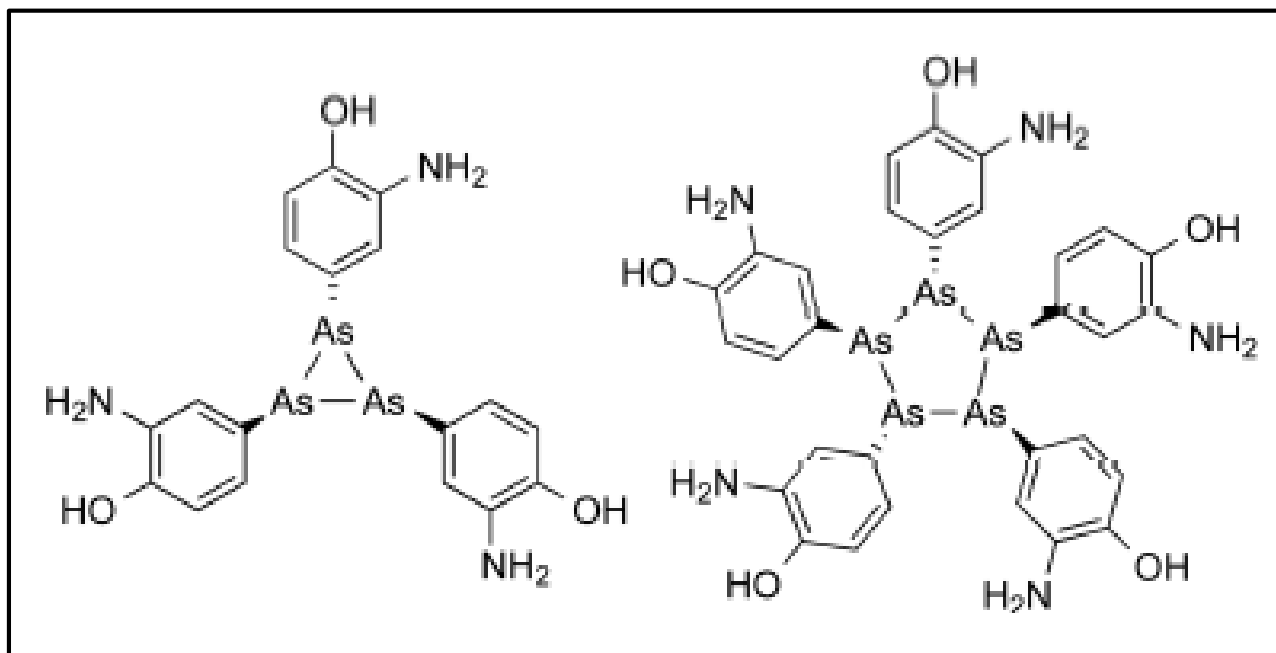


Figure 8. Espèces cycliques comme modèles de salvarsan

Le cuivre a été admis par l'agence américaine de protection de l'environnement comme un premier agent antimicrobien métallique en 2008, de plus, environ de 300 alliages de cuivre ont été enregistrés en tant qu'agents antibactériens capables de lutter contre la prolifération de certaines bactéries responsables d'infections potentiellement mortelles [39].

Les propriétés antibactériennes du cuivre sont également à l'origine d'une nouvelle application qui se manifeste par l'utilisation de ce métal comme agent de surface antibactérien [27].

De nos jours, l'utilisation d'ions métalliques est un champ de bataille dans la lutte entre la défense de l'hôte et la virulence microbienne. Afin d'améliorer l'efficacité des antibiotiques et de réduire le développement de la résistance aux antibiotiques, les antimicrobiens à base de cuivre ont été développés en tant que nouvelle classe de produits thérapeutiques [40].

Partie I : Synthèse bibliographique

La préparation de complexes de métaux de transition avec des ligands dérivés d'imidazole (2-méthylimidazole/2-MeIm, 5-méthylimidazole/5-MeIm, 2-éthylimidazole/2-EtIm) a été payée une attention considérable en raison des propriétés pharmacologiques des ligands et des complexes. De nouveaux complexes d'acrylate de cuivre (II) avec ces dérivés ont été synthétisés et caractérisés (**Figure 9**) et ont montré une activité antimicrobienne in vitro contre les bactéries (*S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*) et les champignons (*C. albicans*), démontrant leur potentiel pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens [41].

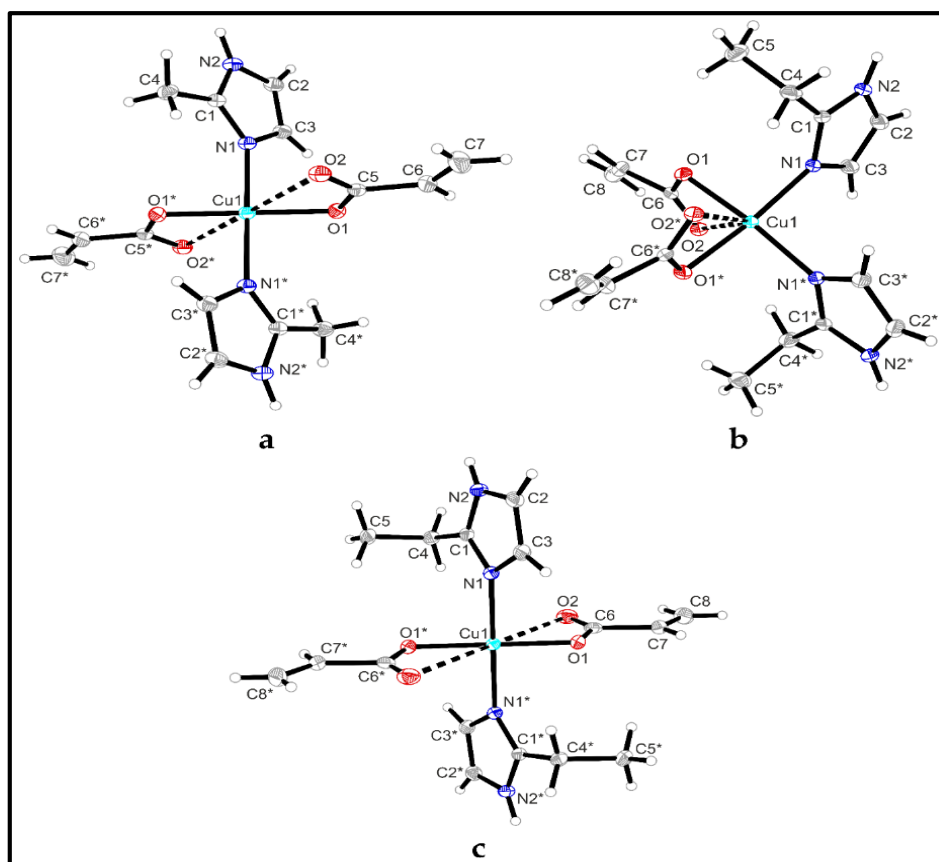
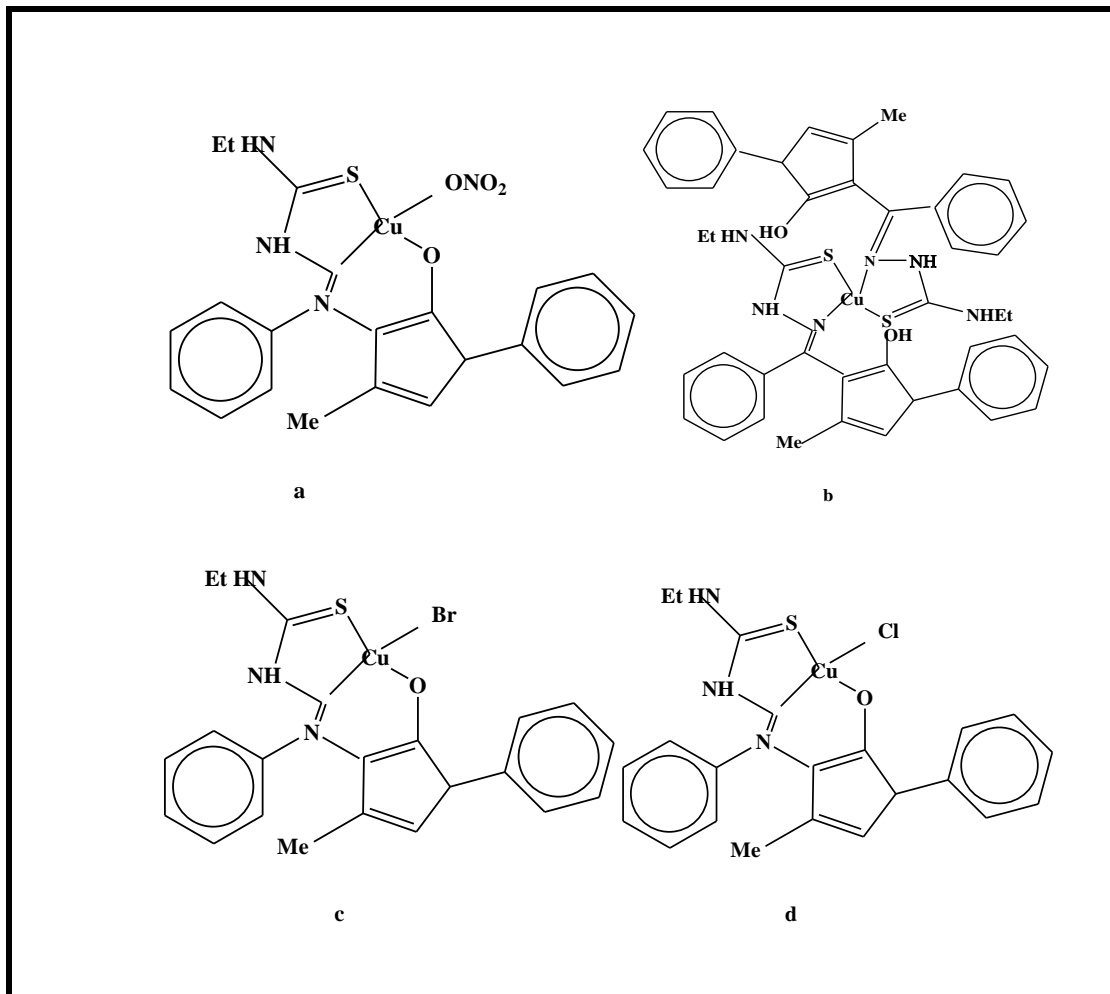


Figure 9. (a) structure cristalline du complexe trans-[Cu (2-MeIm) 2(acr)₂]. (b) structure cristalline du complexe Cis-[Cu (2EtIm) 2(acr)₂]. (c) structure cristalline du complexe trans-[Cu (2-EtIm)₂(acr)₂]

Les complexes de cuivre [Cu (NO₃) (L)] 2 C₂H₅OH (figure. a), [Cu (L)₂] H₂O (Figure. b), [Cu (Br)(L)] H₂O CH₃OH (Figure. c) et [Cu(Cl)(L)] C₂H₅OH (Figure. d) (L = 1-phényl-3-méthyl 4-benzoyl-5-pyrazolone-4éthyl-thiosemicarbazone) (**Figure 10**) ont été évalués pour l'activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Salmonella abony*

Partie I : Synthèse bibliographique

par rapport à celui de l'antibiotique clinique Furacilinum, les complexes a, b, c et d, étaient 3 à 6 fois plus actifs contre *S. aureus* et *B. cereus* que Furacilinum et 22 à 25 fois plus actif contre *S. abony*. Le mécanisme d'action de ces complexes pourrait être le blocage des sites de liaison des métaux sur les enzymes bactériennes [2].



Dans une autre étude menée, il a été constaté que le sel $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a augmenté l'efficacité d'inhibition de croissance de la pénicilline incubée avec *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Proteus vulgaris*. L'activité antibactérienne de la

Partie I : Synthèse bibliographique

pénicilline contre *Staphylococcus aureus* en combinaison avec une trace de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a augmentée de 4 à 8 fois.

Les complexes de cobalt (CoCl_2) avec des dérivés de benzazole (2-méthylbenzimidazole, 2-Méthylbenzoxazole et le 2-méthylbenzothiazole) (**Figure 11. a, b et c**) ont été synthétisés et évalués ainsi que leurs ligands *in vitro* contre des bactéries à gram négatif (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes*, *E. coli*) et des bactéries à gram positif (*S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *V. parahaemolyticus*), il a été démontré que l'activité antibactérienne des complexes est augmenté de manière significative par rapport au ligands libres [2].

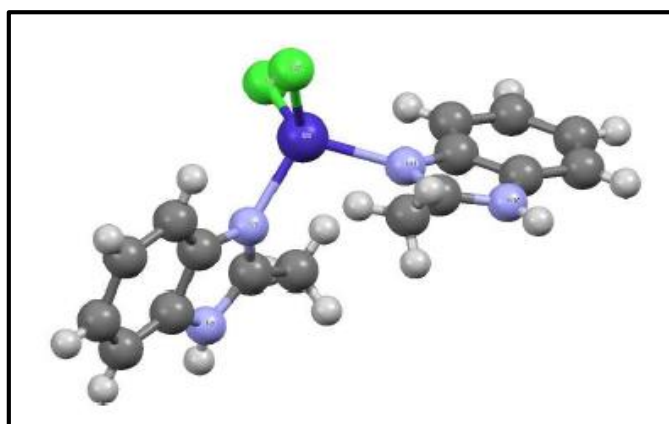


Figure 11. (a) Structure cristalline de dichloro-bis (2-méthylbenzimidazole)-cobalt(II)

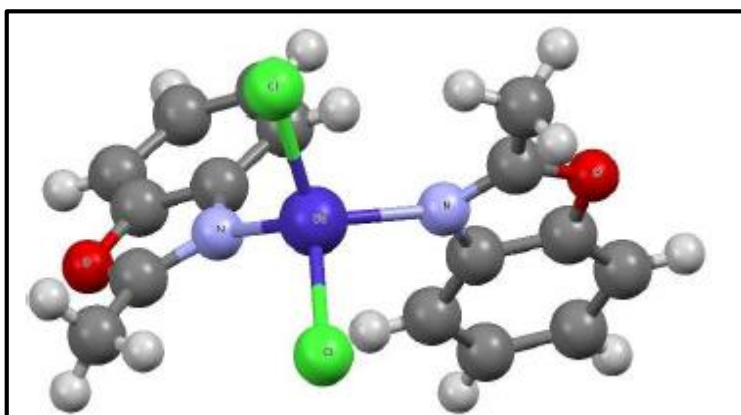


Figure 11. (b) structure cristalline du complexe dichloro-bis (2-méthylbenzoxazole)-cobalt(II)

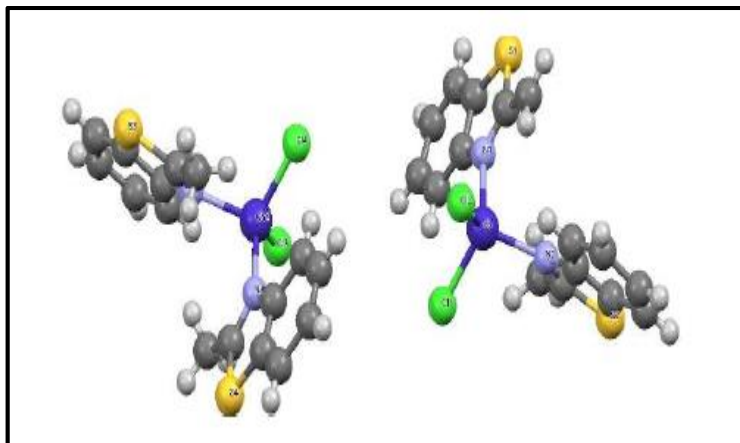


Figure 11. (c) structure cristalline du complexe dichloro-bis (2-méthylbenzothiazole)-cobalt(II)

Le système de code couleur pour les atomes comprend :

- blanc pour l'hydrogène ;
- noir pour le carbone ;
- bleu pour l'azote ;
- rouge pour l'oxygène ;
- jaune profond pour le soufre ;
- violet pour le phosphore ;
- vert clair, intermédiaire, intermédiaire sombre et sombre pour les halogènes (fluor, chlore, brome, iode) ;
- argent pour les métaux (cobalt, fer, nickel, cuivre) [2].

Divers complexes de cobalt(III) à base de ligands mixtes comprenant le ligand de la phénanthroline (cis-Bis(dodecylamine) bis(dipyrido[n-a:2',4'-c] phenazine)cobalt(III) ion) possèdent une activité antivirale par leur interaction avec des matrices d'acides nucléiques et empêchent une synthèse provirale de l'ADN ont été synthétisés et caractérisés (**Figure 12**) [42].

Partie I : Synthèse bibliographique

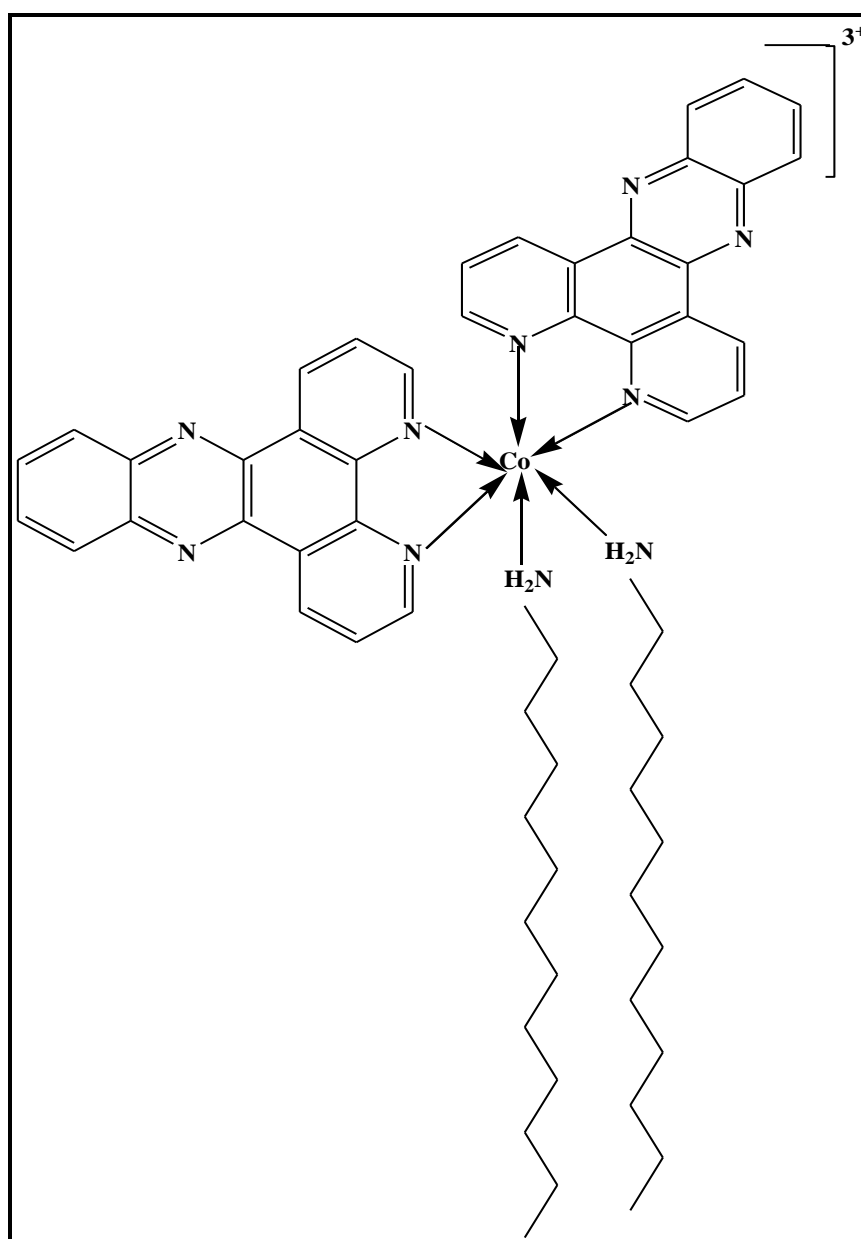


Figure 12. Structure du cis-Bis (dodecylamine) bis (dipyrido[n-a:2',4'-c]phenazine)cobalt(III)

Le composé ferrocénique (3-(4,4-diferrocenoylbutanamido)-2,4-dihydroxybenzoic acid) inspiré de l'antibiotique naturel platensimycine inhibe sélectivement la croissance d'une souche de *Staphylococcus aureus* (**Figure 13**) [43].

Partie I : Synthèse bibliographique

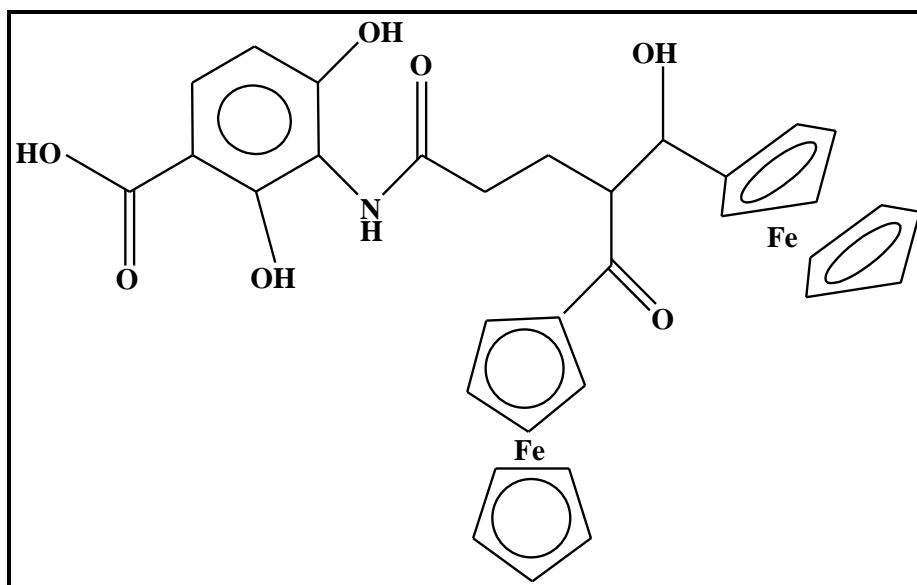


Figure 13. La structure du composé 3-(4,4-diferrocenoylbutanamido)-2,4-dihydroxybenzoic acid

Par ailleurs le zinc est le deuxième oligo-élément le plus abondant dans le corps humain, il présente un grand intérêt biologique, comme l'activité antifongique mais aussi l'activité antimicrobienne. Récemment des complexes Cu (II) et Zn (II) avec des thiosemicarbazones aromatiques N-substituées ont été rapportées comme de bons candidats métallo-antibiotiques (**Figure 14**) [44].

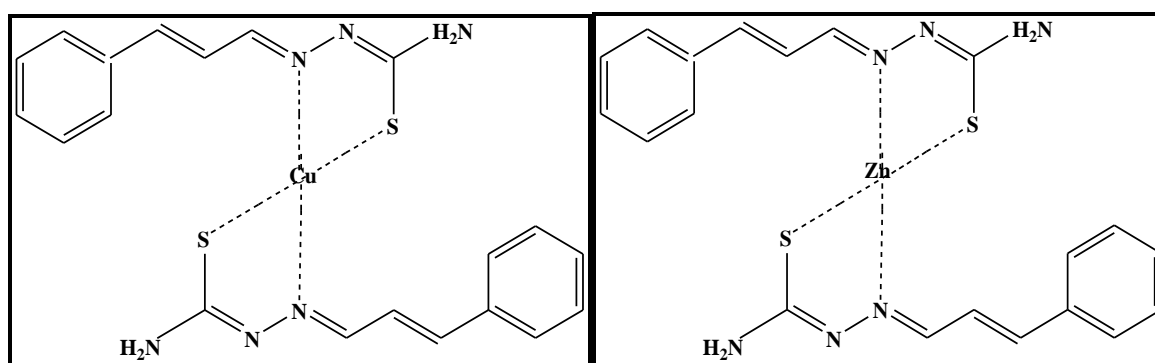


Figure 14. Complexes métalliques de thiosemicarbazone

Bis [cis-amoniocyclohexanecarboxylate] poly [Bi aqua copper (II) - μ - sulfato-K²O: O']

Dès la découverte du cisplatine en 1965, les chercheurs ont cherché à trouver de nouveaux médicaments à partir de métaux en espérant qu'ils seraient remplacés par des

Partie I : Synthèse bibliographique

complexes métalliques à moindre coût, présentant moins d'effets secondaires et ayant une meilleure valeur thérapeutique. Parmi les autres métaux étudiés pour leurs propriétés anticancéreuses, les composés du ruthénium ont des propriétés telles que la capacité d'imiter le fer en se liant aux molécules biologiques, une toxicité systémique réduite et une grande affinité pour les tissus cancéreux par rapport aux tissus normaux, ce qui en fait des candidats attrayants comme médicaments anticancéreux [44].

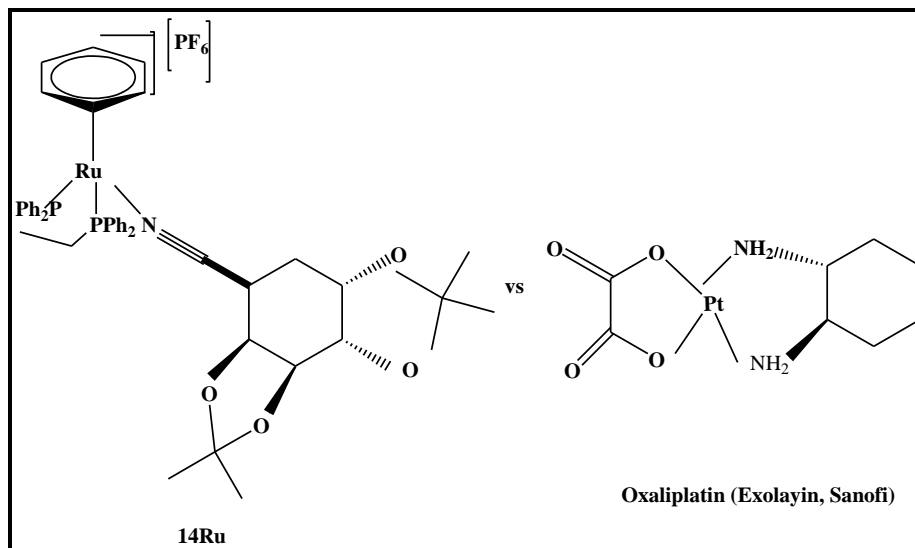


Figure 15.Complexes anticancéreux

Vers la synthèse de puissants médicaments anticancéreux, Plusieurs complexes de Cu(I) ont été synthétisés et testés in vitro et in vivo, car ils présentent une activité cytotoxique par apoptose cellulaire ou par inhibition enzymatique. Ces complexes contiennent des bases bi-Schiff comme ligands et permettent de réduire la taille des tumeurs, ainsi que de retarder les métastases tout en augmentant significativement la survie de l'hôte [45].

Le complexe de Cu (II) avec les ligands de la carboxamidrazone (LCuCl₂) puisse faciliter ou bloquer le fonctionnement des récepteurs d'œstrogènes. De plus, la coordination des adénines N6-substituées par le Cu(II) se traduit par une augmentation de l'activité cytotoxique vis-à-vis de différentes sortes de cancers chez l'homme (**Figure 16**) [45].

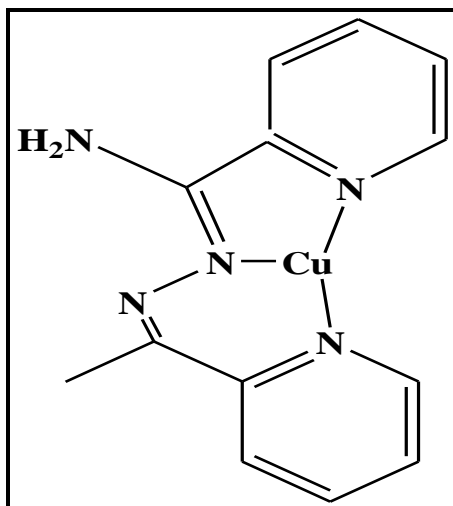


Figure 16. La structure du composé Pyridyl-2-carboxamidrazone

Le complexe 2,6-bis (benzimidazo-2-yl) pyridine cuivre (II) du type (LCuCl₂) ou [LCu (H₂O)₂ (NO₃)] a également une activité métalloprotéase (**Figure 17**) [45].

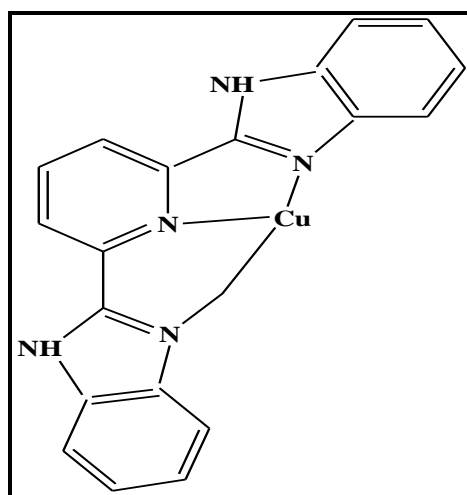


Figure 17. La structure du composé 2,6-bis (benzimidazo-2-yl) pyridine

Le complexe cuivre (II) du type [(LH) 2CuCl₃] + avec le ligand 6-(2-chlorobenzyl amino) purine est un puissant anticancéreux, il inhibe la croissance cellulaire de divers types de cancer (**Figure 18**) [45].

Partie I : Synthèse bibliographique

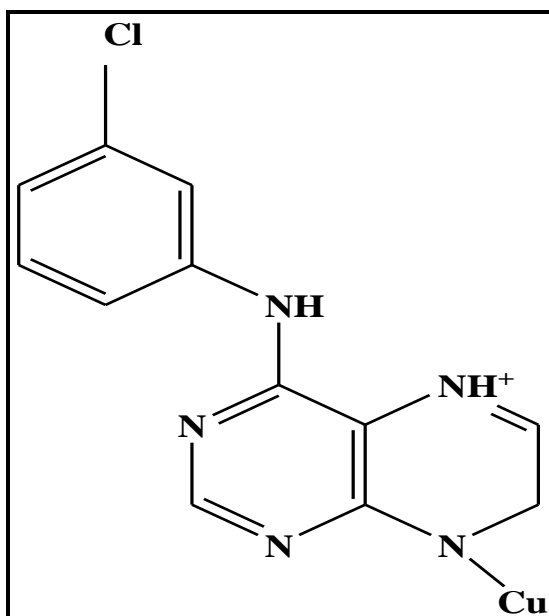


Figure 18. La structure du composé 6-(2-chlorobenzyl amino) purine

Les complexes du type $[CuLL]^+$, où $L = N$, N-chélaté comme la phénanthroline ou la 2,2'-bipyridine et $L = N, N$ - ou N, O -chélaté tel que l'acétylacétonate ou le glycinate, portent le nom de casiopeinas. Elles montrent un important signe antinéoplasique de leur activité in vitro et in vivo contre une variété de cellules tumorales (**Figure 19**) [45].

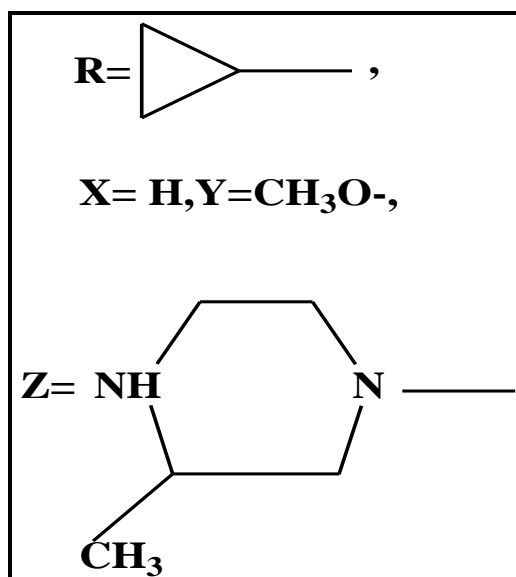


Figure 19. La structure du composé L: gatifloxacinL': phénanthroline or 2,2'-bipyridylamine

Partie I : Synthèse bibliographique

En effet, ces ions sont considérés comme multifonctionnels car ils participent à un large éventail au sein des cellules en conditions normales et pathologiques, les complexes de cuivre décrits montrent une gamme diversifiée d'activités biologiques in vitro, qui vont de l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire à la fonction cytostatique et inhibitrice d'enzymes [46].

À cet égard, l'exploitation et l'évaluation systématique des propriétés biologiques des complexes métalliques a augmenté au cours de la dernière décennie, avec plusieurs rapports mettant en évidence l'activité et les modes d'action potentiels des médicaments à base de métaux [46].

IV. Les ligands

Un ligand est un atome, ion ou une molécule associé à l'atome central dans un complexe. Les ligands peuvent être constitués d'un seul atome tels que les halogénures, des molécules neutres comme l'eau et l'ammoniac ou des molécules complexes neutres ou chargées (organiques ou inorganiques) et sont généralement des donneurs d'électrons, donc des bases. On appelle coordinat unidenté, un coordinat fixé en un seul point à l'ion métallique. Les molécules ou les ions possédant deux ou plusieurs atomes donneurs sont susceptibles de former deux, trois, quatre liaisons de coordination; de tels ligands sont alors bidentés, tridentés, tétradentés et plus généralement multidentés.

IV.1. Classification des ligands

Les ligands sont classés selon le nombre de liaisons qu'ils peuvent former avec le métal, on se basant sur cette notion, nous observons des ligands unidentés ayant une liaison avec le centre métallique (exemple : l'ammoniac NH_3) et les ligands polydentés ayant plusieurs liaisons avec le centre métallique. Ces derniers sont classés en plusieurs catégories qui sont les ligands bidentés, tridentés, tétradentés, pentadentés, hexadentés, et les ligands polydentés qui forment plus de six liaisons avec le centre métallique [47].

*Partie I : Synthèse bibliographique**IV.2. L'acide mercaptosuccinique**IV.2.1. Définition*

MS (synonymes de : l'acide 2-mercaptosuccinique, acide DL-thiopectique, acide DL-mercaptosuccinique, acide thiomalique, acide 2-thiomalique, acide 2-sulfanylbutanedioïque) fait partie de la famille des thiols, aussi appelés alcools thiols, lesquels sont des composés organo-soufrés ayant un ou plusieurs groupements thiol (-SH). Par conséquent, ils constituent les analogues soufrés des alcools (-OH) dont l'oxygène a été remplacé par un atome de soufre.

Le MS désigne un thiol secondaire comportant deux groupements carboxyle ainsi qu'un groupement thiol [48]

Il reste stable en solutions faiblement acides et alcalines, à la différence d'autres thiols comme l'acide 3-mercaptopropionique, et est par conséquent souvent utilisé, notamment comme un ligand de coiffure pour les nanocristaux [48].

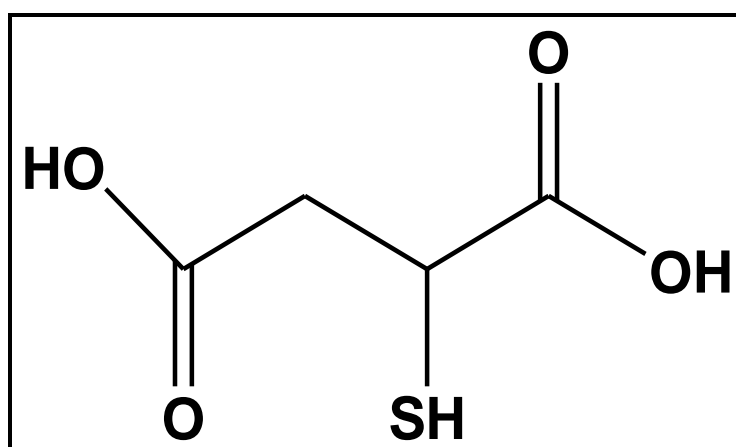


Figure 20. Structure de l'acide 2-mercaptosuccinique

La structure de la MS présente différentes propriétés ; elle peut servir d'agent réducteur en raison de la présence des deux groupes carboxyle, tandis que la MS peut être utilisée comme agent de couverture car il est un dérivé du thiol. La pertinence de la MS en tant que ligand soufré est une autre particularité. Ainsi, elle est utilisée dans des études PH métriques sur les complexes ternaires de Co(II) [48].

Partie I : Synthèse bibliographique

IV.2.2. Application L'acide mercaptosuccinique

L'acide 2-mercaptosuccinique (MS) constitue une substance essentielle et polyvalente pour différents champs d'application, y compris les principaux domaines sont :

- **Applications médicales et chimiques**

En médecine, la SM est aussi utilisée pour donner une grande dispersibilité à l'eau pour les points quantiques InP/ZnS, utilisés pour les bio-imagerie photos stables à visée des cellules du cancer du pancréas quand ils sont couplés avec des anticorps adéquats [48].

On a également démontré une activité antibactérienne des nanoparticules polymériques qui contiennent de la MS et qui dégagent de l'oxyde nitrique ; celles-ci ont été utilisées pour empêcher la croissance de la souche multi résistante sur laquelle repose *Staphylococcus aureus*, qui provoque la mammite bovine [48].

IV.3. L'acide gibbérellique

IV.3.1. Introduction

La gamme de produits naturels est suffisamment riche pour qu'elle soit une source majeure de la diversité chimique et d'activités biologiques. Les métabolites secondaires de diverses formes de vie ont des activités biologiques puissantes et ont fourni des agents thérapeutiques dans la découverte de médicaments pour le traitement de plusieurs maladies pathologiques et infectieuses. L'acide gibbérellique (GA3) est l'un des composés naturels, c'est une hormone trouvée dans les plantes et les champignons et a d'abord été identifiée comme un sous-produit métabolique du phytopathogène *Gibberella fujikuroi* en 1935[49]. Il fait partie de la famille des gibbérellines (GAs) une grande famille de produits naturels qui régule de nombreux processus de développement dans les plantes , actuellement plus d'une centaine de différents acides gibbérellique ont été identifiés dans diverses plantes et microorganismes , parmi lesquels les composés GA1, GA3,GA4 et GA7 sont les plus actifs biologiquement [50].

IV.3.2. Caractéristiques structurale et Propriétés physicochimique

L'acide gibbérellique (GA3) est un produit organique, un diterpénoïde tétracyclique, sa structure se base sur le squelette ent-gibberellane de 19 unités de carbone (C19-GAs) qui forme quatre systèmes cycliques.

Partie I : Synthèse bibliographique

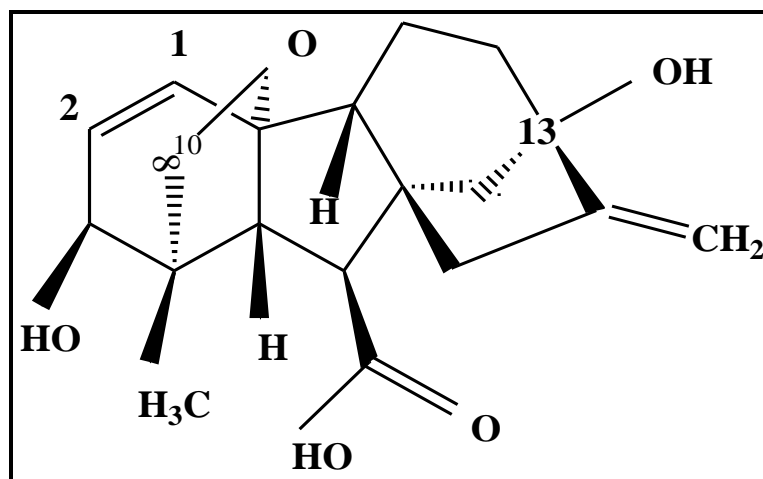


Figure 21. Structure de L'acide gibbérellique

Sa formule brute est $C_{19}H_{22}O_6$ avec une masse molaire de 346.37 g/mol, il est chimiquement caractérisé comme un acide dihydroxy- γ -lactone tétracyclique contenant une double liaison C1-C2, un anneau γ -lactone en C10, deux groupes hydroxyle (OH) en C3 et C13 et un groupe carboxyle (**Figure 21**) [51-52].

Le GA3 se présente sous forme d'une poudre cristalline blanche avec un point de fusion d'environ 233–235 °C, soluble dans l'alcool, l'acétone, l'acétate d'éthyle et l'acétate de butyle, et il est peu soluble dans l'éther de pétrole, le benzène et le chloroforme avec une faible solubilité dans l'eau de l'ordre de 5 g L⁻¹. Il est stable dans des conditions sèches et se décompose facilement à des températures élevées, à des pH alcalins, et en solutions aqueuses.

Sa demi-vie en solution aqueuse est environ de 14 jours à 20 °C et 2 jours à 50 °C. Par conséquent, le manque de stabilité peut être associé à la double liaison C1–C2 dans sa structure chimique, ce qui rend la molécule plus réactive. Il a été également suggéré que la perte du cycle γ -lactone peut conduire à l'inactivation biologique du GA3, pour cela la présence de l'anneau γ -lactone et la double liaison C1–C2 dans la structure de GA3 est cruciale pour maintenir son activité biologique[51].

Partie I : Synthèse bibliographique

IV.4. L'acide phtalique

IV.4.1. Introduction

L'acide phtalique a été obtenu par Laurent en 1836 par oxydation du tétrachlorure de naphthalène, et croyant qu'il s'agissait d'un dérivé du naphthalène, donc il l'a appelé acide naphthalénique, après Marignac a déterminé sa formule et a montré que la supposition de Laurent était incorrecte, sur laquelle Laurent lui a donné son nom actuel.

L'acide phtalique est obtenu en oxydant le tétrachlorure de naphthalène (préparé à partir de naphthalène, de potassium, de chlorate et d'acide chlorhydrique) avec de l'acide nitrique ou mieux, en oxydant l'hydrocarbure avec de l'acide sulfurique fumant, en utilisant du mercure ou du sulfate mercurique comme catalyseur [53].

IV.4.2. Structure et caractéristiques chimiques

L'acide phtalique est un acide dicarboxylique aromatique avec la nomenclature acide benzène-1,2-dicarboxylique, connu aussi sous le nom d'acide ortho-phtalique (acide *o*-phtalique). Sa formule brute est $C_8H_6O_4(C_6H_4(COOH)_2)$, et sa masse molaire 166.14 g/mol, son pka est 3.0 [54].

Il possède deux isomères qui sont l'acide méta ou isophtalique et l'acide para ou téréphtalique [55]

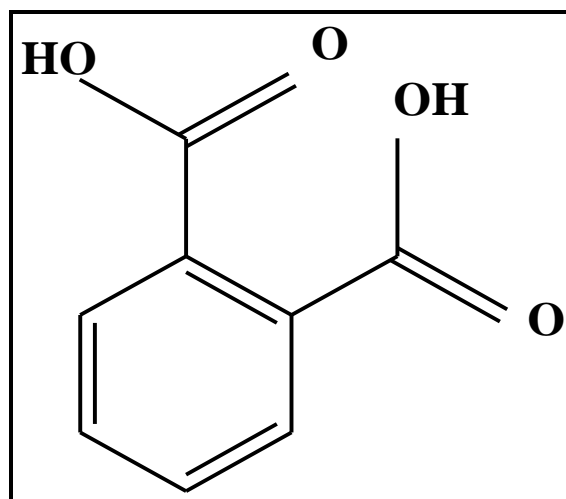


Figure 22. Structure de l'acide phtalique

la solubilité de l'acide *o*-phtalique a été signalé dans l'eau avec 0,6 g dans 100 ml à 20 ° C [55].

Partie I : Synthèse bibliographique

L'acide o-phtalique est raisonnablement soluble dans les systèmes d'éthanol / eau et méthanol / butyle acétate en différentes proportions de mélange, notamment dans le système éthanol/d'eau, qui montre que l'eau, l'éthanol et ses mélanges sont de bons solvants pour l'extraction et la séparation acide o-phtalique provenant d'autres matériaux solides qui contiennent du o-phtalique acide [56].

La molécule d'acide phtalique présente une pyramidalisation de deux sp^2 atomes de carbone hybrides. L'acide phtalique est connu pour cristalliser dans le groupe spatial $C2/c$ avec quatre molécules par unité de cellule, chaque molécule ayant deux volets de symétrie, les groupes acides carboxyliques sont pas coplanaire avec l'anneau aromatique, la rotation autour de C (1) - C (2) étant d'environ 35° . Cette distorsion se reflète également dans la pyramidalisation observée de C (2), correspondante C (1) - C (2) - C (2a) - C (1a) l'angle de torsion étant de $20,5^\circ$, ainsi que dans le léger allongement de la liaison C (2) - C (2a) de 0,014 Å par rapport aux autres liaisons C-C aromatiques. Les molécules sont liées en chaînes par l'acide carboxylique cyclique classique motif lié à l'hydrogène [57].

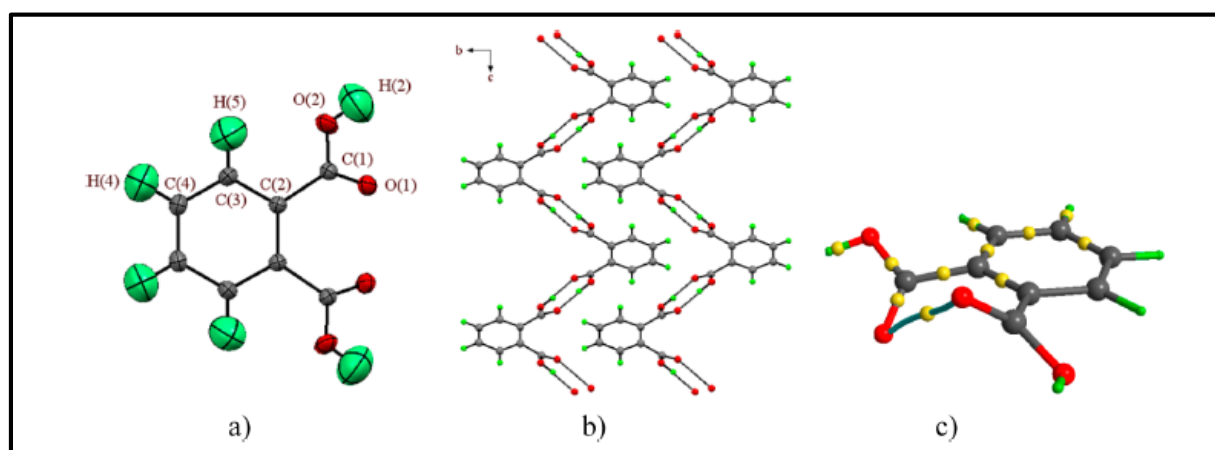


Figure 23. (a) Acide phtalique, ellipsoïdes à 99% de probabilité, (b) chaînes liées à l'hydrogène tirées perpendiculairement en a, (c) des points critiques de liaisons intramoléculaires uniques représentés par des sphères jaunes

IV.4.3. Domaines d'utilisation

L'acide o-phtalique est un important produit chimique organique, et est une matière première utilisée dans la production d'une gamme de produits chimiques, il est également largement utilisé dans la fabrication des plastiques, aliments, soins personnels et produits médicaux [58].

IV.4.4. *l'interaction de l'acide phtalique avec les métaux de transition*

De nombreux efforts ont été concentrés sur la conception rationnelle et la synthèse contrôlée de polymères de coordination à l'aide de plusieurs identifiants des ligands tels que le polycarboxylate et les ligands N-hétérocycliques [59].

Il a été démontré que l'acide phtalique forme des complexes avec les métaux de transition Ni, Co, Cu et Zn avec une variété de modes de coordination allant du monodenté à l'heptadenté [59].

La polyvalence des acides carboxyliques en tant que ligands et les installations de liaison à portée extraordinaire des groupes carboxyles sont responsables de l'existence d'un énorme nombre de carboxylates métalliques. Les groupes carboxyles sont capable de lier un métal en mode monodenté, bidenté ou en pont, conduisant à la fois à des molécules mono et polynucléaires ainsi que des structures polymériques, il a été démontré que les acides dicarboxylique ont des capacités de coordination supplémentaires pour la formation de nouveaux types de polymères et oligomères.

Des complexes du cuivre(II) avec l'acide phtalique ont été obtenus, Ces complexes ont révélé le mode monodenté ainsi que le mode de liaison chélatant et pontant , ainsi des composés de Zn (II) avec l'acide o-phtalique et des amines aromatiques $[Zn(Pht)Py_2](1)$, $[Zn(Pht)(\beta-Pic)_2](2)$ (**Figure 3**) , $[Zn(Pht)(\gamma-Pic)_2](3)$ (**Figure 4**), $[Zn(Pht)(\gamma-Pic)](4)$ (**Figure 5**) , ont été obtenus et caractérisés par cristallographie aux rayons X [60].

Partie I : Synthèse bibliographique

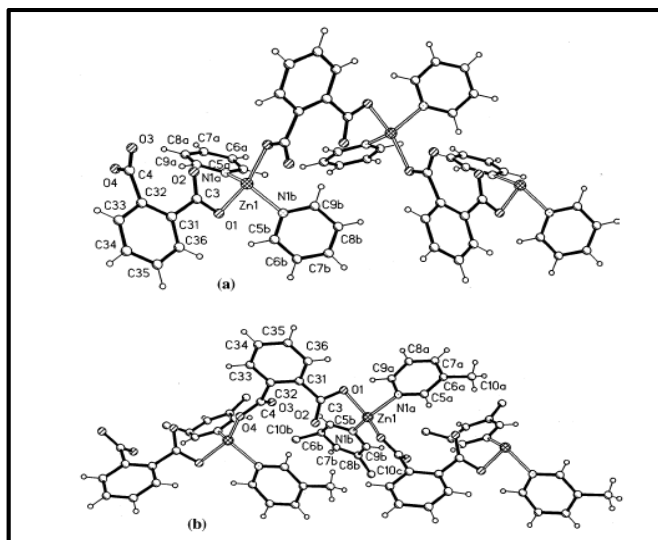


Figure 24. (a) Chaîne polymérique dans le composé 1. (b) Chaîne polymérique dans le composé 2

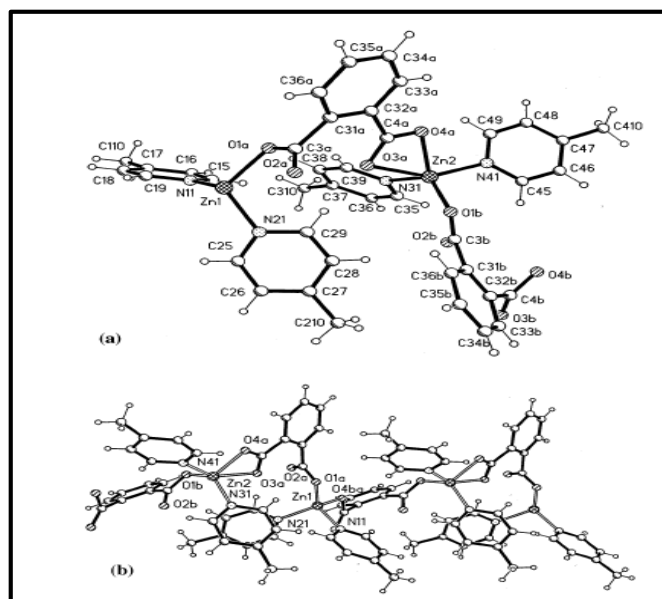


Figure 25. (a) Fragment de structure cristallographiquement indépendante dans le composé 3 avec un schéma de numérotation. (b) Chaîne polymérique dans le composé 3

Partie I : Synthèse bibliographique

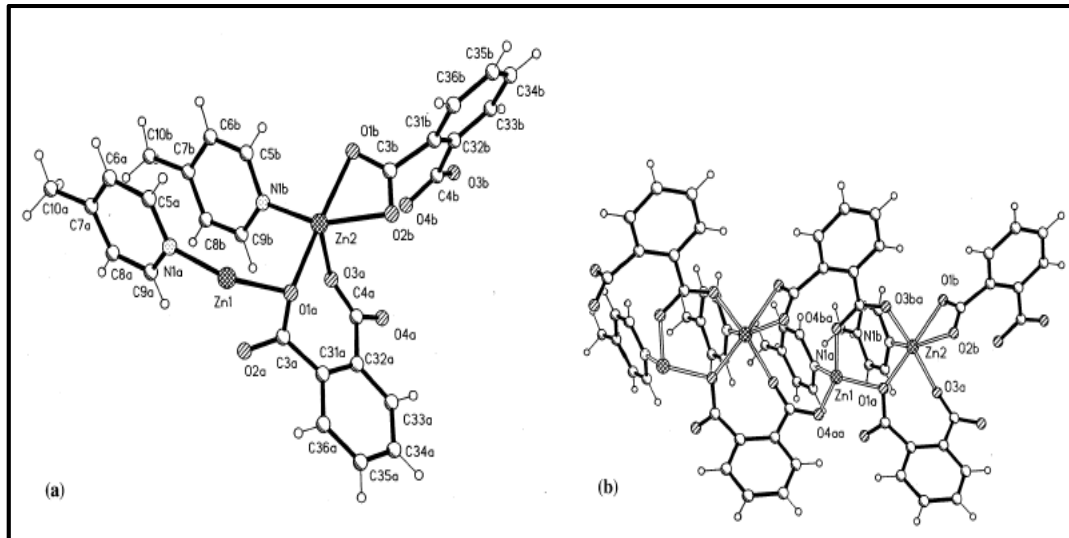


Figure 26. (a) Fragment de structure cristallographiquement indépendante dans le composé 4.
(b) Chaîne polymérique dans le composé 4

IV. 5. L'acide cis-4-aminocyclohexanecarboxylique [61]

- Nom chimique : acide cis-4-aminocyclohexanecarboxylique
- La formule moléculaire : $C_7H_{13}NO_2$
- Poids moléculaire : 143,18

V.5.1. Propriété de l'acide cis-4-aminocyclohexanecarboxylique [61]

- Point de fusion: 299-301 °C (lit.)
- Point d'ébullition: 280,0±33,0 °C (prévu)
- Densité : 9 g/cm³
- Formulaire : Poudre
- Pka : 4,62±0,25(Prévu)
- Couleur : Blanc cassé

L'acide cis-4-aminocyclohexanecarboxylique pourra être employé en vue de la synthèse sur de nouveaux analogues de l'arginine vasopressine (AVP) [62]. Il est également possible de l'utiliser par la synthèse de l'acide cis-4-[[[(2-chloroéthyl) nitrosoamino] carbonyl] méthylamino] cyclohexane carboxylique [63].

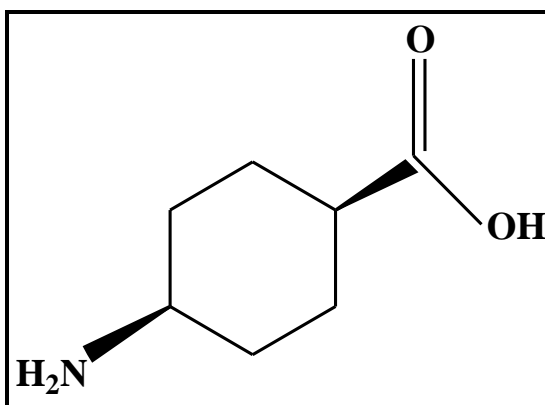
Partie I : Synthèse bibliographique

Figure 27. la structure du ligand l'acide cis-4-aminocyclohexanecarboxylique

IV.6. Le 5,6-Diméthylebenzimidazole

IV.6.1.Introduction

Les benzimidazoles sont un groupe de composés hétérocycliques azotés [64] et qui font partie intégrante de la vitamine B12 (DMB) [65] Le premier benzimidazole qui est le 2,5 ou 2,6-diméthylbenzimidazole a été synthétisé en 1872 [73]. Le plus important composé est le 5,6-diméthylbenzimidazole, qui sert de ligand axial pour le cobalt en vitamine B12.

Ces composés ont attiré de nombreux chercheurs du monde entier pour évaluer leur importance thérapeutique potentielle, ainsi la substitution du noyau benzimidazole est une étape cruciale dans le processus de découverte de médicaments [66].

IV.6.2. Structure et propriétés

Le benzimidazole, un composé organique hétéroaromatique bicyclique se compose du cycle benzène et du cycle imidazole fusionnés en position 4 et 5[67] (**Figure 28.**) .

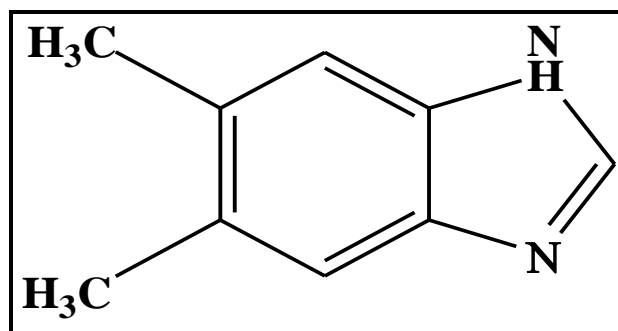



Figure 28. Structure du composé 5,6-Diméthylebenzimidazole

Sa formule brute est $C_9H_{10}N_2$ et sa masse molaire est de 146.19 g/mol. Il est soluble dans l'éthanol et les milieux aqueux [68].

IV.6.3. Activités biologiques / pharmacologiques des analogues du benzimidazole

IL a été rapporté que le benzimidazole et ses dérivés possèdent plusieurs activités biologiques potentielles, par conséquent le large éventail de profils pharmacologiques présentés par les benzimidazoles peut être classé dans les catégories suivantes. a) antimicrobien; b) anti-inflammatoire et analgésique; c) antituberculeux ; d) antidiabétique et anticonvulsivant; e) antioxydant; f) antiprotozoaire et antitrichinelle; g) anticancéreux; h) antiviral; i) antiulcère; j) antihypertenseur; k) agents antiparasitaires; l) diurétique; m) activité antipaludique; n) inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (maladie d'Alzheimer), et o) enzyme et agonistes / antagonistes des récepteurs [69]. En raison de l'immense importance et des diverses activités biologiques des benzimidazoles, des efforts ont été faits pour générer des bibliothèques de ces composés et les dépister pour d'éventuelles activités biologiques [70].

Les benzimidazoles et ses dérivés peuvent également servir de ligands aux métaux de transition pour la modélisation des systèmes biologiques [69]. Dans la présente étude, nous rapportons la synthèse de quelques nouveaux complexes à base de métaux de transition déjà cités avec le ligand 5,6-Diméthylebenzimidazole.

The background of the slide features a repeating pattern of molecular structures. These structures consist of interconnected spheres (representing atoms) and lines (representing bonds). The spheres are rendered in two colors: a light gray and a dark charcoal gray. The lines are thin and black. The molecular structures are arranged in a somewhat vertical, staggered pattern, creating a sense of depth and scientific complexity. The overall aesthetic is clean and academic.

Chapitre II :
Techniques de
caractérisation par
analyse
spectrométrie
Raman et diffraction
des rayons X sur
monocristal

I. Introduction

Comprendre les phénomènes qui ont lieu durant l'analyse ainsi que le fonctionnement des appareils permet de mieux appréhender les réponses des matériaux, et de trouver les conditions expérimentales les plus favorables à l'obtention de données exploitables. Pour réaliser ceci, nous devons rappeler les principes des méthodes d'analyses utilisées pour l'identification des complexes organométalliques synthétisés.

II. Analyse par spectroscopie Raman

II.1. Principe de la spectrométrie RAMAN

Deux grandes familles de spectroscopies vibrationnelles sont développées pour l'élucidation structurale.

- La spectroscopie infrarouge est la technique incontournable dans l'étude des fonctions (groupement d'atomes spécifiques).
- La spectroscopie Raman, conduit à des informations voisines et complémentaires, moins développée mais parfois incontournable (fonction symétrique qui conduit à une absence de moment dipolaire donc inobservable en infrarouge).

Le domaine d'énergie de ces spectroscopies est souvent décrit en nombre d'onde et couvre de 200cm^{-1} à 4000cm^{-1} .

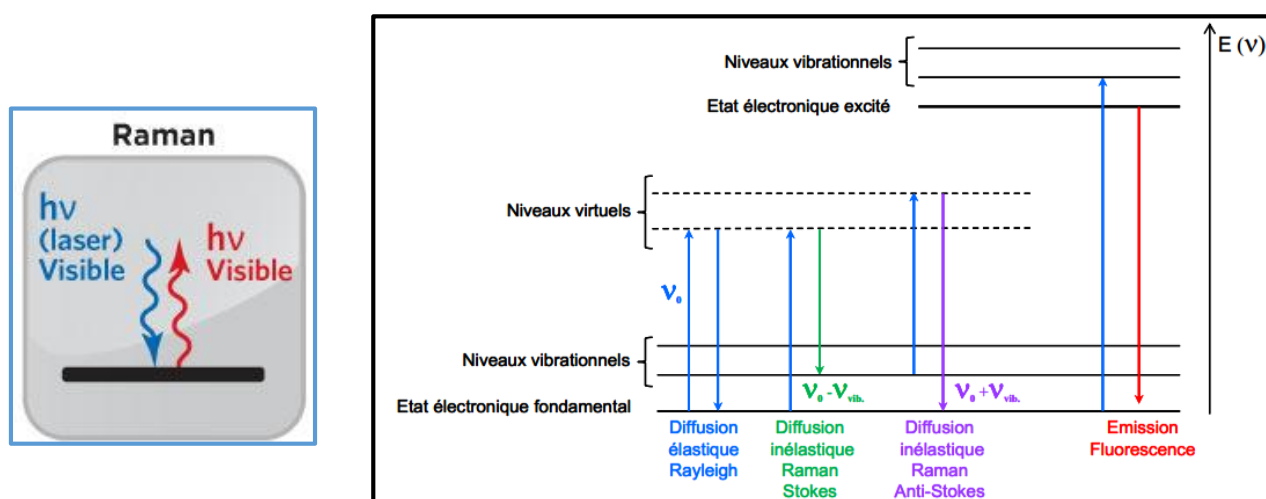


Figure 29. Différentes transitions énergétiques pouvant avoir lieu lors d'une analyse Raman. ν_0 correspond à la fréquence d'excitation du laser, ν_{vib} correspond à la fréquence de vibration de la molécule analysée

Partie I : Synthèse bibliographique

En spectrométrie Raman, l'analyse se fait par excitation du matériau. Porté à un niveau énergétique virtuel par une puissante source lumineuse monochromatique de type laser, il réémet ensuite une radiation qui est collectée puis analysée par un détecteur adéquat. Cette radiation comporte deux types de signaux. Le premier très majoritaire correspond à la diffusion Rayleigh, où la radiation incidente est diffusée élastiquement sans changement d'énergie donc de longueur d'onde. Toutefois, des photons dans un nombre très limité de cas peuvent interagir avec la matière. Celle-ci absorbe (ou cède) de l'énergie aux photons incidents produisant ainsi les radiations Stokes (ou anti-Stokes) [71-72]. La variation d'énergie observée sur le photon nous renseigne alors sur les niveaux énergétiques de dérogation et de vibration de la molécule concernée.



Figure 30.Microscope Raman DXR

Dans le cadre de la spectrométrie Raman, on s'intéresse aux énergies de vibration et de rotation, très faibles, en comparaison de celles des photons incidents. Comme l'indique les schémas ci-dessus cette dernière ne correspond pas à un saut entre deux niveaux énergétiques et l'explication du phénomène Raman doit faire intervenir des niveaux énergétiques virtuels.

II.2. Les informations accessibles par spectrométrie Raman [73]

Les informations apportées par la spectroscopie Raman sont relativement étendues:

- Identification de phases ou de composés chimiques
- Caractérisation des matériaux
- Détermination de la structure moléculaire
- Étude des systèmes amorphes et cristallins

La spectroscopie Raman fournit en effet des informations de natures différentes. Elle permet de caractériser aussi bien l'ordre à courte, qu'à moyenne ou grande distance. Le spectre Raman d'un composé indique donc aussi bien le type de liaison d'un composé que sa structure cristalline.

Ses performances sont particulièrement remarquables. Il s'agit de la méthode spectroscopique dotée de la meilleure résolution (un micron) pour l'identification et la caractérisation de composés ou de phases. Sa capacité à identifier les systèmes amorphes est également inégalée.

II.3. Les caractéristiques de la spectroscopie Raman

- La méthode est non-destructive et non intrusive, ce qui permet de l'appliquer à des systèmes réels.
- Elle est facile à mettre en œuvre. Le temps de préparation est nul ou quasi nul. La nature des échantillons solide, liquide, ou gazeuse n'intervient pas. Elle ne requiert de plus qu'une faible quantité d'échantillon (1g).
- Elle est utilisable sur des échantillons de très petite taille
- Elle permet de travailler en milieu 'hostile', notamment à haute température, en présence de phénomènes radioactifs ou sous atmosphère contrôlée.
- Elle est sensible aux petites structures (identification des systèmes amorphes, analyses des films très fins pour lesquels les méthodes de diffraction sont parfois difficile à réaliser).
- Elle peut être couplée avec d'autres méthodes analytiques, et offre la possibilité de mesures in situ.
- Dans la plupart des cas, la spectroscopie Raman permet d'obtenir à peu près le même type de résultats que la spectroscopie infrarouge, bien que le principe de la méthode soit

Partie I : Synthèse bibliographique

différent. Moins utilisée en raison de son coût, elle présente toutefois un certain nombre d'avantages :

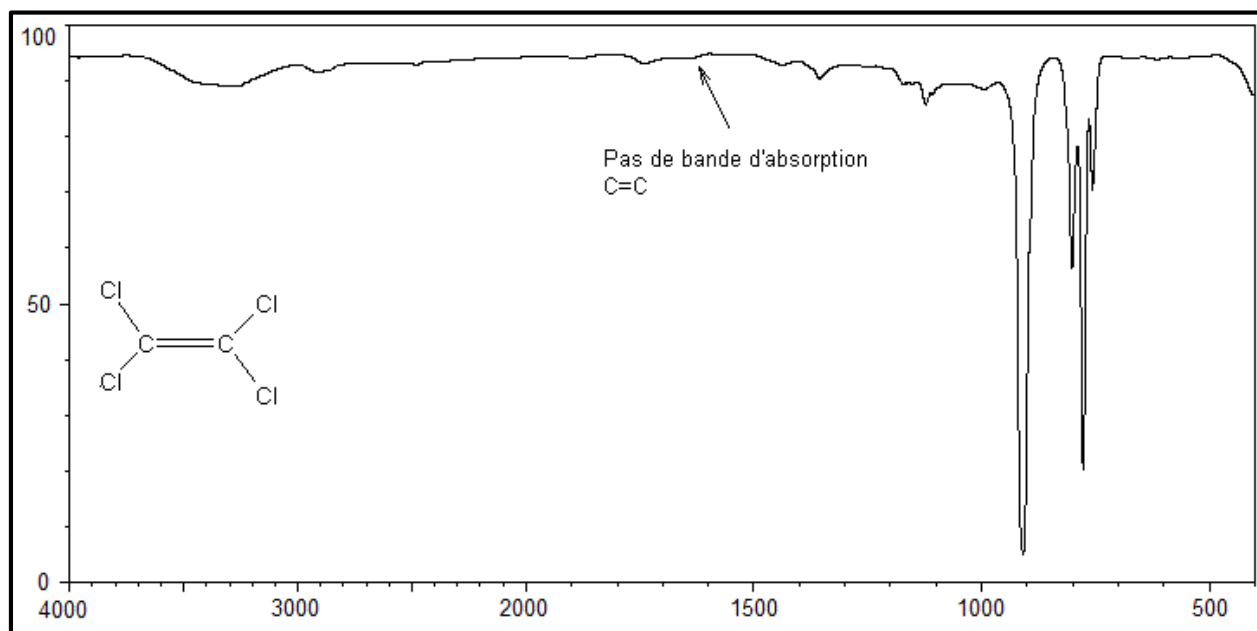
- L'effet Raman est indépendant de la longueur d'onde excitatrice utilisée, ce qui permet de supprimer certains phénomènes indésirables (fluorescence, décomposition des substances colorées...) en choisissant une longueur d'onde adéquate
- Aucune polarisation permanente des molécules n'est nécessaire (méthode efficace sur les molécules diatomiques mononucléaires)
- La présence d'eau n'est pas gênante car l'eau diffuse très peu en Raman (l'eau peut ainsi être utilisée comme solvant)
- L'utilisation de cellules en verre est possible car le verre est transparent dans les domaines spectraux concernés et son spectre Raman est très faible
- Les échantillons peuvent être utilisés sous n'importe quelle forme, sans être dilués ni altérés.
- Ces avantages sont toutefois contrebalancés par la gêne provoquée par quelques phénomènes tels que :
 - l'émission du corps noir (par échauffement de l'échantillon)
 - la fluorescence (elle est beaucoup plus intense que l'effet Raman lorsqu'elle se produit mais elle peut être évitée en changeant de longueur d'onde)
 - les réactions photochimiques (décomposition des substances colorées...)
 - les réactions multiphotoniques
 - la décomposition des échantillons par échauffement
- De plus les progrès technologiques tendent à réduire le surcoût de la spectroscopie Raman, et accroissent ses performances. Ainsi, le spectromètre Raman à Transformée de Fourier présente des avantages supplémentaires :
 - le problème de fluorescence ne se pose plus grâce à l'utilisation d'une raie excitatrice peu énergétique et les substances colorées ne risquent pas de se décomposer pour la même raison
 - l'analyse est plus rapide car tous les éléments spectraux sont mesurés simultanément
- La sensibilité est meilleure car une plus grande quantité de photons est détectée dans le même temps.

II.4. Intérêt des spectres Raman [74-75]

Les fréquences observées concernent les vibrations et les rotations des molécules, comme dans le cas de l'infrarouge. On en tirera les mêmes renseignements (fonctions, distances et angles dans les molécules). Les raies observées sont plus fines, plus précises qu'en IR.

Dans certains cas il n'y a pas de spectre IR ; c'est le cas des molécules diatomiques symétriques comme H_2 , O_2 , N_2 ; par contre elles ont un spectre Raman.

Dans une molécule telle que l'éthène $CH_2=CH_2$, la vibration d'élongation de la double liaison est symétrique car les deux extrémités de la molécule sont identiques; en IR on n'observera pas de bande d'absorption pour la vibration de valence de la double liaison et elle sera très faible dans les éthènes dont les carbones sont substitués par des groupes comparables. En Raman au contraire, cette vibration apparaît fortement et donne la preuve de la structure symétrique de l'éthylène. Pour illustrer cela, on donne ci –dessous les spectres IR et Raman du tétra chloroéthène.



Partie I : Synthèse bibliographique

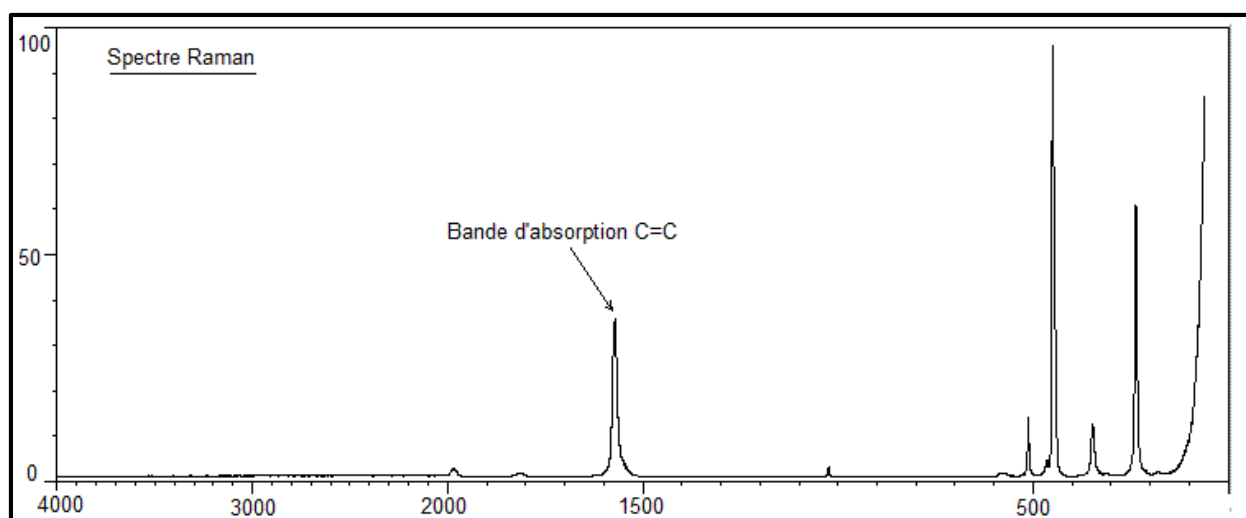


Figure 31. Comparaison d'un spectre IR et spectre Raman de la molécule tétrachloréthane

Pour conclure, on dira qu'une molécule n'a pas une symétrie importante, si toutes ses bandes En IR se retrouvent en Raman.

En spectroscopie infrarouge, il est possible de déterminer la partie du rayonnement que l'échantillon absorbe en mesurant ce qui a été transmis, ou indirectement, ce qui a été réfléchi. En spectroscopie Raman, le phénomène étudié est la diffusion inélastique de la lumière qui est très faible en intensité, et peut être masquée par la fluorescence.

Si le temps de vie de l'état excité, est suffisamment long par rapport aux autres processus de désactivation, alors, la molécule pourra retourner à l'état fondamental en émettant un photon : c'est le phénomène de fluorescence.

III .Analyse élémentaire

L'analyse élémentaire est une étape préliminaire pour la caractérisation des échantillons organiques qui peuvent être sous différents états physiques (cristallisé, pâteux, visqueux, liquide). Il s'agit d'une analyse quantitative effectuée dans le but de déterminer la composition des éléments les plus courants (carbone, hydrogène et azote) constituant l'échantillon.

Partie I : Synthèse bibliographique

Les méthodes automatiques de dosage ont connu un grand développement ; elles sont considérées comme des micro-méthodes, basées sur le principe de *Pregl* comportant une minéralisation par voie sèche ne nécessitant qu'une très petite masse de prélèvement et présentant l'avantage de doser simultanément le carbone, l'hydrogène et l'azote.

Parmi les analyseurs automatiques, on peut citer celui du type Perkin Elmer dont le schéma de principe est porté sur la Figure [76].

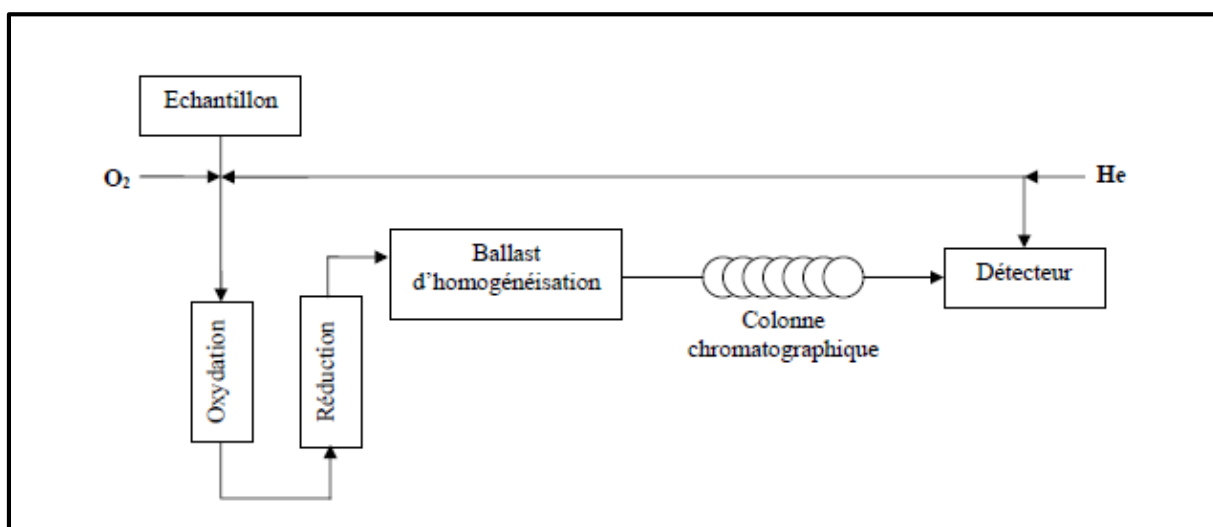


Figure 32. Schéma de principe d'un analyseur CHN automatique type Perkin Elmer

III.1. Les méthodes historiques de *Pregl* et *Simon*

Les méthodes d'analyse élémentaire actuelles ont conservé le même principe de base depuis l'origine (1830). Il consiste à trouver la composition du composé organique à partir des gaz formés au cours de sa combustion. Dans un premier temps, on réalise la combustion rapide et à température élevée du composé en présence d'un excès de dioxygène. Il se forme, si les éléments C, H et N sont présents, du dioxyde de carbone, de l'eau et un mélange de diazote et d'oxydes d'azote. L'élément oxygène est déterminé dans un autre essai par combustion en présence de carbone pour former du monoxyde de carbone. Les différentes quantités de gaz formés conduisent par calcul aux % des éléments présents. Dans les premiers appareils de microanalyse carbone/hydrogène mis au point par *Pregl* vers 1930, la combustion d'une masse précise d'environ 1 à 3 mg du composé était faite vers 750 °C dans un courant de dioxygène, la transformation de CO en CO₂ étant parachevée par passage sur un mélange d'oxyde de cuivre et de chromate de plomb (**Figure 33**).

Partie I : Synthèse bibliographique

Les masses des éléments H et C étaient calculées à partir de l'augmentation de poids de deux tubes préalablement pesés, contenant l'un du perchlorate de magnésium (pour H₂O) et l'autre de la chaux sodée (pour CO₂). La précision atteignait 0,1 % si la balance appréciait le microgramme [77].

La concentration de chacun des constituants dans le gaz vecteur est déterminée à l'aide d'un détecteur à thermoconductibilité (catharomètre), après séparation par chromatographie en phase gazeuse [76].

Plus tard (Simon, 1960) une seconde génération d'analyseurs a vu le jour (**Figure 33**), en ajoutant un dispositif de réduction des oxydes d'azote en diazote par la poudre de cuivre. Ce sont les analyseurs CHN dans lesquels, pour simplifier les opérations, les doubles pesées sont remplacées par des mesures de différences de conductibilité thermique des mélanges gazeux avant et après passage dans un piège sélectif pour l'eau ou le dioxyde de carbone.

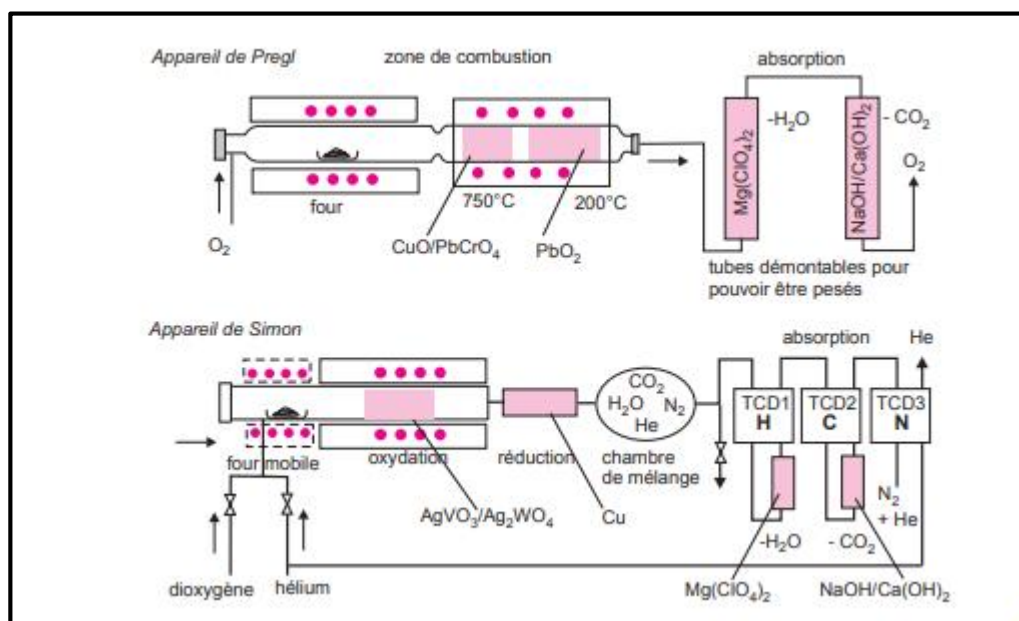


Figure 33. Les méthodes de microanalyse de Pregl et de Simon

III.2. Analyseurs organiques élémentaires CHNS – O actuels

Les analyseurs modernes conservent le principe de la combustion de l'échantillon mais la séparation des gaz formés utilise une méthode chromatographique (**Figure 34**). Une quantité de l'ordre du mg de substance est pyrolysée dans un courant de dioxygène et d'hélium. Les gaz de combustion passent ensuite sur de la poudre de cuivre pour retenir le dioxygène en excès (formation de CuO) et pour réduire les oxydes d'azote formés en diazote, du moins si cet élément est présent. Les éléments N, C, H et S sont donc à l'origine de quatre gaz N_2 , CO_2 , H_2O et SO_2 , séparables par une colonne de CPG de type remplie, associée à un détecteur à conductibilité thermique ou à capture d'électrons, plus sensible pour le SO_2 . Certains modèles permettent de doser également l'élément oxygène, toujours dosé séparément, à partir d'un second échantillon, au prix d'une adaptation du four. La pyrolyse doit, en effet, être réalisée en l'absence de dioxygène en utilisant par exemple du carbone « nickelé » (le nickel possède un effet catalytique) pour obtenir du monoxyde de carbone CO [77].

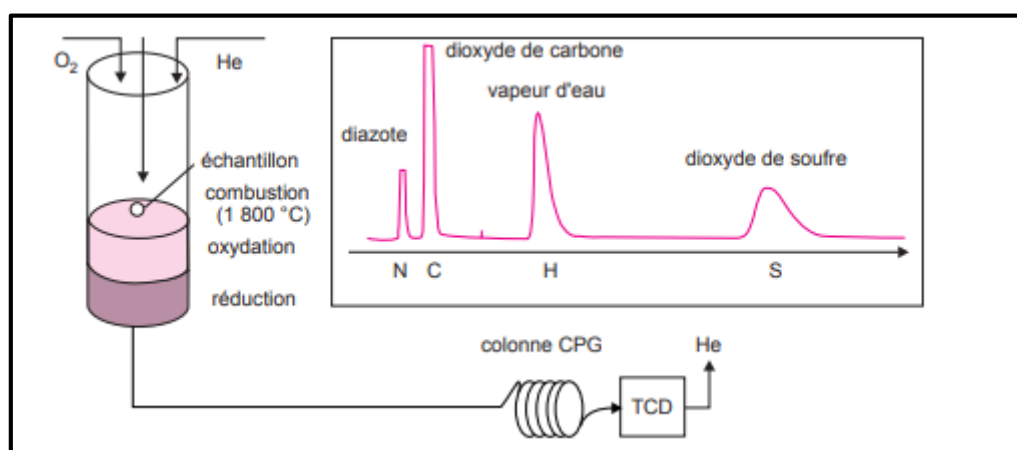


Figure 34.Appareil de microanalyse avec détection chromatographique

La colonne remplie type Porapak sépare les 4 constituants gazeux entraînés par l'hélium utilisé comme gaz vecteur. Par un étalonnage préalable, on peut déduire de l'aire des pics la concentration de chacun de ces 4 éléments dans l'échantillon.

IV .Diffraction des rayons X sur monocristal

La diffraction des rayons X est une puissante technique sans effets destructeurs destinée à caractériser les matériaux cristallins. Elle donne des informations sur les structures, les phases, les orientations privilégiées du cristal (texture) et d'autres paramètres structuraux comme la taille moyenne du grain, la cristallinité, la tension et les défauts des cristaux. Les pics de diffraction des rayons X sont produits par interférence constructive d'un faisceau monochromatique de rayons X diffusé à des angles spécifiques de chaque jeu de plans réticulaires compris dans un échantillon. Les intensités des pics sont déterminées par la distribution des atomes à l'intérieur du réseau. Par conséquent, le schéma de diffraction des rayons X est l'empreinte digitale du dispositif atomique périodique dans un matériau donné.

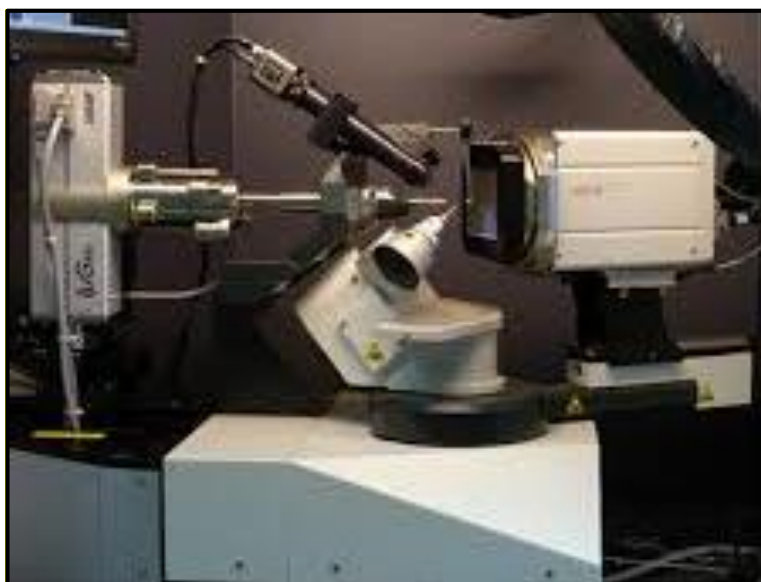


Figure 35. Diffractomètre Bruker APEXII

Ces angles de diffraction sont reliés par la loi de Bragg $n\lambda = 2d_{hkl}\sin\theta$ et reflètent la géométrie du réseau direct (système cristallin, paramètres de maille). Les taches de diffraction forment le réseau réciproque et sont donc nommées par leurs indices de Miller (hkl).

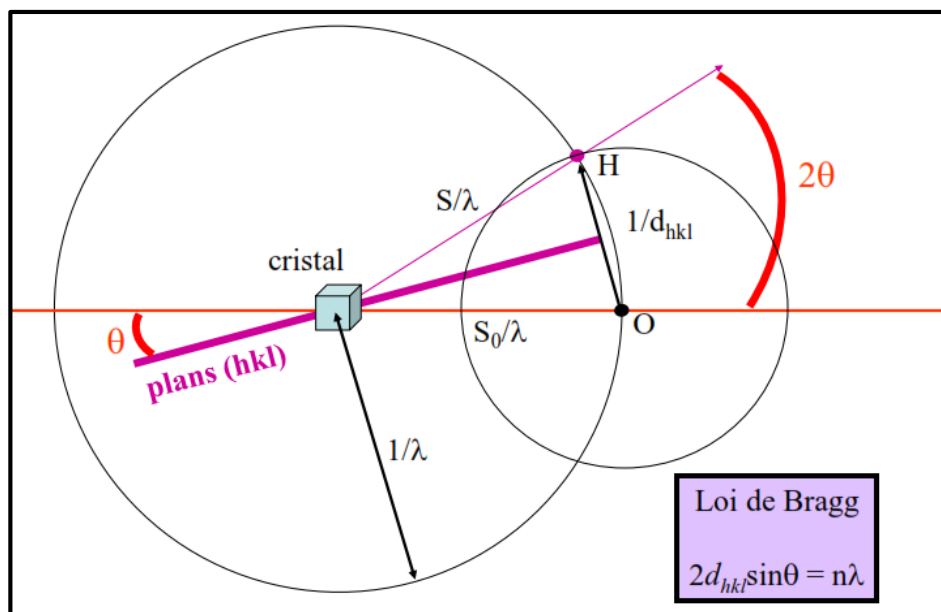


Figure 36. Géométrie de la diffraction, construction d'Ewald

Les intensités des faisceaux diffractés portent l'information sur le contenu atomique de la maille qui compose le cristal, qui est défini comme la convolution de cette maille (forme et contenu atomique) par le réseau direct.

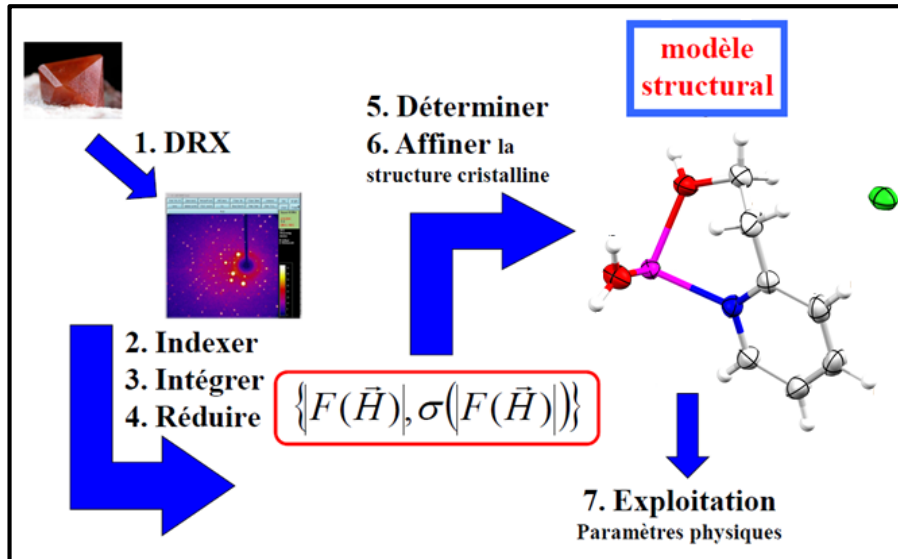


Figure 37. Principe de la diffraction des RX sur monocristal

Partie I : Synthèse bibliographique

Les étapes de l'analyse RX sont comme suit:

IV.1. Sélection et montage d'un monocristal

Le choix du cristal est primordial, l'utilisation d'un bon microscope, si possible polarisant, est nécessaire. La première exigence, qui est capitale, est de disposer d'un bon monocristal.

IV.2. Études préliminaires

Les premières étapes consistent donc à placer le cristal sur une tête goniométrique, à positionner cette dernière sur le diffractomètre et à centrer le cristal afin qu'il tourne bien sur lui-même et en coïncidence avec le centre du diffractomètre.

Une fois ce centrage réalisé, il faut définir ce que l'on appelle la matrice d'orientation c'est-à-dire la matrice qui permet de passer du système d'axe du cristal à celui du diffractomètre et réciproquement.

Après avoir centré le cristal sur le diffractomètre, il faut donc rechercher un certain nombre de réflexion, puis les indexer pour déterminer la matrice d'orientation et accéder aux paramètres de maille et au système cristallin.

IV.3. Collecte et réduction des données

IV.3.1. Collecte des données

Une fois déterminés les paramètres de maille et la matrice d'orientation, il faut définir les conditions d'enregistrements pour enregistrer les données. Le but est de mesurer avec la plus grande précision et dans le minimum de temps en évitant au maximum les causes d'erreur. Il est clair que le choix sera guidé par la qualité du cristal (sa forme, ses dimensions, son pouvoir diffractant, le profil des réflexions, la décroissance d'intensité en fonction de θ , sa stabilité). La qualité des mesures dépendra aussi de l'appareillage (Stabilité de tube RX, précision du positionnement, stabilité et reproductibilité du détecteur et de l'électronique). Enfin l'approche sera différente suivant le type de détecteur utilisé, détecteur ponctuel ou détecteur plan.

Partie I : Synthèse bibliographique

IV.3.2. Réduction des données

A partir des enregistrements, on obtient un ensemble le plus complet possible d'intensités de Bragg $I(hkl)$ des quels sont extraits les valeurs des modules des facteurs de structure $|F(hkl)|$ correspondants. Pour obtenir $|F(hkl)|$, il est nécessaire de corriger les intensités mesurées des erreurs symétriques, ainsi que de moyenniser cet ensemble de données. C'est cette procédure que l'on appelle «réduction des données». Après intégration des pics de diffraction, les intensités collectées sont corrigées des facteurs de Lorentz et de polarisation dépendant tous de la géométrie de la mesure. Ces corrections sont réalisées automatiquement et ne demande pas d'intervention de l'opérateur. On obtient un jeu de données contenant les indices, le facteur de structure et l'écart type (σ) pour chaque réflexion.

IV.4. Résolution de la structure

La résolution d'une structure cristalline est de façon générale le résultat d'approximations successives basées sur le fait que la réception du motif structural et l'image de diffraction sont liées l'une à l'autre par des sommations de Fourier. Une structure est supposée résolue lorsque la plupart des atomes ont été localisés dans la maille. Au début d'une résolution structurale, voici ce qui est connu et ce qui ne l'est pas :

- Structure:

- Le contenu de la maille est supposé connu.
- Les positions des atomes sont inconnus.

- Image de diffraction:

- Les modules des Facteurs des structures sont connus.
- Les phases sont inconnues.

La localisation de quelques atomes permettra un premier calcul des phases et l'accès à une carte de densité électronique plus précise à partir de laquelle on pourra positionner d'autres atomes et donc calculer de meilleures phases et ainsi de suite. Il faut donc pouvoir localiser quelques atomes pour commencer le processus.

Les deux importantes méthodes de détermination structurale, 'Patterson' et 'méthodes directes' diffèrent par le fait que la première va donner quelques informations sur les positions

Partie I : Synthèse bibliographique

atomiques, alors que la seconde fournira des informations sur les phases et permettra de calculer une série de Fourier.

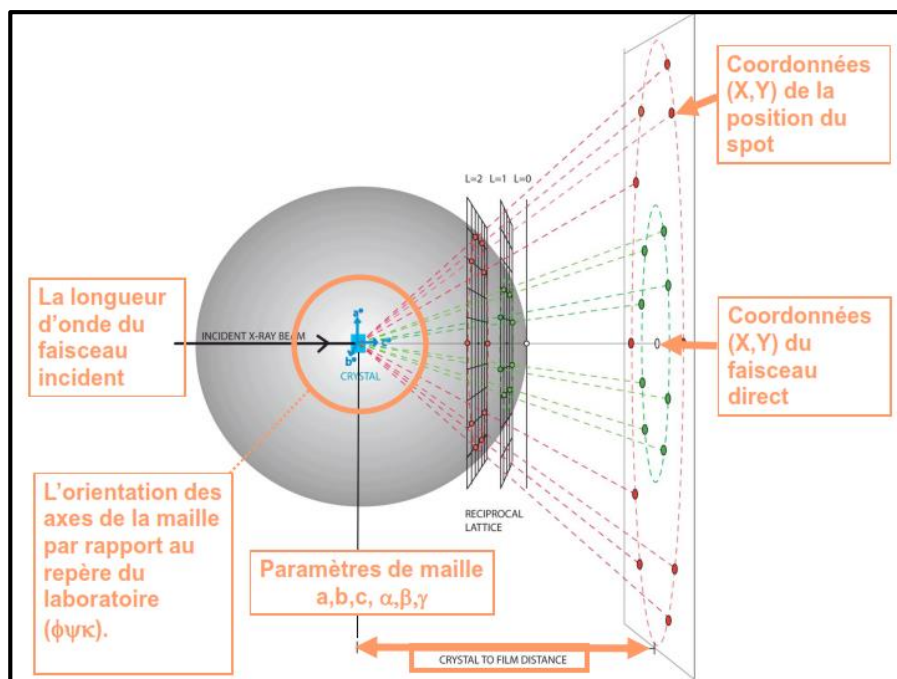


Figure 38. Indexation

IV.4.1. Patterson

Le principe de cette méthode est très simple, on ignore simplement le problème de la phase. La densité électronique (ρ) pour un point quelconque de la maille peut être calculée grâce à une série de Fourier.

$$\rho(xyz) = \frac{1}{V} \sum_h \sum_k \sum_l \{|F(hkl)| \cos [2\pi(hx + ky + lz) - \varphi(hkl)]\}$$

Où V est le volume de la maille et la sommation est réalisée sur l'ensemble des données. Le problème c'est que les phases ne sont pas connues. Toutefois, il existe une sommation que l'on peut réaliser à partir des données connues:

$$P(uvw) = \frac{1}{V} \sum_h \sum_k \sum_l \{|F(hkl)|^2 \cos [2\pi(hu + kv + lw)]\}$$

Partie I : Synthèse bibliographique

Cette fonction est connue sous le nom de «Fonction de Patterson» du nom de son inventeur, A.L.Patterson. Sa signification peut être visualisée en se rappelant que l'amplitude de chaque facteur de structure contient l'information sur la nature et la position des atomes dans une famille de plan diffractant.

$$F(h) = \sum_m f_m \exp(2\pi i h x_m) \quad F(-h) = \sum_n f_n \exp(-2\pi i h x_n)$$

$$|F(h)|^2 = F(h) \times F(-h) = \sum_m \sum_n f_m f_n \exp(2\pi i h (x_m - x_n))$$

Il ressort de ces équations que l'ensemble des valeurs de $|F(h)|^2$ contient les facteurs de structures d'une structure contenant des objets dont les intensités sont les produits des différentes paires d'atomes dans la structure f_m et f_n et dont les positions sont les vecteurs entre les positions atomiques $(x_m - x_n)$. La même démonstration s'applique pour un espace à 3 dimensions.

L'utilisation des uvw à la place de xyz est là pour bien souligner que l'espace dans lequel la sommation de Patterson est effectuée n'est pas l'espace ordinaire.

IV.4.2. Les méthodes directes

Les deux programmes utilisés sont SHELXS-86 et Sir qui existent sous différentes versions.

- Les programmes SHELX :

La plus ancienne version est SHELXS-86 qui permet d'obtenir la structure soit par méthodes directes, soit par Patterson. SHELXS-97 est une version plus récente qui fournit les mêmes informations que SHELXS-86 à savoir un jeu de pics qu'il faut interpréter en fonction de la nature chimique du composé. Le dernier programme de George Sheldrick est SHELXD qui lui est plus orienté vers les grosses molécules et les petites protéines.

- Les programmes Sir:

Les deux versions pour les petites molécules sont Sir92 et Sir97, La différence avec les programmes SHELXS est que les programmes tentent une interprétation du motif et vont donc affecter des atomes aux pics. Les programmes Sir92 et Sir97 sont sensibles au contenu de la maille et peuvent ne pas trouver la structure si le contenu est loin de la vérité

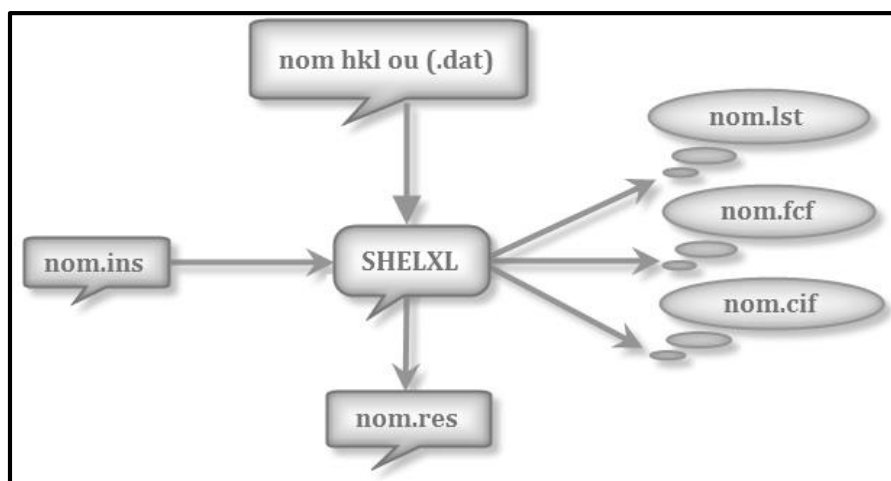
Partie I : Synthèse bibliographique

(présence d'un atome lourd non prévu, solvant tels que CH_2Cl_2 , CHCl_3 ,...). Le programme Sir 2004 est une version plus récente, orienté vers les grosses molécules et les petites protéines. L'ensemble de ces programmes possède une sortie au réseau format SHELXL-97 qui peut être éditée et transformée en un fichier d'instruction **.ins**.

IV.4.3. Affinement de la structure

A la fin des quatre étapes précédentes, on obtient les coordonnées atomiques soit de la totalité du motif hors hydrogène, soit seulement d'une partie de la structure. Fréquemment, en particulier lorsque le modèle est trouvé grâce aux méthodes directes, l'assignation des atomes peut être correcte et certains atomes n'ont même pas d'assignation (pics). De plus, les coordonnées sont très souvent approximatives et de nombreux détails de la structure restent à déterminer : atomes légers, hydrogènes, solvants, désordres, etc. Le chemin qui mène du modèle initial à la structure finale et publiable est appelé 'Affinement de la structure'. Dans la plupart des cas, ce chemin est une autoroute qui conduit très rapidement à la structure, mais ce chemin peut être parfois très difficile et demande beaucoup de temps et d'effort.

Le programme le plus utilisé dans l'affinement est le SHELXL. Le principe de ce programme est résumé dans l'organigramme ci-dessous:



Seulement deux fichiers sont nécessaires, le fichier **hkl** qui contient les réflexions sous la forme $h,k,l, F^2, \sigma(F^2)$ et le fichier **ins** qui contient à la fois les différentes instructions pour l'affinement et les coordonnées atomiques. Durant l'affinement, un résumé des opérations apparaît sur l'écran et une sortie plus complète est donnée dans le fichier **lst**. Après plusieurs

Partie I : Synthèse bibliographique

cycles d'affinement, un fichier **res** est généré. Les fichiers **cif** et **fcf** sont utilisés à la fin de l'affinement lorsque la structure est totalement résolue pour préparer la publication des résultats.

Toutes les instructions sont basées sur un maximum de 4 caractères comme TITL, CELL, ZERR (Z nombre de motifs dans la maille, ERR écart types sur les paramètres de la maille), LATT, SFAC, UNIT, MERG, etc... Les atomes doivent être placés entre l'instruction UNIT et la dernière instruction HKLF.

Le programme SHELXL rejette automatiquement les réflexions systématiquement absentes. Le classement et le conditionnement des réflexions équivalentes (*merging*) est contrôlé par l'instruction MERG : les réflexions équivalentes sont alors moyennées, toutefois, par défaut, les paires de Friedel ne sont pas moyennées dans le cas des groupes non-centrosymétriques. Les facteurs R_{int} et R_{sigma} sont calculés grâce aux formules suivantes:

$$R_{int} = \frac{\sum |F_0^2 - \langle F_0^2 \rangle|}{\sum F_0^2} \quad R_{sigma} = \frac{\sum \sigma(F_0^2)}{\sum F_0^2}$$

- Dans la première équation, les deux sommations impliquent toutes les réflexions pour lesquelles une moyenne a été calculée.

$\langle F_0^2 \rangle$ Est la valeur moyenne de toutes les réflexions équivalentes mesurées. Dans la deuxième équation, la sommation est faite sur l'ensemble des réflexions qui sont dans la liste après avoir été moyennées et le σF_0^2 est la déviation standard estimée pour une réflexion moyennée.

IV.4.4. Les moindres carrés

Le modèle initial n'est pas le résultat direct d'une expérience de diffraction mais une interprétation de la densité électronique calculée à partir des intensités mesurées et de phases obtenues d'une certaine façon. De nouvelles phases plus précises peuvent être calculées à partir des positions atomiques ce qui permet de recalculer plus précisément la densité électronique. A partir de cette nouvelle carte de densités, il est possible de mieux préciser la position des atomes déjà placés mais aussi de localiser d'autres atomes. Une fois que le modèle apparait correct, il est alors possible de mieux décrire les atomes en leur

Partie I : Synthèse bibliographique

affectant des facteurs d'agitations thermiques anisotropiques (ellipsoïdes) plutôt qu'isotropes (sphères). A ce stade de l'affinement, il est alors possible de localiser les atomes d'hydrogène ou de calculer leurs positions. L'ensemble de la procédure pour obtenir le modèle le plus proche de la réalité est ce que l'on appelle l'affinement.

Tout au long de cette procédure, il est impératif d'évaluer le modèle que l'on construit. Il existe de nombreuses approches mathématiques pour définir une fonction qui est supposé avoir un minimum pour le meilleur modèle possible. Dans le cas des petites molécules, la méthode de choix est l'affinement par moindres carrés : à partir d'une transformée de Fourier, un jeu complet de facteur de structure est calculé pour le modèle. Les valeurs calculées sont alors comparées aux valeurs mesurées. Le meilleur modèle est celui qui minimise la fonction M:

$$M = \sum (F_o^2 - F_c^2)^2 \quad \text{ou} \quad M = \sum w(|F_o| - |F_c|)^2$$

Dans ces deux fonctions, F est le facteur de structure et les indices o et c se référant aux valeurs observées et calculées. Chaque opération dans ces sommations est multipliée par un poids individuel w qui reflète la confiance que l'on a dans l'observation et qui est calculée à partir de la déviation standard σ de la mesure.

IV.4.5. Les facteurs d'accord ou de fiabilité

La validité du modèle est estimée à l'aide de différents facteurs d'accord R . Ces facteurs doivent converger vers un minimum et doivent être fournis lorsque la structure est publiée. Les trois facteurs les plus couramment utilisés sont:

- Le facteur pondéré basé sur les F^2 : wR (ou $wR2$ dans SHELXL), qui est plus spécifiquement relié à un affinement sur les F^2 :

$$wR = \left[\frac{w(F_o^2 - F_c^2)^2}{\sum wF_o^2} \right]^{1/2}$$

- Le deuxième facteur non pondéré, est basé sur les F : R (ou $R1$ dans SHELXL).

$$R = \frac{\sum ||F_o| - |F_c||}{\sum |F_o|}$$

- Le dernier facteur est connu sous le nom de « goodness of fit»: **Goof**, **Gof**, ou simplement **S**.

$$S = \left[\frac{\sum w (F_o^2 - F_c^2)^2}{(N_R - N_P)} \right]^{1/2}$$

Dans cette équation, N_R est le nombre de réflexions indépendantes et N_P le nombre de paramètres affinés (nombre de variable). Théoriquement, si le schéma de pondération est bien choisi, la valeur de **S** doit être voisine de 1.

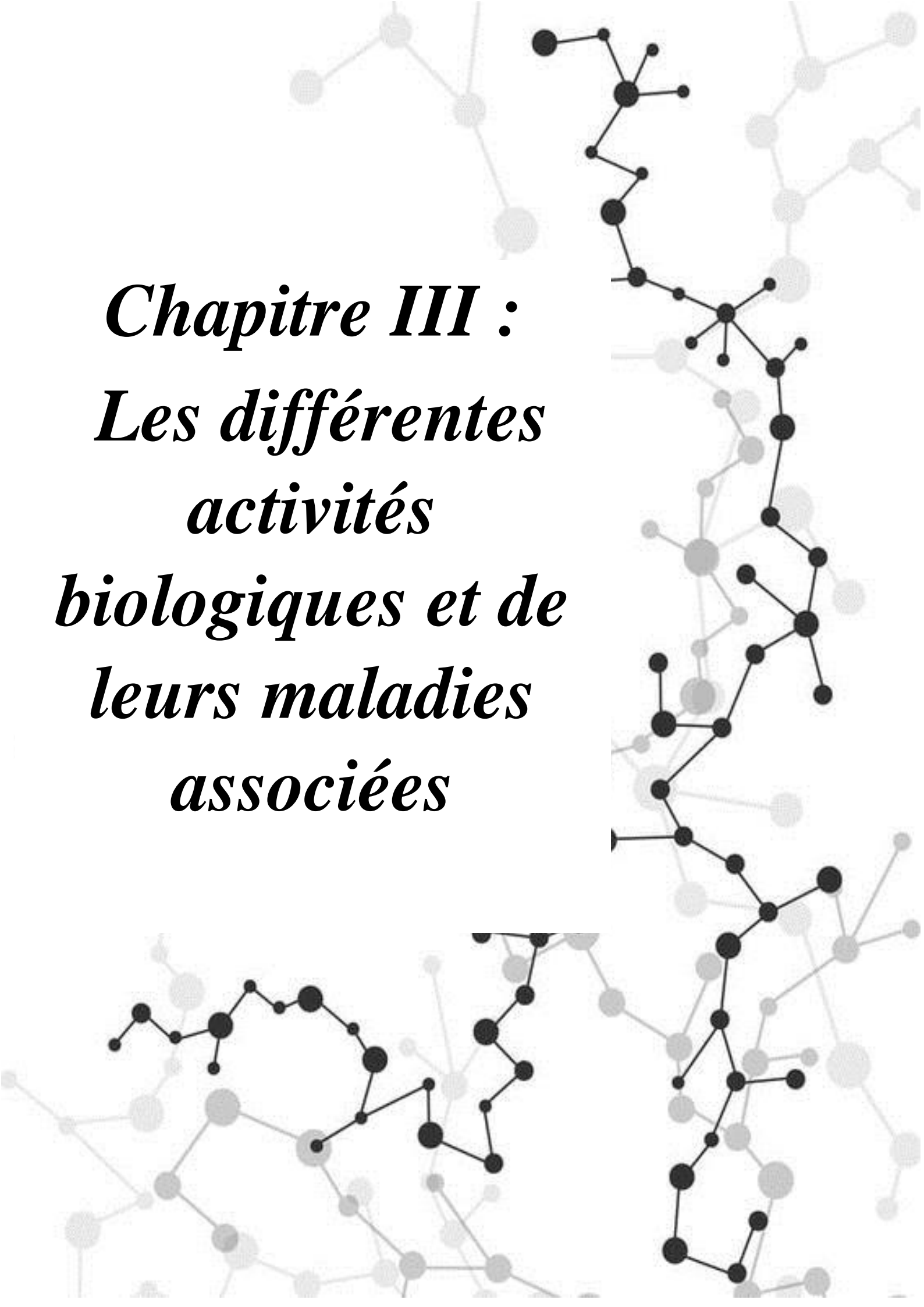
IV.5. Analyse, interprétation et présentation des résultats

A la fin de l'affinement réussi d'une structure, on obtient un modèle contenant les positions atomiques de l'ensemble des atomes de la molécule ce qui permet de générer des vues de cette molécule mais aussi de calculer différentes valeurs qui caractérisent le composé étudié. Mais avant de présenter et d'interpréter les résultats, il faut être sûr que le modèle est correct et que l'affinement est réussi. Il existe de nombreux critères pour juger de la validité d'une structure:

- Valeurs des facteurs d'accords **R** et **wR2**.
- Examen des facteurs de température anisotropes.
- Vérifier de la bonne convergence de l'affinement, la valeur du déplacement moyen des atomes sur l'écart type doit être le plus petit possible (mean shift/esd).
- Le GOF (goodness of fit) doit être voisin de 1.
- La structure doit être chimiquement correcte.

La présentation des structures sous forme d'illustrations graphiques par différents programmes de dessin tels que: Ortep3, Mercury, Diamand, PlatonetPOV-Ray sont utilisés pour dessiner les différentes vues en perspective des molécules.

Chapitre III :
Les différentes
activités
biologiques et de
leurs maladies
associées



Partie I : synthèse bibliographique

I. Activités anti-oxydante

Tout organisme aérobie est totalement dépendant du processus de phosphorylation oxydative des mitochondries afin d'assurer l'approvisionnement en adénosine triphosphate (ATP) et d'assurer l'homéostasie en énergie [78].

Cet apport d'oxygène est donc indispensable à la survie à cause du potentiel oxydatif extrêmement élevé, mais c'est également l'un des éléments les plus dangereux en raison de l'oxydation de chacune des molécules biologiques. Pour cette raison, des organismes vivants ont mis au point des systèmes antioxydants puissants de même que des systèmes de signalisation très sensibles [78].

I.1. Le syndrome de stress oxydatif

En 1985, Sies a initialement défini le concept de "stress oxydatif" comme étant une situation de déséquilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants, entraînant une plus grande biodisponibilité des ROS et des dommages tissulaires [79] (**Figure 39**).

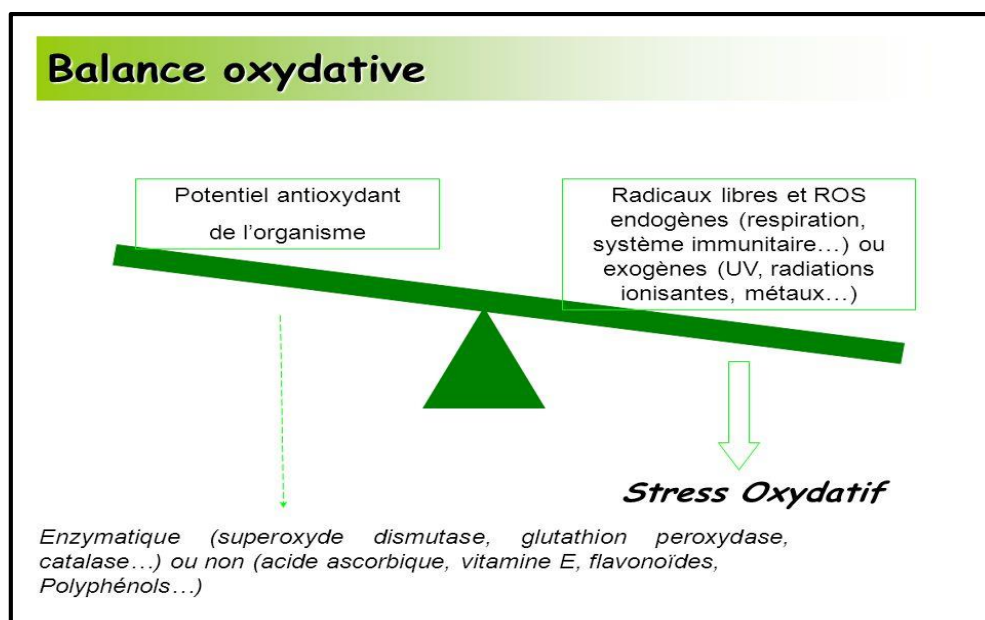


Figure 39. Stress oxydatif: déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants [80]

Partie I : Synthèse bibliographique

Le syndrome de stress oxydatif est une situation inhabituelle par laquelle nos cellules ou nos tissus passent parfois quand ils sont sujets d'une production de radicaux libres oxygénés endogène ou exogène qui excède leur pouvoir antioxydant [81].

Le surplus de ces radicaux libres non-neutralisés par les moyens de défense sont très dommageables à l'égard des macromolécules indispensables de nos cellules, entraînant notamment l'expression anormale des gènes et des récepteurs membranaires, la prolifération ou la mort des cellules, les troubles immunitaires, la mutagenèse, le stockage de protéines ou de la lipofuscine au sein des tissus. C'est pourquoi de nombreuses maladies humaines ou animales comportent un stress oxydatif, soit local ou général, à leur La pathogenèse, tout comme l'inflammation à laquelle elle aboutit, est fréquemment associée [81].

1.2. Les radicaux libres

Les radicaux libres constituent des espèces chimiques, ainsi que des molécules, fragment de molécule ou atome unique, apte à avoir un mode d'existence indépendant (libre) en comportant au moins un électron unique (un électron) non apparié sur une orbite. Ce qui lui donne une grande réactivité et par conséquent une demi-vie très courte. En fait, ces radicaux libres ont toujours tendance à de remplir leur orbite en captant un électron afin de devenir davantage stable (**Figure 40**) [82].

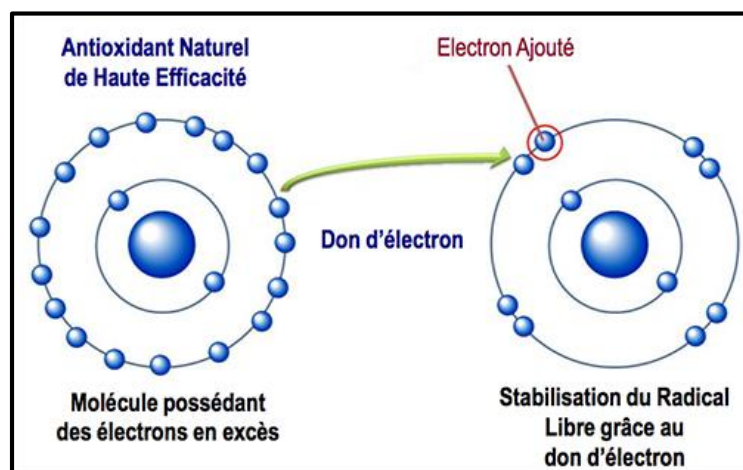


Figure 40. Structure de l'atome, l'antioxydant donne de l'électron aux radicaux libres

Partie I : synthèse bibliographique**I.3. Les antioxydants**

Les antioxydants constituent des molécules qui contribuent au piégeage des espèces réactives qui provoquent le stress oxydatif [83].

Le système de défense antioxydant est constitué principalement de deux systèmes endogènes fondés sur des actions enzymatiques, l'autre exogène reposant sur divers acteurs [84].

I.4.Type d'antioxydant

- **Les antioxydants enzymatiques :**

Les antioxydants d'origine naturelle contenus dans l'organisme permettent de lutter efficacement contre le stress oxydatif dû à divers processus physiologiques. Il s'agit notamment d'enzyme anti-oxydante comme (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase4) [82].

- L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) est un élément clé de l'inflammation en général, mais aussi des maladies rhumatismales en particulier, L'enzyme superoxyde dismutase (SOD) contribue à la neutralisation d' ($O_2^{\bullet-}$) en le convertissant en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ce qui permet d'éviter la formation de dérivés d'une puissance supérieure des substances toxiques telles que le peroxynitrite ($ONOO^-$) et le radical hydroxyle (HO^\bullet) (Figure 41) [85].

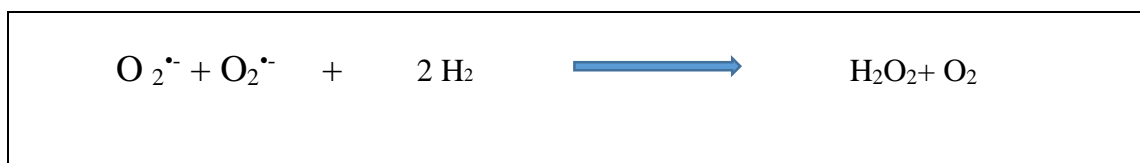


Figure 41. Action du superoxyde dismutase sur l'anion superoxyde

- La glutathion peroxydase 4 (GPX4) est une enzyme antioxydante qui joue un rôle primordial pour de nombreuses pathologies du fait de sa faculté à diminuer l'hydroxyde de phospholipide (PL-OOH) et empêcher la suractivation de la lipoxygénase (LOX) et la peroxydation des lipides. Selon les résultats obtenus par une autre étude, le GPX4 pourrait contribuer de manière décisive à protéger les mitochondries des lésions oxydatives au niveau de l'épithélium intestinal [86] (Figure 42).

Partie I : Synthèse bibliographique



Figure 42. Action de la glutathion peroxydase [87]

- c. La catalase (EC 1.11.1.6), qui est l'enzyme capable de métaboliser l' H_2O_2 mais aussi de réagir avec beaucoup d'autres substrats, remonte au 19^{ème} siècle. Lors de la réaction enzymatique menant à la destruction de H_2O_2 , la catalase subit d'abord une oxydation pour donner une forme intermédiaire de fer hautement concentré, connue sous le nom de composé I (Cpd I), qui est alors ramenée à l'état de repos par une seconde molécule de H_2O_2 [86] (Figure 43).

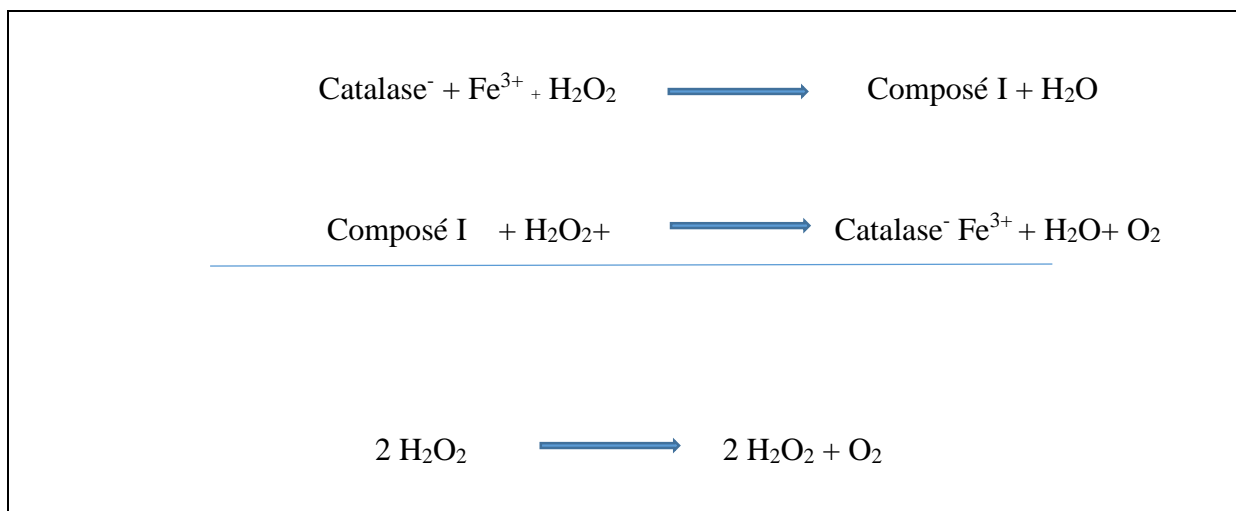


Figure 43. Action de la catalase [89]

- **Antioxydants non enzymatiques :**

Les antioxydants issus des aliments tels que la vitamine C, la vitamine E et les caroténoïdes font l'objet d'une prise exogène en raison de leur action protectrice vis-à-vis des ROS. Les antioxydants ont notamment pour effet bénéfique de stimuler la signalisation cellulaire, outre leur capacité à éliminer la formation de radicaux [83].

- a. **Acide ascorbique :** La vitamine C (acide ascorbique) est un donneur d'électrons, aussi appelé réducteur de vitamine C. Parce que les électrons de la vitamine C permettent une réduction du nombre d'espèces oxydées, ou d'oxydants, cette vitamine est souvent considérée comme un antioxydant, Cette vitamine antiscorbutique ne peut être

Partie I : synthèse bibliographique

produite par l'homme et les autres primates, mais doit être extraite de l'alimentation [90].

- b. **Tocophérols** : La vitamine E désigne collectivement quatre tocophérols (α -, β -, γ -, et δ -tocophérols) et quatre tocotriénols (α -, β -, γ -, et δ -tocotriénols) contenus au sein des aliments. Elle est un important antioxydant liposoluble qui piège les radicaux peroxyde et empêche l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) [91].
- c. **Les caroténoïdes** : Ce sont des pigments de couleur orange à jaune, liposolubles, appartenant à la famille chimique des terpénoïdes. Ceux-ci ont une activité antioxydante grâce à une longue chaîne de polyéthylène qui permet de neutraliser les ORO^{\cdot} , HO^{\cdot} , O_2^{\cdot} . Le maintien de l'équilibre redox est indispensable pour le bon fonctionnement de l'organisme. Ainsi, la production d'énergie, la multiplication cellulaire, les expressions géniques et le système immunitaire font partie des éléments qu'il régule [84].

1.5. Tests de l'évaluation des capacités antioxydante

De nombreuses techniques ont été développées afin de permettre la quantification rapide de la capacité antioxydante des extraits in vitro et in vivo, simple et fiable. De manière générale la plupart des essais d'évaluation de la capacité antioxydante sont fondés sur le mécanisme de transfert d'hydrogène ou d'électrons [92].

1.6. Capacité de piégeage du radical libre DPPH

Ce procédé a été élaboré par **Blois (1958)** dont le but consiste à déterminer l'activité antioxydante grâce à l'utilisation du radical libre stable α , α -diphényl- β -picrylhydrazyl.

La présence de composés anti-radicalaires contribue à la réduction de la DPPH- en faisant passer l'hydrogène au 2,2'-diphényl-1-picrylhydrozyl jaune. On peut facilement suivre la décoloration de ce radical en mesurant l'absorbance à 515-520 nm [93] (**Figure 44**).

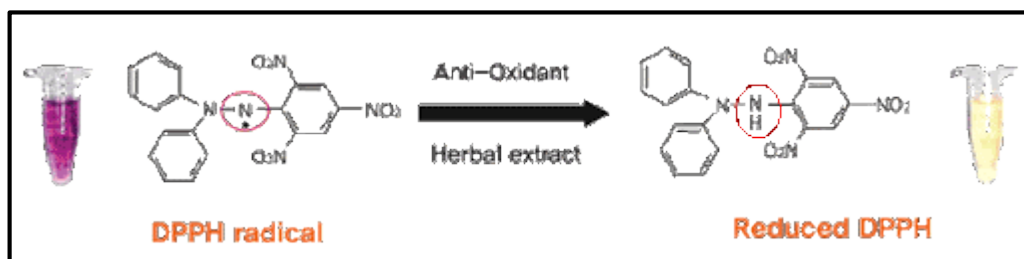


Figure 44. Réaction de réduction du radical DPPH avec un composé antiradicalaire (AH)

*Partie I : Synthèse bibliographique***II. Activités anti-cholinestérase***II.1. Maladie d'Alzheimer*

Avec le vieillissement de la population, la maladie d'Alzheimer (MA) est devenue un problème majeur de santé publique, elle a été décrite pour la première fois en 1907 par Aloïs Alzheimer elle présente la cause la plus fréquente de démence associée à un trouble neurodégénératif lent et progressif, il s'agit d'une affection neurodégénérative du tissu cérébral caractérisée par une détérioration et la perte progressive et irréversible des fonctions cognitives et intellectuelles notamment de la mémoire, le langage et des troubles comportementaux[94] , ce qui rend la vie quotidienne de ces malades plus difficile. Le cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer porte deux types de lésions spécifiques sont la plaque sénile qui est formée par les dépôts amyloïdes et les **dégénérescences neurofibrillaires**, Chacune de ces lésions est associée à une protéine le **peptide β -amyloïde** pour les dépôts amyloïdes, et la **protéine tau phosphorylée** pour les dégénérescences neurofibrillaires et sont accompagnées d'une diminution des niveaux de l'acétylcholine dans le cerveau.

Cette maladie touche plus de 47 millions de personnes dans le monde et ce nombre devrait augmenter de manière significative au cours des prochaines années à cause du manque de traitement efficace ce qui rend la prise en charge de cette pathologie lourde. Les traitements actuels ne sont pas curatifs mais permettent seulement de diminuer les symptômes de la maladie, l'un de ces traitements est l'utilisation des inhibiteurs du cholinestérase et/ou les antiglutamates (mémantine) [95].

II.1.1. Les anticholinestérasique

Ce sont les premiers médicaments comportant une indication spécifique pour la maladie d'Alzheimer, Trois des quatre actuels médicaments approuvés pour le traitement des patients avec la maladie d'Alzheimer sont des inhibiteurs synthétiques de cholinestérase (ChE) : donépézil, rivastigmine et tacrine, l'autre inhibiteur, la galantamine est un alcaloïde tertiaire d'origine naturel (**Figure 45**).

Partie I : synthèse bibliographique

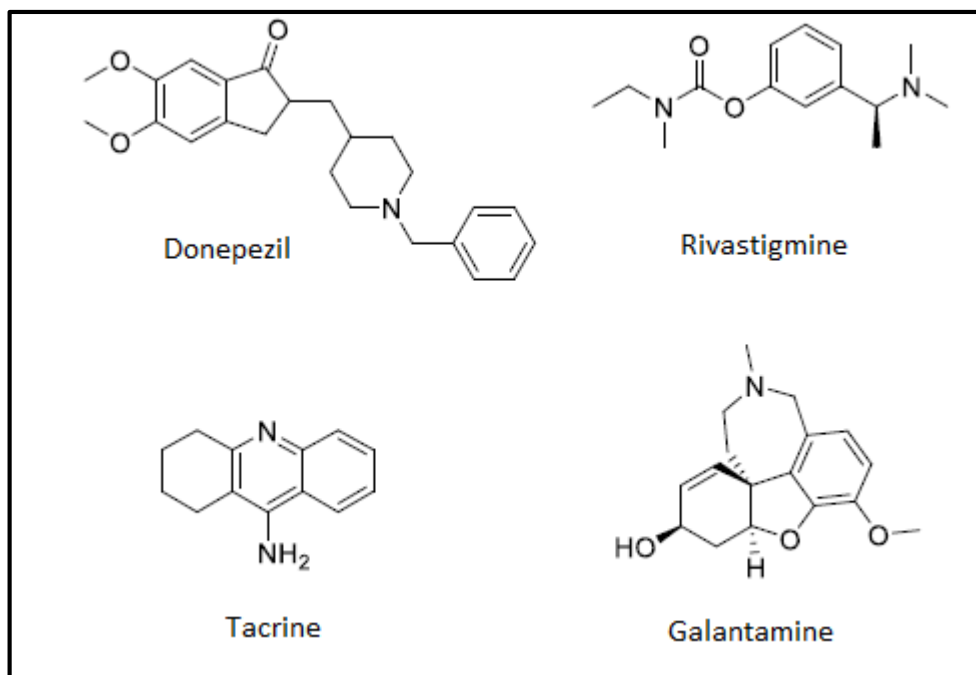


Figure 45.Structure des inhibiteurs de l'AChE

Les scientifiques estiment qu'on peut diminuer les symptômes en stimulant les neurones encore intacts et que cette stimulation passe par une augmentation d'acétylcholine (ACh) dans le cerveau [96].

L'hypothèse cholinergique est l'explication la plus fréquente du mécanisme de développement de la MA, il a été constaté que la formation de plaques amyloïde peut-être causée par les deux cholinestérases (ChEs) : l'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase [97].

L'acétylcholine est un neurotransmetteur qui joue un rôle important dans le système nerveux pour la mémoire et l'apprentissage, il permet le passage d'un influx nerveux d'un neurone à un autre au niveau des synapses. Ce neurotransmetteur excitateur est régulé au niveau cérébrale par une enzyme particulière qui est l'acétylcholinestérase (AChE) qui contribue à sa dégradation en deux précurseurs : la choline et l'acétate respectivement (**Figure 46**), par hydrolyse de la liaison ester du neurotransmetteur acétylcholine. Il se trouve principalement dans les synapses cholinergiques du système nerveux central où son activité met fin à la transmission du signal synaptique. Dans la maladie d'Alzheimer les déficits cholinergiques spécifiques dans le cerveau sont causés soit par la baisse de la production de ce neurotransmetteur soit par l'augmentation de l'activité de l'AChE [98-99].

Les traitements actuels utilisent des inhibiteurs de cette enzyme qui vise à améliorer la neurotransmission cholinergique en augmentant la quantité d'Acétylcholine dans la synapse, en bloquant l'acétylcholinestérase qui dégrade l'ACh dans la fente synaptique. Les inhibiteurs

Partie I : Synthèse bibliographique

de l'acetylcholinestérase sont une thérapie recommandée pour les patients atteints de la maladie d'Alzheimer légère, modérée ou sévère [100].

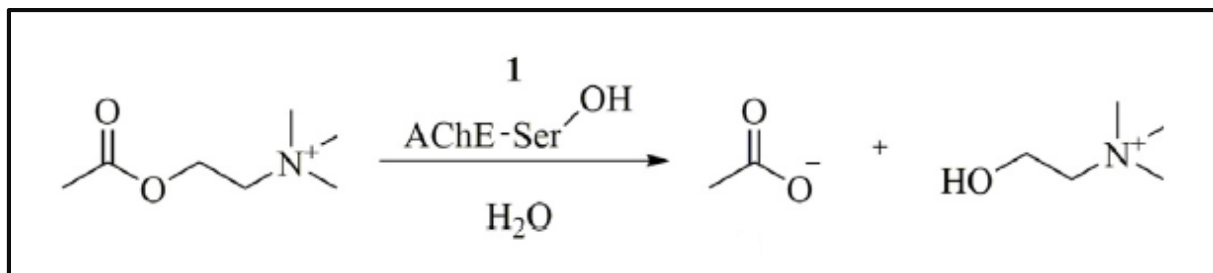


Figure 46. Hydrolyse d'ACI par l'AChE

Dans les conditions normales, l'ACI est principalement dégradée par l'AChE au lieu de la BuChE, tandis que la physiologie et le rôle de BuChE n'ont pas encore claires. Le rôle de la BuChE soit considéré comme mineur dans la régulation du niveau d'ACh cérébrale, il a été démontré qu'à un stade avancé de la MA le niveau d'AChE dans l'hippocampe et le cortex temporal diminue tandis que celui de la BuChE augmente considérablement.

Pour éviter les effets néfastes causés par la suppression de l'activité de l'AChE, le développement des inhibiteurs spécifiques de la BuChE pour augmenter les niveaux cérébral d'ACI est souvent très essentiel [97].

III. Activité antityrosinase

III.1. La pigmentation

III.1.2. Introduction

La coloration de la peau est très diversifiée, en partie en raison de la présence de la pigmentation. Cette couleur résulte de l'association de divers pigments tels que l'hémoglobine du sang, les caroténoïdes, la bilirubine mais principalement de la présence d'un pigment appelé mélanine qui joue un rôle important dans la protection de la peau humaine contre les effets nocifs du rayonnement UV du soleil, elle détermine également notre apparence phénotypique.

La synthèse excessif de ce pigment provoque divers trouble dermatologique, Les pathologies cutanées sont traitées au même titre que les dysfonctionnements des autres organes du corps humain. Parmi les dysfonctionnements cutanés [99], les hyperpigmentations et leur traitement tiennent une place importante dans la recherche en dermocosmétique. Ils ont pour origine, un dérèglement dans la production de mélanines, par

Partie I : synthèse bibliographique

conséquent, ces hyperpigmentations sont traitées par des produits dépigmentant inhibant la mélanogénèse et dans un premier ordre les inhibiteurs compétitifs de la tyrosinase [102].

III.1.3. La mélanogénèse

La mélanogénèse est le processus qui conduit à la synthèse des mélanines par les mélanocytes matures qui sont de grosses cellules dendritiques situées dans la couche basale de l'épiderme. L'ensemble de ce processus met en jeu différentes enzymes qui catalysent chacune des réactions enzymatique et chimique aboutissant à la formation des pigments mélaniques dans des organites spécialisés appelés les mélanosomes [102].

III.1.4. La synthèse des mélanines

La mélanine est un biopolymère hétérogène. Il existe deux types de mélanine, les eumélanines, pigments marron ou noirs et les phaeomélanines, pigments jaunes, bruns ou rouges, qui résultent d'une même voie métabolique initiale

La mélanine est synthétisée par les mélanocytes à partir de l'hydroxylation de L-phénylalanine à L-tyrosine ou directement à partir de L-tyrosine, puis stockée dans des organelles, les mélanosomes qui sont ensuite transférés vers les kératinocytes des couches basales de l'épiderme pour jouer leur rôle physiologique [101].

Les enzymes impliqués dans la mélanogénèse sont la tyrosinase, la tyrosine hydroxylase isoformes I (TH-1), phénylalanine hydroxylase (PAH), les Tyrosinases Related Proteins 1 et 2 (TRP 1 et 2). La synthèse commence par l'activation de l'enzyme clé de la mélanogénèse, la tyrosinase qui catalyse les deux premières étapes majeures de la production de mélanine par l'hydroxylation de la L-tyrosine en L-3,4-dihydroxyphénylalanine (L-DOPA ou *o*-diphénol) grâce à son action de monophénolase, par la suite le L-dopa est oxydée en L-dopaquinone par une action de diphénolase, à ce niveau les voies de synthèse diffèrent pour l'eumélanine et la phaeomélanine [103-104] Dans la voie de l'eumélanine la dopaquinone transforme au leucodopachrome et dopachrome, ce dernier se transforme à son tour soit spontanément à l'intermédiaire 5,6-dihydroxyindole (DHI) qui donne l'indole 5,6-quinone, et par conversion enzymatique en acide 5,6-dihydroxyindole-2 carboxylique (DHICA) par la TRP-2 qui donne l'acide indole 5,6-quinone carboxylique par la TRP-1, enfin, la polymérisation des indoles et des quinones conduit à la formation d'eumélanine [102]. La voie de synthèse est orienté vers la production de la phaeomélanine en présence de cystéine ou du glutathion par conversion de la dopaquinone en cystéinyldopa ou en glutathionyldopa (**Figure 47**) [105].

Partie I : Synthèse bibliographique

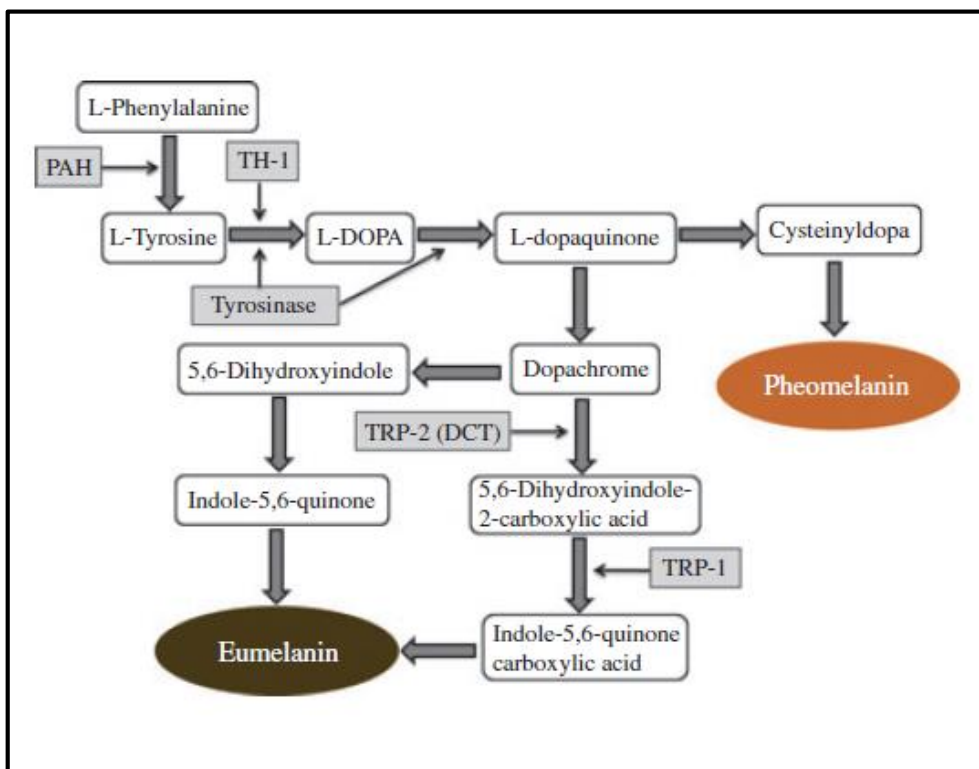


Figure 47. La voie de synthèse de mélanine

III.1.5. Traitement de désordres hyperpigmentaires par inhibition de la tyrosinase

La tyrosinase (monophénol monooxygénase, EC 1.14.18.1) est une métalloprotéine contenant du cuivre appartenant à la famille de protéines de cuivre de type 3, la structure détaillée de la tyrosinase humaine n'a pas encore été résolue. Elle joue un rôle central dans la voie de synthèse de la mélanine. Bien que la mélanogénèse soit un processus bénéfique pour se protéger des dangers externes, un dépôt irrégulier de mélanine peut provoquer des troubles hyperpigmentaires défavorables divers, tels que le mélasma, les taches de vieillesse et les sites de lésions actiniques, ce qui cause un problème esthétique. Etant donné que la tyrosine est l'enzyme clé de la biosynthèse de mélanine, en effet la majorité des agents anti-mélanogénèse provenant de sources naturelles et synthétiques sont des inhibiteurs de cette enzyme, ses derniers sont des agents prometteurs pour traiter les troubles hyperpigmentaires [105].

Partie I : synthèse bibliographique

V .Activités anti diabétique

V.1. la maladie du diabète

Une des maladies les plus courantes liées au mode de vie au 21ème siècle c'est le diabète sucré (DM). Cette maladie, qui est en général classée comme une DM insulino-dépendante ou comme une DM de type 1, qui est amorcée à la suite de la destruction de cellules pancréatiques β -cells qui produisent de l'insuline, et d'insuline non dépendante ou le diabète de type 2, qui est provoqué à la fois par l'obésité due au mode de vie ou d'autres composantes exogènes [106].

Le diabète sucré à l'état latent est une maladie complexe qui se caractérise par un dérèglement important du métabolisme des glucides, des protéines et des graisses. C'est un trouble métabolique progressif du métabolisme du glucose qui entraîne à la longue des changements micro et macro vasculaires causant des difficultés de gestion des éventuelles complications secondaires. Le diabète de type 1 est dû à la synthèse incomplète à l'insuline par les cellules du pancréas, alors que celui de type II est principalement marqué par une intolérance à l'insuline (un état dans lequel la réponse des cellules périphériques à l'insuline n'est pas normale) ou par un mauvais fonctionnement des cellules [107].

Sa fréquence croît de façon exponentielle et, d'après les prévisions de l'OMS, soit plus de 300 millions des individus deviendront diabétiques en 2025. À la différence du diabète de type 1[108].

V.2 .Inhibiteurs enzymatiques

Les enzymes d'hydrolyse comme l'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase constituent autant d'enzymes vitales dont on sait qu'elles jouent un rôle majeur pour la formation de l'ADN. L'alpha-amylase joue un rôle dans la décomposition des glucides grâce à sa capacité d'hydrolyser l'amidon en de petites particules faciles à absorber, telles que le glucose. Toutefois, en cas d'excès de glucose assimilable en raison de la conversion de l'amidon en glucose grâce à ces enzymes, l'organisme procède à un réglage par stimulation de l'hormone insuline, afin d'aider à éliminer les fragments excédentaires de glucose et de les stocker comme source d'énergie glycogène. Bien que, en cas de carence d'insuline ou de résistance à l'insuline, l'activité excessive de l'alpha-amylase provoque une hyperglycémie, appelée diabète sucré. L'inhibition de ces enzymes pourrait donc constituer un important mécanisme pour moduler l'hyperglycémie postprandiale grâce à leur capacité de ralentir la digestion glucidique [109].

*Partie I : Synthèse bibliographique**V.3. Type d'inhibiteurs enzymatique**V.3.1. Alpha-amylase*

L'alpha-amylase est une importante enzyme contenue au niveau du suc du pancréas et de la salive qui permet de dégrader de grosses molécules d'amidon non solubles en molécules absorbables (**Figure 50**) [107].

L'alpha amylase l'une des plus importantes et les plus largement utilisées des enzymes dont le champ d'application a été étendu dans plusieurs domaines tels que le Secteur clinique, chimie médicinale et analytique. En plus de leur utilisation dans la saccharification de l'amidon, ils se trouvent aussi dans les secteurs de la production alimentaire, la boulangerie, les détergents, le textile et le papier... [110].

Les deux inhibiteurs α -amylase permettent de diminuer les niveaux d'hyperglycémie postprandiale. Différents types d'inhibiteurs de la α -amylase sont issus des plantes médicinales afin de constituer une alternative plus efficace et moins dangereuse aux médicaments synthétiques existants [107].

V.4. Test inhibition de l' α -Amylase (in vitro)

L'activité inhibitrice de α l'amylase a été réalisée grâce à l'utilisation de la méthode iode/iodure de potassium (IKI) (G. Zengin et al. 2014) en y apportant quelques modifications

L'enzyme α -amylase (α -1, 4 glucan-glucanohydrolase EC 3. 2. 1. 1) dégradant l'amidon est très répandu dans la nature. L'enzyme extracellulaire hydrolyse les liaisons α -1,4 glucosidiques aléatoirement dans la molécule d'amidon dans un mode endo qui produit des oligosaccharides et monosaccharides, y inclus le maltose, le glucose et la dextrine limite

l'alpha amylase [111].

The background features a network of interconnected nodes and lines, resembling a molecular structure or a graph. The nodes are represented by circles of varying sizes and shades of gray, while the lines are thin and black. The overall appearance is that of a complex, interconnected system, possibly representing a chemical network or a data graph.

Partie II :
Etude
expérimentale

The background features a network of interconnected nodes and lines, resembling a molecular structure or a data network. The nodes are represented by circles of varying sizes and shades of gray, connected by thin black lines. The overall appearance is that of a complex, interconnected system, possibly representing a chemical structure or a network graph.

Chapitre I :
Matériels et
méthodes

Partie II : Etude expérimentale

Ce travail a pour objectif de synthétiser de nouveaux complexes organométalliques et l'évaluation de leurs activités antioxydante, anti-Alzheimer, antityrosinase et antidiabétique.


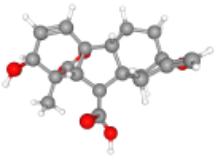
I. Matériel et méthodes

La partie qui concerne la synthèse chimique des complexes organométallique a été réalisée au niveau du laboratoire de chimie appliquée, tandis que la partie de l'étude expérimentale des activités biologique a été effectuée au sein du laboratoire de biochimie du centre de la recherche de biotechnologie - CRBT- Constantine.

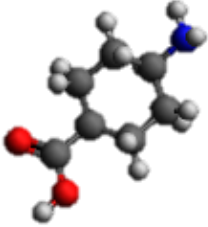
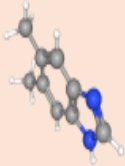
I.1. Matériel**I.1.1. Solvants et réactifs utilisés**

Dans ce travail on a utilisé les ligands suivants : L'acide mercaptosuccinique 98%, le 5,6-diméthylbenzimidazole 99+%, l'acide cis-4-aminocyclohexanecarboxylique provenant de chez *Alfa Aesar*, l'acide gibbérellique obtenu auprès de *Sigma-Aldrich*, et l'acide phtalique (**Tableau 01**).

Tableau 1. Représentation de la formule chimique, masses molaires et structure 3D des différents ligands

<i>Ligand</i>	<i>Formule chimique</i>	<i>Masse molaire (mol/g)</i>	<i>Structure (3D)</i>
Acide mercaptosuccinique	C ₄ H ₆ O ₄ S	150.16	
Acide gibbérellique	C ₁₉ H ₂₂ O ₆	346.37	

Partie II : Etude expérimentale

Acide phtalique	$C_8H_6O_4$	166.14	
l'acide cis-4 Aminocyclohexan carboxylique	$C_7H_{13}NO_2$	143.18	
5,6- Dimethylbenzimidazole	$C_9H_{10}N_2$	146.193	

Les sels métalliques utilisés sont indiqués dans le (Tableau 2):

Tableau 2. Les sels métalliques et leurs propriétés physico-chimiques.

<i>Sel métallique</i>	<i>Formule brute</i>	<i>Masse molaire</i>	<i>Densité</i>
Sulfate de cuivre pentahydraté	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	249,69g/mol	2,284g/cm ³

Partie II : Etude expérimentale

Chlorure de cuivre bihydraté	$\text{Cu}_2\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	234,0286g /mol	2,54g/ml
Acétate de cuivre hydraté	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	199,65g/mol (hydraté)	1,882g/cm ³ (hydraté)
Sulfate de fer heptahydrate	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	278,01g/mol	1,897g/ml
Chlorure de cobalt hexahydraté	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	237,93g/mol	1,92g/ml
Acétate de cobalt (II) tetrahydrate	$\text{Co}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	249,08g/mol	1,705g/cm ³

Pour notre étude, on a utilisé les solvants suivants : éthanol, méthanol et l'eau. Leurs propriétés physico-chimiques sont récapitulées sur le (**Tableau03**) ci-après :

Partie II : Etude expérimentale

Tableau 3. Les solvants et leurs propriétés physicochimiques

<i>Solvant</i>	L'eau	Ethanol	Méthanol
<i>Formule brute</i>	H ₂ O	C ₂ H ₅ OH.	CH ₃ OH
<i>Masse molaire (g/mol)</i>	18,01	46	32.04
<i>Point d'ébullition °C</i>	100	78	64.7

1.2. Méthodes

1.2.1. Synthèse des complexes

Dans cette partie, nous décrivons les modes de synthèse de douze (12) complexes organométalliques. On en a utilisé cinq (5) ligands, chacun d'entre eux est complexé avec différents sels métalliques.

D'une manière générale, les complexes métalliques de chaque ligand sont synthétisés par addition d'une solution de sel métallique de 1M goutte à goutte à la solution du ligand de 1M, dans divers solvants sous agitation, lorsque la couleur de la solution change directement ceci assure qu'il y a une formation instantanée d'un complexe. Le temps de réaction varie entre 15 à 30 minutes. Après refroidissement à température ambiante le pH de chaque solution est mesuré. Les complexes sont par la suite cristallisés par évaporation lente.

Nous préciserons ci-après les conditions particulières de synthèse pour chaque complexe.

*Partie II : Etude expérimentale**1.2.1.1. Préparation des solutions des sels métalliques*

Pour chaque sel métallique, on obtient une solution de 1M dans l'eau distillée. Environ 2 ml d'eau distillée sont versés dans un bécher de 5 ml, puis on y ajoute 1 mmol de sel métallique sous agitation magnétique (**Tableau 04**).

Tableau 4. Les masses pesées de chaque sel métallique et couleur de solution correspondante

<i>Sel métallique</i>	<i>Masse pesée (g)</i>	<i>Couleur en solution</i>
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.249685	Bleue
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.2340286	Bleue
$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$	0.19965	Verte-bleue
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.23793	Rose foncée
$\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.24908	Rose pâle
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2780146	Verte

1.2.1.2. Préparation des solutions des ligands

Une solution de 1M est préparée, on dissout dans un bécher de 5 ml une quantité équimolaire de 1 mmol de chaque ligand dans 2 ml de solvant sous agitation magnétique, comme suit :

L'acide mercaptosuccinique (**L1**), le 5,6- Dimethylbenzimidazole (**L5**) et l'acide cis-4-Aminocyclohexan carboxylique (**L4**) sont dissouts dans l'eau distillée, tandis que l'acide gibbérellique (**L2**) est dissout dans l'éthanol avec addition de quelques gouttes de l'acide chlorhydrique (HCl), l'acide phtalique (**L3**) est dissout dans l'éthanol absolu. Toutes les solutions sont incolores (**Tableau 05**).

Partie II : Etude expérimentale

Dans le (**Tableau 05**) figurent les différentes masses de ligands nécessaires à la synthèse des complexes :

Tableau 5. Les masses pesées des ligands

<i>Ligand</i>	<i>Masse pesée (g)</i>
L ₁	0.15016
L ₂	0.34637
L ₃	0.16614
L ₄	0.14318
L ₅	0.146193

1.2.1.3. Synthèse des complexes de l'acide mercaptosuccinique

Ces complexes sont préparés on versant la solution des sels métalliques : chlorure et sulfate de cuivre, à celle du ligand. La couleur des deux solutions vire directement du transparent vers l'aubergine mais avec agitation elle se transforme en verte pour la solution du sulfate de cuivre.

Le mélange réactionnel est soumis à une agitation magnétique à une température de 40°C pendant 30 minutes. Le pH du milieu réactionnel a été mesuré et est respectivement de 1.647 et 1.592.

1.2.1.4. Synthèse des complexes de l'acide gibbérellique

Ces complexes ont été obtenus par l'interaction sous agitation entre la solution du ligand L₂ l'acide gibbérellique et les solutions des sels de métaux : Sulfate de cuivre (CuSO₄.5H₂O), ensuite d'acétate de cuivre (Cu(CH₃COO)₂), éventuellement le chlorure de cuivre (Cu₂ Cl₂ · 2H₂O le milieu réactionnel est d'abord de couleur transparente, l'ajout de sels permet d'obtenir immédiatement une coloration aux solutions et par la suite des complexes, le niveau de pH de chacune des solutions est égal respectivement à 1.6, 1.14 et 1.25.

Partie II : Etude expérimentale**1.2.1.5. Synthèse des complexes de l'acide phtalique**

Les complexes ont été obtenus par réaction sous agitation entre la solution éthanoïque du ligand L₃ et celle de sels de métaux : chlorure de cobalt, sulfate de cuivre, chlorure de cuivre et le sulfate de fer, notons qu'il a été rajouté des gouttelettes de l'hydroxyde de sodium pur (NaOH) et de l'acide chlorhydrique (HCl) dans la solution du sulfate de cuivre, et seulement de l'acide chlorhydrique dans la solution du sulfate de fer. Le PH de chaque solution est respectivement de 2.244, 0.788, 1.914, 0.767.

1.2.1.6. Synthèse des complexes de l'acide cis-4-Aminocyclohexanecarboxylique

On a préparé ces complexes par versement sous agitation des solutions de chlorure de cuivre, sulfate de cuivre, Chlorure de cobalt, acétate de cobalt et sulfate de fer à la solution du ligand. Ces solutions sont essentiellement transparentes et deviennent respectivement verte, bleue, rose pour les deux sels de cobalt. On soumet le milieu réactionnel sous agitation magnétique à 40°C durant 15 minutes. La valeur du pH du milieu de réaction a ainsi été mesurée et elle est de 4.09, 4.58, 6.09, 6.98, 4.47 respectivement.

1.2.1.7. Synthèse des complexes à base ligand 5,6-Dimethylbenzimidazole

Ces complexes ont été obtenus par l'interaction entre la solution du ligand L5, 5,6-Dimethylbenzimidazo et les solutions contenant les sels métalliques (l'acétate de cuivre (Cu(CH₃COO)₂) et le Sulfate de cuivre(CuSO₄.5H₂O), la coloration initiale des solutions est transparente, l'addition des sels et au rythme de l'agitation, elles prennent une couleur bleu foncé.

1.3. Evaluation des activités biologiques in vitro des complexes

Les métaux de transition et leurs complexes possèdent un large spectre d'applications biologiques et/ou thérapeutiques. Ainsi, elles ont été étudiées pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, anti inflammatoires.

Dans ce travail, nous avons choisi d'évaluer le potentiel antiradicalaire et l'inhibition enzymatique de l'acétylcholinestérase, la butyrylcholinestérase, la tyrosinase et l'alpha amylase des complexes synthétisés.

Notons que tous les tests ont été effectués en triplicat.

Partie II : Etude expérimentale

I.3.1. Activité antioxydante

L'étude de l'activité antioxydante des différents complexes est testée selon une seule méthode : piégeage du radical libre DPPH.

I.3.1.1. Activité antiradicalaire au DPPH

A. Principe du test

L'activité du DPPH est mesurée selon le protocole de dosage décrit par (Blois, 1958), le principe de cette méthode consiste en une mesure de la capacité d'un composé antioxydant à réduire le radical libre DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune par spectrophotométrie visible. Le DPPH absorbe à 517 nm en solution alcoolique, lors de la réduction par un atome d'hydrogène provenant du produit antioxydant son absorption diminue (Figure 48).

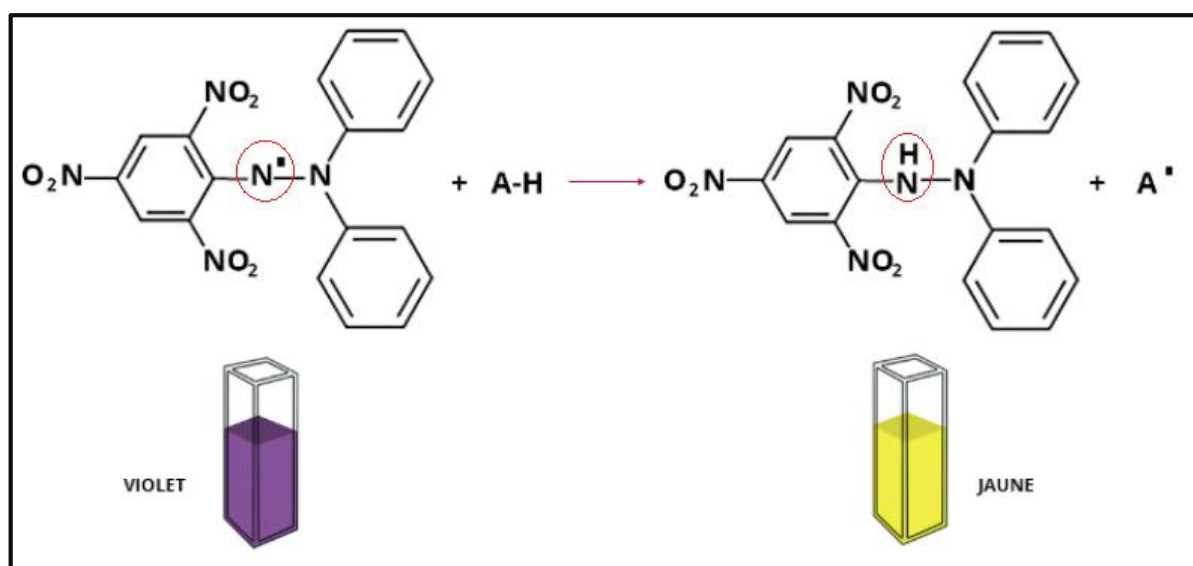


Figure 48. Réaction de réduction du radical DPPH avec un composé antiradicalaire (AH)

B. Procédure

• Préparation des échantillons

Pour nos échantillons, nous avons travaillé avec une concentration de 8M

Les concentrations préparées sont utilisées pour toutes les méthodes.

Partie II : Etude expérimentale

Dans le (**Tableau 06**) figurent les masses nécessaires pour chaque complexe :

Tableau 6. Masse utilisée pour chaque complexe

<i>Symbole du produit</i>	<i>Produit</i>	<i>Masse (g)</i>
1	L_4CuSO_4	0.00242
2	L_3CuCl_2	0.00240
3	L_2CuCl_2	0.00384
4	L_1CuSO_4	0.002478
5	L_3FeSO_4	0.002544
6	L_3CuSO_4	0.002605
7	L_1CuCl_2	0.0022768
8	L_3CoCl_2	0.002367
9	$L_4Co(CH_3COO)_2$	0.003138
10	L_4CoCl_2	0.002184
11	L_5CuSO_4	0.002446
12	$L_5Cu(CH_3COO)_2$	0.00262

La quantité de chaque produit a été dissoute dans 1 ml du méthanol (certains produits non solubles dans le méthanol sont dissouts dans l'eau qui sont les complexes 01, 06 et 09) qui présente la solution mère de 8 mM, c'est à partir de cette dernière qu'une série de dilution de 1/2 a été préparée avec sept (7) concentrations différentes de l'échantillon en ordre décroissant comme le montre le (**Tableau 07**) ci-dessous :

Partie II : Etude expérimentale

Tableau 7. Tableaux des dilutions

Dilution	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Concentration $\mu\text{g/ml}$	400	200	100	50	25	12.5	6.25

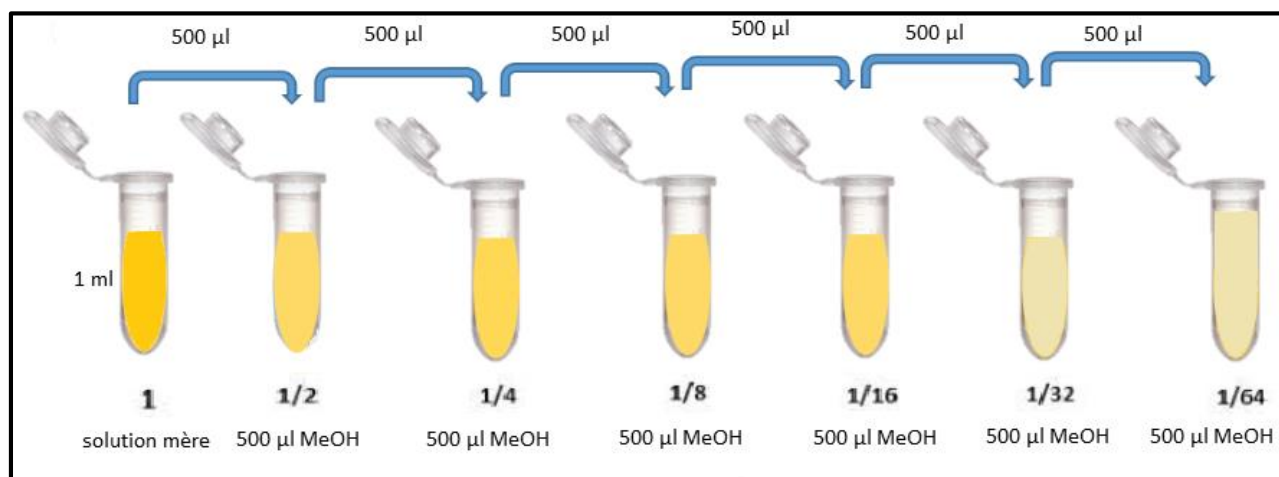


Figure 49. Représentation des différentes dilutions

B.2. Protocole

Une solution de 0,4 mM de DPPH est préparée dans le méthanol et gardée à -20 C° à l'abri de la lumière avant l'utilisation. Dans une microplaque de 96 puits un volume de $40\ \mu\text{l}$ de différentes concentrations d'échantillon dilué est déposé en triplicata par la suite un volume de $160\ \mu\text{L}$ de la solution méthanolique de DPPH est additionné sur chaque puits. Parallèlement le témoin négatif est préparé par un mélange de $40\ \mu\text{l}$ du méthanol avec $160\ \mu\text{l}$ de la solution de DPPH. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à $517\ \text{nm}$ en insérant la microplaque dans le spectrophotomètre. La faible valeur d'absorbance de la réaction du mélange indique une activité de piégeage des radicaux libres supérieure. Le BHT et l' α -tocophérol ont été utilisés comme standards anti-oxydante.

L'activité anti radicalaire de chaque échantillon est exprimée en pourcentage d'inhibition du

Partie II : Etude expérimentale

DPPH en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{ps}}}{A_{\text{blanc}}} \times 100$$

A_{Blanc} est l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs.

A_{ps} est l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.

1.3.2. Evaluation de l'activité antidiabétique

1.3.2.1. Activité inhibitrice de l' α -amylase

A. Principe

L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été réalisée selon la méthode iode/iodure de potassium (IKI) de (Zengin, G et al. 2014) avec quelques modifications. L'acarbose est utilisé comme standard.

A.2. Procédure

La microplaque est remplie selon le schéma ci-après :

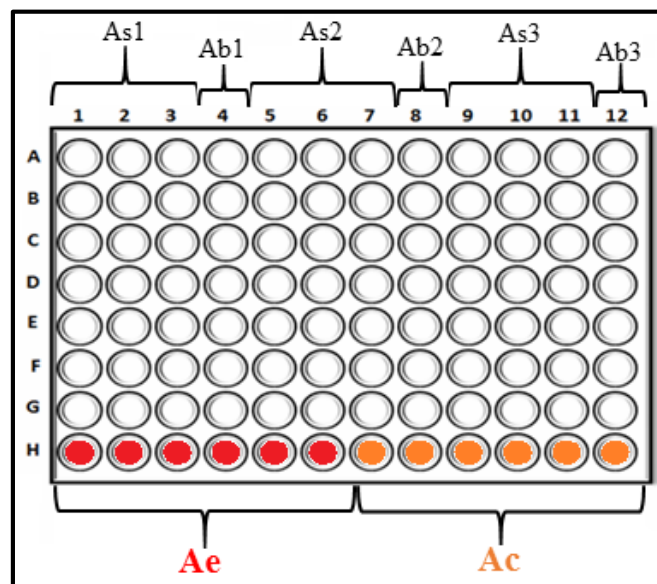


Figure 50. Schéma représentatif de la plaque de l'activité inhibitrice de l' α amylase

En bref, 25 μ l de chaque dilution des différents complexes sont déposés dans les puits de la microplaque, ensuite on ajoute 50 μ l de la solution d' α -amylase, après on laisse incuber la plaque pendant 10 min à 37°C, par la suite 50 μ l d'amidon sont rajoutés, on incube encore une fois la plaque dans les mêmes conditions, enfin on rajoute 25 μ l d'HCl suivie de 100 μ l IKI

Partie II : Etude expérimentale

puis on lance directement la lecture à 630 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon l'équation suivante:

$$\%INH = \frac{1 - [(A_c - A_{ps}) - (A_s - A_b)]}{(A_c - A_{ps})}$$

A_c = Absorbance [Amidon+ IK I+ HCl + Vol de solvant de Ps+ Vol tampon Enzyme].

A_e = Absorbance [Enzyme + Amidon + IKI + HCL+ Vol de solvant de Ps].

A_s = Absorbance [Enzyme + Ps+ Amidon + IKI + HCl].

A_b = Absorbance [Ps + IKI + 125µl de tampon].

1.3.3. Activité anti-acétylcholinestérase

La méthode d'inhibition des deux enzymes l'acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BChE) permet d'obtenir l'activité anticholinestérasique de certains complexes synthétisés.

A. Principe de la réaction

Selon cette méthode, l'activité anti-Alzheimer d'un échantillon se déduit de son aptitude à pour empêcher l'activité de l'enzyme AChE, ce qui entraîne une diminution du taux de dégradation de l'acétylcholine pour donner de l'acide acétique ainsi que de la thiocholine qui est mise en réaction avec le DTNB pour obtenir des produits de réaction teintés en jaune. Cette inhibition est considérée comme une stratégie prometteuse pour le traitement des troubles neurologiques et réduire les symptômes de la maladie d'Alzheimer.

B. Mode opératoire

L'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butyrylcholinestérase (BChE) Des complexes ont été déterminés à l'aide d'un lecteur de microplaque à 96 puits au moyen d'une méthode spectrophotométrique légèrement modifiée décrite par (*Ellman et al. 1961*) (**Figure 51**).

Partie II : Etude expérimentale

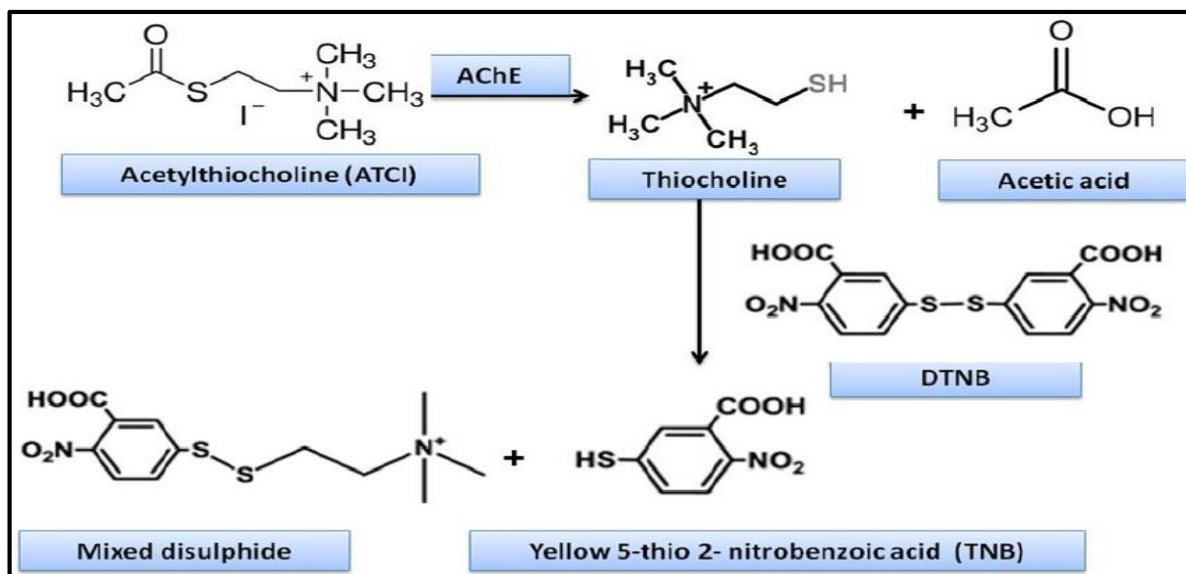


Figure 51. Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman's

C. Procédure

A l'aide d'une micropipette (de 100 et /ou 1000) on met 150 μL de tampon phosphate de sodium 100 mM (pH 8,0), On y ajoute 10 μL de solution contenant l'un des douze (12) complexes dissous dans le méthanol ou l'eau (selon les complexes) à différentes concentrations, et ensuite 20 μL de solution enzymatique AChE (5.32×10^{-3} U) ou BChE (6.85×10^{-3} U) Ils ont été mélangés et mis en incubation durant 15 minutes dans une étuve placée à 37 C°.

Puis 10 μL de la DTNB se sont ajoutées, Pour amorcer le processus de réaction, on ajoute 10 μL acetylthiocholine iodide (0.71 mM) ou butyrylthiocholine chloride (0.2 mM), Pour finir, L'absorbance de chaque puits est mesurée à 412 nm au moyen d'un lecteur de microplaques de 96 puits respectivement 0 min et 15 min. Cette expérimentation a été effectuée en triple.

On a déterminé le pourcentage d'inhibition de l'AChE ou du BChE en fonction du blanc (éthanol enrichi d'un tampon de phosphate pH 8 c'est-à-dire le mélange réactionnel sans échantillon) répondant à la formule suivante :

$$I (\%) = (E - S)/E * 100$$

E : l'activité de l'enzyme sans le Ps / **S** : l'activité de l'enzyme avec le Ps

On utilise la galanthamine à titre de référence.

Partie II : Etude expérimentale

I.3.4. Activité antityrosinase

La Tyrosinase s'avère être une oxydoréductase capable de catalyser l'oxydation des phénols, notamment la tyrosine. Son absence ou des mutations au niveau de son gène provoquent une réduction, sinon un blocage, du taux de pigmentation.

Le mécanisme d'inhibition de l'enzyme tyrosinase (EC 1.14.18.1) donne accès à une activité anti tyrosinase de douze (12) complexes organométalliques déjà synthétisés.

A. Principe de la réaction

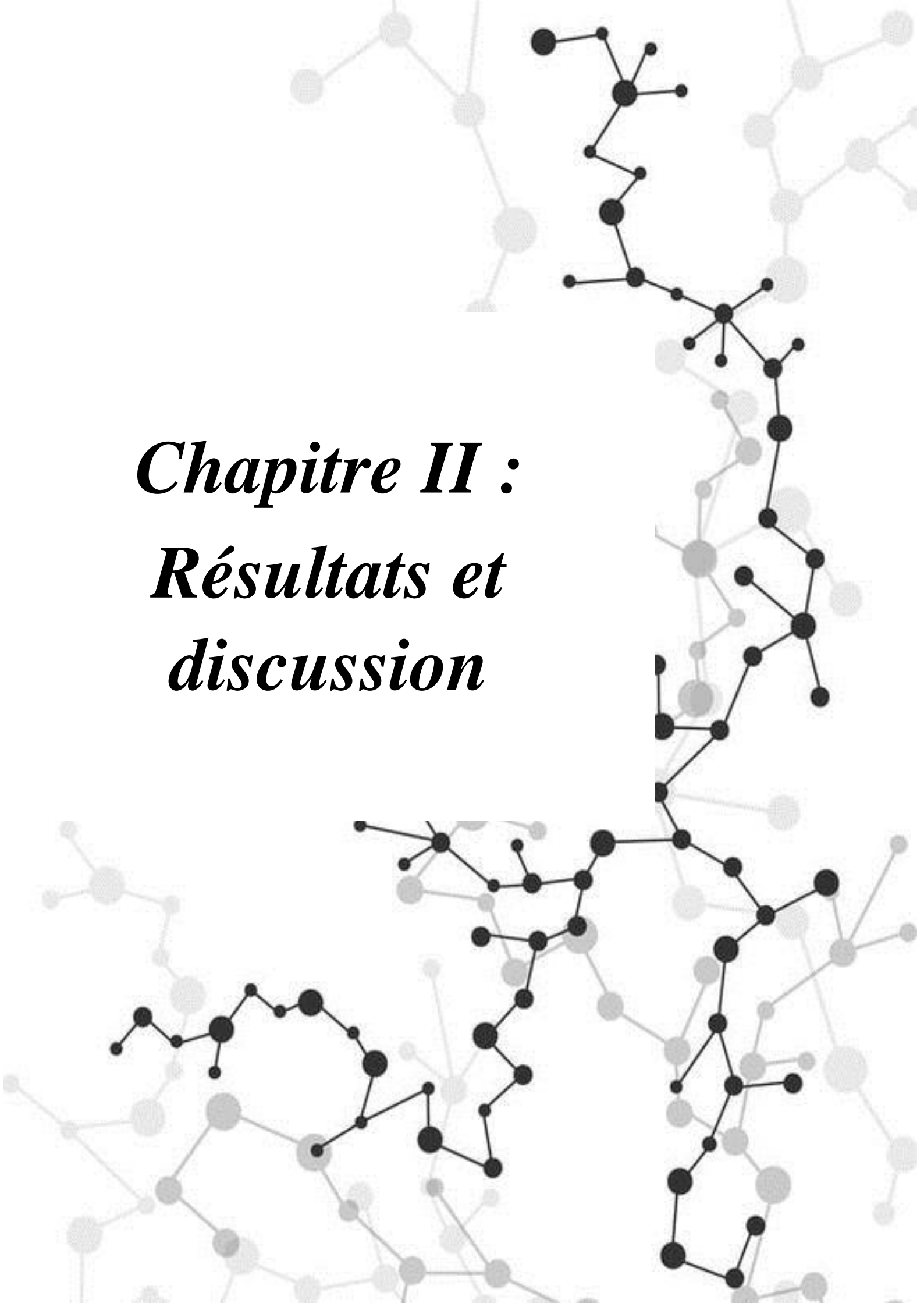
L'activité anti- tyrosinase est déterminée spectrophotométriquement, à l'aide d'un lecteur de microplaque à 96 puits selon la méthode décrite (*Ebru Deveci et al 2018*).

B. Procédure

Une plaque à 96 puits est remplie avec 150 µl de tampon a (pH 6.8) puis 10 µl de chaque dilution des différents complexes sont ajoutés ensuite 20 µL de la solution d'enzyme tyrosinase, la plaque est incubée par la suite à 37 ° C pendant 10 min. après 20 µl de la solution L-DOPA est ajoutée, avec un lecteur de plaque a été faite à 475 nm après 10 min d'incubation à 37 C°.

I.4. Analyse statistique

Les résultats des tests effectués «*in vitro*» de l'activité antioxydante et des activités enzymatiques sont exprimés en moyenne déviation standard (\pm SD) d'analyses en trois essais. Les valeurs d'IC₅₀ sont calculées par la méthode de la régression linéaire à partir de la courbe: [% inhibition = f (concentrations)].

The background of the slide features a complex, interconnected network of nodes and lines, resembling a molecular structure or a network graph. The nodes are represented by circles of varying sizes and shades of gray, while the lines are thin and black. The overall appearance is that of a dense, multi-scale network, possibly representing a biological or chemical system. The text is centered over this background.

***Chapitre II :
Résultats et
discussion***

Partie II : Etude expérimentale

I. Caractérisation par Spectroscopie Raman

Pour confirmer la coordination du métal Cu-O et Cu-Cl, nous avons caractérisé nos échantillons par spectroscopie Raman. Dans cette dernière, nous avons irradié l'échantillon par une source laser, où la longueur d'onde d'excitation peut être choisie dans un domaine assez large. Les deux spectres Raman des complexes (1) et (2) présentent un bruit de fond qui montre la présence de la fluorescence; pour cela, nous avons joué sur les paramètres de l'appareil pour corriger la fluorescence afin d'avoir des spectres exploitables.

La **Figure 52** est une photo par microscopie, elle montre la position prise pour l'analyse du cristal de chaque complexe.

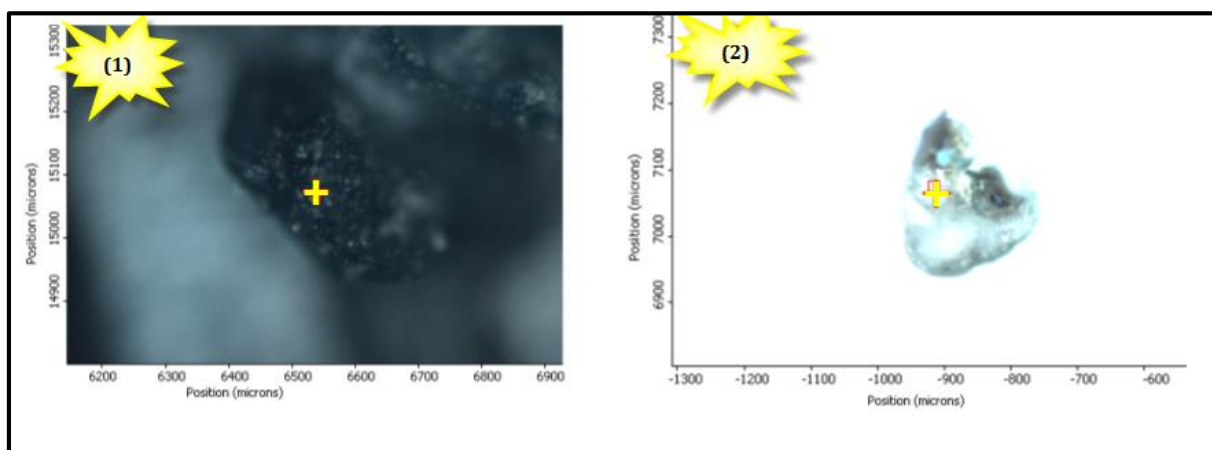


Figure 52. Photo par microscopie de la position prise pour l'analyse Raman des structures (1) et (2)

Sur les spectres des deux complexes et dans la région $90-600\text{cm}^{-1}$, nous observons des pics très clairs et pointus, ce qui confirme la bonne cristallisation des composés étudiés dans ce travail. Les deux spectres Raman présentent des pics intenses qui confirment la plupart des liaisons présentes dans la structure des complexes [112].

Partie II : Etude expérimentale

Pour le complexe (1) :

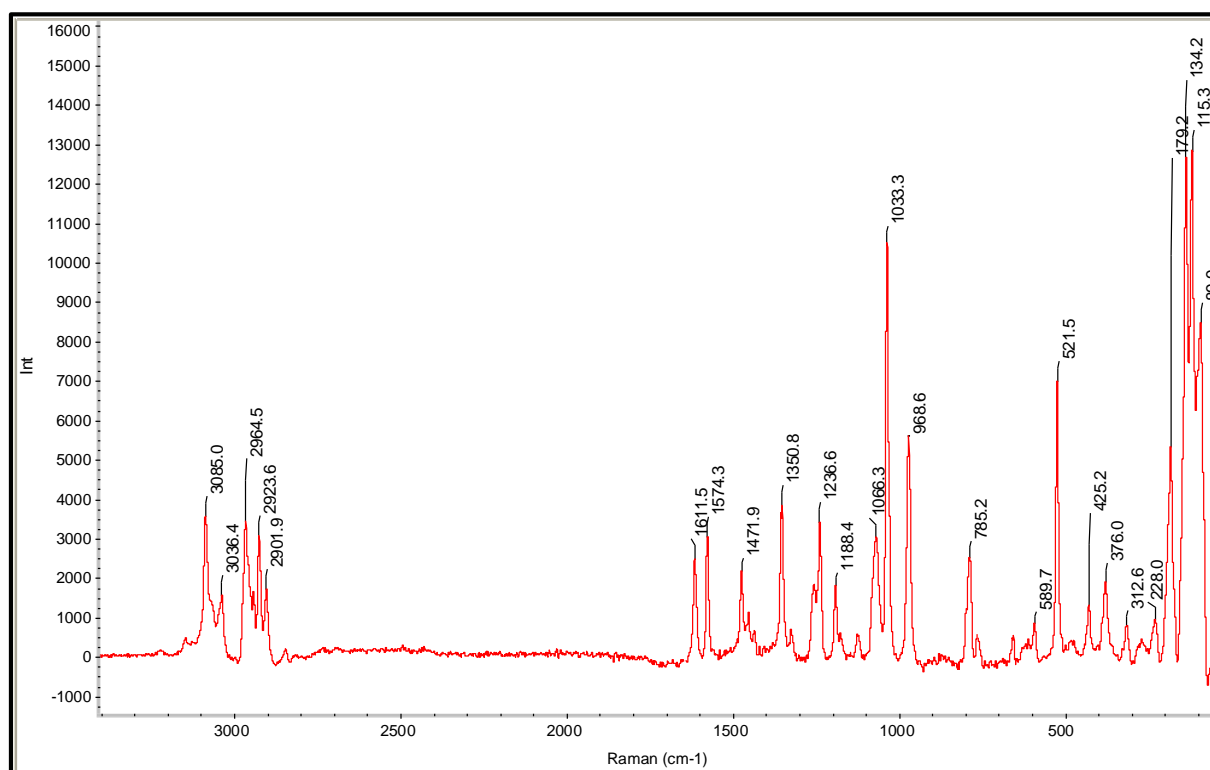


Figure 53. Spectre Raman du complexe (1) avec une source excitatrice émettant à 780 nm

Tableau 8. Les bandes expérimentales les plus pertinentes dans le complexe (1)

Bandes Expérimentales (cm ⁻¹)	Type de liaison
425.2	ν (Cu-O _{SO4})
521.5	ν (Cu-O _{SO4})
986.6	ν (S-O)
1188.4	ν (C-O)
1236.6	ν (C-C)
1033.3	groupe (SO ₄)
1471.9	δ (CH ₂)
2901.9 ; 2923 ; 2964	ν (C-H)
3085.0	ν (O-H)

Partie II : Etude expérimentale

Pour le complexe (2) :

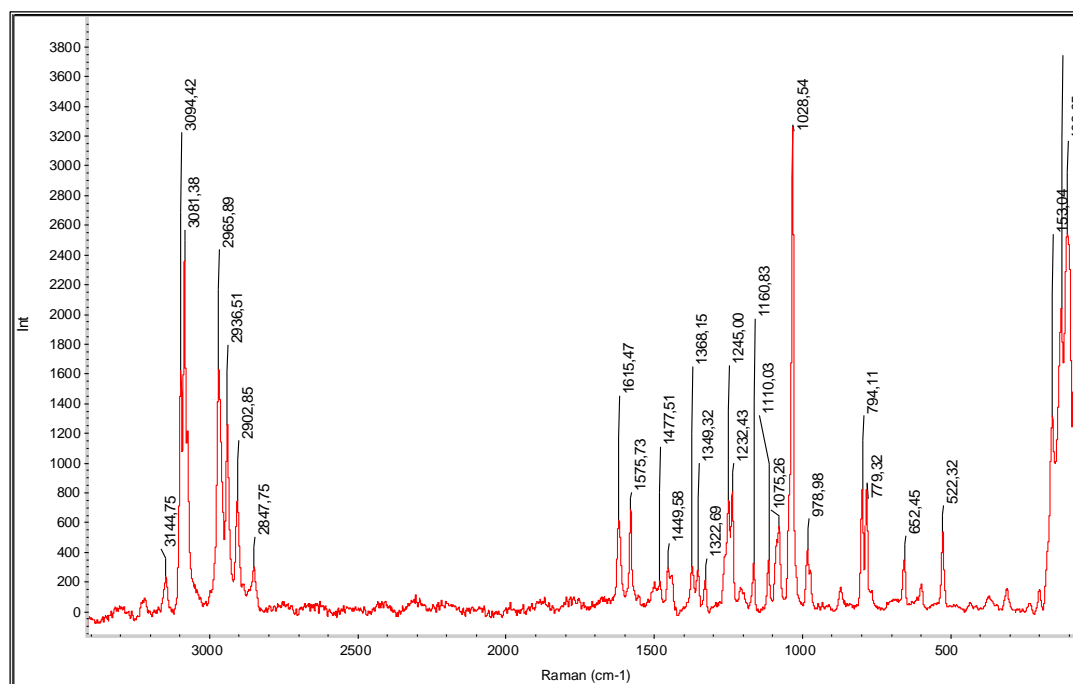


Figure 54. Spectre Raman du complexe (2) avec une source excitatrice émettant à 780 nm

Tableau 9. Les bandes expérimentales les plus pertinentes dans le complexe (2)

Bandes Expérimentales (cm^{-1})	Type de liaison
522.32	ν (Cu-O _{H2O})
187.4	ν (Cu-Cl)
1232.43	ν (C-C)
1028.54	ν (C-O)
3144.75	ν (O-H)
2847.75 ; 2902.85 ; 2936.51 ; 2965.89	ν (C-H)
3081.38 ; 3094.42	ν (=C-H))
1110,03	(C-O-) _{asym}
3144.75	ν (O-H)

*Partie II : Etude expérimentale**1.2. Analyse élémentaire*

Dans ce contexte nous avons confirmés la présence de tous les éléments formant la structure des complexes en utilisant l'analyse élémentaire réalisée à la faculté des sciences exactes de Gafsa en Tunisie.

La valeur des pourcentages expérimentaux sont comparables à celles des pourcentages théoriques (**Tableau 10**) et (**Tableau 11**).

Tableau 10. Valeurs de l'analyse élémentaire pour complexe 01

<i>Elément</i>	<i>Pourcentage théorique %</i>	<i>Pourcentage expérimentale %</i>
H	5,90	6.00
C	21,40	22.32
Cu	16,17	14.91
O	44,80	45.21
N	3,57	3.67
S	8,16	7.89

Tableau 11. Valeurs de l'analyse élémentaire pour complexe 02

<i>Elément</i>	<i>Pourcentage théorique %</i>	<i>Pourcentage expérimentale %</i>
Cu	12,53	12.15
C	37, 92	38.09
H	3,98	3.70
O	31,57	32.03
Cl	14	14.03

Partie II : Etude expérimentale**1.3. Etude Cristallographique**

L'étude cristallographique et les représentations graphiques des complexes ont été exécutées à l'aide de l'interface Wingx et du logiciel Mercury.

- **Enregistrement des intensités**

Les complexes (1) et (2) ont été analysés par le diffractomètre automatique Bruker APEXII ($\lambda_{K\alpha Mo} = 0,71073 \text{ \AA}$).

Le complexe (1) cristallise dans le système monoclinique avec le groupe d'espace P2/c et le deuxième complexe (2) cristallise dans le système triclinique avec le groupe d'espace P-1 sous forme de prismes de couleur bleue pour les deux complexes.

- **Résolution des structures**

Les structures ont été résolues dans un premier temps par le programme Sir92 puis affinées par le programme SHLEXL. Tous les atomes d'hydrogène ont été placés par calcul géométrique, tel que $U_{iso}(H) = 1.2U_{eq}(C)$.

Ainsi, dans le **Tableau 12** sont présentées les données cristallographiques les plus pertinentes. Les paramètres de mailles, les résultats d'affinement détaillés, les coordonnées atomiques, les longueurs et angles de liaisons des structures décrites dans ce chapitre sont consignés dans les annexes.

Tableau 12. Données cristallographiques et résultats d'affinements

Complexes	Complexe 1	Complexe 2
Formule	H ₄₆ C ₁₄ Cu ₂ O ₂₂ N ₂ S ₂	CuC ₁₆ H ₂₀ O ₁₀ Cl ₂
M (g.mol⁻¹)	785,72384g/mol	506,77g/mol
Système	Triclinique	Monoclinique
G. d'espace	P-1	P2/c
a (Å)	7.529 (9)	10.084 (5)
b (Å)	6.283(10)	7.255 (5)
c (Å)	15.351 (14)	24.351 (5)
α (°)	79.239 (11)	90
β (°)	76.463 (10)	98.386 (5)

Partie II : Etude expérimentale

$\gamma(^{\circ})$	102.453 (10)	90
Z	2	2
V (Å³)	408.324 (10)	1761.0 (15)
R_{int}	0.027	0.026
R₁	0.025	0.033
wR₂	0.066	0.076
G.O.F	1.07	1.06

I.3.2. Description de la structure cristalline du complexe (1)

Le complexe (1) est un polymère de coordination du titre, $[\text{Cu}(\text{SO}_4)_2, (\text{H}_2\text{O})_4]_n \cdot (\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N})_2$, l'atome de CuII est coordonné de manière octaédrique par deux atomes O de deux anions sulfate différents, quatre donneurs d'atomes O de quatre ligands aqua, et une molécule organique cis- 4-ammoniocyclohexanecarboxylate non coordonnée (**Figure 55**). Les anions sulfato bidentés forment une chaîne infinie Cu-O-S avec le cuivre. Les liaisons hydrogène N-H...O et O-H ... O relient les molécules complexes et les molécules organiques du réseau dans une architecture supramoléculaire tridimensionnelle (**Tableau 13**).

Tableau 13. Liaisons hydrogène présentées dans le complexe (1)

D—H...A	D—H	H...A	D...A	D—H...A
N1ⁱ—H1Nⁱ...O1W	0.89 (3)	1.94 (2)	2.830 (3)	171 (3)
O2W—H2W...O2	0.84 (2)	1.83 (2)	2.658 (3)	169 (3)
O4W—H44W...O4	0.84 (2)	1.87 (2)	2.702 (3)	168 (2)
O1W—H1W...O1	0.84 (3)	1.87 (3)	2.693 (3)	169 (2)
Code de symétrie: (i) $-x+1, -y+1, -z$				

Partie II : Etude expérimentale

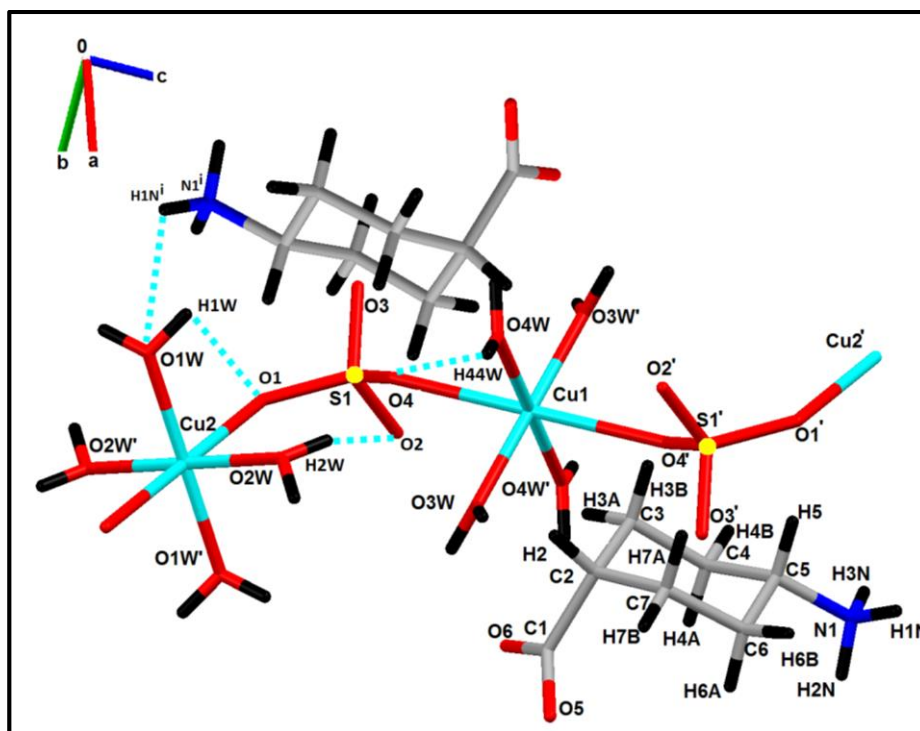


Figure 55. Description moléculaire du complexe (1), $\text{Cu}(\text{SO}_4)_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_4 \cdot n \cdot (\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N})_2$

1.3.1. Description de la structure cristalline du complexe (2)

Le complexe Bis Phthalic tetraaquadichloridocuprate (II) de formule $[\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2$ est constituée d'un atome central Cu1 lié à un atome de chlore et deux molécules d'eau, et une molécule organique ; ortho-phthalate (**Figure 56**). Dans l'unité asymétrique, il existe deux liaisons hydrogène moyenne de type O-H...O et faible de type C-H...O (**Tableau 14**).

Tableau 14. Liaisons hydrogène présent dans le complexe (2)

D—H...A	D—H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D—H...A(°)
O2W—H2W...O4	0.82 (3)	2.16 (3)	2.98 (2)	158 (3)
C3—H3...O1W	0.97 (3)	2.69 (3)	3.66 (2)	126 (3)

Partie II : Etude expérimentale

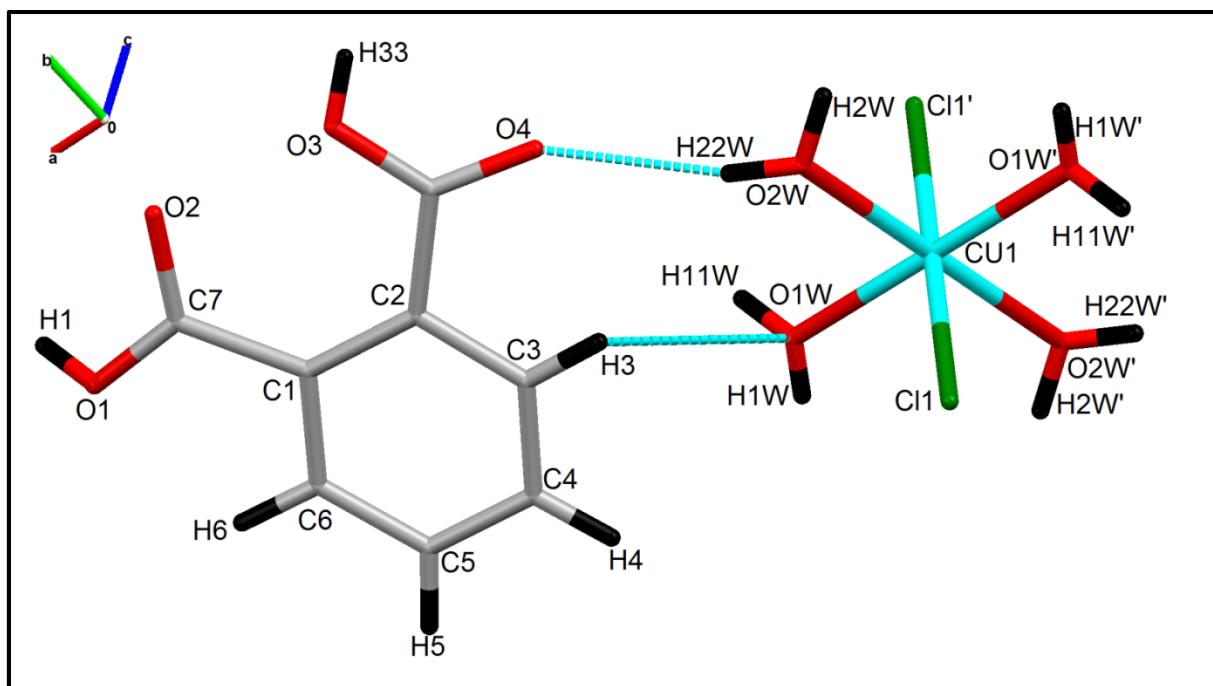


Figure 56. Description moléculaire du complexe (2) ; $[\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2$

II. Evaluation des activités biologiques in vitro des complexes

Les métaux de transition et leurs complexes possèdent un large spectre d'applications biologiques et/ou thérapeutiques. Ainsi, elles ont été étudiées pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, anti inflammatoires. Dans ce travail, nous avons choisi d'évaluer le potentiel antiradicalaire et l'inhibition enzymatique de l'acétylcholinestérase, la butyrylcholinestérase, la tyrosinase et l'alpha amylase des complexes synthétisés.

Notons que tous les tests ont été effectués en triplicat.

II.1. Etude de l'activité antioxydante

Le stress oxydatif est essentiel à l'étiologie de nombreuses maladies chroniques et dégénératives, comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, le diabète et la MA. Par conséquent, la synthèse de composés possédant un pouvoir antioxydant potentiel a reçu une grande attention. Pour cette raison, la capacité antioxydante des composés synthétisés a été évaluée en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH° [113].

Le pouvoir antiradicalaire des différents complexes vis-à-vis du radical libre DPPH° est suivi par spectrophotométrie en mesurant l'absorbance à 517 nm. En présence des piégeurs de radicaux libres, le DPPH° de couleur violette se réduit en 2-2Diphenyl-1

Partie II : Etude expérimentale

Picrylhydrazine de couleur jaune. Dans ce test les résultats ont été comparés au standard BHA.

Les résultats de l'activité antiradicalaire au DPPH sont exprimés par les pourcentages D'inhibition pour chaque concentration, ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition 50%.

L' CI_{50} c'est la concentration en antioxydant nécessaire pour réduire 50% du DPPH° initial.

On a effectué le test pour seulement 8 composés sur 12, à savoir : 01, 03, 04, 05, 07, 08, 09 et 11 (**Figure 57**). Selon cette méthode tous les composés ont présenté une faible activité à une concentration de 1600 $\mu\text{g/ml}$, incomparable avec celle du standard BHA (6.14 ± 0.41) à la concentration de 800 $\mu\text{g/ml}$ (**Tableau 15**).



A : Les composés n° 1, 3, 8 et 16.

B : les composés n° 04, 05, 07, 09.

Figure 57. Profile de la microplaque du test de DPPH

Partie II : Etude expérimentale

Tableau 15. Pourcentage d'inhibition du antiradicalaire DPPH

Complexes	% d'inhibition de DPPH							
	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	1600 µg	CI ₅₀ µg/ml
Complexe 01	NA	2,99±1,17	3,39±0,91	10,29±0,54	10,45±0,27	31,55±0,33	46,27±0,54	>1600
Complexe 03	NA	NA	NA	NA	3,45±1,58	2,58±1,01	11,33±0,45	>1600
Complexe 04	5,39±0,25	3,82±0,00	5,87±4,03	NA	NA	2,02±1,15	1,59±2,92	>1600
Complexe05	3,78±3,10	3,97±0,51	8,72±1,29	17,36±1,79	25,67±0,73	39,44±0,49	53,93±0,73	>1600
Complexe 07	NA	NA	1,73±0,23	NA	8,55±0,35	17,45±1,07	23,11±3,28	>1600
Complexe 08	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	>1600
Complexe 09	10,14±0,33	10,06±1,34	10,38±0,49	10,76±1,15	10,33±1,19	11,23±0,25	7,15±1,65	>1600
Complexe 11	NT	23,43±1,98	1,89±1,58	7,64±1,08	35,31±0,18	31,06±0,09	27,63±0,80	>1600
Concentration µg/ml	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
BHA	72,63±2,06	88,73±0,89	94,00±0,31	94,97±0,08	95,38±0,41	95,02±0,23	NT	12,99±0,41

NA : pas d'absorbance

II.2. Etude de l'activité enzymatique

L'efficacité des complexes à exposer une activité enzymatique est exprimée en valeurs CI₅₀, représentant la concentration d'un inhibiteur nécessaire pour diminuer l'activité enzymatique de 50%, plus cette valeur est basse, plus l'activité est grande.

II.2.1. Activité anti acétylcholinestérase

L'activité enzymatique a été déterminée à une concentration de 8 mM sauf pour le complexe 02 on a utilisé une concentration de 1 mM car à 8 mM, car il a révélé des pourcentages d'inhibitions supérieures de 50% (Tableau 16).

Partie II : Etude expérimentale

Tableau 16. Inhibition de l'acétylcholinestérase par les complexes 01,02, 03, 04,05, 06 et 07

% inhibition de l'acétylcholinestérase.								
Concentration µg/ml	0,78125	1,5625	3.125	6.25	12.5	25	50	CI50 µg/ml
Complexe 02	22,07±1,15	29,17±3,07	39,97±4,95	67,04±2,29	68,34±0,24	59,83±0,40	70,52±2,25	4.41±0.84
Concentration µg/ml	6.25	12.5	25	50	100	200	400	
Complexe 01	11,30±0,20	21,72±0,00	37,44±6,24	74,74±7,62	76,95±5,47	81,56±1,75	84,49±1,05	34.26±0.67
Complexe 03	5,03±0,08	21,63±0,89	42,11±6,10	56,74±2,60	74,56±0,52	77,62±0,64	82,50±2,39	40.27±1.27
Complexe 04	NA	NA	NA	18.33±0.00	11.60±0.49	19,74±2,11	38,71±0,84	>200
Complexe 05	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Complexe 06	NA	NA	NA	NA	41,85±2,89	54,88±3,00	62,39±3,39	185.36±5.65
Complexe 07	21,54±7,69	33,51±1,68	-	46,69±0,27	74,50±1,36	85,38±1,44	82,14±5,73	37.01±2.06
Concentration µg/ml	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
Galanthamine	35,93±2,28	43,77±0,00	68,50±0,31	80,69±0,41	85,78±1,63	91,80±0,20	94,77±0,34	6.27±1.15

NA : pas d'absorbance

Partie II : Etude expérimentale

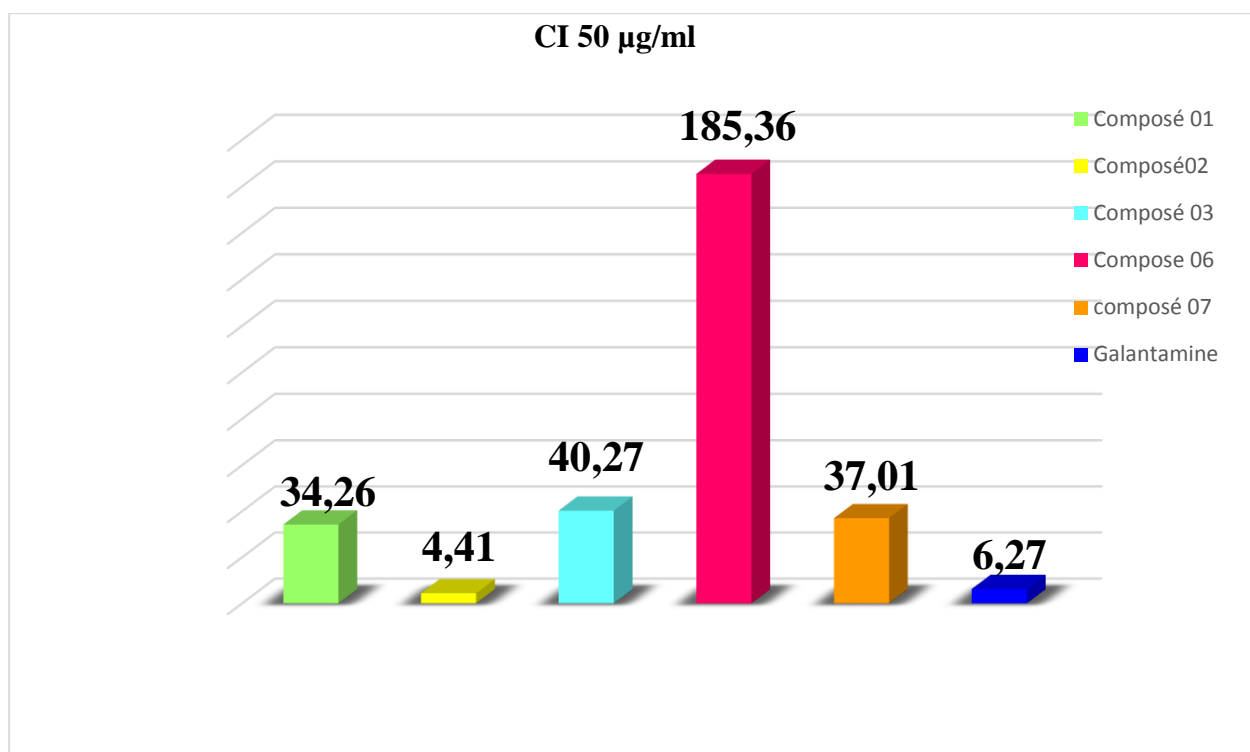


Figure 56. Valeurs des IC₅₀ du test anti-acétylcholinestérase sous forme d'histogramme

D'après les valeurs de la CI₅₀ obtenues (**Tableau 16** et **Figure 56**), le complexe (02) $\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4 \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2$ a présenté la meilleure activité par rapport aux autres complexes testés (01, 03, 04, 05, 06 et 07) et le standard galanthamine. Il présente une très forte activité inhibitrice ($4.41 \pm 0.84 \mu\text{g/ml}$) contre l'AChE à une concentration de $50 \mu\text{g/ml}$ par rapport au standard galanthamine ($6.27 \pm 1.15 \mu\text{g/ml}$) à une concentration de $200 \mu\text{g/ml}$, donc l'activité du composé 02 est supérieure d'une fois à celle du standard à une concentration même inférieure du standard.

Les pourcentages d'inhibition et les valeurs de la CI₅₀ de l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase des complexes (01) $[\text{Cu}(\text{SO}_4)_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_4] \cdot (\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N})_2$, 03, et 07 présentent une faible activité à une concentration de $400 \mu\text{g/ml}$, qui est presque de six fois plus faible que celle du galanthamine et dix fois plus faible que celle du complexe 02 (**Tableau 16** et **Figure 56**) montrent une faible activité inhibitrice contre l'AChE par rapport au standard galanthamine, alors que le complexe 04 n'a présenté aucune absorbance ce qui signifie l'absence d'une activité inhibitrice contre l'AChE.

Partie II : Etude expérimentale

II.2. 2. Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase

Les valeurs de l'absorbance obtenues ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition des différents complexes selon la même formule précédemment utilisée pour les activités précédentes (**Tableau 17**).

Tableau 17. inhibition de la butyrylcholinestérase par les complexes

% Inhibition de la butyrylcholinestérase								
Concentration µg/ml	0,78125	1,5625	3.125	6.25	12.5	25	50	CI₅₀ µg/ml
Complexe 02	49,97±5,58	53,97±5,18	64,67±1,11	64,67±1,14	65,85±0,97	65,94±0,42	73,35±3,29	9.30±5.88
Concentration µg/ml	6.25	12.5	25	50	100	200	400	
Complexe 01	3,64±1,89	25,58±4,62	57,82±2,52	63,52±2,22	Sat	Sat	Sat	15.54±0.51
Complexe 03	NA	NA	NA	46,42±0,21	46,67±0,42	53,33±1,05	54,67±1,47	149.14±5.50
Complexe 04	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Complexe 05	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Complexe 06	NA	26,38±5,36	44,68±10,66	66,75±1,18	70,18±0,28	Sat	Sat	30.51±2.12
Complexe 10	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Complexe 11	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Complexe 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Concentration µg/ml	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
Galanthamine	3,26± 0,62	6,93± 0,62	24,03± 2,94	45,13±2,60	63,87±2,85	73,57±0,77	78,95±0,58	34.75±1.99

NA : pas d'absorbance

Partie II : Etude expérimentale

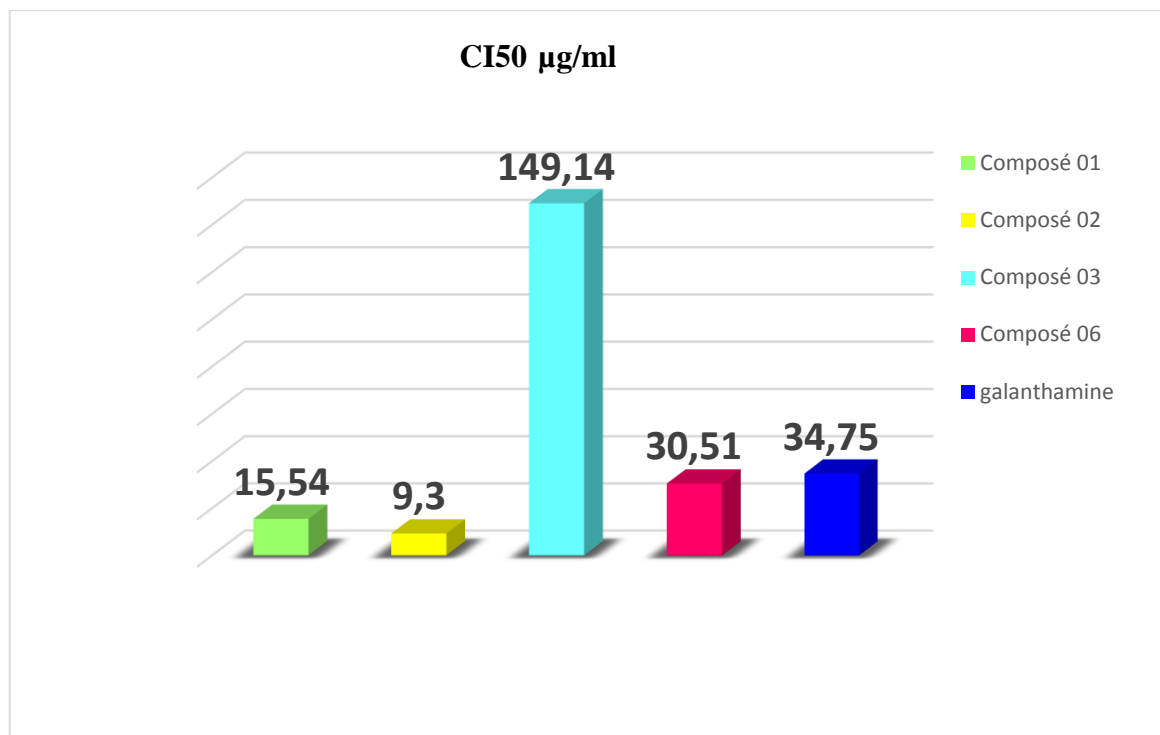


Figure 57. Valeurs des CI_{50} du test anti-butyrylcholinestérase sous forme d'histogramme

D'après les résultats des CI_{50} (**Tableau 17** et **Figure 57**) on observe que le complexe (02) $[CuCl_2(H_2O)_4] \cdot (C_8H_6O_4)_2$ présente la plus élevée activité inhibitrice ($CI_{50} = 9.30 \pm 5.88$ µg/ml) suivi par le complexe (01) $[Cu(SO_4)_2, (H_2O)_4] \cdot n.(C_7H_{13}O_2N)_2$ ($CI_{50} = 15.54 \pm 0.51$ µg/ml), le complexe 06 ($IC_{50} = 30.51 \pm 2.12$ µg/ml) et le complexe 03 ($CI_{50} = 149.14 \pm 5.50$ µg/ml). L'activité du complexe 02 est trois fois plus élevée que celle du standard galanthamine ($CI_{50} = 34.75 \pm 1.99$ µg/ml) et du complexe 06, et d'une fois plus grande que celle du complexe 01. L'activité du complexe 01 est deux fois plus élevée que celle du galanthamine. Le complexe 03 présentent une faible activité inhibitrice qui est quatre fois plus faible que celle du standard.

Alors que les complexes 04, 05, 10, 11 et 12 ne montrent aucune absorbance donc ils n'exhibent pas d'activité inhibitrice contre la BChE.

Partie II : Etude expérimentale

II.2.3. Activité inhibitrice de tyrosinase

D'après les résultats des pourcentages d'inhibition présentés dans le **Tableau 18**, les douze complexes synthétisés ont présenté des pourcentages d'inhibition très faible ($> 400 \mu\text{g/ml}$) ce qui montre que ces derniers ne présentent pas une capacité inhibitrice contre la tyrosinase.

Tableau 18. Inhibition de la tyrosinase

%Inhibition de la tyrosinase								
Concentration $\mu\text{g/ml}$	6.25	12.5	25	50	100	200	400	CI ₅₀ $\mu\text{g/ml}$
Complexe 01	14,19±3,54	20,07±0,58	30,82±4,07	27,79±0,29	29,81±0,58	14,53±0,29	NA	>400
Complexe 02	37,87±0,58	40,39±1,45	39,71±2,04	36,52±0,00	NA	20,41±1,01	NA	>400
Complexe 03	24,59±3,84	20,24±2,33	25,60±2,27	37,20±0,58	42,57±0,87	43,91±0,29	44,58±0,87	>400
Complexe 04	12,01±0,77	12,52±2,09	6,47±0,58	12,51±0,29	12,01±0,29	19,73±2,33	21,75±1,45	>400
Complexe 05	2,94± 0,66	1,04±7,12	NA	NA	NA	NA	NA	>400
Complexe 06	10,30±0,86	NA	3,70±0,00	12,44±0,33	11,49±0,33	6,36±2,69	NA	>400
Complexe 07	14,05±1,46	33,29±8,9	15,15±2,85	37,04±4,79	32,13±0,11	41,08±5,71	37,56±0,86	>400
Complexe 08	10,51±1,14	6,88±1,21	18,22±5,98	18,47±3,04	14,91±0,33	NA	4,46±0,33	>400
Complexe 09	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Complexe 10	18,15±1,57	22,42±2,12	25,93±2,32	24,21±2,18	27,96±0,67	28,60±0,22	29,50±0,67	>400
Complexe 11	21,18±2,35	35,53±3,47	36,75±1,36	24,88±1,33	30,76±3,47	33,87±1,11	36,05±0,67	>400

Partie II : Etude expérimentale

Complexe 12	31,58±4,00	33,48±1,82	33,10±1,11	32,46±0,44	33,35±0,00	32,24±7,94	47,87±0,22	>400
Concentration µg/ml	3.125µg	6.25µg	12.5µg	25µg	25µg	100µg	200µg	
Kojic acid	6,91±0,75	19,22±0,75	36,29±2,92	49,46±2,24	58,32±0,37	64,36±0,65	66,95±2,24	25.23 ±0.78

II.2.4. Activité inhibitrice de l'α-amylase

Dans cette étude, un effet inhibiteur *in vitro* des douze complexes synthétisés a été étudié. Les résultats enregistrés ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition des différents extraits selon la même formule précédemment utilisée pour les activités précédentes et de tracer les courbes en fonction des concentrations des extraits et du standard qui est l'Acarbose (Tableau 19).

Tableau 19. Pourcentages d'inhibition de l'alpha amylase par les composés synthétisés

Complexes	% d'inhibition de l'alpha amylase							
	19.53125µg	39.0625 µg	78.125 µg	156.25 µg	312.5 µg	625 µg	1250 µg	CI ₅₀ (µg/ml)
Complexe 05	24,29±1,46	26,09±1,26	27,58±1,93	-	-	-	-	>1250
Complexe 06	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Complexe 09	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Complexe 02	-	-	-	-	32,02±3,59	34,51±4,49	-	>1250
Complexe 03	32,39±6,59	35,43±1,88	35,58±2,90	38,33±1,11	39,17±3,17	-	-	>1250
complexe 04	34,49±0,34	35,62±0,42	35,91±0,42	38,23±0,68	39,32±1,21	-	-	>1250
Complexe 01	-	-	-	-	-	-	-	>1250
Complexe 07	14,49±0,20	17,48±0,07	20,84±0,30	20,84±1,29	26,45±1,49	-	-	>1250
Complexe 08	-	-	-	-	20,86±0,17	34,01±0,10	34,01±0,10	>1250
Complexe 10	-	37,26±0,52	39,58±0,83	39,68±4,45	42,72±3,72	-	-	>1250
Complexe 11	27,33±1,62	31,65±2,12	33,85±2,41	36,11±0,00	-	-	-	>1250
Complexe 12	-	-	36,01±0,62	36,71±0,98	38,22±0,33	-	-	>1250
Standard	62,5 µg	125 µg	250 µg	500 µg	1000 µg	2000 µg	4000 µg	CI₅₀ (µg/ml)
Acarbose	7,76±0,17	8,08±0,30	9,46±0,11	10,70±0,96	31,81±2,89	37,21±3,54	53,05±1,59	3650,93±10,70

Partie II : Etude expérimentale

D'après le tableau présenté en haut on constate que tous les complexes ont présenté une faible activité inhibitrice contre l'alpha amylase à une concentration de 1250 µg, sauf les deux complexes 06 et 09 n'ont présenté aucune absorbance à une même concentration.

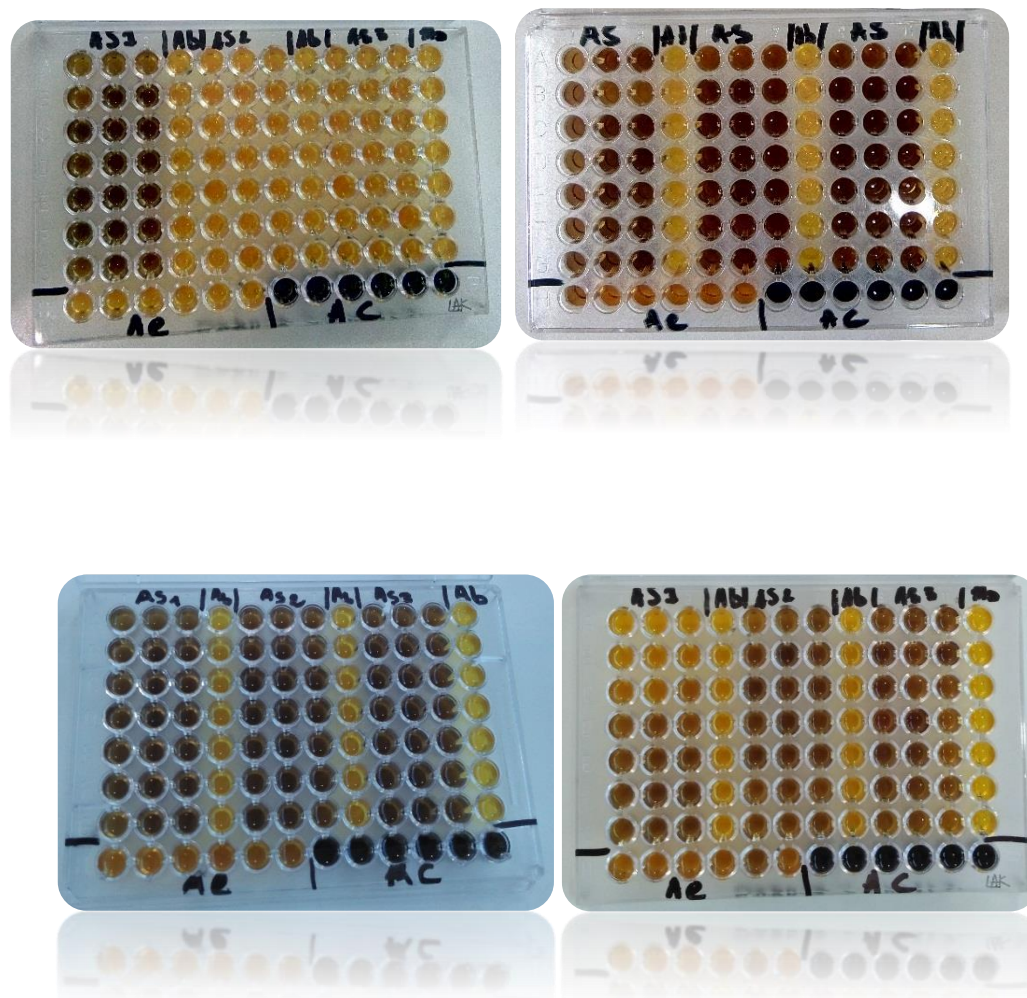


Figure 58. Profil de microplaque obtenu des douze complexes

L'analyse des résultats obtenus a montré que :

Le complexe (02) $[\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2$ a révélé la meilleure activité anti-AChE ($\text{CI}_{50} = 4.41 \pm 0.84$), alors que le même ligand avec le sulfate de fer (II) (complexe 05) n'a montré aucune activité, et avec le sulfate de cuivre(II) (complexe 06) a montré une faible activité ($\text{CI}_{50} = 185.36 \pm 5.65$) incomparable à celle du standard (6.27 ± 1.15) et du complexe 02.

Ces mêmes complexes dans le test contre l'activité inhibitrice de la BChE ont montré différents résultats. Le complexe 02 a également montré une très bonne activité ($\text{IC}_{50} = 9.30 \pm 5.88$) plus élevée que celle du standard (34.75 ± 1.99), le complexe 05 n'a montré aucune activité, alors que le complexe 06 a présenté une activité meilleure que celle du complexe 02 et du standard.

Partie II : Etude expérimentale

On remarque la même chose avec les autres complexes testés. Les complexes formés avec l'acide cis-4 Aminocyclohexane carboxylique (**L4**) ; le composé (01) $[\text{Cu}(\text{SO}_4)_2, (\text{H}_2\text{O})_4] \cdot n$. $(\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N})_2$ avec le sulfate de cuivre, a montré une bonne activité inhibitrice contre l'AChE et la BChE, alors que le complexe 10, complexé avec le même ligand et le chlorure de cobalt n'a montré aucune activité contre la BChE, ce dernier n'est pas testé contre l'AChE.

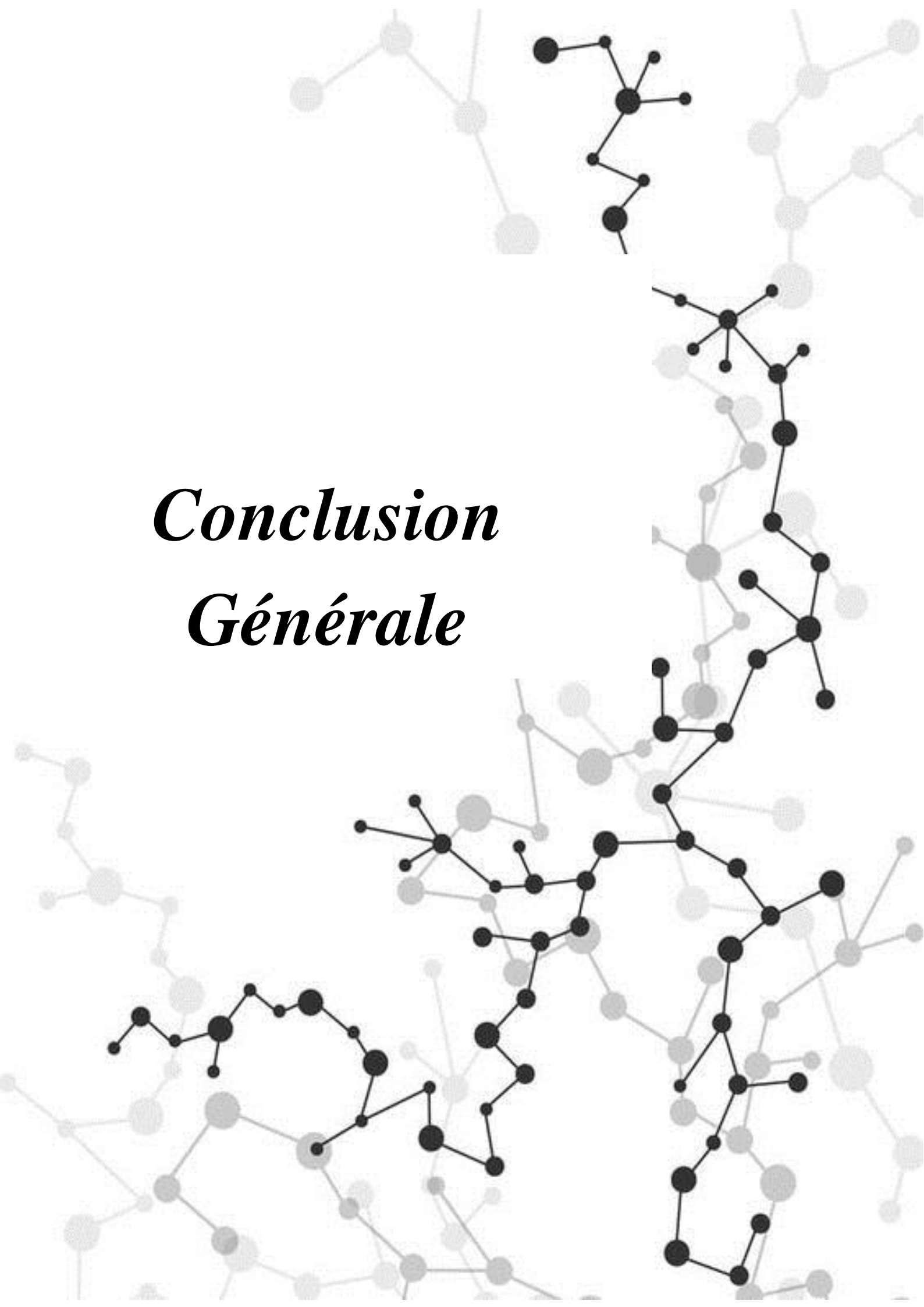
Les complexes obtenus avec le ligand mercaptosuccinique (**L1**) présentent aussi différents résultats, on remarque que le complexe 04 avec le sulfate de cuivre ne montre aucune activité contre les deux enzymes, alors que le complexe 07 avec le chlorure de cuivre montre de bonne activité inhibitrice contre l'AChE ce dernier n'est pas testé contre la BChE.

On peut suggérer que ces propriétés biologiques différentes présentées par chaque complexe de métaux de transition sont dues à la variation de différents ions métalliques et même les sels métalliques du même métal, le changement dans les ligands et par conséquent les atomes donneurs, le changement dans les substituants du ligand ce qui amène au changement de la géométrie des complexes [2].

D'après les études de (*Kelly J. Kilpin et Paul J. Dyson*), ont proposé que les inhibiteurs d'enzymes à base de métaux puissent être classés en trois classes principales selon le rôle du centre métallique dans le processus d'inhibition [114]:

- Complexes contenant un centre métallique qui ne se coordonne pas directement avec l'enzyme. Mais, ce sont les ligands qui présentent un effet biologique actif et sont responsables de la liaison et l'activité inhibitrice contre l'enzyme à travers ces substitutions, bien que le métal puisse subir des événements de redox qui renforcent ces effets.
- Complexes où les ligands masquent simplement un ion métallique «nu», qui interagit généralement, de manière non sélective, avec de nombreuses différentes cibles protéiques. Les ligands ne sont généralement pas bioactifs, mais sont présents pour stabiliser ou protéger le centre métallique réactif.
- Complexes où se trouvent à la fois le métal et les ligands biologiquement actifs et sont mutuellement responsables de l'activité biologique du complexe.

On peut suggérer aussi que les complexes présentant de bonne activité contre ces enzymes, c'est qu'ils s'intègrent bien dans la poche active de l'enzyme par le biais des différentes liaisons avec certains résidus du site actif de l'enzyme cible, empêchant ainsi la liaison du substrat naturel [5].

The background features a complex network of interconnected nodes and lines, resembling a molecular structure or a network graph. The nodes are represented by circles of varying sizes and shades of gray, while the lines are thin and black. The overall appearance is that of a dense, interconnected web of points and connections, with some nodes being significantly larger than others, suggesting a hierarchical or central structure.

Conclusion Générale

Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons synthétisé douze nouveaux complexes à partir de cinq ligands et différents sel métallique du cuivre, cobalt et le fer dans différents solvants.

Nous avons étudié leur activité antioxydante, parallèlement les tests enzymatiques ont été effectués pour certains de ces complexes. Enfin, nous avons pu obtenir la structure moléculaire exacte des deux complexes exhibant les meilleures activités biologiques.

Nous avons pu constater que les activités biologiques des complexes varient selon l'halogénure métallique de départ. En effet, les complexes obtenus à partir du chlorure du métal sont souvent différents de ceux dérivant du sulfate du même métal, pour un même ligand.

En outre, ce travail nous a permis, de mettre en évidence deux phénomènes intéressants :

- ✓ Une activité anticholinestérasique notable du complexe $[\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2$ ($\text{CI}_{50} = 4.41 \pm 0.84 \mu\text{g/ml}$) plus élevée que celle du standard galanthamine, ainsi les complexes (01) $[\text{Cu}(\text{SO}_4)_2, (\text{H}_2\text{O})_4] \cdot \text{n} \cdot (\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N})_2$ ($\text{CI}_{50} = 34.26 \pm 0.67 \mu\text{g/ml}$), (03) ($\text{CI}_{50} = 40.27 \pm 1.27 \mu\text{g/ml}$) et 07 ($\text{CI}_{50} = 37.01 \pm 2.06 \mu\text{g/ml}$) ont présenté une très bonne activité inhibitrice contre cette enzyme.
- ✓ Une très bonne activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase plus élevée que celle du standard pour les complexes (01) $[\text{Cu}(\text{SO}_4)_2, (\text{H}_2\text{O})_4] \cdot \text{n} \cdot (\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N})_2$ ($\text{IC}_{50} = 15.54 \pm 0.51 \mu\text{g/ml}$), (02) $[\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2$ ($\text{CI}_{50} = 9.30 \pm 5.88 \mu\text{g/ml}$) et 06 ($\text{CT}_{50} = 30.51 \pm 2.12 \mu\text{g/ml}$) et une faible activité pour le complexe 03 ($\text{CI}_{50} = 149.14 \pm 5.50 \mu\text{g/ml}$).

On propose dans un premier temps l'étude des mécanismes et modes de liaison des complexes à base de métaux qui présentent les meilleures activités avec les cibles enzymatiques et cela par une co-cristallisation du complexe avec sa cible.

On propose aussi de réaliser les tests des activités biologiques enzymatiques pour les complexes qui n'en subissent pas et de réaliser le test du pouvoir antibactérien pour les douze nouveaux complexes.

Bien qu'il existe de nombreux exemples de complexes métalliques avec des activités biologiques *in vitro*, le prochain défi consiste à développer leur potentiel thérapeutique *in vivo*.

L'utilisation des métaux en médecine ouvre de nouveaux horizons mais nécessite de prendre en compte leur complexité propre. Ainsi, lorsqu'on synthétise des complexes métalliques à visée thérapeutique, différents événements doivent entrer en considération.

L'hydrolyse des complexes métalliques en milieu biologique peut s'avérer problématique. Si on souhaite qu'un complexe actif atteigne sa cible, il doit persister sous cette forme, aussi bien dans un milieu aqueux que dans un milieu plus hydrophobe caractéristique des membranes cellulaires des vésicules et des sites actifs des enzymes. L'interaction des composés métalliques avec diverses protéines plasmatiques, telles que l'albumine et la transferrine qui possèdent des domaines structuraux capables de former des liaisons à haute affinité avec les métaux ainsi qu'avec les différents médicaments peut également représenter un obstacle à l'objectif thérapeutique fixé. Un autre point d'achoppement, plus classique, est le passage des membranes. En effet, le complexe formé du métal et de ses ligands doit, dans certains cas, pour atteindre sa cible moléculaire, traverser la membrane cellulaire, intact. Enfin, avant d'arriver à sa cible moléculaire, le complexe métallique entre en compétition avec les protéines spécialisées dans le transport des métaux, donc d'étudier et évaluer les caractéristiques d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion ce qui donne ainsi une estimation de la dose à administrer. Ces difficultés posent autant de nouveaux défis à réaliser.

The background features a complex network of molecular structures. It consists of numerous interconnected nodes (represented by circles of varying sizes) and edges (represented by lines). The structures are rendered in two colors: a light gray and a dark black. The dark black structures are more prominent and form a dense, branching network, while the light gray structures are more sparse and serve as a background pattern. The overall appearance is that of a molecular graph or a network diagram.

Références
Bibliographiques

Références

- [1] Mertz, W. (1981). The essential trace elements. *Science*, vol 213(4514), p. 1332-1338.
- [2] Nandanwar, S. K., & Kim, H. J. (2019). Anticancer and Antibacterial Activity of Transition Metal Complexes. *ChemistrySelect*, vol 4(5), p. 1706-1721.
- [3] Dulcevscaia, G. M., Kravtsov, V. Ch., Macaev, F. Z., Duca, G. G., Stingachi, E. P., Pogrebnoi, S. I., Boldescu, V. V., Clapco, S. F., Tiurina, J. P., Deseatnic-Ciloci, A. A., Lipkowski, J., Liu, S.-X., Decurtins, S., & Baca, S. G. (2013). New copper (II) complexes with isoconazole : Synthesis, structures and biological properties. *Polyhedron*, vol 52, p. 106-114.
- [4] Shakeri, A., Panahi, Y., Johnston, T. P., & Sahebkar, A. (2019). Biological properties of metal complexes of curcumin. *BioFactors*, vol 45(3), p. 304-317.
- [5] Kilpin, K. J., & Dyson, P. J. (2013). Enzyme inhibition by metal complexes : Concepts, strategies and applications. *Chemical Science*, vol 4(4), p. 1410.
- [6] Hartinger, C. G., & Dyson, P. J. (2009). Bioorganometallic chemistry—From teaching paradigms to medicinal applications. *Chem. Soc. Rev.* vol 38(2), p. 391-401.
- [7] Kendur, U., Chimmalagi, G. H., Patil, S. M., Gudasi, K. B., & Frampton, C. S. (2018). Synthesis, structural characterization and biological evaluation of mononuclear transition metal complexes of zwitterionic dehydroacetic acid N -aroylhydrazone ligand : Zwitterionic dehydroacetic acid N-aroylhydrazone. *Applied Organometallic Chemistry*, vol 32(4), p. e4278.
- [8] Busch, D. H. (1993). The complete coordination chemistry - one practioner's perspective. *Chemical Reviews*, vol 93(3), p. 847-860.
- [9] Werner, A. (1893). Beitrag zur Konstitution anorganischer Verbindungen. *anorganische Chemie*, vol 3(1), p. 267-330.
- [10] S.F.A.Kettle. (1999). *Physico-chimie inorganique*.Ed.DeBoek.
- [11] Brown, T. L. (1963). An Introduction to the Chemistry of Complex Compounds by A. A. Grinberg. *Inorganic Chemistry*, vol 2(4), p. 882-883.
- [12] G.Wilkinson, R.D.Gillard, J.A.McCleveerty. *Comprehensive coordination chemistry*.

- [13] Transition Metals. (2014). In V. Levitin, *Interatomic Bonding in Solids*, p. 193-214. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- [14] Introduction to Transition Metals. (2016). In G. W. Luther, *Inorganic Chemistry for Geochemistry and Environmental Sciences*, p. 237-304. John Wiley & Sons, Ltd.
- [15] Juliette Trepreau. (2011). Perception du stress métallique (nickel/cobalt) par le système de signalisation transmembranaire Cnr chez *Cupriavidus metallidurans* CH34. Thèse de doctorat en Chimie Biologie. Université de Grenoble, France. p. 9-10.
- [16] AMESSIS Thinehinane/BELHADJ Soraya. (2018). Thèse de master en chimie Synthèse solvo/hydrothermale et caractérisation de complexes de métaux de transition à base de ligands rigides. Université de Bejaia, Algérie. p.2.
- [17] Haas, K. L., Franz, K. J. (2009). Application of Metal Coordination Chemistry To Explore and Manipulate Cell Biology. *Chemical Reviews*. Vol 109(10). P.4921–4960.
- [18] Transition Metals and d-Block Metal Chemistry. (2015). In K. A. Strohfeldt, *Essentials of Inorganic Chemistry*. p. 123-182. John Wiley & Sons, Ltd.
- [19] Rines, A. K., & Ardehali, H. (2013). Transition metals and mitochondrial metabolism in the heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. Vol 55. p.50-57.
- [20] Yao, S., Flight, R. M., Rouchka, E. C., & Moseley, H. N. B. (2017). Aberrant Coordination geometries discovered in the most abundant metalloproteins: Aberrant Coordination Geometries in Metalloproteins. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. Vol 85(5). p.885-907.
- [21] Ackerman, C. M., & Chang, C. J. (2017). Copper signaling in the brain and beyond. *Journal of Biological Chemistry*. Vol 293(13). p.4628–4635.
- [22] Bowman, S. E. J., Bridwell-Rabb, J. and Drennan, C. L. (2016). Metalloprotein Crystallography: More than a Structure. *Accounts of Chemical Research*. Vol 49(4). pp. 695–702.
- [23] Bertini, I., Gray, H., Lippard, S., et Valentine, J. (Éd.). (1994). *Bioinorganic chemistry*. University Science Books. Chapitre 1.
- [24] Hordyjewska, A., Popiołek, Ł. and Kocot, J. (2014). The many “faces” of copper in medicine and treatment. *BioMetals*. Vol 27(4), p. 611–621.

- [25] Conry, R. R. (2011). Copper : Inorganic & Coordination Chemistry Based in part on the article Copper: Inorganic & Coordination Chemistry by Rebecca R. Conry & Kenneth D. Karlin which appeared in the Encyclopedia of Inorganic Chemistry, First Edition . In R. A. Scott (Éd.), Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry . p. eibc0050. John Wiley & Sons, Ltd.
- [26] Tisato, F., Marzano, C., Porchia, M., Pellei, M., & Santini, C. (2009). Copper in diseases and treatments, and copper-based anticancer strategies. Medicinal Research Reviews.
- [27] Grass, G., Rensing, C., & Solioz, M. (2010). Metallic Copper as an Antimicrobial Surface. Applied and Environmental Microbiology, 77(5), 1541–1547.
- [28] Williams, E. (2005). Cobalt, in Considine, G. D. (ed.) Van Nostrand's Scientific Encyclopedia. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., p. vse1834.
- [29] Blackman, A. G. (2011). Cobalt: Inorganic & Coordination Chemistry Based in part on the article Cobalt: Inorganic & Coordination Chemistry by David A. Buckingham which appeared in the Encyclopedia of Inorganic Chemistry, First Edition., in Scott, R. A. (ed.) Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, p. eibc0044.
- [30] Sánchez M, Sabio L, Gálvez N, Capdevila M, Dominguez-Vera JM. (2017) Iron chemistry at the service of life. IUBMB Life. Vol 69(6). p.382-8.
- [31] Gasser, G., & Metzler-Nolte, N. (2012). The potential of organometallic complexes in medicinal chemistry. Current Opinion in Chemical Biology. Vol 16(1-2). p. 84-91.
- [32] Boukebbous.k., (2009). Étude de complexes métalliques des ligands soufrés, azote et d'autre molécules halogénés. These de magister en chimie. Université Mentouri Constantine, Algérie. Chapitre 1. p. 16-20.
- [33] Jaouen, G., Beck, W., & McGlinchey, M. J. (2006). A Novel Field of Research : Bioorganometallic Chemistry, Origins, and Founding Principles. In G. Jaouen (Éd.), Bioorganometallics. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. p. 1-37.
- [34] Redjda .W (2014). Synthèse, caractérisation et pouvoir antioxydant des complexes de Cu(II), Co(II) et Ni(II) avec une base de Schiff et l'ion thiocyanate.Mémoire de Master. Université A. MIRA - Béjaïa -Faculté des Sciences Exactes-Département de Chimie. P 7

- [35] Chavain, N., & Biot, C. (2010). Organometallic Complexes: New Tools for Chemotherapy. *Current Medicinal Chemistry*. Vol 17(25). p. 2729-2745.
- [36] Weder, J. E., Dillon, C. T., Hambley, T. W., Kennedy, B. J., Lay, P. A., Biffin, J. R., Regtop, H. L., & Davies, N. M. (2002). Copper complexes of non-steroidal anti-inflammatory drugs: An opportunity yet to be realized. *Coordination Chemistry Reviews*. Vol 232(1-2). p.95-126.
- [37] Bisceglie, F., Bacci, C., Vismarra, A., Barilli, E., Pioli, M., Orsoni, N., & Pelosi, G. (2020). Antibacterial activity of metal complexes based on cinnamaldehyde thiosemicarbazone analogues. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Vol 203. p. 110888.
- [38] Mjos, K. D., & Orvig, C. (2014). Metallodrugs in Medicinal Inorganic Chemistry. *Chemical Reviews*. Vol 114(8). p.4540-4563.
- [39] Vincent, M., Hartemann, P., & Engels-Deutsch, M. (2016). Antimicrobial applications of copper. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. Vol 219(7). p .585-591.
- [40] Tewes, F., Bahamondez-Canas, T. F., & Smyth, H. D. C. (2019). Efficacy of Ciprofloxacin and Its Copper Complex against *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *AAPS PharmSciTech*. Vol 20(5). p. 205.
- [41] Vlaicu, I., Borodi, G., Scăețeanu, G., Chifiriuc, M., Măruțescu, L., Popa, M., Stefan, M., Mercioniu, I., Maurer, M., Daniliuc, C., Olar, R., & Badea, M. (2018). X-ray Crystal Structure, Geometric Isomerism, and Antimicrobial Activity of New Copper(II) Carboxylate Complexes with Imidazole Derivatives. *Molecules*. Vol 23(12). p. 3253.
- [42] Nagaraj, K., Senthil Murugan, K., Thangamuniyandi, P., & Sakthinathan, S. (2014). Synthesis, Micellization Behaviour, DNA/RNA Binding and Biological Studies of a Surfactant Cobalt(III) Complex With Dipyrido[3,2-a:2',4'-c](6,7,8,9-tetrahydro)phenazine. *Journal of Fluorescence*. Vol 24(6). p. 1701-1714.
- [43] Patra, M., Gasser, G., Wenzel, M., Merz, K., Bandow, J. E., & Metzler-Nolte, N. (2010). Synthesis and Biological Evaluation of Ferrocene-Containing Bioorganometallics Inspired by the Antibiotic Platensimycin Lead Structure. *Organometallics*, vol 29(19), p. 4312–4319.

- [44] Florindo, P. R., Pereira, D. M., Borrvalho, P. M., Rodrigues, C. M. P., Piedade, M. F. M., & Fernandes, A. C. (2015). Cyclopentadienyl–Ruthenium(II) and Iron(II) Organometallic Compounds with Carbohydrate Derivative Ligands as Good Colorectal Anticancer Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. Vol 58(10). p. 4339-4347.
- [45] Iakovidis, I., Delimaris, I., & Piperakis, S. M. (2011). Copper and Its Complexes in Medicine : A Biochemical Approach. *Molecular Biology International*, vol 2011, p. 1-13.
- [46] Frei, A. (2020). Metal Complexes, an Untapped Source of Antibiotic Potential? *Antibiotics*. Vol 9(2), p. 90.
- [47] Boukebbous, K. (2009). Etude de complexes métalliques des ligands soufrés, azorés et d'autres molécules halogénés. These de magister en chimie. Université Mentouri Constantine, Algérie.
- [48] Brandt, U., Deters, A., & Steinbüchel, A. (2015). A jack-of-all-trades : 2-mercaptosuccinic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol 99(11), p. 4545-4557.
- [49] Egbewande, F. A. et al. (2018). Identification of Gibberellic Acid Derivatives That Dereglulate Cholesterol Metabolism in Prostate Cancer Cells. *Journal of Natural Products*, vol 81(4), p. 838:845.
- [50] Shi, T.Q. et al. (2019). CRISPR/Cas9-Based Genome Editing in the Filamentous Fungus *Fusarium fujikuroi* and Its Application in Strain Engineering for Gibberellic Acid Production, vol 8, p. 838-845.
- [51] Camara, M. C. et al. (2018). Current advances in gibberellic acid (GA3) production, patented technologies and potential applications. *Planta*.
- [52] Tian, H. et al. (2017). Synthesis of Gibberellic Acid Derivatives and Their Effects on Plant Growth. *Molecules*, vol 22(5), p.694.
- [53] German pat. 91, 202 PHRYNE—PHTHALIC ACIDS 1911. *Encyclopædia Britannica*, vol 21.
- [54] Tom T; James F; American C. S, [2017]. Specifications and procedures for reagents and standard-grade reference materials.

- [55] O-Phthalic acid [88-99-3; Phthalic acid], m-Phthalic acid [121-91-5; isophthalic acid], p-Phthalic acid [100-21-0; terephthalic acid] [MAK Value Documentation, 2012]. (2015). the MAK-Collection for Occupational Health and Safety, p. 1–12.
- [56] Bao-Zeng Ren,* Cui-Hong Hou, Hai-Gong Chong, Wei-Ran Li, and Huai-Jun Song College of Chemical Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450002, People's Republic of China. (2006) Solubility of o-Phthalic Acid in Methanol + Water and Methanol + Butyl Acetate from (295.87 to 359.75) K J. Chem. Eng. Data, vol 51, p. 2022-2025.
- [57] Zhurov, V. V., & Pinkerton, A. A. (2014). Quantifying the Inter- and Intramolecular Interactions in Crystalline Phthalic Acid. *Crystal Growth & Design*, vol 14(11), p. 5685-5691.
- [58] Ren, B.Z., Hou, C.H., Chong, H.G., Li, W.R., Song, H.G. (2006). Solubility of o-Phthalic Acid in Methanol + Water and Methanol + Butyl Acetate from (295.87 to 359.75) College of Chemical Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450002, People's Republic of China J. Chem. Eng. Data, vol 51, p. 2022-2025.
- [59] Meng, J.-R., Yao, P.-F., Cui, L.-S., Gan, Y.-L., Li, H.-Y., Liu, H.-F., & Huang, F.-P. (2018). Two Co(II) compound constructed by phthalic acid and 3-Cl-phthalic acid: Synthesis, structure, and magnetic properties. *Journal of Molecular Structure*, 1155, 297–302.
- [60] Baca, S. G., Simonov, Y. A., Gerbeleu, N. V., Gdaniec, M., Bourosh, P. N., & Timco, G. A. (2001). Synthesis and X-ray diffraction study of Zn (II) complexes with o-phthalic acid and aromatic amines. *Polyhedron*, 20(9-10), 831–837.
- [61] Merck.Sigma Aldrich. Cis-4-Aminocyclohexanecarboxylic acid 95 %. [<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/404853?lang=en®ion=DZ>] Consulter le (18/08/2020).
- [62] Sobolewski, D., Prahl, A., Derdowska, I., Kwiatkowska, A., Slaninová, J., & Lammek, B. (2007). Influence of conformationally constrained amino acids replacing positions 2 and 3 of arginine vasopressin (AVP) and its analogues on their pharmacological properties. *Protein and Peptide Letters*, vol 14(3), p. 213-217.
- [63] Johnston, T. P., McCaleb, G. S., Rose, W. C., & Montgomery, J. A. (1984). Cis-4-[[[(2-Chloroethyl)nitrosoamino]carbonyl]methylamino] cyclohexanecarboxylic acid, a nitrosoourea

with latent activity against an experimental solid tumor. *Journal of Medicinal Chemistry*, vol 27(1), p. 97-99.

[64] Mahmood, K., Akhter, Z., Asghar, M. A., Mirza, B., Ismail, H., Liaqat, F., McKee, V. (2019). Synthesis, characterization and biological evaluation of novel benzimidazole derivatives. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*.

[65] Yu, T.-Y., Mok, K. C., Kennedy, K. J., Valton, J., Anderson, K. S., Walker, G. C., & Taga, M. E. (2012). Active site residues critical for flavin binding and 5,6-dimethylbenzimidazole biosynthesis in the flavin destructase enzyme BluB. *Protein Science*, vol 21(6), p. 839–849.

[66] Yadav, G., & Ganguly, S. (2015). Structure activity relationship (SAR) study of benzimidazole scaffold for different biological activities: A mini-review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol 97, p. 419–443.

[67] Faheem, M., Rathaur, A., Pandey, A., Kumar Singh, V., & Tiwari, A. K. (2020). A Review on the Modern Synthetic Approach of Benzimidazole Candidate. *ChemistrySelect*, vol 5(13), p. 3981–3994.

[68] ChemicalBook. CAS DataBase List .5, 6-Dimethylbenzimidazole. [https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB2142317.htm].consulted le (18/09/2020).

[69] Keri, R. S., Hiremathad, A., Budagumpi, S., & Nagaraja, B. M. (2014). Comprehensive Review in Current Developments of Benzimidazole-Based Medicinal Chemistry. *Chemical Biology & Drug Design*, vol 86(1), p. 19–65.

[70] Kumar, B. V. S., Vaidya, S. D., Kumar, R. V., Bhirud, S. B., & Mane, R. B. (2006). Synthesis and anti-bacterial activity of some novel 2-(6-fluorochroman-2-yl)-1-alkyl/acyl/aro-1H-benzimidazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol 41(5), p. 599–604.

[71] Barbillat J., Bougeard D., Buntinx G., Delhaye M., Dhamelincourt P. et Fillaux F. (1999) *Spectrométrie Raman, Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation*.

[72] Colthup, N. B., Daly, L. H., & Wiberley, S. E. (1990). *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*. Elsevier Science.

- [73] Long D.A. (1977). Raman Spectroscopy, Eds., McGraw-Hill International Book Company, New York.
- [74] Dyer. (1972). Applications of Absorption Spectroscopy of Organic Compounds - Heyden.
- [75] Mentzen B.F. (1974). Spectroscopies Infrarouge et Raman – Masson. Lyon, France. p. 246.
- [76] Bentchikou-Ramoul.L.(2005). Extraction et analyse d'un asphaltène issu d'un pétrole brut algérien. Thèse de magister en génie de procédés. Université Houari Boumediene, Algérie.
- [77] Rouessac, F., Rouessac, A., & Cruché, D. (2004). Analyse chimique : Méthodes et techniques instrumentales modernes : cours et exercices résolus. Paris : Dunod. P. 454.
- [78] Lerverve, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants? Cahiers de Nutrition et de Diététique. 44(5), p. 219-224.
- [79] Montezano, A. C., Dulak-Lis, M., Tsiropoulou, S., Harvey, A., Briones, A. M., & Touyz, R. M. (2015). Oxidative Stress and Human Hypertension: Vascular Mechanisms, Biomarkers, and Novel Therapies. Canadian Journal of Cardiology. Vol 31(5), p. 631-641.
- [80] Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme. Vol 11(2). p. 115-120.
- [81] Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. Annales Pharmaceutiques Françaises. Vol 64(6), p. 390-396.
- [82] Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme. Vol 11(2). p. 115-120.
- [83] Sarangarajan, R., Meera, S., Rukkumani, R., Sankar, P., & Anuradha, G. (2017). Antioxydants : Friend or foe? Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. Vol 10(12), p. 1111-1116.
- [84] Arc-Chagnaud, C., Py, G., Fovet, T., Roumanille, R., Demangel, R., Pagano, A. F., Delobel, P., Blanc, S., Jasmin, B. J., Blottner, D., Salanova, M., Gomez-Cabrera, M.-C., Viña, J., Brioché, T., & Chopard, A. (2020). Evaluation of an Antioxidant and Anti-inflammatory

Cocktail Against Human Hypoactivity-Induced Skeletal Muscle Deconditioning. *Frontiers in Physiology*. Vol 11, p. 71.

[85] Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : Rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*. Vol 74(7), p. 636-643.

[86] Zhang, Z., Wu, Y., Yuan, S., Zhang, P., Zhang, J., Li, H., Li, X., Shen, H., Wang, Z., & Chen, G. (2018). Glutathione peroxidase 4 participates in secondary brain injury through mediating ferroptosis in a rat model of intracerebral hemorrhage. *Brain Research*. Vol 1701, p. 112-125.

[87] Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1986). Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine : Some problems and concepts. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Vol 246(2), p. 501-514.

[88] Glorieux, C., & Calderon, P. B. (2017). Catalase, a remarkable enzyme : Targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. *Biological Chemistry*. Vol 398(10), p. 1095-1108.

[89] Delattre J, Beaudeau J.L, Bonnefont- R. D. (2005) Systèmes antioxydants endogènes. In *Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologiques*. Edt Tec Doc. Paris: Lavoisier; p.87-108.

[90] Padayatty, S., & Levine, M. (2016). Vitamin C : The known and the unknown and Goldilocks. *Oral Diseases*. Vol 22(6), p. 463-493.

[91] Lee, G., & Han, S. (2018). The Role of Vitamin E in Immunity. *Nutrients*. Vol 10(11), p. 1614.

[92] Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 53(6), p.1841-1856.

[93] Foti, M. C., Daquino, C., Mackie, I. D., DiLabio, G. A., & Ingold, K. U. (2008). Reaction of Phenols with the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical. Kinetics and DFT Calculations Applied To Determine ArO-H Bond Dissociation Enthalpies and Reaction Mechanism. *The Journal of Organic Chemistry*. Vol 73(23), p. 9270-9282.

- [94] AS.CARRET-REBILLAT. (2014). Contrôle de la neuroinflammation par la kinase PKR dans les processus pathologiques de la maladie d'Alzheimer. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie, France.
- [95] Wichur, T., Więckowska, A., Więckowski, K., Godyń, J., Jończyk, J., Valdivieso, Á. del R., Panek, D., Pasięka, A., Sabaté, R., Knez, D., Gobec, S., & Malawska, B. (2020). 1-Benzylpyrrolidine-3-amine-based BuChE inhibitors with anti-aggregating, antioxidant and metal-chelating properties as multifunctional agents against Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Vol 187, p. 111916
- [96] Knez, D., Sova, M., Košak, U., & Gobec, S. (2017). Dual inhibitors of cholinesterases and monoamine oxidases for Alzheimer's disease. *Future Medicinal Chemistry*, vol 9(8), p. 811–832.
- [97] Li, Q., Yang, H., Chen, Y., & Sun, H. (2017). Recent progress in the identification of selective butyrylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Vol 132, p. 294-309.
- [98] Arce, M. P., Rodríguez-Franco, M. I., González-Muñoz, G. C., Pérez, C., López, B., Villarroya, M., López, M. G., García, A. G., & Conde, S. (2009). Neuroprotective and Cholinergic Properties of Multifunctional Glutamic Acid Derivatives for the Treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Medicinal Chemistry*. Vol 52(22), p. 7249-7257.
- [99] Carret-Rebillat, A.S., (2014). Contrôle de la neuroinflammation par la kinase PKR dans les processus pathologiques de la maladie d'Alzheimer. Thèse de doctorat en physiologie, physiopathologie et thérapeutique. Université Pierre et Marie Curie, France. p. 4-7.
- [100] Weller, J., & Budson, A. (2018). Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. *F1000Research*. Vol 7, p. 1161.
- [101] Lipsker, D., & Lenormand, C. (2019). Hyperpigmentations. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*. Vol 146(10), p. 666-682.
- [102] Gillbro, J. M., & Olsson, M. J. (2011). The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents - existing and new approaches : Melanogenesis and skin-lightening agents. *International Journal of Cosmetic Science*. Vol 33(3), p. 210-221.
- [103] Lee, S. Y., Baek, N., & Nam, T. (2016). Natural, semisynthetic and synthetic tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. Vol 31(1), p. 1-13.

- [104] Kim, Y.-J., & Uyama, H. (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: Structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cellular and Molecular Life Sciences*. Vol 62(15), p. 1707-1723.
- [105] Chang, T.-S. (2009). An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol 10(6), p. 2440-2475.
- [106] Phytochemical screening, in vitro anti-oxidant activity, and in silico anti-diabetic activity of aqueous extracts of *Ruellia tuberosa* L. (2020). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol 10(3), p. 101-108.
- [107] Kazeem, M. I., Adamson, J. O., & Ogunwande, I. A. (2013). Modes of Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase by Aqueous Extract of *Morinda lucida* Benth Leaf. *BioMed Research International*. Vol 2013, p. 1-6.
- [108] Abdullah, R., & Ikram-ul-Haq. (2015). Purification and characterisation of α -amylase produced by mutant strain of *Aspergillus oryzae* EMS-18. *Natural Product Research*. Vol 29(8), p. 710-716.
- [109] Ogedengbe, O.O., Nimenibo-Uadia, R.I. (2020). Enzyme Inhibitory Activities, Phytochemical Screening and GcMs Analysis of *Ficus Exasperata* Vahl Leaf Extract and Fractions. *Journal of Biotechnology and Biochemistry*. Vol 6(1), p. 39-46.
- [110] Abdullah, R., & Ikram-ul-Haq. (2015). Purification and characterisation of α -amylase produced by mutant strain of *Aspergillus oryzae* EMS-18. *Natural Product Research*. Vol 29(8), p. 710-716.
- [111] Purification and characterisation of α -amylase produced by mutant strain of *Aspergillus oryzae* EMS-18.
- [112] https://static.horiba.com/fileadmin/Horiba/Technology/Measurement_Techniques/Molecular_Spectroscopy/Raman_Spectroscopy/Raman_Academy/Raman_Tutorial/Raman_bands.pdf
- [113] Boualia, I., Derabli, C., Boulcina, R., Bensouici, C., Yildirim, M., Birinci Yildirim, A., Mokrani, E. H., & Debache, A. (2019). Synthesis, molecular docking studies, and biological evaluation of novel alkyl bis(4-amino-5-cyanopyrimidine) derivatives. *Archiv Der Pharmazie*, vol 352(11), p. 1900027.

[114] Kilpin, K. J., & Dyson, P. J. (2013). Enzyme inhibition by metal complexes: concepts, strategies and applications. *Chemical Science*, vol 4(4), p. 1410.

The background of the page is filled with a complex network of molecular structures. These structures are composed of interconnected nodes (represented by circles of varying sizes) and edges (represented by lines). The nodes and lines are rendered in two colors: a light gray and a solid black. The black structures are more prominent and detailed, while the gray ones are lighter and more faded, creating a sense of depth and a layered, scientific aesthetic. The overall composition is abstract and technical, typical of a scientific or technical document's cover or title page.

Annexes

Annexes

❖ Appareillage



Lecteur de microplaques



Etuve



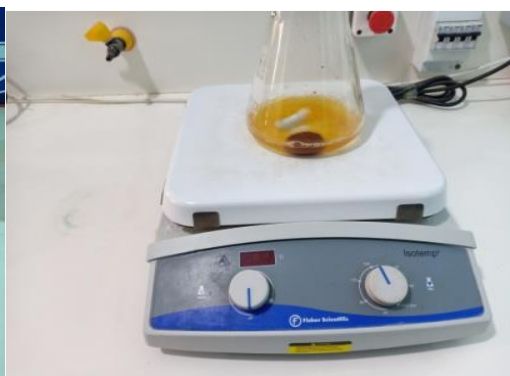
Bac à ultrason



Agitateur vortex



PH-mètre



Agitateur magnétique

Figure 59.Matériel utilisé dans la réalisation des protocoles expérimentaux

❖ **Verrerie et petit matériel :**

Tableau 20.La verrerie utilisée et autres

Béchers	Erlenmeyers
Flacons	Entonnoirs
Verres de montre	Portoirs
Micropipettes	Pipettes graduées
Spatules	Barreaux magnétiques
Embouts	Eppendorf

• **Préparation de la solution du DPPH**

Une quantité de 6 mg de DPPH a été dissoute dans un volume de 100 ml de méthanol. La solution est gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre. Ceci est dans le but d'assuré une quantité du radical (DPPH) suffisante dans le milieu réactionnel pour le bon déroulement de la réaction.

- **Préparation des réactifs**
- **Solution tampon phosphate**

On prépare la solution tampon à partir d'une solution A monobasique (NaH_2PO_4) (1.56g dissout dans 100 ml de l' H_2O) et une solution B dibasique (Na_2HPO_4) (8.89g dissout dans 500 ml d' H_2O). Ensuite, on mélange les proportions des deux solutions A et B pour avoir un pH= 6.8. Notons qu'on a utilisé un pH de 6.8 au lieu de 6.9. (**Tableau 21**). On rajoute 6 mM de NaCl (35.1 mg NaCl pour 100 ml de tampon) au tampon phosphate (pH 6.8).

Tableau 21.Masse utilisée pour chaque complexe

Ph	5.8	6.2	6.4	6.6	6.8	7	7.2	7.4	7.6	7.8	8
NaH_2PO_4 (ml)	92	81.5	73.5	62.5	51	39	28	19	13	8.5	5.3
Na_2HPO_4 (ml)	8	18.5	26.5	37.5	49	61	72	81	87	91.5	94.5

- **Solution de l'alpha amylase**

Une solution mère a été préparée on dissout 1 mg d'enzyme dans 9 ml de solution tampon phosphate (pH 6.8). Pour le teste 1 ml de la solution mère est dilué dans 9 ml du même tampon, la solution diluée est la concentration finale de l'enzyme dans cette solution devient 1U/ml.

- **Solution de l'amidon**

1g d'amidon est dissout dans 100 ml de l'eau distillée, la solution est versée dans un flacon et placée dans la microonde à plusieurs cycles de 15 secondes.

- **Solution IKI**

La solution est obtenue par dissolution de 3 g de KI dans 100 ml de l'eau, puis 127 mg d'iode sont rajoutés, par la suit la solution est portée sous agitation jusqu'à dissolution complète.

- **Solution d'HCl 1M**

L'HCl de 1M est préparé par l'ajout de manière délicate de 45.83 ml d'eau à 4.17 ml d'HCL pure.

- **Préparation du DTNB en solution (5, 5,-Dithiobis (acide 2-nitro-benzoïque))**

Pour 16 mg de DTNB, on ajoute 1 ml de tampon (PH=7), puis on rajoute 7,5 mg de NaHCO₃ pour 1ml (PH=7), ensuite 2 ml de tampon (PH=7) enfin 4 ml (PH=8), ce qui équivaut à un volume total de 8 ml.

- **Mise au point et préparation des substrats**

Grâce à un procédé qui consiste à mettre en solution 16 mg de iodure d'acétylthiocholine (ACI)/ ou 4 mg d'iodure de butyrylthiocholine (BuCI) en 4 ml d'eau distillée, puis on y ajoute 4 ml du tampon a (PH =8).

- **Préparation des solutions enzymatiques**

- ✓ **En ce qui concerne l'AChE**

On fait dissoudre 0,2 mg AChE dans 4 ml (PH=8) afin d'obtenir la solution A, ensuite on met 20 μ l de solution A dans 20 eppendorf, on prend un seul eppendorf dans lequel se trouve 20 μ l de solution A et on y ajoute 3 ml de PH = 8 vers la fin on vérifie l'absorbance à 412 nm celle-ci varie entre 0,4 et 0,5.

- ✓ **Dans le cas du BChE**

Il s'agit d'une dissolution de 0,2 mg de BChE dans 1 ml (PH=8) jusqu'à obtention de la solution A, après on met 20 μ l de solution A dans 20 eppendorf et on prend un seul eppendorf qui contient 20 μ l de la solution A et on ajoute 2 ml de PH = 8 en fin on vérifie l'absorbance à 412 nm celle-ci varie entre 0,4 et 0,5.



Résumé

Résumé

Ce travail est une contribution à une synthèse de douze de nouveaux complexes de coordination à base de métaux de transition en utilisant cinq ligands et des sels de métaux de transition dans différents solvants suivie par l'identification des complexes les plus importants par analyse Raman et élémentaire, ainsi que la caractérisation par diffraction des rayons X (DRX) sur monocristal, pour enfin évaluer quelques activités biologiques.

L'évaluation de l'activité antioxydante des complexes par la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH n'a montré aucune activité antioxydante. De même que l'alpha amylase et la tyrosinase.

Les tests anti acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase ont montré que le complexe (02) $\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4 \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2$ présente une très forte activité contre l'AChE d'une valeur de CI_{50} ($4,41 \pm 0,84 \mu\text{g/ml}$) à une concentration même inférieure au standard galanthamine ($6,27 \pm 1,15 \mu\text{g/ml}$).

Les complexes (01) $\text{Cu}(\text{SO}_4)_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_4 \cdot (\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N})_2$, (02) $[\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2$ et (06) L_3CuSO_4 ayant respectivement la valeur CI_{50} ($\text{CI}_{50} = 15,54 \pm 0,51 \mu\text{g/ml}$), ($\text{CI} = 9,30 \pm 5,88 \mu\text{g/ml}$), ($\text{CI}_{50} = 30,51 \pm 2,12 \mu\text{g/ml}$) ont une meilleure activité inhibitrice contre le BChE, où le composé 06 a un pouvoir inhibiteur plus élevé que celui du complexe 02 et du standard ($34,75 \pm 1,99$).

Nos produits synthétisés sont susceptibles d'être une source potentielle de molécules bioactives en raison de leur intérêt biologique pour traiter la maladie d'Alzheimer.

Mots clés : *métaux de transition, ligands organiques et sels métalliques, complexe organométallique, Raman, analyse élémentaire, diffraction des RX Sur monocristal, activités biologiques.*

المخلص

يعد هذا العمل مساهمة في تكوين اثني عشر مركبا جديداً للتنسيق المعدني الانتقالي باستخدام خمسة روابط وأملاح معدنية في مذيبات مختلفة، يليها تحديد أهم المجمعات بواسطة تحليل Raman والتحليل الأولي، بالإضافة إلى التوصيف بواسطة حيود الأشعة السينية (XRD) على بلورات مفردة، لتقييم بعض الأنشطة البيولوجية أخيراً.

لم يُظهر تقييم النشاط المضاد للأوكسدة للمجمعات بواسطة طريقة إزالة الجذور الحرة DPPH أي نشاط مضاد للأوكسدة. وكذلك ألفا أميليز والتيروزين.

أظهرت اختبارات مضادات الأسيثيل كولينستراز وbutyrylcholinesterase أن المركب (02) $[CuCl_2(H_2O)_4]$. $(C_8H_6O_4)_2$ يمثل نشاطاً قوياً جداً ضد AChE بقيمة $IC_{50} = 4.41 \pm 0.84$ ميكروغرام / مل) بتركيز أقل حتى من جالانثامين القياسي (1.15 ± 6.27 ميكروغرام / مل).

لمركبات (01) $Cu(SO_4)_2$ ، $(C_7H_{13}O_2N)_2$ ، n ، $(H_2O)_4$ ، $(C_8H_6O_4)_2$ ، $[CuCl_2(H_2O)_4]$ (02) و (06) L_3CuSO_4 لها على التوالي القيمة $IC_{50} = 15.54 \pm 0.51$ ($IC_{50} = 9$ ، $CI_{50} = 30 \pm 5.88$) ، $CI_{50} = 30.51 \pm 2.12$ ميكروغرام / مل) لها نشاط مثبط أفضل ضد BChE ، حيث يكون للمركب 06 قوة مثبطة أعلى من المركب 02 و قياسي (1.99 ± 75.34).

من المحتمل أن تكون منتجاتنا المصنّعة مصدرًا محتملاً للجزيئات النشطة بيولوجياً نظراً لاهتمامها البيولوجي في علاج مرض الزهايمر.

الكلمات الدالة: لمعادن الانتقالية، الروابط والأملاح المعدنية، المركبات العضوية المعدنية، حيود الأشعة السينية على بلورة واحدة، تحليل العناصر، الأنشطة البيولوجية.

Summary

This work is a contribution to a synthesis of twelve new transition metal coordination complexes using five ligands and transition metal salts in different solvents, followed by the identification of the most important complexes by Raman and elemental analysis, as well as characterization by X-ray diffraction (XRD) on single crystals, to finally evaluate some biological activities.

The evaluation of the antioxidant activity of complexes by the DPPH free radical scavenging method showed no antioxidant activity. As well as alpha amylase and tyrosine's.

Anti-acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase tests showed that the compound (02) $\text{CuCl}_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_4 \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2$ has a very strong activity against AChE with an IC_{50} value ($4.41 \pm 0.84 \mu\text{g/ml}$) at a concentration even lower than the Galanthamine standard ($6.27 \pm 1.15 \mu\text{g/ml}$).

The compounds (01) $\text{Cu}(\text{SO}_4)_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_4 \cdot (\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N})_2$, (02) $[\text{CuCl}_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_4 \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2]$ and (06) L_3CuSO_4 having respectively the IC_{50} value ($\text{IC}_{50} = 15.54 \pm 0.51 \mu\text{g/ml}$), ($\text{IC}_{50} = 9.30 \pm 5.88 \mu\text{g/ml}$), ($\text{IC}_{50} = 30.51 \pm 2.12 \mu\text{g/ml}$) have a better inhibitory activity against BChE, where compound 06 has a higher inhibitory potency than compound 02 and the standard (34.75 ± 1.99).

Our synthesized products are likely to be a potential source of bioactive molecules because of their biological interest in treating Alzheimer's disease.

Key words: *Transition metals, ligands and metal salts, organometallic compound, RX diffraction on a single crystal, Elemental analysis, biological activities.*

Année universitaire : 2019-2020

Présenté par : MAHIMOUD HADJER.
LAKROUN MANAL.

ELABORATION ET CARACTERISATION DES COMPOSES D'INTERETS BIOLOGIQUES.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée.

Résumé

Ce travail est une contribution à une synthèse de douze de nouveaux complexes de coordination à base de métaux de transition en utilisant cinq ligands et des sels de métaux de transition dans différents solvants suivie par l'identification des complexes les plus importants par analyse Raman et élémentaire, ainsi que la caractérisation par diffraction des rayons X (DRX) sur monocristal, pour enfin évaluer quelques activités biologiques.

L'évaluation de l'activité antioxydante des complexes par la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH n'a montré aucune activité antioxydante. De même que l'alpha amylase et la tyrosinase.

Les tests anti acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase ont montré que le complexe (02) $\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4 \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2$ présentes une très forte activité contre l'AChE d'une valeur de CI_{50} ($4,41 \pm 0,84 \mu\text{g/ml}$) a une concentration même inférieure au standard galanthamine ($6,27 \pm 1,15 \mu\text{g/ml}$).

Les complexes (01) $\text{Cu}(\text{SO}_4)_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_4 \cdot \text{n} \cdot (\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N})_2$, (02) $[\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot (\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4)_2$ et (06) L_3CuSO_4 ayant respectivement la valeur IC_{50} ($\text{CI}_{50} = 15,54 \pm 0,51 \mu\text{g/ml}$), ($\text{CI}_{50} = 9,30 \pm 5,88 \mu\text{g/ml}$), ($\text{CI}_{50} = 30,51 \pm 2,12 \mu\text{g/ml}$) ont une meilleure activité inhibitrice contre le BChE, où le complexe 06 a un pouvoir inhibiteur plus élevé que celui du complexe 02 et du standard ($34.75 \pm 1,99$).

Nos produits synthétisés sont susceptibles d'être une source potentielle de molécules bioactives en raison de leur intérêt biologique pour traiter la maladie d'Alzheimer.

Mots clé : *métaux de transition, ligands et sels métalliques, composé organométallique, diffraction des RX Sur monocristal, analyse élémentaire, activités biologique.*

Laboratoire de recherche : laboratoire de chimie appliquée et le laboratoire de Biochimie Centre de Recherche en Biotechnologie ; Constantine (C.R.Bt.)

Jury d'évaluation :

Président du jury: SIHEM. HALMI Maître de Conférences classe B : Université Constantine 1

Rapporteur: OUAHIDA. ZEGHOUAN Maître de recherche classe A : Centre de Recherche en Biotechnologie ; Constantine

Examineur: CHAWKI. BENSOUICI Maître de recherche classe B : Centre de Recherche en Biotechnologie ; Constantine

Date de soutenance : Le : 15/09/2020

