

N° d'ordre :

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

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE
THEME

2-hydroxy arylaldéhyde dans la synthèse de colorants azoïques

Présenté par :

KHELIL Lylia et RAHMI Lynda

Soutenu publiquement, le 27 / 09 / 2017 devant le Jury composé de :

Mme DOUANI	Rachida	MCB	UMMTO	Présidente
Mme KHELLAFI	Nassima	MAA	UMMTO	Encadreur
Mme OUKACHA	Djamila	MCA	UMMTO	Examinatrice
Mme IGHILAHRIZ	Karima	MAA	UMMTO	Examinatrice

Remerciements

Avant tout, nous remercions le dieu, le tout puissant, qui nous a donné la force, la patience et le courage nécessaire pour faire ce travail.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Physico-chimie des Matériaux LPCM de l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, sous la direction de Madame **KHELLAFI épouse KHALDI Nassima**, Maître Assistante de classe A, à l'Université Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre promotrice, Madame **KHELLAFI épouse KHALDI Nassima** pour son encadrement, sa disponibilité, sa patience, sa compréhension et ses conseils afin de mener à terme ce travail.

Nos remerciements vont aussi :

À Madame **DOUANI Rachida** qui nous a fait le grand honneur de présider ce jury de soutenance.

Nous remercions aussi Madame **OUKACHA épouse HIKEM Djamila** et Madame **IGHILAHIRIZ Karima** qui nous font l'honneur de juger ce travail et plus particulièrement Madame **HIKEM épouse OUKACHA Djamila** pour son aide et ses conseils éclairés.

Nos remerciements vont également À :

Madame **MAKHLOUFI épouse CHEBLI Malika**, pour sa disponibilité, sa gentillesse, son aide, ses conseils. Nous remercions également Dr **MAMOU** et Pr **MEKACHER** et la technicienne du laboratoire de toxicologie **CHEKLAT Zohra** pour sa gentillesse et leur aide pour la réalisation d'analyse d'IR.

La technicienne du laboratoire de chimie pharmaceutique de pédagogie, merci pour votre gentillesse et votre aide dans la réalisation des points de fusion.

Monsieur **HALOUANE** pour sa gentillesse et son aide dans la réalisation l'analyse d'IR.

A l'ensemble des enseignants que nous avons eus durant tout notre parcours universitaire ; et l'ensemble du personnel travaillant à la bibliothèque.

Enfin, nous exprimons nos remerciements, les plus sincères aux nombreuses personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail,

*Aux êtres les plus chers à mon coeur, à ceux qui ont consacré leur vie pour mon éducation
et ma réussite par leurs sacrifices, ma chère mère*

*naciraet ma source de bonheur et mon cher père youcef: Mes très chers parents je ne
pourrais jamais vous remercier assez pour vos sacrifices continuer à me guider par vos
prières et vos pensées,*

Que Dieu vous garde pour moi.

A ma très chère soeur chafia, ma source de volonté et de courage.

A mes très chers frères nafaa, rafik,

A toute ma famille khelil à mes petits cousins

A ma nièce nesrine que j'adore.

A Youcef que je remercie beaucoup pour son aide.

*A mes meilleur amies : surtout zakia, katia et zahra et ma chère binôme lynda qui a été
comme une soeur.*

*A tous mes enseignants et amis (es) chimistes surtout la promotion de chimie
pharmaceutique vous allez me manquer tous.*

A tous ceux que j'aime, que je respecte et ceux qui m'aiment et me respectent.

Lydia

DEDICACE

Ce document est dédié à beaucoup de gens, dans ma tentative de tous me les rappeler, je peux en citer quelques uns. Que les autres m'en excusent.

Je dédie ce modeste travail :

*-A ceux qui mon donner la vie source de mon courage et mon inspiration, mon cher père **Rachid** et ma chère mère **Hadjila** pour tout les sacrifices qu'ils ont fourni pour moi et pour mes études.*

- A mes sœurs : **Kahina, Mouna, Cylia, Nassima, Hafida.**

-A mon cher frère **Amar.**

- A ma grande mère et mon grand père.

- Ames très chers oncles : **Hacen** et **Belaid.**

*-A mes adorables copines: **Faroudja, El-Ghalia, Taous** et **Sara .***

-A ma chère binôme **lylia** ainsi que toute sa famille.

-A tout les étudiants de la promotion chimie pharmaceutique (2016-2017).

-A tous mes enseignants et amis (es) chimistes.

En fin, A tous ceux que j'aime, que je respecte et ceux qui m'aiment et me respectent.

lynda

Liste des abréviations

Abs	Absorption.
ACN	Acétonitrile (CH ₃ CN)
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CHCl₃	Chloroforme
° C	Degré Celsius
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPH	2,2-Diphenyle -1-picryl -hydrazyle
DO	Densité Optique
EtOH	Ethanol
HCl	Acide Chloridrique
IR	Infra Rouge
Litt	littérature
MeOH	Méthanol
nm	Nanomètre.
Pf	Point de fusion
pH	Potentiel Hydrogène
Rdt	Rendement
Rf	Rapport frontal
T	Température
TAL	Triacétique lactone
TEA	Triéthylamine
UV/vis	Ultra-violet visible

Liste des figures et schémas

Figure 1 : L'azobenzène.....	4
Figure 2 : Antraquinonique.....	5
Figure 3 : Indigoïdes.....	5
Figure 4 : Xanthéne.....	5
Figure 5 : Phtalocyanines	6
Figure 6 : Bleu patenté V (colorant alimentaire)	6
Figure 7 : Colorant cationique	7
Figure 8 : La curcumine	7
Figure 9 : Colorant à mordant	7
Figure 10 : Colorant diazoïque dissymétrique (Noir Rémozol 5).....	8
Figure 11 : Triacétique lactone (TAL)	11
Figure 12 : Spectre d'absorption du composé 3a	17
Figure 13 : Spectre d'absorption du composé 3c	17
Figure 14 : Spectre IR du composé 3a	18
Figure 15 : Spectre d'absorption UV-visible du composé 5a dans DMSO.....	20
Figure 16 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	29
Figure17 : Densité Optique en fonction de la concentration des composés 5a-b, f	30
Figure18 : Pourcentage d'inhibition du DPPH [•] du produit 5a	31
Figure19 : Pourcentage d'inhibition du DPPH [•] du produit 5b	31
Figure20 : Pourcentage d'inhibition du DPPH [•] du produit 5f	31
Figure 21 : Pourcentage d'inhibition du DPPH [•] de l'acide ascorbique	31
Figure22 : Valeurs d'IC50% des composés testés et de l'acide ascorbique	32

Schéma 1 : Réaction bilan de synthèse des colorants azoïques 14

Schéma 2 : Réaction bilan de condensation de la TAL avec les colorants azoïques19

Liste des tableaux

Tableau 1: Principaux groupes chromophores et auxochromes classé par intensité	
Croissante	4
Tableau 2: Structures chimiques de quelques colorants azoïques à usage alimentaire et Pharmaceutique	10
Tableau 3: Structures, formules chimiques, rendements et points de fusion des colorants synthétisés 3a-f	15
Tableau 4: Rapports frontaux des différents colorants synthétisés 3a-f	16
Tableau 5: Résultats des spectres UV-Visible des colorants synthétisés 3a-f	17
Tableau 6: Résultats des spectres IR enregistrés	18
Tableau 7: Durée de la réaction, aspect, point de fusion et rendement 5a-b, f	19
Tableau 8: Rapport frontaux des composés 5a-b, f	20
Tableau 9: Résultats des spectres UV-Visible des composés 5a-b, f	20
Tableau 10: Résultats des spectres IR enregistrés	21
Tableau 11: Pourcentage d'inhibition des composés 5a-b, f et l'acide ascorbique	30

Sommaire

Introduction générale	1
Chapitre I : Etude bibliographique	
I. Historique	3
II. Classification des colorants	3
II.1 Classification selon la constitution chimique	4
II.2 Classification tinctoriale	6
III. Colorants azoïques	8
III.1 Propriétés physico-chimiques des colorants azoïques.....	8
III.2 Application des colorants azoïques	9
IV. Intérêt biologique de la TAL.....	10
Chapitre II : Synthèse et condensation des colorants azoïques avec la TAL	
Introduction	12
I. Préparation générale des azoïques	12
I.1 Diazotation.....	12
I.2 Copulation	14
I.3 Synthèse des colorants azoïques	14
II. Résultats et discussions	15
II.1. Analyse par chromatographie sur couche mince CCM.....	15
II.2. Analyse par spectroscopie UV -Visible.....	16
II.3. Etude par spectroscopie infrarouge (IR)	17
III. Condensation de la TAL avec les colorants azoïques	18
VI. Interprétation des résultats	20
VI.1 Analyse par chromatographie sur couche mince	20
VI.2 Etude par spectroscopie UV-Visible.....	20
VI.3 Etude en spectroscopie infrarouge (IR)	21

V. Mécanisme réactionnel	21
Conclusion.....	23

Partie expérimentale

I. Appareillages	24
II. Matériels	25
III. Manipulations.....	25
IV. Résultats spectroscopiques	26

Chapitre III : Evaluation de l'activité antioxydante des azo –coumarines

I. Introduction.....	28
II. Radicaux libres	28
II.1 Définition des radicaux libres	28
II.2 Stress oxydatif	28
II.3. Définition d'un antioxydant.....	29
III. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	29
III.1. Evaluation de produits résultant de l'oxydation.....	29
III.2. Evaluation de l'aptitude du composé à piéger des radicaux libres.	29
VI. Evaluation du pouvoir antiradicalaire par la méthode de DPPH	29
VI.1 Principe	29
VI.2 Mode opératoire	30
V. Résultats et discussions	31
Conclusion.....	33
Conclusion générale	34

Références bibliographiques

Annexe

Introduction générale

Introduction générale

Nous vivons dans un monde où tout est coloré, nos vêtements, nos aliments nos produits cosmétiques, pharmaceutiques.....etc.

Ces colorants sont de plus en plus des colorants de synthèse, en raison de leur facilité et leur rapidité de production et de leur grande variété de couleurs si on les compare aux colorants naturels. Aujourd'hui, les colorants de synthèse constituent une véritable industrie. La diversité structurale des colorants de synthèse dérive à la fois de la diversité des groupements chromophoriques qui les composent (groupements azoïque, anthraquinone, triarylméthane et phtalocyanine) et de la diversité de la technologie d'application (coloration réactive, directe, disperse et de cuve).

Certains radicaux chimiques, les auxochromes, fixent avec efficacité le colorant souhaité sur le support. Ces radicaux sont issus des groupes **NH₂, OH, COOH, SO₃H**. Les auxochromes sont acides ou basiques. Leur addition à certains composés incolores peut leur apporter de la couleur.

Cet humble travail cible les colorants azoïques, qui représentent environ 50 % de la production mondiale des substances colorantes.

Ce sont des composés contenant le groupement azo (**-N=N-**) de formule générale

(R-N=N-R') découvert vers 1860 par le chimiste anglais, né allemand, Johan Griess [1,2].

Le traitement des amines primaires aromatiques par l'acide nitreux (diazotation) [3] suivie d'une copulation diazoïque ; il s'agit d'une réaction entre le diazonium et amines aromatiques ou phénols dans laquelle les deux noyaux aromatiques sont reliés par un pont **-N=N-**. Le composé stable, coloré ainsi formé est appelé composé azoïque ou colorant azoïque [4,5].

Par la suite, un intérêt particulier a été consacré à la préparation des azo-coumarines par la condensation de ces colorants azoïques avec la TAL vu ses propriétés biologiques et pharmacologiques importantes.

En plus de l'introduction et de la conclusion générale, ce travail est réparti en trois chapitres :

Le premier chapitre sera consacré à la synthèse bibliographique sur les colorants particulièrement les colorants azoïques et les composés azo-coumariniques ainsi que leur applications.

Le deuxième chapitre décrira les techniques expérimentales et les modes opératoires utilisées pour la synthèse et la caractérisation des colorants et leur produits de condensation avec la TAL.

Introduction générale

Dans le troisième chapitre nous allons essayer d'évaluer l'activité biologique des produits de condensation (**5a**, **5b**, **5f**) par l'étude de l'activité antioxydante en utilisant la méthode de DPPH.

Chapitre 1 :
Etude bibliographique

I. Historique

Depuis le début de l'humanité, les colorants ont été appliqués dans pratiquement toutes les sphères de notre vie quotidienne pour la peinture et la teinture du papier, de la peau et des vêtements, etc. Jusqu'à la moitié du 19^{ème} siècle, les colorants appliqués étaient d'origine naturelle. Des pigments inorganiques tels que l'oxyde de manganèse, l'hématite et l'ancre étaient utilisés. Par ailleurs, des colorants naturels organiques ont été appliqués, surtout dans l'industrie de textile. Ces colorants sont tous des composés aromatiques qui proviennent essentiellement des plantes, tel que l'alizarine et l'indigo [6].

L'industrie des colorants synthétiques est née en 1856 quand le chimiste anglais W. H. Perkin, dans une tentative de synthèse de la quinine artificielle pour soigner la malaria, a obtenu la première matière colorante synthétique qu'il appela "mauve" (aniline, colorant basique) [7]. Perkin a breveté son invention et a installé une chaîne de production, qui serait bientôt suivie par d'autres. De nouveaux colorants synthétiques commencent à paraître sur le marché. Ce processus a été stimulé par la découverte de la structure moléculaire du benzène en 1865 par Kekulé. En conséquence, au début du 20^{ème} siècle, les colorants synthétiques ont presque complètement supplantés les colorants naturels [7].

On dénombre environ 8000 colorants synthétiques chimiquement différents, répertoriés dans le Colour Index [8] sous 40000 dénominations commerciales. Chaque colorant y est classé sous un nom de code indiquant sa classe, sa nuance ainsi qu'un numéro d'ordre (par exemple : CI Acid Orange 7)

II. Classification des colorants

Tous les composés aromatiques absorbent l'énergie électromagnétique mais seulement ceux qui ont la capacité d'absorber les rayonnements lumineux dans le spectre visible (de 380 à 750 nm) sont colorés. En outre, les colorants consistent en un assemblage de groupes chromophores (groupes aromatiques conjugués (liaison π), comportant des liaisons non liantes (électron n) ou des complexes de métaux de transition), auxochromes et de structures aromatiques conjuguées (cycles benzéniques, anthracène, perylène, etc.). Lorsque le nombre de noyaux aromatiques augmente, la conjugaison des doubles liaisons s'accroît et le système conjugué s'élargit. L'énergie des liaisons π diminue tandis que l'activité des électrons π ou n augmente et produit un déplacement vers les grandes valeurs de longueurs d'onde. De même, lorsqu'un groupe auxochrome donneur d'électrons (amino, hydroxy, alkoxy,...) est placé sur un système aromatique conjugué, ce groupe se joint à la conjugaison du système π ,

Etude bibliographique

la molécule absorbe dans les grandes valeurs de longueurs d'onde et donne des couleurs plus foncées [9]. Les chromophores et auxochromes habituels sont résumés dans le tableau 1 [10].

Tableau 1: Principaux groupes chromophores et auxochromes, classés par intensité croissante [10]

Groupes chromophores	Groupes auxochromes
Azo (-N=N-)	Amino (-NH ₂)
Nitroso (-NO ou -N-OH)	Méthylamino (-NHCH ₃)
Carbonyl (=C=O)	Diméthylamino (-N(CH ₃) ₂)
Vinyl (-C=C-)	Hydroxyl (-HO)
Nitro (-NO ₂ ou =NO-OH)	Alkoxy (-OR)
Sulfure (>C=S)	Groupes donneurs d'électrons (-Cl)

La classification des colorants peut être faite selon leur constitution chimique (colorants azoïques, anthraquinoniques, indigoïdes....etc.) ou selon les méthodes d'application aux différents substrats (textiles, papier, cuir, matières plastiques.....etc).

II. 1 Classification selon la constitution chimique

Le classement des colorants selon leur structure chimique repose sur la nature du groupe chromophore [10] (tableau 1).

➤ Colorants azoïques

Les colorants "azoïques" sont caractérisés par le groupe fonctionnel azo (-N=N-) unissant deux groupements alkyles ou aryles identiques ou non (azoïque symétrique et dissymétrique). Ces structures qui reposent généralement sur le squelette de l'azobenzène, sont des systèmes aromatiques ou pseudo-aromatiques liés par un groupe chromophore azo.

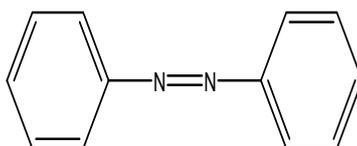


Figure 1 : Azobenzène.

Etude bibliographique

➤ Colorants anthraquinoniques

D'un point de vue commercial, ces colorants sont les plus importants après les colorants azoïques. Leur formule générale dérivée de l'antracène montre que le chromophore est un noyau quinonique sur lequel peuvent s'attacher des groupes hydroxyles ou amines.

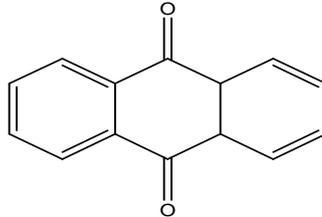


Figure 2 : anthraquinone.

➤ Colorants indigoïdes

Ils tirent leur appellation de l'Indigo dont ils dérivent. Ce sont des colorants résistants. Ils sont de nos jours essentiellement synthétisés. Ils ont pour structure de base l'indole que l'on trouve dans les coquilles de certains escargots de mer, ainsi que dans les plantes et les animaux.

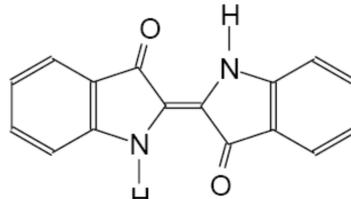


Figure 3 : Indigoïde

➤ Colorants xanthène

Ces colorants sont dotés d'une intense fluorescence. Le composé le plus connu est la fluorescéine. Peu utilisé en tant que teinture, leur faculté de marqueurs lors d'accident maritime ou de traceurs d'écoulement pour des rivières souterraines est malgré tout bien établie.

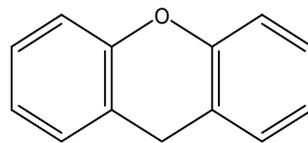


Figure 4 : Xanthène.

➤ Phtalocyanines

Ils ont une structure complexe basée sur l'atome central de cuivre. Les colorants de ce groupe sont obtenus par réaction du dicyanobenzène en présence d'un halogénure métallique (Cu, Ni, Co, Pt, etc.).

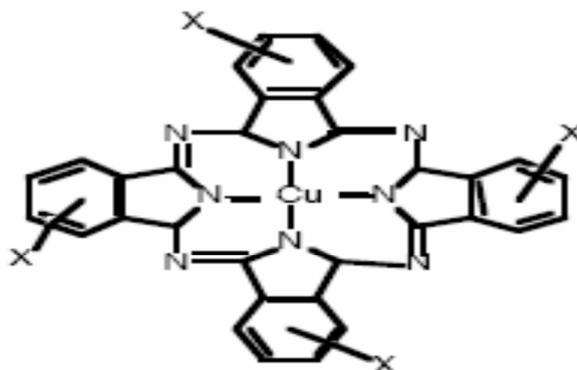


Figure 5 : Phtalocyanine.

II.2 Classification tinctoriale

Le teinturier préfère le classement de colorants par leurs domaines d'application. Ainsi, il est renseigné sur la solubilité du colorant dans le bain de teinture, son affinité pour les diverses fibres et sur la nature de la fixation. Celle-ci est de force variable selon que la liaison colorant-substrat est du type ionique, hydrogène, covalent ou de Van der Waals.

On distingue différentes catégories tinctoriales définies cette fois par les auxochromes [11].

- **Colorants acides (anioniques)** : Ces colorants se présentent le plus souvent sous forme de sels de sodium ou de calcium. Un colorant acide possède un à quatre groupes sulfonates.

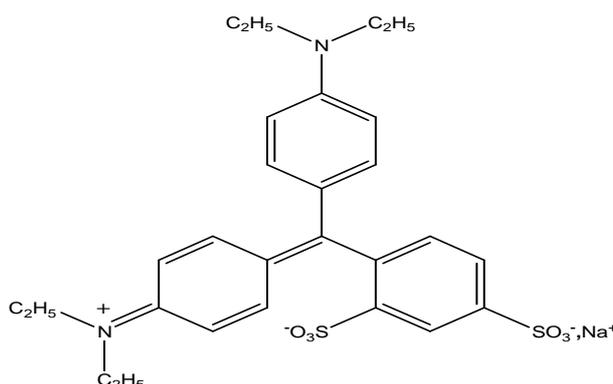


Figure 6 : Bleu patenté V (colorant alimentaire)

- **Colorants cationiques** : Ils contiennent un groupe amine quaternaire qui le plus souvent fait partie intégrante de la formule, mais ce n'est pas systématique. Parfois, un atome d'oxygène ou de soufre chargé positivement remplace l'azote.

Etude bibliographique

Les colorants cationiques étaient utilisés au départ pour teindre la soie, ils colorent essentiellement les fibres acryliques.

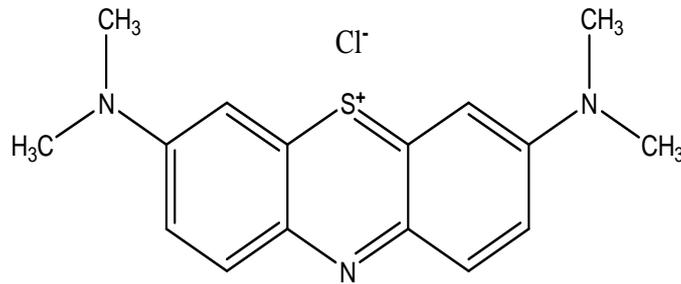


Figure 7 : Colorant cationique.

➤ **Colorants directs ou substantifs :** Ils sont acides comme les colorants du groupe précédent mais, contrairement à ces derniers, ils n'adhèrent pas chimiquement mais physiquement à la fibre. Les colorants directs se caractérisent par de longues structures moléculaires planes qui permettent à ces molécules de s'aligner avec les macromolécules plates de cellulose, lin, laine, coton...

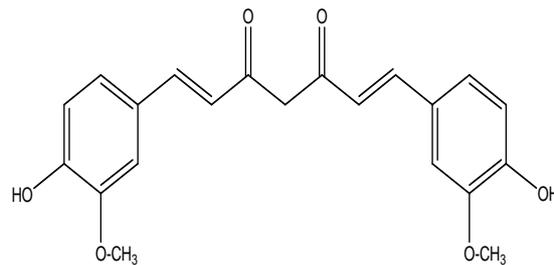


Figure 8 : La curcumine

➤ **Colorants à mordants :** de type acide ; ces colorants présentent en plus la propriété particulière de se combiner avec le chrome et certains métaux pour former des complexes insolubles. La couleur finale dépend du mordant, du temps de teinture, de la température...etc.

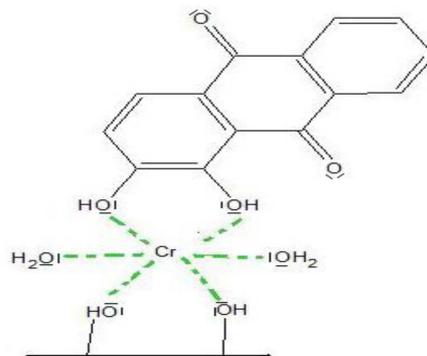


Figure 9 : Colorant à mordant

III. Colorants azoïques

Les colorants azoïques constituent la famille la plus importante tant sur le plan de l'application, puisqu'ils représentent plus de 50% de la production mondiale de matières colorantes, que sur celui de la multiplicité des structures étudiées. Les colorants azoïques se répartissent en plusieurs catégories : les colorants basiques, acides, directs et réactifs solubles dans l'eau, les azoïques dispersés et à mordant non ioniques insolubles dans l'eau [12].

III.1 Propriétés physico-chimiques des colorants azoïques

Les colorants azoïques sont des composés caractérisés par le groupe fonctionnel azo (-N=N-) unissant deux groupements alkyles ou aryles identiques ou différents (azoïque symétrique et dissymétrique). Ces structures qui reposent généralement sur le squelette de l'azobenzène, sont des systèmes aromatiques ou pseudo-aromatiques liées par un groupe chromophore azo (-N=N-).

L'introduction de groupes azo entre deux noyaux aromatiques déplace le spectre d'absorption du benzène vers les grandes longueurs d'onde de telle sorte que la couleur apparaît (effet bathochrome). Le plus simple des azoïques, l'azobenzène, est le jaune orangé. L'introduction de groupe amine ou phénol à également un effet bathochrome, de même que la multiplication des groupes azoïques (exemple de colorant figure 10), aussi peut-on obtenir presque toutes les nuances du spectre. La présence dans un tel édifice de substituant sulfonés, nitrés ou halogénés, donneurs d'électrons sur l'un des cycles aromatiques et accepteurs sur les seconds cycles, permet d'augmenter le phénomène de résonance. C'est ainsi que l'on peut jouer sur la couleur et sur les qualités de teinture. En général plus le système π de la molécule est conjugué, plus la longueur d'onde qu'il absorbera sera grande. Cependant la complexité des molécules diminue la vivacité des nuances [13].

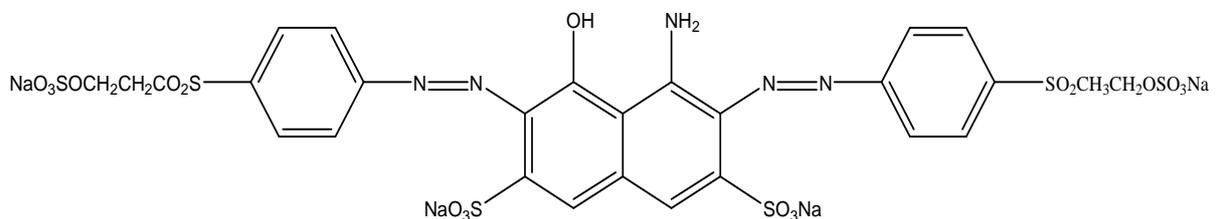


Figure 10 : Colorant diazoïque dissymétrique (Noir Rémazol 5)

III.2 Application des colorants azoïques

Les colorants ont pour but d'améliorer l'aspect des produits misent en marché, ils sont employés pour la teinture des fibres textiles, que l'industrie de textile reste l'un des principaux secteurs (soie, coton, laine) valorisent admirablement ces colorants.

Les colorants destinés à l'alimentation doivent répondre à des critères très sévères de pureté et d'absence de toxicité.

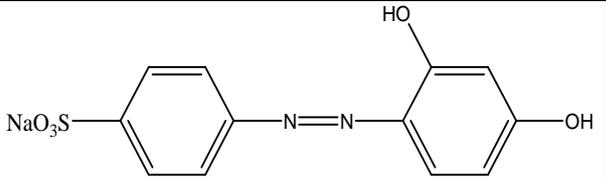
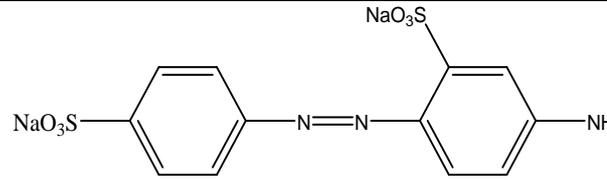
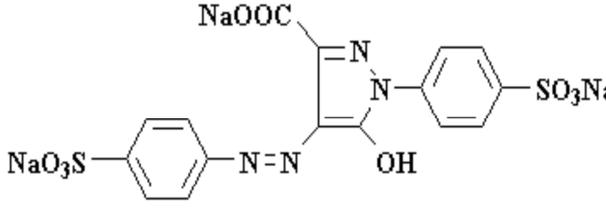
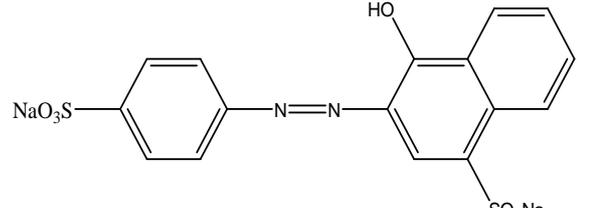
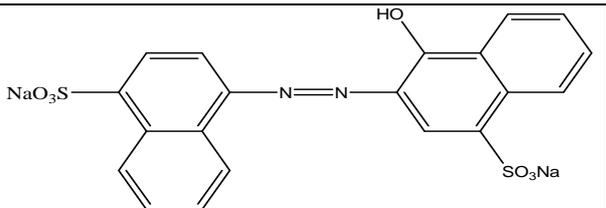
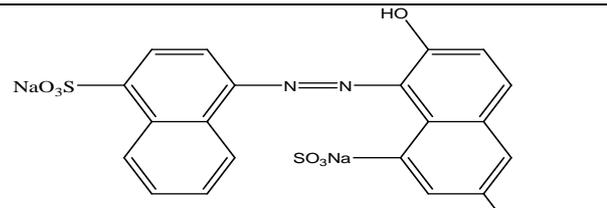
Ainsi, par exemple, les colorants azoïques alimentaires devront contenir de préférence des groupements sulfoniques à la fois sur le sel de diazonium et sur le copulant afin d'éviter qu'un des produits de réduction formés dans le corps humain ne soit une amine aromatique non sulfonée et de ce fait difficilement éliminable à cause de sa solubilité dans les graisses [14].

Ils sont utilisés aussi dans l'industrie des cosmétiques, la coloration des métaux (aluminium anodisé), la photographie (sensibilisateurs), la biologie (colorations des préparations microscopiques), les indicateurs colorés de pH, et certains d'entre eux sont employés en thérapeutique (antiseptiques, antimalariques, etc.).

Les colorants les plus utilisés dans le domaines alimentaire et pharmaceutique appartiennent à la famille mono azoïque ; il s'agit des sels alcalins de colorants acides à fonction sulfonées et solubles dans l'eau (tableau 2) [15,16].

Etude bibliographique

Tableau 2: Principaux colorants utilisés dans le domaine pharmaceutique.

 <p>Crysoïne S (ou jaune de résorcine)</p>	 <p>Jaune solide (ou jaune acide R)</p>
 <p>Tartazine (ou jaune tartrique)</p>	 <p>Jaune orangé S</p>
 <p>Azorubine</p>	 <p>Amarante</p>

IV. Intérêts biologiques de la TAL

Les molécules biologiquement actives occupent aujourd'hui une place très importante dans notre environnement, car elles sont à la base de nombreux principes actifs utilisés en pharmacie, cosmétique, parfumerie et l'alimentaire.

La chimie des 2-pyrones joue un rôle considérable dans le domaine biologique et alimentaire grâce à leur présence dans nombreux composés naturels.

La TAL (4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one, triacétique lactone), est parmi les composés hétérocycliques présentant des propriétés pharmaceutiques importantes. Ils ont été trouvés dans un grand nombre de produits naturels présentant des activités biologiques significatives, et certains dérivés synthétiques sont des composés biologiquement actifs (par exemple, protéase HIV-1 puissant et inhibiteurs de transport d'électrons photosynthétiques; présentant sédatif, anticonvulsivants, anesthésiques, et les propriétés antifongiques) [17].

Etude bibliographique

Il nous a donc paru intéressant d'étudier la réactivité de la TAL avec des colorants azoïques comme produits de départ pour la synthèse d'autres composés hétérocycliques ; dont les noyaux de base constituent des produits à caractère pharmacologique marqué tels : les coumarines et la présence de la fonction azo qui caractérise notre produit final.

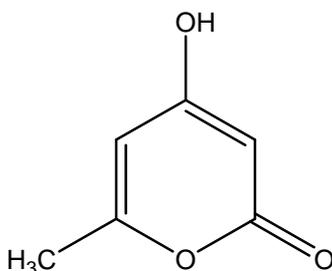


Figure 11 : Triacétique lactone (TAL).

Chapitre 2:
Synthèse et condensation des colorants
azoïques avec la TAL

Synthèse et condensation des colorants azoïques avec la TAL

Les colorants azoïques sont des composés aromatiques, contenant un groupement azoïque obtenus par deux étapes successives ; la diazotation suivie d'une copulation avec des amines ou des phénols.

Ces composés ont tendances à se condenser aisément avec la triacétique lactone en présence d'une base pour donner des azo coumariniques.

I. Préparation générale des azoïques

La préparation des azoïques se fait en deux opérations successives : la diazotation et la copulation [18].

I.1 Diazotation

Correspond à l'action de l'acide nitreux sur les amines aromatiques primaire à froid (0-5°C). La diazotation passe par plusieurs étapes ; l'amine qui est un groupe nucléophile attaque l'azote de l'ion nitrosonium. Celui-ci est formé après une élimination d'une molécule d'eau de l'acide nitreux (instable) dans une réaction catalysée par un acide [19].

Le produit obtenu par l'attaque nucléophile est stabilisé par élimination d'un proton de l'amine, pour donner une nitrosamine [19].

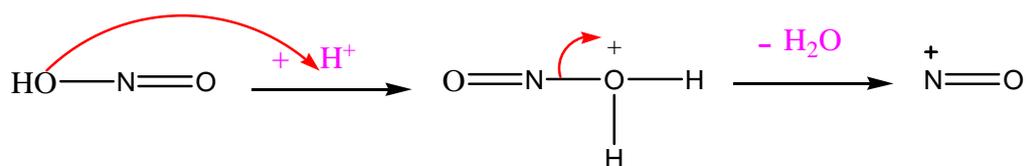
Selon la réaction bilan suivante :



Cette réaction se fait en quatre étapes successives

Première étape :

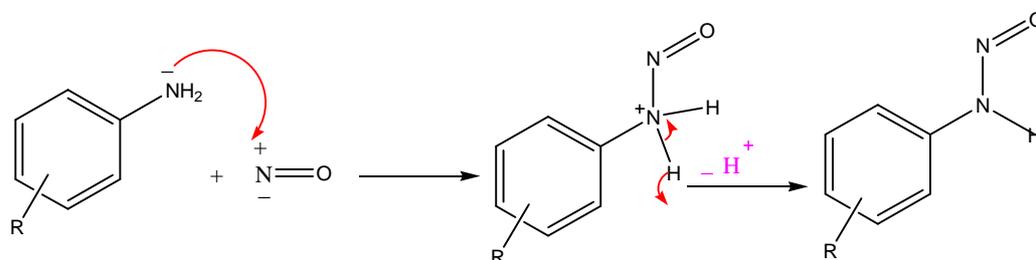
L'ion de nitrozonium NO^+ est formé par association de l'acide nitreux HNO_2 qui est libéré par action d'un acide fort sur nitrate alcalin :



Synthèse et condensation des colorants azoïques avec la TAL

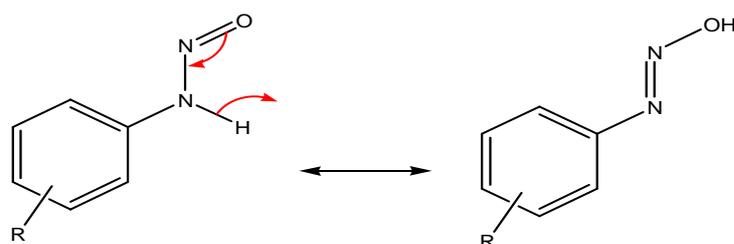
Deuxième étape :

Nitrosation de l'amine par l'attaque nucléophile de l'amine sur l'azote de NO^+ :



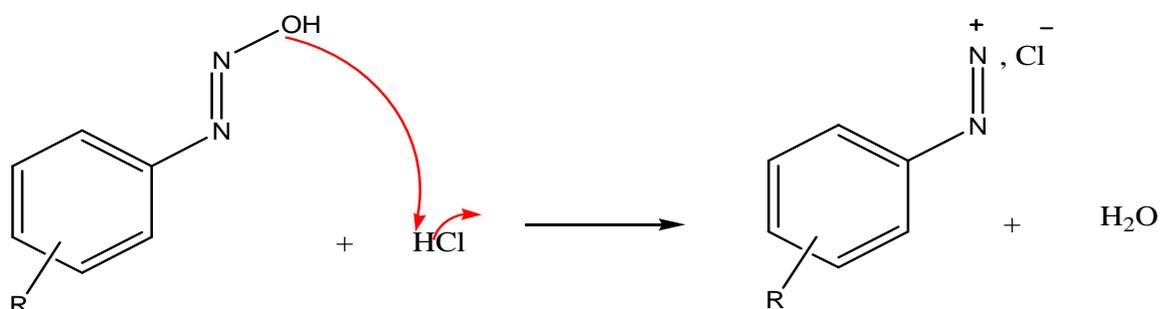
Troisième étape :

Permutation de la nitrosoaniline en composé hydroxy azoïque par tautomérisation :



Quatrième étape :

Réactivité de l'hydroxy azoïque avec un proton pour donner l'ion de diazonium :

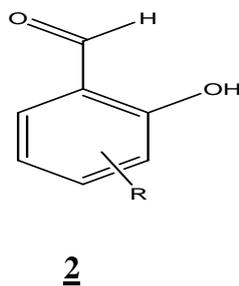


I.2 Copulation

La réaction de copulation azoïque est une substitution électrophile du cation diazonium ArN_2^+ avec toute substance possédant un hydrogène activé.

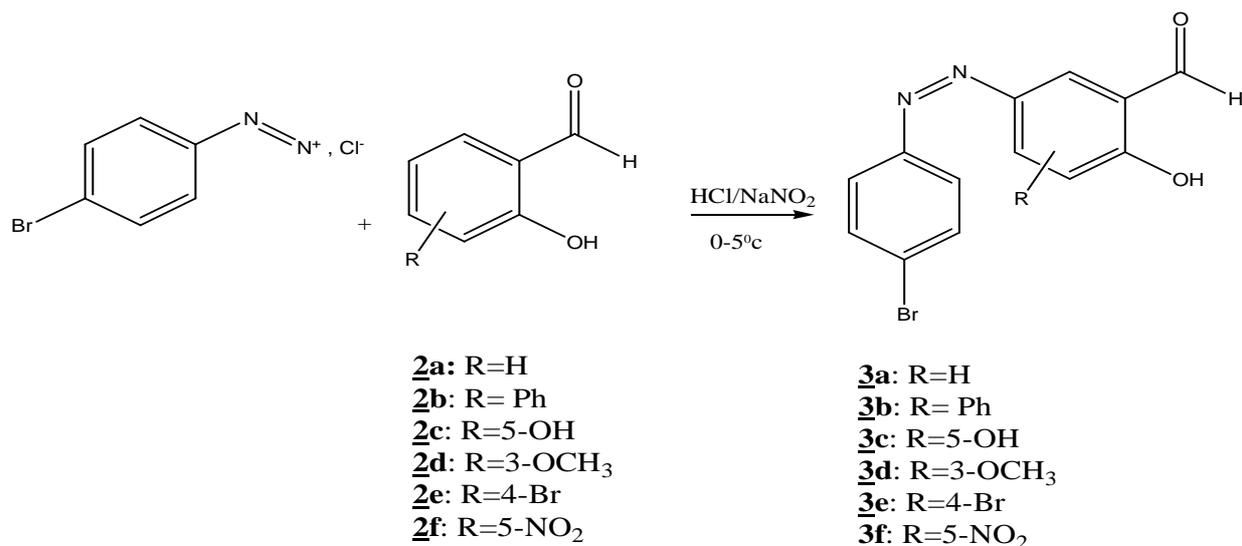
Les substances qui copulent avec les sels de diazonium sont : les phénols, naphthols, aminophénols, aminonaphthols et certaines substances à groupe méthylénique actif, telles que les pyrazolones en milieu aqueux et le facteur important est le pH [20, 21].

Dans le cadre de notre recherche sur l'utilisation du sel de diazonium dans la synthèse des colorants azoïques, il nous a paru intéressant d'étudier l'action de bromure de diazonium sur le salicylaldéhyde et ses dérivés **2a-f**.



I.3 Synthèse de colorants azoïques

Nous avons fait réagir le composé **2** on le variant par l'un de ses dérivés avec le bromure de diazonium **1** par l'ajout de NaOH, sous agitation magnétique pendant une heure à froid et trois heures à l'ambiante. Après filtration nous avons récupéré des solides de couleurs différentes.

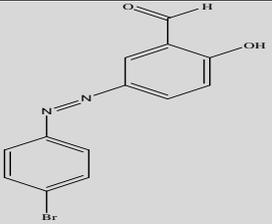
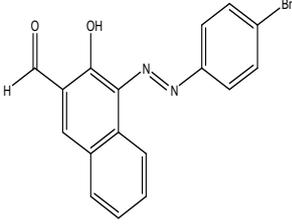
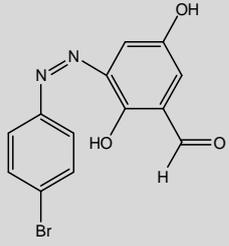
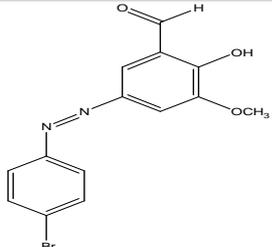
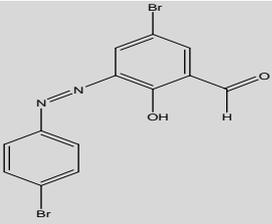
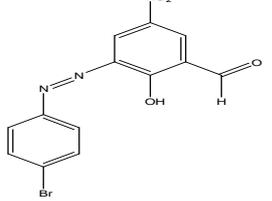


π **Schéma 1:** Réaction bilan de synthèse de colorants azoïques **3a-f**.

Synthèse et condensation des colorants azoïques avec la TAL

Structures, formules chimiques, rendements et points de fusion des différents colorants synthétisés sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Structures, formules chimiques, rendements et points de fusion des colorants synthétisés.

composé	Structure chimique	Formule chimique	Couleur	Rdt%	Pf °C
3a		5-((4-bromophenyl) diazenyl) salicylaldéhyde	Jaune	80	125
3b		3((4-bromophenyldiazenyl)) 2-hydroxynaphtaldéhyde	Marron foncé	75	135-138
3c		3((4-bromophenyldiazenyl)) 2-5-dihydroxybenzaldéhyde	Marron	34	101
3d		5((4-bromophenyldiazenyl)) 3-méthoxysalicylaldéhyde	Rouge brique	80	181
3e		3((4-bromophenyldiazenyl)) 5-bromo salicylaldéhyde	Marron clair	40	166
3f		3((4-bromophenyldiazenyl)) 5-nitrosalicylaldéhyde	Marron	75	181

II. Résultats et discussions

II.1 Analyse par chromatographie sur couche mince CCM

La CCM est une technique analytique simple et peu coûteuse. Elle est utilisée en général pour suivre l'avancement d'une réaction chimique, pour connaître la composition d'une fraction séparée sur colonne ou visualiser la pureté d'un produit.

La pureté de chaque composé synthétisé a été contrôlée par CCM en utilisant des plaques prêtes à l'emploi en gel de silice à support en aluminium. La révélation des produits a été effectuée en utilisant l'iode sublimé.

Nous avons obtenu une seule tache différente de celle des produits de départ dont les R_f s obtenus sont donnés par la relation suivante :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcouru par le composé}}{\text{Distance parcouru par l'éluant}}$$

Les différents rapports frontaux sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Rapports frontaux des différents colorants synthétisés **3a-f**.

Composé	Eluant Chloroforme/méthanol (ml/gouttes)	Rf
3a	2/7	0,82
3b	2/7	0,98
3c	2/7	0,62
3d	2/7	0,90
3e	2/7	0,87
3f	2/7	0,88

II.2 Analyse par spectroscopie UV -Visible

L'étude par spectroscopie UV-Visible des composés **3a-f** a été faite en solution dans l'acétonitrile. Nous avons obtenu des spectres à deux bandes d'absorption distinctes attribuées à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ [22- 24].

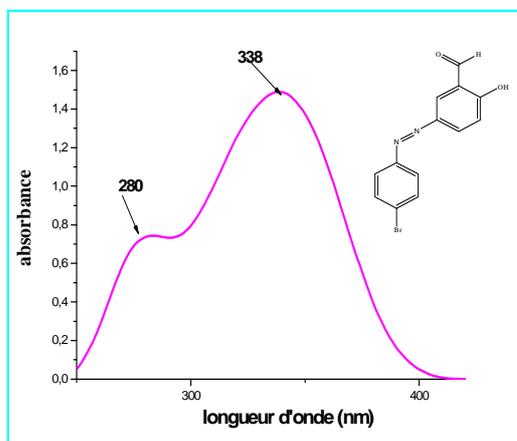


Figure 12: Spectre d'absorption du composé **3a**

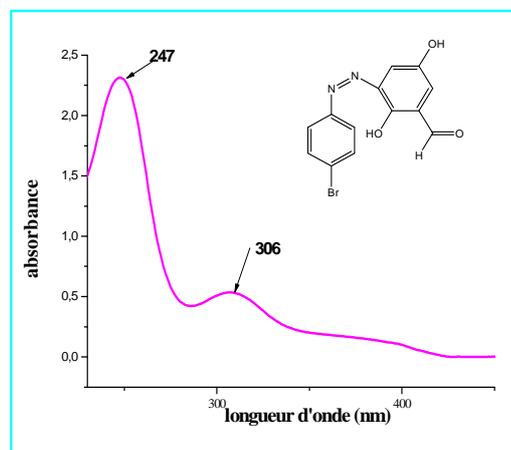


Figure 13: Spectre d'absorption du composé **3c**.

Les résultats spectroscopiques UV-Visible dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Résultats des spectres UV-Visible des colorants synthétisés **3a-f**.

Produit	λ_{abs} (nm)	
3a	280	338
3b	333	369
3c	247	306
3d	272	354
3e	-	345
3f	-	315

II.3 Etude par spectroscopie infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge est employée pour l'identification et pour déterminer la nature des liaisons des composés. Une table de corrélation de spectroscopie infrarouge présente dans la littérature est utilisée pour déterminer les bandes caractéristiques.

Cette analyse confirme la structure des colorants synthétisés.

Les principales bandes enregistrées pour les composés **3a-f** sont données dans le tableau suivant :

Tableau 6: Résultats des spectres IR enregistrés

Composé	$\bar{\nu}$ (cm-1) attribuées
3a	1680 (C=O carbonyle); 1182 (=C-N) ; 1409 (N=N) ; 1606(C=C aromatique) ; 3378(OH associé) ; 3462(OH libre)
Litt. 3a [22]	1668(C=O carbonyle) ; 1424(N=N) ; 3200 (OH)
3b	1692(C=O carbonyle) ; 1345(=C-N) ; 1401(N=N) 1600(C=C aromatique) ; 3237 (OH associé)
3c	1640(C=O carbonyle) ; 1176(=C-N-) ; 1448(N=N) 1606(C=C aromatique) ; 3201 (OH associé)
3d	1666(C=O carbonyle) ; 1191(=C-N) ; 1419(N=N) ; 2840 (-C=C- aromatique) ; 3180 (OH associé)
3e	1663 (C=O carbonyle) ; 1370(=C-N) ; 1476(N=N) 1580(C=C aromatique) ; 3313 (OH associé)
3f	1664(C=O carbonyle) ; 1336(=C-N) ; 1462(N=N) ; 1581(C=C aromatique);3260 (OH associé).

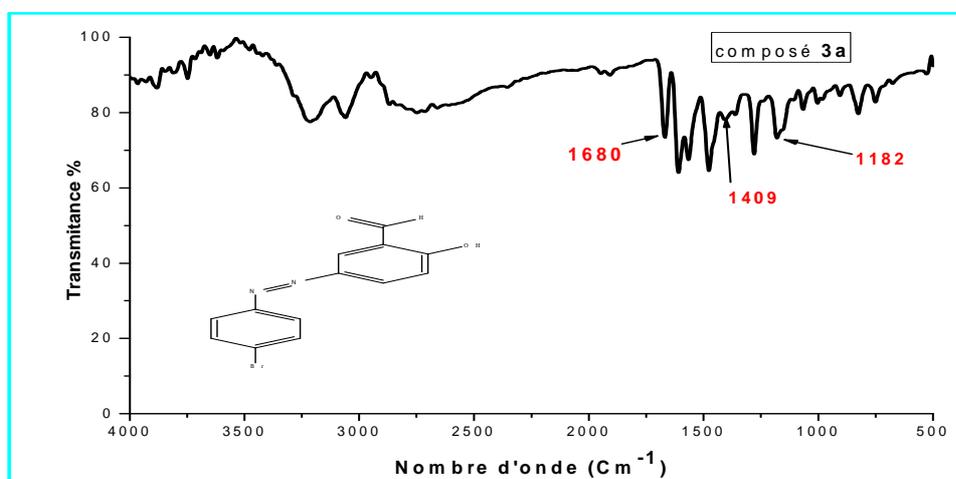


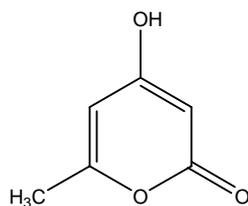
Figure 14: Spectre IR du composé **3a**

III. Condensation de la TAL avec les colorants azoïques

Il nous a donc paru intéressant d'étudier la réactivité de la 4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one ou TAL avec des colorants azoïques comme produits de départ pour la synthèse d'autres composés hétérocycliques dont les noyaux de base constituent des produits à caractère pharmacologique marqué tels : les coumarines et la présence de la fonction azo qui caractérise notre produit final.

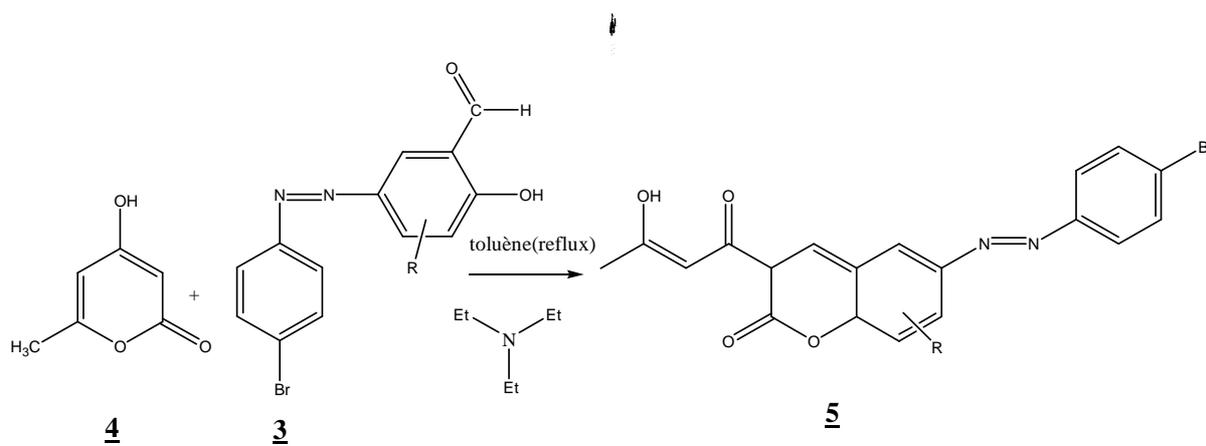
Synthèse et condensation des colorants azoïques avec la TAL

Trois colorants ont été testés on les réagissant avec le composé **4** en présence de la triéthylamine au reflux conventionnel.



TAL **4**

Condensation de la TAL avec les colorants azoïques aura lieu selon le bilan suivant :



3a: R=H

3b: R= Ph

3f: R=5-NO₂

5a: R=H

5b: R= Ph

5f: R= 5-NO₂

Schéma 2 : Réaction bilan de condensation de la TAL avec les colorants azoïques.

Nous avons obtenu des composés azo-coumariniques (**5a**, **5b** et **5f**) avec des rendements moyens qui sont résumés dans le tableau 7 :

Tableau 7: Durée de la réaction, aspect, points de fusion et rendements des composés **5a-b,f**.

Composé	Durée de la réaction	Aspect	Pf (°C)	Rdt%
5a	20h	Poudre orange foncé	173-175	18
5b	18h	Poudre bleu foncé	158	32
5f	12h	Poudre bleu foncé	196	35

VI. Interprétation des résultats

VI.1 Analyse par chromatographie sur couche mince

La réaction a été suivie par CCM pour déterminer la fin de la réaction, les produits ont été solubilisés dans l'éthanol. La présence d'une seule tache confirme la pureté de nos produits. Les Rf sont calculés et classés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8 : Rapports frontaux des composés **5a-b, f**.

Composé	Eluant Chloroforme/ méthanol (ml/gouttes)	Rf
5a	2/7	0.82
5b	2/7	0.82
5f	2/7	0.89

VI.2 Etude en spectroscopie UV-Visible

L'étude spectroscopique UV-Visible des composés **5a**, **5b** et **5f**, a été faite en solution dans le DMSO où les concentrations sont d'ordre 10^{-4} M. Nous avons obtenu des spectres à deux d'absorption attribuées à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ [22].

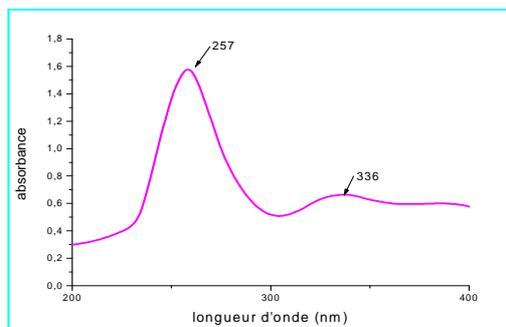


Figure 15: Spectre d'absorption UV-Visible du composé **5a** dans DMSO

Les résultats spectroscopiques UV-Visible dans le tableau suivant :

Tableau 9 : Résultats des spectres UV-Visible des composés **5a-b, f**.

Produit	λ_{abs} (nm)	
5a	257	336
5b	257	322
5f	258	318

VI.3 Etude en spectroscopie infrarouge (IR)

Les bandes principales enregistrées pour les composés **5a**, **5b** et **5f** sont données dans le tableau suivant :

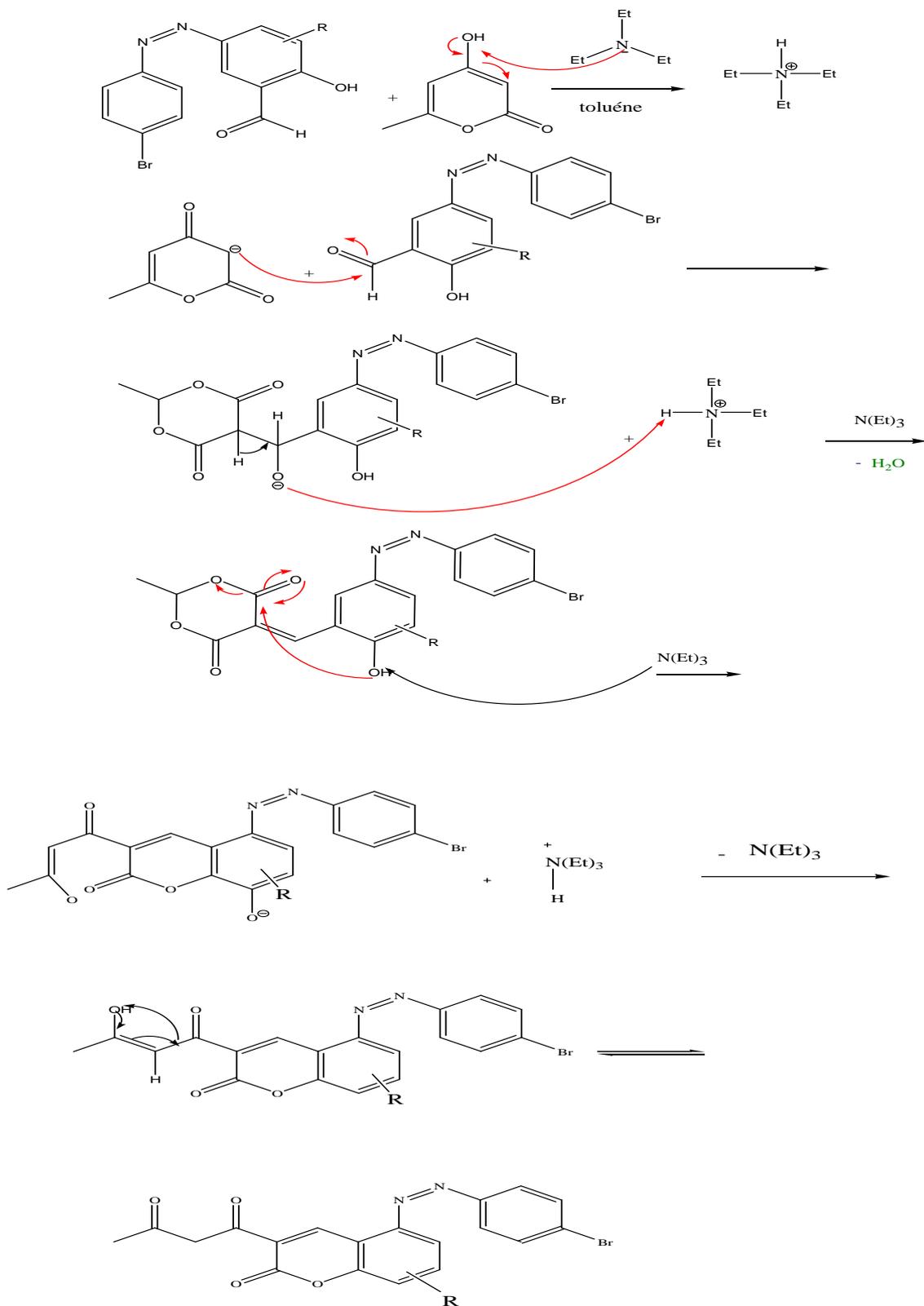
Tableau 10: Résultats des spectres IR enregistrés.

Composé	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) attribuées
5a	1692(C=O pyrone) ; 1725(C=O) ; 3402 (OH associé) ; 1143(C-O) ; 1425(N=N)
5b	1690 (C=O pyrone) ; 1724 (C=O) ; 3412(OH associé) ; 1120(C-O) ; 1445 (N=N)
5f	1687(C=O pyrone) ; 1724 (C=O) ; 3451(OH associé) ; 1070(C-O) ; 1420(N=N)

V. Mécanisme réactionnel

La réaction (ou condensation) de KNOEVENAGEL est une réaction apparentée à la condensation aldolique, faisant intervenir un aldéhyde et un composé à méthylène actif, comme par exemple l'acide malonique ou un ester de l'acide malonique, avec une base faible comme catalyseur. La piperidine, la diéthylamine et la triéthylamine sont parmi les catalyseurs les plus utilisés. Cette réaction conduit à la formation de produits insaturés par déshydratation intramoléculaire [23]. Le schéma 2 représente le mécanisme réactionnel de la synthèse des composés **5a**, **5b** et **5f**.

Synthèse et condensation des colorants azoïques avec la TAL



Conclusion

La réaction de copulation de sel de diazonium avec les dérivés de salicylaldéhyde a permis d'isoler une série de colorants azoïques **3a-f**.

L'action de trois colorants azoïques sur la TAL a été testé, ce qui a conduit à des composés hétérocycliques oxygénés et azotés **5a**, **5b** et **5f** dont les noyaux de base constituent des produits à caractère pharmacologique marqué.

Partie expérimentale

I. Appareillages

-Point de fusion

Tous les points de fusion sont déterminés par un appareil scientifique STUART SMP30 équipé d'un microscope.

- Chromatographie sur couche mince

La chromatographie analytique sur couche mince (CCM) a été effectuée avec des plaques en aluminium recouvertes de gel de silice 60 F254 (épaisseur : 0.2mm) de MERCK

Les produits ont été dissouts dans : méthanol, éthanol et l'éluant est un mélange de chloroforme et de méthanol.

Pour la révélation, les plaques sont introduites dans une boîte qui contient de l'iode.

La présence d'une seule tâche confirme la pureté de nos produits.

-Spectroscopie Ultra Violet-Visible

L'étude spectroscopique UV-Visible a été réalisée à température ambiante du laboratoire. Les mesures d'absorbance ont été enregistrées sur un appareil thermo UV-visible spectrophotometer.

Les produits ont été dissous dans l'acétonitrile pour la série des colorants synthétisée et dans le DMSO pour les produits de condensation avec la TAL.

- Spectrométrie Infra Rouge

Les spectres IR des composés 11a-f ont été enregistrés sur un spectrophotomètre de marque Fourier (IRTF) de modèle « JASCO FT/RT -. 4200, ATR PRO 450-S ».les fréquences d'absorption ($\bar{\nu}$) sont données en cm^{-1} .

Les spectres obtenus en IR pour la deuxième synthèse ont été enregistrés sur un spectromètre, FT-IR spectrometer Spectrum TWO perkin ELMER, en utilisant des pastilles en KBr .les nombres d'ondes ($\bar{\nu}$) sont données en cm^{-1} .

II. Matériels

-les solvants utilisés pour l'analyse en CCM sont : MeOH de VWR Chemicals et CHCl_3 de Carlo Erba de degrés de pureté 100% et 99% respectivement.

- les solvants utilisés pour l'analyse en spectroscopie UV-visible sont l'acétonitrile et le DMSO apporté de Sigma-Aldrich de degré de pureté 99.5% et 99.7% respectivement.

Partie expérimentale

-les solvants utilisés dans la synthèse et la recristallisation : EtOH, l'éther de pétrole, l'éther et le toluène apporté de Sigma-Aldrich de degré de pureté 96%, 95% , 95% et 99.5% respectivement.

- les salicylaldehydes et la 4- bromo aniline sont des produits commerciaux.

-Le 2-hydroxynaphtaldéhyde est synthétisé au laboratoire [17].

-les réactifs: acide chlorhydrique de 37%, nitrite de sodium, NaOH et triéthylamine apportés de MERCK.

-la TAL a été synthétisée au laboratoire [17].

III. Manipulation

III.1 Synthèse des 5-((4-bromophenyl)diazenyl)salicylaldehydes :

La synthèse a été décrite dans la littérature [24].

En suivant cette méthode de synthèse, nous avons synthétisé les composés **3a-f**, à partir de trois solutions :

-**Solution A** : ($6.6 \cdot 10^{-3}$ mol) de 4-bromoaniline, 3 ml d'eau distillée et 30 gouttes de HCl concentré, dans un bain de glace ($0-5^{\circ}\text{C}$) sous agitation magnétique.

-**Solution B** : 3ml de NaNO_2 refroidi.

-**Solution C** : $6.6 \cdot 10^{-3}$ mol de salicylaldehyde ou l'un de ses dérivés (5-OH, 3-OCH₃, 5-Br, 5-NO₂, 2-OH naphthaldehyde), 3ml de NaOH et 6 ml d'eau distillée.

Les deux solutions **A** et **B** ont été mélangées pour former le sel de diazonium. La solution **C** a été ajoutée à ce mélange pendant 1 heure dans un bain de glace.

Le pH initialement acide a été ajusté à 8 par l'ajout d'une solution diluée du NaOH, la réaction a été poursuivie sous agitation à l'ambiante pendant 3 heures.

Les solides obtenus ont été récupérés par filtration ensuite recristallisés dans l'éthanol.

III.2 Condensation des colorants azoïques synthétisés avec la TAL

Dans un ballon on a fait réagir la TAL (1mmol) avec le colorant synthétisé (1mmol) en présence de la triéthylamine (20 gouttes) au reflux conventionnel du toluène pendant quelques heures.

La durée de la réaction a été déterminée par une étude cinétique par CCM.

Les produits ont été récupérés par filtration puis recristallisés dans l'éthanol.

IV. Résultats spectroscopiques :

5((4-bromophenyldiazenyl)) salicylaldéhyde 3a : poudre jaune ; Rf = 0.82 ; Pf = 125°C ; UV ($\lambda_{\text{abs, nm}}$):340nm ; IR($\bar{\nu}, \text{cm}^{-1}$) :1680 (C=O carbonyle) ;1182 (=C-N) ;1400 (N=N) ; 1606¹(C=C) ; 3378 (OH associé).

3((4-bromophenyldiazenyl)) 2-hydroxynaphtaldéhyde 3b : poudre marron ; Rf= 0.98 ; Pf= 135-138°C ; UV ($\lambda_{\text{abs, nm}}$):334nm ; IR($\bar{\nu}, \text{cm}^{-1}$) : 1692 (C=O carbonyle) ;1345 (=C-N) ;1401 (N=N) ; 1600 (C=C) ;3237 (OH associé).

3((4-bromophenyldiazenyl)) 2-5-dihydroxybenzaldéhyde 3c : poudre marron ; Rf = 0.62 ; Pf= 101°C ; UV ($\lambda_{\text{abs, nm}}$):339nm ; IR ($\bar{\nu}, \text{cm}^{-1}$) : 1640 (C=O carbonyle) ; 1176 (=C-N) ;1448¹(N=N) ; 1606 (C=C) ;3201 (OH associé).

5((4-bromophenyldiazenyl)) 3-méthoxysalicylaldéhyde 3d : poudre rouge brique ; Rf= 0.90 ; Pf= 181°C ; UV ($\lambda_{\text{abs, nm}}$):360nm ; IR ($\bar{\nu}, \text{cm}^{-1}$) : (C=O carbonyle) ; 1191 (=C-N) ;1419 (N=N) ; 2840 (-C=C- aromatique) ;3180 (OH associé) ; 2859 (C-H)

3((4-bromophenyldiazenyl))5-bromosalicylaldéhyde 3e: poudre marron clair ; Rf= 0.87 ; Pf=165°C ; UV ($\lambda_{\text{abs, nm}}$):339nm ; IR ($\bar{\nu}, \text{cm}^{-1}$) : 1663 (C=O carbonyle) ; 1223 (=C-N) ; 1484 (N=N) ; 1580 (C=C aromatique) ; 3313 (OH associé) ; 2892 (C-H).

3((4-bromophenyldiazenyl)) 5-nitrosalicylaldéhyde 3f : poudre marron ; Rf=0.88 ; Pf= 181°C ; UV ($\lambda_{\text{abs, nm}}$):316nm ; IR ($\bar{\nu}, \text{cm}^{-1}$) : 1663 cm^{-1} (C=O carbonyle) ; 1336 (=C-N) ; 1472 (N=N) ; 1581 (C=C aromatique) ; 3260 (OH associé).

(Z)-5-((4-bromophenyl) diazenyl)-3-(1-hydroxy-3-oxobutyl)-2Hchromen-2-one 5a: poudre orange foncé ; Rf=0.82 ; Pf=173-175°C ; UV ($\lambda_{\text{abs, nm}}$) = 257, 326nm ; IR ($\bar{\nu}, \text{cm}^{-1}$):1692(C=O pyrone) ; 3402 (OH associé) ; 1725(C=O) ; 1143 (C-O) ; 1425(N=N).

5-((E)-(4-bromophenyl) diazenyl)-2-((Z)-3-hydroxybut -2-enoyl)-3H-benzo[f] chromen-3-one 5b : poudre bleu foncé ; Rf=0.89 ; Pf=158°C ; UV ($\lambda_{\text{abs, nm}}$) =257,322nm ; IR ($\bar{\nu}, \text{cm}^{-1}$):1690 (C=O pyrone) ; 3412(OH associé) ; 1724(C=O) ; 1120 (C-O) ; 1445 (N=N).

6-((E)-4-bromophenyl) diazenyl)-3-((Z)-3-hydroxybut-2-enoyl)-8-nitro-2H-chromen-2-one 5f : poudre bleu foncé ; Rf=0.92 ; Pf=196 ;UV ($\lambda_{\text{abs, nm}}$) =258,318nm ; IR ($\bar{\nu}, \text{cm}^{-1}$):1687(C=O pyrone) ; 3451 (OH associé) ; 1724 (C=O) ; 1070 (C-O) ; 1420(N=N).

Chapitre 3 :
Evaluation de l'activité antioxydante
des azo- coumarines

I. Introduction

L'oxydation est l'une des plus importantes manifestations à l'origine du vieillissement des produits alimentaires et cosmétiques. Les dégradations oxydatives affectent les qualités nutritionnelles et sensorielles des aliments et peuvent avoir des répercussions sur la santé du consommateur [25].

Les principaux agents oxydants sont les espèces réactives de l'oxygène, des enzymes des ions métalliques (Cu, Fe) et les peroxydes lipidiques, qui concourent tous à la formation en chaîne de radicaux libres. Ceux-ci attaquent les protéines, les acides nucléiques, les acides gras insaturés, les vitamines ou d'autres constituant.

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité de résister à l'oxydation. Parmi les antioxydants les plus connus on cite : Le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques.

Suite à l'exposition successive à des facteurs externes (exposition prolongée aux UV, pollution, pesticides, infection), et aux mauvaises habitudes (tabac, alcool, alimentation déséquilibrée, sport intense, stress, fatigue), et enfin ; une déficience nutritionnelle en un ou plusieurs antioxydants comme les vitamines et les oligoéléments. Ce qui donne naissance à la formation de ce qu'on appelle « le stress oxydatif ».

Ces facteurs vont favoriser la formation de radicaux libres dans nos cellules [26].

II. Radicaux libres

II.1 Définition des radicaux libres

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés dits célibataires sur l'orbitale externe. Cette caractéristique rend les radicaux libres très électrophiles car ils vont tenter de ré-apparier leur électron célibataire en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron; leur durée de vie est ainsi très courte. L'espèce agressée est rendue à son tour radicalaire initiant de cette façon un processus de réaction en chaîne. Les radicaux libres sont des composés caractérisés par une structure électronique déséquilibrée qui leur confère une grande réactivité sur les constituants organiques et sur les structures cellulaires [27].

II.2 Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs [28].

II.3. Définition d'un antioxydant

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydoréduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Cette réaction peut produire des radicaux qui entraînent des réactions en chaîne destructrices. Les antioxydants sont capables d'arrêter ces réactions en chaîne en se réduisant avec les radicaux et annihilant ainsi leur action.

Et parmi leur propriété on peut dire qu'ils peuvent réduire les radicaux si dangereux pour l'organisme en raison de leur pouvoir oxydant très élevé [29].

II.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de l'activité antioxydante. Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant d'un composé sont regroupées selon leur principe :

II.4.1. Evaluation de produits résultant de l'oxydation

Comme exemples nous avons l'évaluation des peroxydes et le dosage d'hydroperoxydes.

II.4.2. Evaluation de l'aptitude du composé à piéger des radicaux libres.

Nous citons la méthode du radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) [30], méthode d'ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate) [31], méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants) [32].

II.5 Evaluation du pouvoir antiradicalaire par la méthode de DPPH

II.5.1 Principe

Le DPPH[•] est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH[•] est réduit en diphenyle picrylhydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité de l'antioxydant à donner des protons [33].

Evaluation de l'activité antioxydante des azo-coumarines

Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires [34].

On peut le résumer selon la réaction suivante :

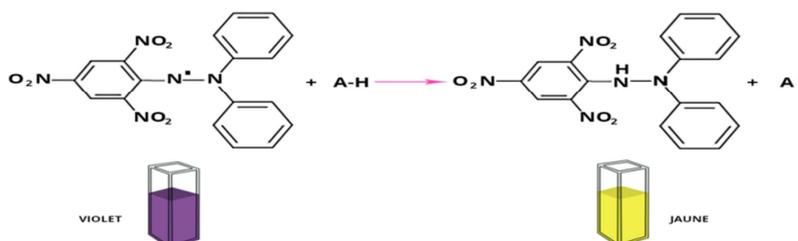


Figure 16: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH[•]

L'activité antioxydante, sert à la capacité de piéger le radical libre est généralement exprimée en pourcentage d'inhibition selon la relation (1) suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A_0 - A_1)/A_0] * 100. \quad (1)$$

Avec : A_0 : Absorbance à 517 nm du standard

A_1 : Absorbance à 517 nm de l'échantillon.

Les résultats obtenus pour chaque produit testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique pris comme contrôle positif.

Les produits testés (**5a**, **5b**, et **5f**) sont préparés à des concentrations de 10^{-2} mol/l puis dilués à un demi pour avoir des concentrations de 0,005 ; 0,0025 ; 0,00125 ; 0,000625M dans le DMSO.

II.5.2 Mode opératoire

Un volume de 40 μ l, de chaque échantillon de chacune des concentrations préparées préalablement est ajouté à 2ml d'une solution de radicaux DPPH[•] dissout dans le DMSO.

Le mélange est secoué énergétiquement et laissé pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance du DPPH[•] est déterminée par colorimétrie à 517nm.

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur d'IC₅₀, sachant que la IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH.

III. Résultats et discussions

Les résultats obtenus par ce test sont représentés dans la figure 17, qui représente la Densité Optique du composé **5a**, **5b**, **5f** utilisé en fonction de la concentration.

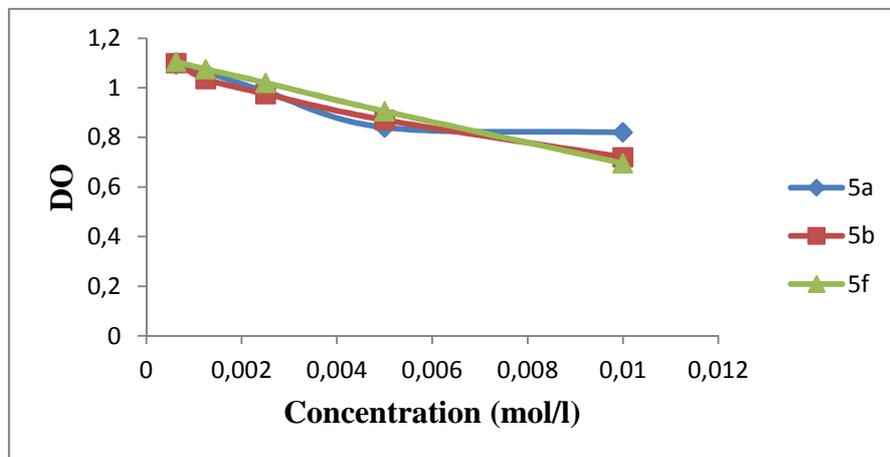


Figure 17: Densité optique en fonction de la concentration des composés **5a**, **5b**, **5f**.

Cette représentation illustre bien que les produits **5a**, **5b**, **5f** représentent une activité antioxydante envers le radical DPPH[•], le composé **5f** est le produit le plus actif de cette série avec un pourcentage d'inhibition de 45% à une concentration 10^{-2} M.

Les résultats sont calculés par la relation 1 et donnés dans le tableau 10 et les figures 18, 19, 20 et 21.

Tableau 11: Pourcentages d'inhibition des composés **5a**, **5b**, **5f** et l'acide ascorbique.

% d'inhibition					
Dilution	Solution mère 10^{-2} M	1 ^{ère} dilution $5 \cdot 10^{-3}$ M	2 ^{ème} dilution $2,5 \cdot 10^{-3}$ M	3 ^{ème} dilution $1,25 \cdot 10^{-3}$ M	4 ^{ème} dilution $6,25 \cdot 10^{-4}$ M
5a	33	32	20	13	11
5b	41	29	21	16	10
5f	45	27	16	13	10
AA	98	97	96	96	96

Evaluation de l'activité antioxydante des azo-coumarines

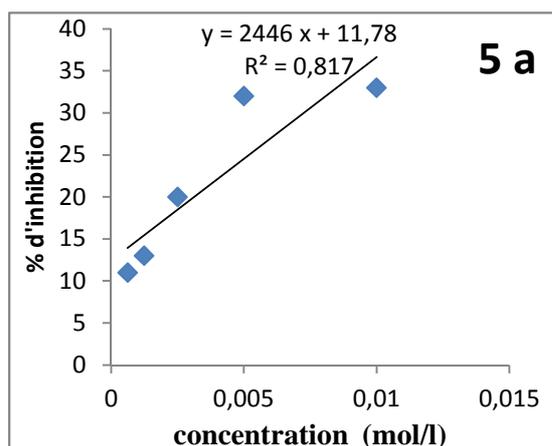


Figure 18 : Pourcentage d'inhibition du DPPH• du produit 5a

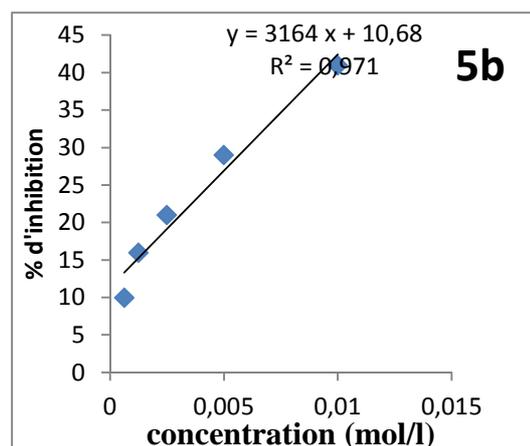


Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du DPPH• du produit 5b

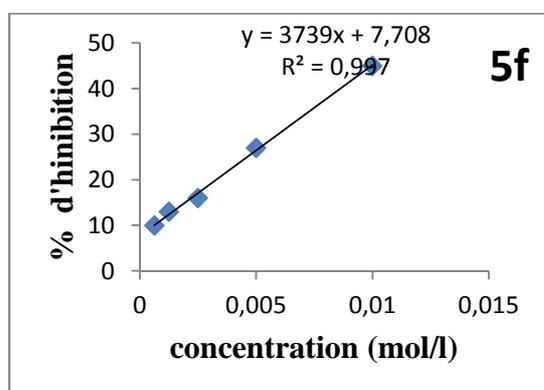


Figure 20: Pourcentage d'inhibition du DPPH• du produit 5f.

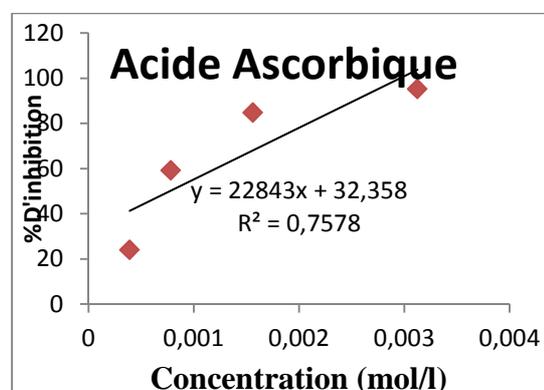


Figure 21 : Pourcentage d'inhibition du DPPH• de l'acide ascorbique

La concentration efficace (IC₅₀ ou bien CE 50) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, plus la valeur est basse plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. La concentration inhibitrice minimale (IC₅₀) est exprimée par extrapolation à 50% d'inhibition de la droite % d'inhibition en fonction de la concentration.

Afin de comparer leurs pouvoirs antioxydants les résultats obtenus sont représentés dans la figure 22.

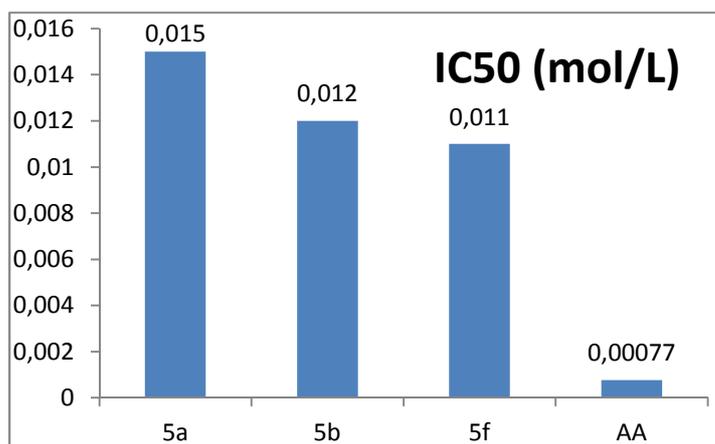


Figure 22: Valeurs d'IC50% des composés testés et de l'acide ascorbique.

La figure 22 a montré que le produit **5f** possède la meilleure activité antioxydante par rapport à **5a** et **5b**.

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons évalué l'activité antioxydante des azo-coumarines synthétisés par la méthode de DPPH. Les résultats obtenus ont montré que la réduction de DPPH[•] est enregistrée pour les trois composés **5a**, **5b** et **5f**.

Le composé **5f** possède la meilleure capacité réductrice mais qui reste faible par rapport à la référence utilisée.

Conclusion générale

Conclusion générale

Au cours de ce travail, nous avons synthétisé et caractériser des nouveaux colorants organiques de type pyronique. Ainsi, nous avons s'intéresser sur la synthèse des colorants azoïques bioactifs.

En premier lieu, nous avons préparé un sel de diazonium, la copulation de celui-ci avec le salicylaldehydes diversement substitués, qui nous a permet l'obtention des colorants azoïques.

Les composés obtenu ont été condensé avec la triacétique lactone (TAL) qui sont susceptibles d'avoir une activité biologique intéressante.

Les différents points de fusion et différentes techniques d'analyses structurales et qualitatives (CCM, IR, et UV/ visible) a permet de révéler la structure des dérivés synthétisés.

L'étude par spectroscopie UV-Visible des composés **3a-f** et **5a-b, f** à montré deux bandes d'absorption distinctes attribuées à la transition $\pi \longrightarrow \pi^*$.

L'étude par spectroscopie IR a montré l'apparition des principales bandes qui caractérisent nos colorants azoïques **3a-f** ainsi que les composés azo-coumariniques synthétisées **5a-b, f**.

L'étude de l'activité antioxydante des composés **5a, 5b, 5f** en utilisant le radical DPPH' a montré que ces composés sont actifs

Ce travail fera l'objet d'une publication internationale après avoir réalisé et compléter toutes les autres études spectroscopiques en RMN de ^1H et ^{13}C , spectroscopie en masse et l'analyse élémentaire.

Il serait intéressant de tester nos composés en évaluant leur activité antibactérienne.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] ABRAHART E.N.; Dyes and Their Intermediates; Ed Edward Arnolds; (1987).
- [2] OTHMER K.; Encyclopedia of Chemical Technology; Vol.5; John Wiley and Sons; Encyclopédie Encarta; (2005).
- [3] VENKATARAMAM K.; the Chemistry of Synthetic Dyes; Vol.III; John Xiley et Sons ; New York ; (1987).
- [4] CHETIOUI S.; mémoire de magister en chimie Université Constantine (2010).
- [5] LAMRI N.; mémoire de magister ;Université Mentouri Constantine (2010).
- [6] Welham A., The theory of dyeing (and the secret of life). J. Soc. Dyers Colour. Vol.116. p.140-143. (2000).
- [7] ZOLLINGER H., Color Chemistry. Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments, 2nd Ed, VCH, (1991).
- [8] Colour Index, The Society of Dyers and Colourists. Revised third edition, UK, (1975).
- [9] ZHENWANG L., ZHENLU C., JIANYAN L., The PT dye molecular structure and its chromophoric luminescences mechanism. 15th World Conference on Non-Destructive Testing, p.15-21, (2000), Rome.
- [10] GUIVARCH E. Traitement des polluants organiques en milieux aqueux par le procédé électrochimique d'oxydation avancée « Electro-Fenton ». Application à la minéralisation des colorants synthétiques, Thèse de doctorat de l'université de Marne-la-Vallée, (2004).
- [11] Encycloepadia Universalis, les colorants,(2003).
- [12] M. CAPON, V. COURILLEAU, C. VALETTE, Chimie des couleurs et des odeurs, Jan. (Association Culture Technique), (1993).
- [13] HABATI A.; mémoire de magister ; Université Mentouri Constantine (2009).
- [14] J.-A GHAUTIER, J.-G. KIGER et F. PELLERIN, «Les Colorants Naturels et de Synthèse à Usage Pharmaceutique et Alimentaire». Mises au point de chimie analytique, Paris, Masson, (1964).
- [15] DAWSEY S.M. ; FLEISHER D.E. ; WANG G.Q. ; ZHOU B. ; KIDWELL J.A. ; LU N., LEWIN K.J.; China Cancer. 83, Vol. 2, p.220, (1998).
- [16] NIVELONI S. ; FIORITI A. ; DEZI R. ; PEDEREIRA S. ; SMECUOL E. ; VAZQUEZ

Références bibliographiques

- H. ; CABANNE A. ; BOERR L.A. ; VALERO L. ; KOGAN Z. ; MAURINO E. ; BAI I. ;
Gastrointest Endosc., 47 ; Vol.3 ; p.223 ; (1998).
- [17] MAKHLOUFI-CHEBLI M.; thèse de doctorat ; Université Houari Boumediene Alger (2009).
- [18] TIWARI R N.; KODAPE M M.; NANDKHISHOR D.; GAWHALE A.; ASHIWINI A.;WADURKAR . Vol.6; p.11- 14; (2016).
- [19] BENAOUIDA M.A.; mémoire de magister Université Mentouri Constantine (2010).
- [20] G.Champetier et H.Rabaté, « Chimie Des Peintures Vernis Et Pigments » Paris, ed Dunaud, tome II, p.456-476, (1955).
- [21] MILCENT R.; «CHIMIE ORGANIQUE Stéréochimie, entités réactives et réactions »
Les réactions de substitution. p.446, (2007).
- [22] Odabasoğlu M.; Albayrak C.; Özkanca R.; Aykan F.Z.; Lonecke P.;840 ; 71-89;2006.
- [23] E Knoevenagel . Biochem.,Vol.31, p.2596.(1998).
- [24] KAMAZANI S.; SOLTANI S.; ZONOUZI A. ; 32;Vol. 5 ; p.2543-5248 ;(2016).
- [25] DJEMOUI DJ.; Mémoire de Master, Université Kasdi Merbah Ouargla, (2012).
- [26] Boyd B. et al, Ford C. Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. Glycoscience& Nutrition,Vol. 4 , p. 7, (2003).
- [27] Tiwari A. K., Antioxidants: New-generation therapeutic base for polygenic disorders,
Curr. Sci., Vol.8, p. 1092-1102, (2004).
- [28] Martinez-Cayuella M., Oxygen free radicals and human disease, Biochem, 77, p.147-161, (1995).
- [29] Harrar A., mémoire de magister, Sétif, (2012).
- [30] Ammar R. B., Bhourri W., Sghaier M. B., Boubaker J., Skandrani I., Neffati A., Bouhlel I., Kilani S., Mariotte A. M., Chekir-Ghedira L., Dijoux-Franca M. G. Đ., Ghedira K., Antioxidant and freeradical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L.(Rhamnaceae) : A structure-activity relationship study, Food Chem., 116, p.258-264, (2009).
- [31] Attou A., Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent, p.47, (2011).

Références bibliographiques

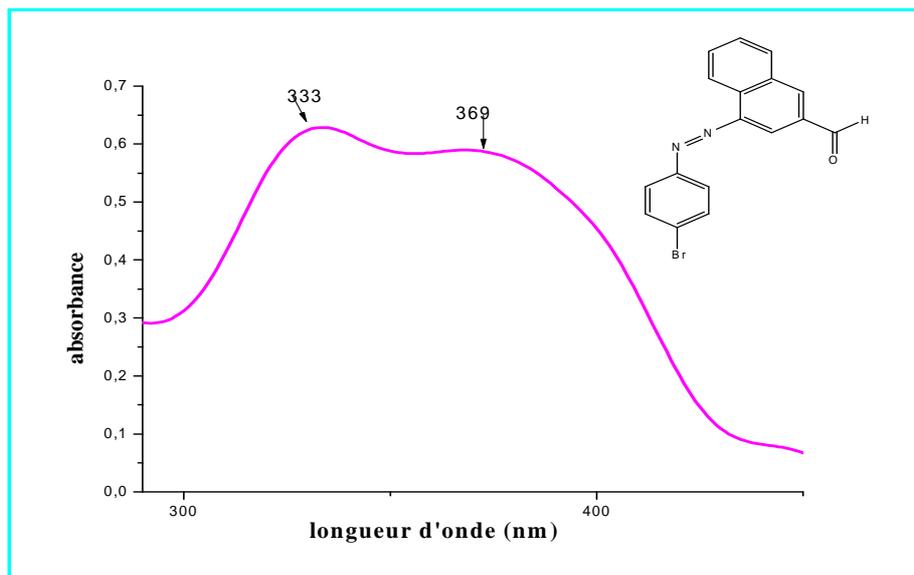
[32] Benzie I. F. F., Strain, J. J., The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239,p.70-76, (1996) .

[33] Patil R. B, Sawant S. D., Reddy K. V., Shirsat M., Synthesis, Docking Studies and Evaluation of Antioxidant Activity of Some Chromenone Derivatives, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, Vol.6, p.381 -391,(2015).

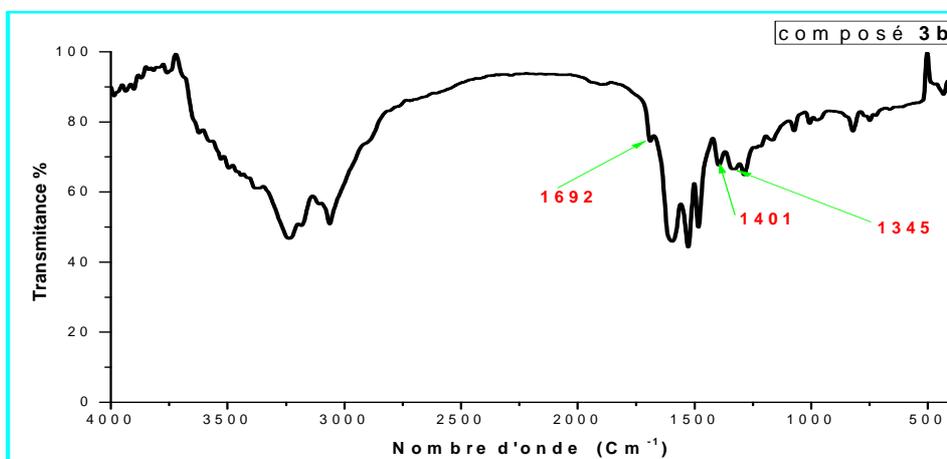
[34] Al-Ayed A. S., Synthesis of New Substituted Chromen [4, 3-c] pyrazol-4-ones and their. Antioxidant Activities Molecules, Vol.16, p.10292-10302, (2011).

Annexe

Annexe

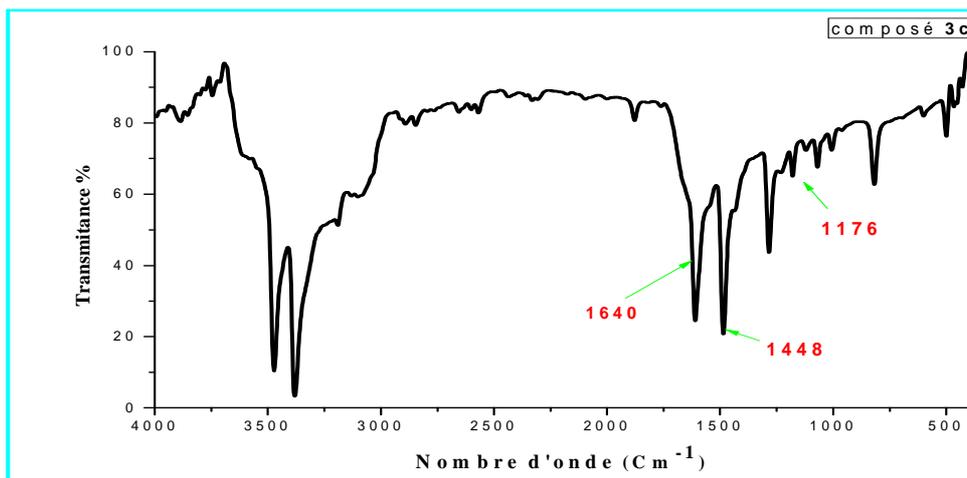


Spectre UV-Visible du composé (3b)

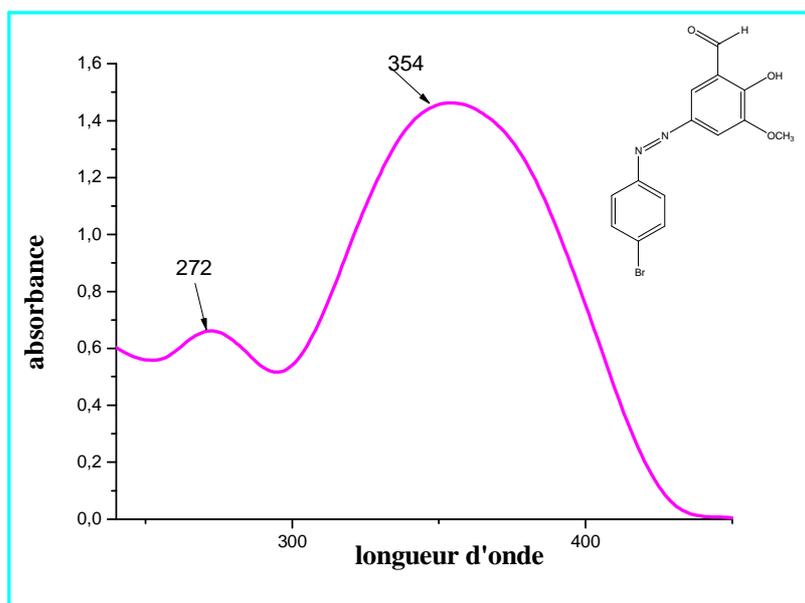


Spectre IR du composé (3b)

Annexe

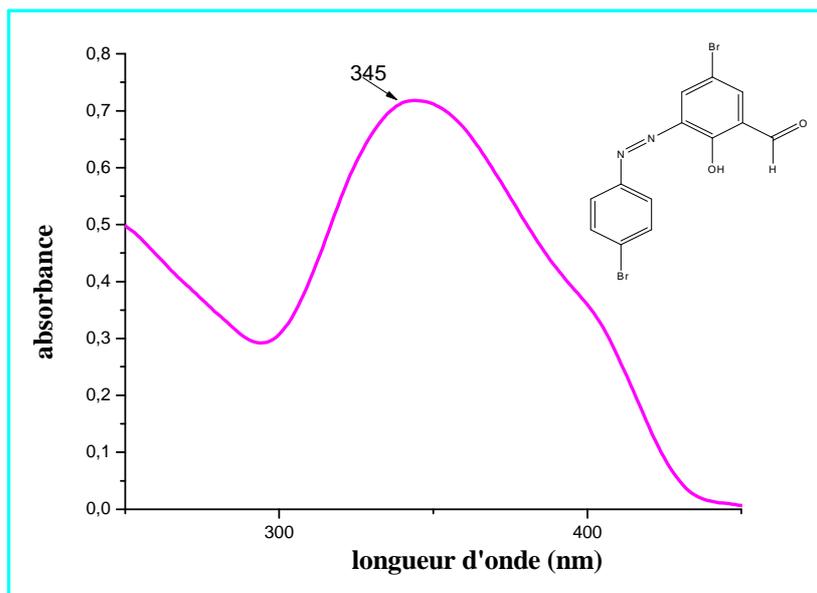


Spectre IR du composé (3c)

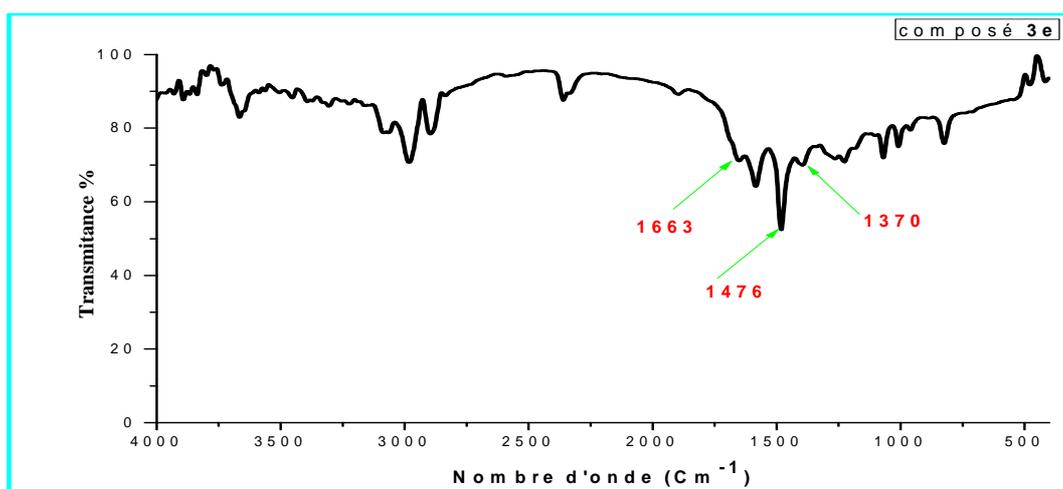


Spectre UV/vis du composé (3d)

Annexe

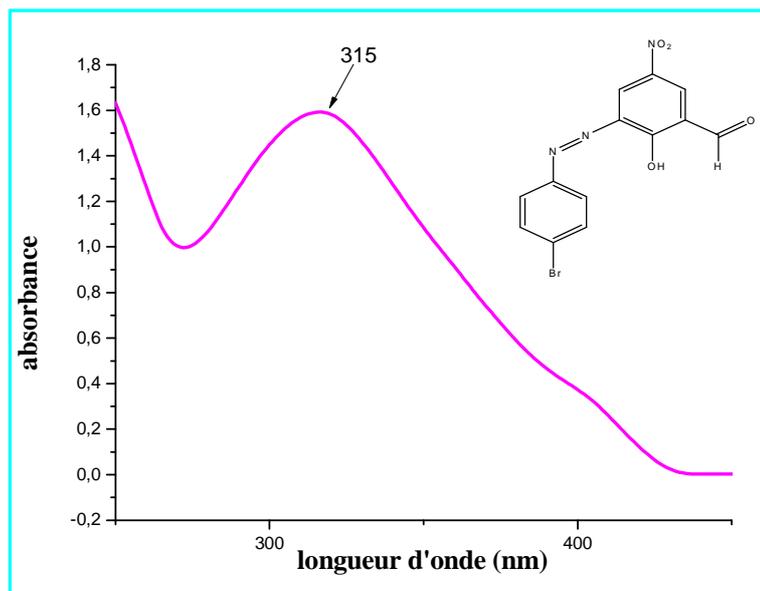


Spectre UV-Visible du composé (3e)

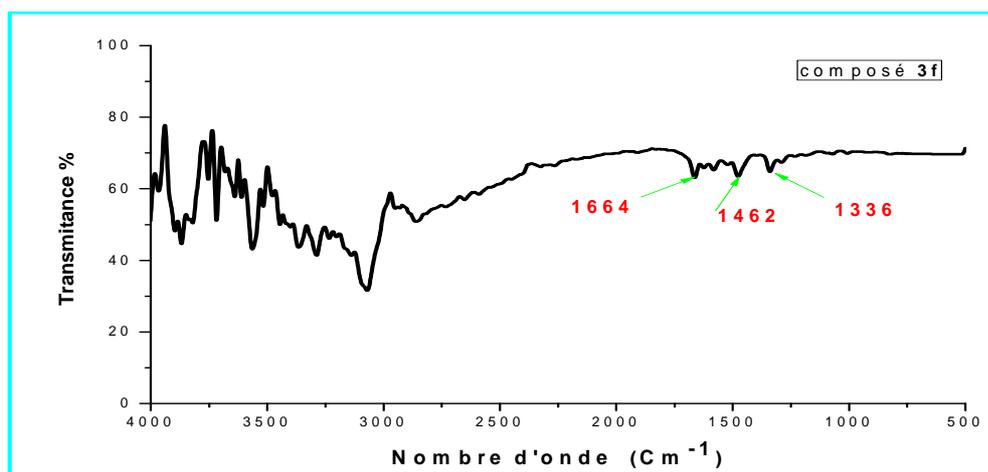


Spectre IR du composé (3e)

Annexe



Spectre UV-Visible du composé 3f



Spectre IR du composé 3f

Résumé

L'objectif de notre travail consiste en la préparation d'azo-composés, au moyen de la réaction de diazotation de 4-Bromo aniline suivie d'une copulation sur le salicylaldéhyde ou l'un de ses dérivés conduisant à l'obtention des colorants de type azoïque. Ces derniers sont condensés avec la TAL au reflux conventionnel selon la réaction de Knoevenagel dans le but de synthétiser des composés bioactifs.

En utilisant la méthode de DPPH, une activité antioxydante moyenne a été constatée pour ces composés.

Mots clés: diazotation, copulation, condensation, bioactif, activité antioxydante.

Abstract

The objective of our work consists in the preparation of azo-compounds, by means of the diazotization reaction of 4-Bromo aniline followed by a coupling on salicylaldehyde or one of its derivatives leading to the obtaining of dyes of the azo type. The latter are condensed with the conventional reflux TAL according to the Knoevenagel reaction in order to synthesize bioactive compounds.

Using the DPPH method, an average antioxidant activity was observed for these compounds.

Key words: diazotization, coupling, condensation, bioactive, antioxidant activity.