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

UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF
FACULTE DES SCIENCES DE L'INGENIEUR
DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

OPTION : Génie Chimique

Par

Mr. CHAFAI NADJIB

Thème

SYNTHESE ET SEPARATION DE NOUVEAUX MATERIAUX ORGANO-PHOSPHONIQUE : APPLICATION DANS LA COMPLEXOMETRIE, TRAITEMENT DES EAUX ET PROTECTION DE L'ENVIRONNEMENT.

Soutenu le : 28 / 06 / 2009

Devant le Jury

PRESIDENT	Pr. S. NACEF.	Professeur	UFA. SETIF
EXAMINATEURS	Pr. M. BOUNKHEL.	Professeur	UFA. SETIF
	Dr. A. BAGHIANI.	M.C	UFA. SETIF
	Pr. A. ZOUAOUI.	Professeur	UFA. SETIF
RAPORTEUR	Pr. S. CHAFAA.	Professeur	UFA. SETIF

DEDICACES

Je Dédie ce modeste Travail :

- *A mes parents.*
  - ✓ *A mes frères et mes sœurs.*
    - ✓ *A mes grands pères et mes grandes mères.*
      - ✓ *A toute ma famille et à mes amis.*

…..Nadjib CHAFAI….

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier ALAH qui m'a donné le courage pour réalisé ce modeste travail et le mener jusqu'au bout.

Ce travail de mémoire n'aurait pu avoir lieu sans l'appui d'un grand nombre de personnes que je vais tâcher de remercier ici, en espérant ne pas oublier trop de monde.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Electrochimie des Matériaux Moléculaires et Complexes (LEMMC) de l'UFA-Sétif sous la direction du Pr S. CHAFAA. Je tiens à t'exprimer ma profonde reconnaissance pour la confiance que tu m'as accordée pendant ces deux ans en me laissant une grande liberté dans mon travail. Je te remercie aussi pour sa disponibilité journalière et pour les discussions s'enrichissantes que nous avons eues.

Je remercie les membres de mon jury de mémoire :

le Pr. S. NACEF, le Pr. A. ZOUAOUI, le Dr. A. BAGHIANI et le Pr. M. BOUNKHEL.

Merci également à toutes les personnes avec qui j'ai partagé paillasses, matériel, conseils techniques et/ou discussions triviales pendant des durées variables : Messieurs Abdelkader Hellal, Djamel Daoud, Salim Tebbakh. Mesdemoiselles : Kh.Benbouguerra, W.Moumeni, N.Haouasse et H.Debabe, Mesdames : L.Ouksel, R.Kerkour, H. Ayet Youssef, I.Kaabi. A.Ghames.

Merci à tout le monde au laboratoire de Biochimie appliquée de département du Biologie de la Faculté des Sciences de Sétif : Monsieur le Professeur A.BAGHIANI et L.ARRAR.

Un merci tout particulier à tous mes amis.

Je tiens enfin à exprimer toute ma gratitude à ma famille dont le soutien a été essentiel tout au long de mes études, et tout particulièrement au cours de ce travail. A mes frères et mes sœurs, à mes parents et mes grands-parents, pour leur aide et leurs encouragements de tous les jours.

الملخص:
اصطنعنا في هذا العمل ممخلب جديد هو عبارة عن حمض آلفا امينوفوسفونات رباعي الوظيفة الحمضية الذي تم تصنيفه و تحديد مميزاته باستخدام الطرق الطيفية (UV-Vis ، IR و RMN) و الخواص الحمضية القاعدية.
درست الخواص الحمضية لهذا المركب الجديد بالطريقة البوتونسيومترية (الكومونومتريه) و تم التعرف على خواصه الكهروكيميائية بالطريقة الفولتا امبيرومتريه الحلقية .
في تطبيق مباشر على امكانيه استخدام المركب الجديد في استرجاع المعادن درست قدرته على تشكيل المعقدات المعدنية مع شوارد النحاس الثنائية .
كما تم انجاز دراسة تطبيقيه في المجال البيولوجي حيث درست خواص المركب المضادة للتأكسد باستعمال تقنيتي **DPPH** و **β-carotène**.
أفضت هذه الدراسة في مجملها إلى تحديد و حساب ثوابت الحموضة الأربعة pK_{ai} للمركب و ثوابت تكون معقداته مع النحاس β_i وكذا محاكاة تأثير تغير التركيز على المعقدات المتكونة، كما تم إيضاح الأهمية الفعلية لهذا المركب في إمكانية استعماله كمضاد للتأكسد والتي تنبأ بتطبيقات واعده في المجال الطبي والصيدلاني.

كلمات مفتاحيه: اصطناع ,ممخلب, معقد, فوسفونات ,DPPH, β-carotène , مضاد الأكسدة.

Résumé :
Dans ce travail on a synthétisé un nouveau ligand acide α-aminophosphonique. Il est caractérisé par Les méthodes spectroscopiques : **UV**-visible, IR, **RMN ^{1}H** et les propriétes acido-basiques.
Le pouvoir acide du ligand est étudié par le titrage potentiométrique. Les données expérimentales sont traitées à l'aide des programmes des calculs spécifiques permettant la détermination des constantes d'acidités $\mathbf{pK_{ai}}$ du ligand et les constantes de stabilités $\boldsymbol{\beta_i}$ des complexes de cuivre formées en solution aqueuse.
Les propriétés électrochimiques sont mises en évidence par la méthode voltampérométriecyclique.
L'étude biologique appliquée au le ligand par les deux techniques **DPPH** et celle **β-carotène** montre que le ligand possède une activité antioxydante très prometteuses dans les domaines pharmacologique et médicinal.

Mots-clés : Synthèse, ligand, complexes, phosphonates, DPPH, β-carotène, antioxydant.

Abstract:
In this work we synthesized a new ligand acid α-aminophosphonic. The spectroscopic methods used to characterize the synthesized ligand are: UV-visible, **IR** and **^{1}H NMR**.
The acidic pouvoir of this ligand was studied by potentiometric titration. The Experimental data of potentiometric titration are processed using a particularly programs for calculate the acidity constants **pKai** of ligand and the stability constants **βi** of copper complexes formed in solution aqueous.
The electrochemical behaviors of synthesized ligand and copper complexes were tested by the voltampérométriecyclic method.
The biological study made on synthesized ligand by both methods **DPPH** and **β-carotene** shows that our ligand has a very high antioxidant activity.

Keywords: Syntheses, Ligand, complexes, phosphonates, DPPH, β-carotene, antioxydant.

SOMMAIRE

SOMMAIRE ..... **I**

LISTE DES FIGURES ..... **VI**

LISTE DES TABLEAUX ..... **IX**

LISTE DES SCHUMAS ..... **XI**

INTRODUCTION **01**

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES **03**

I.1. Généralités sur les ligands et les complexes **03**

I.1.1 Définitions **03**

a. Complexes **03**

b. Ligands **03**

I.1.2. Réactions de complexation **03**

I.1.3. Propriétés des complexes **04**

I.1.4. Applications des complexes **04**

I.2. Généralités sur les phosphonates **05**

I.2.1. Les phosphites **06**

I.2.1.a. Les trialkyles phosphites **06**

I.2.1.b. Les dialkyles phosphites **07**

I.2.2. Synthèse des phosphonates **07**

I.2.3. Propriétés des phosphonates **07**

I.2.4. La chimie des *a*-aminophosphonates **08**

a. Propriétés **08**

b. Synthèse **08**

I.2.5. Applications des phosphonates **10**

I.2.6. Phosphonates et environnement **14**

I.3. Métaux étudiés 15

I.3.1. Propriétés des éléments de transition 16

I.3.2. Utilisations 16

I.3.3. Le cuivre 17

a. Etat naturel 19

b. Propriétés 19

c. Le cuivre et la santé 19

e. Le cuivre et le SIDA 21

II. SYNTHESE, PURIFICATION ET CARACTERISATION 22

II.1. Réactifs et solvants 22

II.2. Synthèse 22

II.2.1. Synthèse par phosphonylation de 4-méthylphényl hydrazine avec H_3PO_3 23

II.2.2. Synthèse par phosphonylation de 4-méthylephényle hydrazine avec le triméthylephosphite $P(OCH_3)_3$ 25

II.2.3. II.2.3. Synthèse par phosphonylation avec H_3PO_3 en présence du $LiClO_4$ 28

II.3. Analyses chromatographiques 29

II.3.1. Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) 29

II.3.2. Séparation et purification sur colonne..... 30

II.4. Caractérisation physico-chimique 31

II.4.1. Spectrophotométrie UV-visible 31

II.4.2. Spectrophotométrie infrarouge 33

II.4.3. RMN du ^1H 36

II.5. Nature de la molécule synthétisée 39

III. PROPRIETES ACIDES ET ELECTROCHIMIQUE DU PRODUIT SYNTHETISE 40

III.1. Etude de l'acidité du produit synthétisé 40

III.1.1. Principe de la méthode..... 40

III.1.2. Equilibre de protonation des ligands en solution 40

III.1.3. Equilibre de protonation des complexes 42

III.1.4. Dosages potentiométriques 44

III.1.4.1. Conditions expérimentales 44

III.1.4.2. Préparation des solutions 45

III.1.4.3. Résultats et discutions 45

a. Titration de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique 45

b. Traitement numérique des données expérimentales 47

b.1. Programme SUPERQUAD 47

b.2. Données traités par SUPERQUAD 48

b.3. Résultats de calcul et discutions 49

b.4. Calcul des constantes d'acidités K_{ai} de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique 49

b.5. Les courbes de distribution 51

III.2. Etude des propriétés électrochimiques de l'acide {[2-(4-methylphenyl)hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique 53

III.2.1. Notions de voltamétrie cyclique 53

III.2.2. Principe de voltamétrie cyclique 53

III.2.3. Expressions mathématiques des courants et des potentiels de pic dans un transfert de charge 54

III.2.4. Critères d'analyse et de discrimination des différents systèmes..... 55

III.2.5. Partie expérimentale 55

III.2.5. Partie expérimentale 55

III.2.5.1. Appareillage 55

III.2.5.2. Préparation des solutions 56

III.2.5.3. Domaine de potentiel étudié 57

III.2.6. Comportement électrochimique de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique synthétisé 57

III.2.6.1. Effet de la vitesse de balayage 59

III.2.6.2. Le processus électrochimique à la surface de l'électrode 60

IV. APPLICATION A LA COMPLEXATION DU CUIVRE 62

IV.1. Résultats expérimentaux de la complexation des cations Cu^{2+} 62

IV.1.1. Résultats de l'étude potentiométrique 62

IV.1.1.1. Modélisation des solutions et calcule des constantes de stabilité des complexes formés 65

IV.1.2. Résultats de l'étude voltampérométrie cyclique appliquée aux solutions des systèmes MΦHBMP/ Cu^{2+} 70

IV.1.2.1. Effet de la vitesse de balayage 72

IV.1.2.2. Variation de l'intensité des pics d'oxydation en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage 73

IV.1.2.3. Variation du potentiel du pic d'oxydation en fonction de la vitesse de balayage 74

IV.2. Simulation de l'effet de la concentration sur le degré de formation α des complexes de Cu^{2+} 76

IV.2.1. Programme HALTAFALL 76

IV.2.2. Les courbes simulées de distribution des espèces protonés du ligand MΦHBMP et ses complexes métalliques de Cu^{2+} 77

IV.2.2.1. Résultats de simulation obtenues par le programme HALTAFALL 79

IV.2.2.2. Résultats de simulation de l'effet de la concentration sur le degré de formation des complexes de cuivre formés avec le ligand synthétisé dans une solution aqueuse 81

IV.2.2.2.a. Le complexe ML 81

IV.2.2.2.b. Le complexe MLH_2 83

IV.2.2.2.c. Le complexe MLH_4 84

IV.2.2.2.d. Le complexe ML(OH) 85

IV.2.2.2.e. Le complexe $ML(OH)_2$ 86

IV.2.2.3. Vérification de la loi de conservation da la matière 86

V. TESTES BIOLOGIQUES 90

V.1. Évaluation de l'activité antioxydante du produit synthétisé 90

V.2. Propriétés 90

V.3. Mesure de l'activité antioxydante du ligand synthétisé par la technique DPPH..91

V.3.1. Le radical DPPH 91

V.3.2. Résultats de mesure de l'activité antioxydante du ligand synthétisé obtenus par DPPH 92

V.3.2.1. Mode opératoire de l'essai DPPH 92

V.4. Mesure de l'activité antioxydante totale par la technique β-carotène-acide linoléique 95

V.4. 1. Mode opératoire du teste β-Carotène-acide linoléique 95

CONCLUSION GENERALE..... 99

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation du cisplatine $Pt(NH_3)_2Cl_2$…….……..05

Figure 2 : La Structure du pamidronate……..……....11

Figure 3 : La Structure de l'aledronate……11

Figure 4 : La Structure de l'AZT-5'-H-phosphonate……..……..……..12

Figure 5 : La Structure du (isopropoxycarbonyloxymethyl) ester de (R)-9-(2 phosphonylmethoxypropyl) « Viread® »……..……13

Figure 6 : différents types des médicaments de l'AIDS synthétisé à partir des phosphonates……...…13

Figure 7 : La Structure de l'Emtriva®……..……..…….14

Figure 8 : La Structure du Sustiva®……..……14

Figure 9 : Exemples de complexes au cuivre utilisés dans le traitement du cancer…....20

Figure 10 : Spectres UV-Vis de : (1) 4-méthylphényl hydrazine. (2) composé synthétisé……..……33

Figure 11 : Spectre IR du produit synthétisé par la 1ère procédure de synthèse« Phosphonylation par H_3PO_3 » …….…….……...35

Figure 12 : Spectre IR du produit synthétisé par la 2ème procédure de synthèse« Phosphonylation par $P(OCH_3)_3$ »……...……..35

Figure 13 : Montage expérimental de titrage potentiométrique……...44

Figure 14 : Courbe de titration d'une solution de 0.1 ml de l'acide diluer à 25ml par NaOH 1 mol/l à I = 0.1mol/l et T = 25 °C……..46

Figure 15 : La courbe dérivée de l'acide synthétisé $\frac{d\,pH}{d\,V} = f\,(V_{NaOH})$ …….……46

Figure 16 : Courbes de distribution des espèces protonées de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique calculées par SUPERQUAD……..…52

Figure 17: Montage expérimental utilisé pour les mesures Voltampérométriques..……56

Figure 18 : Voltampérogramme cyclique de l'électrolyte support $LiCLO_4$ 0.1 mol/l en milieu aqueux, V_b=100 mV/s, E_T : disque de platine Φ=1mm^{2,} E : file de platine, E_{Ref} : ECS……...57

Figure 19 : Voltampérogramme cyclique I = f (E) de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique synthétisé. C=310^{-3}mol/l, I=0.1mol/l, V_b=100 mV/s en milieu aqueux……...58

Figure 20 : Evolution du voltampérogramme cyclique de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique synthétisé au cours de balayage successif C = 3 10^{-3}mol/l, I = 0.1 mol/l en milieu aqueux, Ncyucl=8…….58

Figure 21 : Voltampérogrammes cycliques d'une solution de l'acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique C = 3 10^{-3}mol/l enregistrés à différentes vitesse de balayage de V_{b1}=50mV/s, V_{b2}=75mV/s, V_{b3}=100mV/s et V_{b3}=150mV/s. I= 0.1 mol/l……..59

Figure 22 : variation de l'intensité des pics (Ip)) en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage…….60

Figure 23 : Variation du potentiel du pic anodique (Epa) en fonction du logarithme décimal de la vitesse de balayage (logV_b)……..…61

Figure 24 : Courbe de titration (V_{NaOH}, pH) : $C_{M\Phi HBMP} = C_{Cu^{2+}} = 1.38\ 10^{-4}$mol/l , C_{NaOH}=0.01mol/l, I= 0.1mol/l et T=25°C en milieu aqueux…….63

Figure 25 : Comparaison de dérivées $\frac{dpH}{dV} = f(V)$ des courbes de titration des systèmes MΦHBMP et MΦHBMP/Cu^{2+}……..63

Figure 26 : Courbes de distribution des complexes de Cu^{2+}, trouvées par SUPERQUAD……..67

Figure 27: Courbes de distribution des complexes de Cu^{2+} en présence des espèces protonés trouvées par SUPERQUAD……..……67

Figure 28 : Voltampérogrammes cycliques caractéristiques des solutions……..72

Figure 29 : Variations du voltampérogramme cyclique du complexe de Cu^{2+} en fonction de vitesse de balayage. C_L = C_{Cu2+}= 3 10^{-3}mol/l, I=0.1 mol/l, température ambiante, et

pH=1.837. V_{b1}=50mV/s, V_{b2}=75mV/s, V_{b3}=100mV/s et V_{b4}=150mV/s. I=0.1 mol/l. en milieu aqueux……...73

Figure 30 : La courbe I = f ($V^{1/2}$) du système L/Cu^{2+}……..74

Figure 31 : Variation du potentiel du pic anodique (Epa) en fonction du logarithme décimal de la vitesse de balayage (V_b)……...75

Figure 32 : Courbes de distribution des espèces acides du MΦHBMB ……80

Figure 33 : Simulation de l'effet de concentration sur les courbes de formation des espèces protonées de MΦHBMP……...80

Figure 34 : Effet de la concentration sur α_{max}, pHmax de formation et le domaine d'existence des complexes de Cu formés en solution……...81

Figure 35 : Effet de la concentration sur le degré de formation et le domaine d'existence du complexe ML……..82

Figure 36 : Effet de la concentration sur le degré de formation et le domaine d'existence du complexe MLH_2…….83

Figure 37 : Effet de la concentration sur le degré de formation et le domaine d'existence du complexe MLH_4…….84

Figure 38 : Effet de la concentration sur le degré de formation et le domaine d'existence du complexe ML(OH)…….85

Figure 39 : Effet de la concentration sur le degré de formation et le domaine d'existence du complexe $ML(OH)_2$……...86

Figure 40 : Effet de la concentration sur la formation du complexe ML et sur le résidu de L^{4-}…….87

Figure 41 : Effet de la concentration sur la formation du complexe MLH_2 et de résidu LH_2^{2-}…….87

Figure 42 : Effet de la concentration sur la formation de complexe MLH_4 et de résidu LH_4……88

Figure 43 : Structure chimique du radical DPPH……...91

Figure 44 : Influence de l'activité antioxydante du ligand MΦHBMP sur le radical DPPH……94

Figure 45 : Variations des absorbances du ligand synthétisé en fonction du temps…….96

Figure 46 : Comparaison des pourcentages d'inhibition du ligand synthétisé avec celles du BHT, MeOH et H_2O…….97

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1 : Réaction de Michaël Arbuzov…….....06

Schéma 2 : Equilibre phosphonate /phosphite…….……07

Schéma 3 : Les étapes de la réaction de Michaël Arbuzov…….07

Schéma 4 : La réaction de Kabachnik-Fields……..….08

Schéma 5 : Le mécanisme réactionnel de Mannich…….09

Schéma 6 : La réaction de Pudovik……..…….09

Schéma 7 : Réaction d'Arbuzov sur les imines……...…….10

Schéma 8 : Schéma de synthèse par phosphonylation avec H_3PO_3. ……..…….23

Schéma 9 : Le mécanisme réactionnel proposé pour la 1ère procédure de synthèse« Phosphonylation par $P(OH)_3$ »……..…24

Schéma 10 : Schéma de synthèse par phosphonylation avec le triméthylephosphite……...…….……26

Schéma 11 : Le mécanisme réactionnel proposé pour la 2ème procédure de synthèse« Phosphonylation par $P(OCH_3)_3$ »…….....27

Schéma 12 : Schéma de synthèse par phosphonylation avec H_3PO_3 en présence du catalyseur $LiClO_4$……...…….28

Schéma 13 : Structure du composé synthétisé par la procédure I « Phosphonylation par $P(OH)_3$ »…….……..37

Schéma 14: Structure du composé synthétisé par la procédure II « Phosphonylation par $P(OCH_3)_3$ »……. ……...……...38

Schéma 15 : La Structure du complexe $[CuL]^{2-}$ du ligand substitue en amine primaire…….....68

Schéma 16 : La Structure du complexe MLH_2 du ligand substitue en amine primaire...69

Schéma 17 : La Structure du complexe MLH_4 du ligand substitue en amine primaire...69

Schéma 18 : La Structure du complexe MLH_4 convenable au résultat de la voltampérométrie cyclique……...……..71

LISTE DES TABLEAUX

Tableau.1 : Les caractéristiques du Cuivre……..……18

Tableau 2 : Rapports frontaux des composés synthétisés du produit……...…...……..29

Tableau 3 : Fréquences des groupements fonctionnels exprimées en $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) …….…..36

Tableau 4 : Comparaison des pics RMN ^1H caractéristiques des produits synthétisés et de 4-méthylphényl hydrazine……..……...38

Tableau 5 : Equilibres et constantes de protonation de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique à I = 0.1 mol/l et T = 25 °C……...49

Tableau 6 : Equilibres et constantes d'acidité de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique……...…….50

Tableau 7 : Comparaison de l'acidité de l'acide [2-(4-methylphenyl)-1 (phosphonomethyl) hydrazino] methylphosphonique avec celles des acides dérivés de phenyls phosphonates …….……..51

Tableau 8 : Variation d'intensité du pic I_p en fonction de V_b et $V^{1/2}$……...…...60

Tableau 9 : Variation de potentiel de pic (Ep) en fonction de V_b et en fonction de log(V_b)……...61

Tableau 10 : paramètres caractéristiques des courbes de titrage des systèmes MΦHBMP et MΦHBMP/Cu^{2+}……..65

Tableau 11 : constantes de stabilité des complexes de Cu^{2+} formés. [Cu MΦHBMP] $^{2+i-4}$,

i = 0, 2, 4, -1 ou -2……...66

Tableau 12 : α_{max}, pH_{max} et ΔpH de formation de chaque complexe……..66

Tableau 13 : Evolution de l'intensité du pic anodique (Ipa) en fonction de V_b des solutions des complexes de Cu^{2+}…….……74

Tableau 14 : Variation du potentiel de pic (Epa) des solutions des complexes de Cu^{2+} en fonction de la vitesse de balayage ……...……..75

Tableau 15 : α_{max}, pH_{max} et domaine de formation des espèces $H_rL_q^{pZ_H+qZ_L}$ ……....79

Tableau 16 : variation de degré de formation α_{max} et de domaine d'existence ΔpH du complexe ML en fonction de la concentration……..82

Tableau 17: variation de degré de formation α_{max} et de domaine d'existence ΔpH du complexe MLH_2 en fonction de la concentration…….83

Tableau 18 : variation de degré de formation α_{max} et de domaine d'existence ΔpH du complexe MLH_4 en fonction de la concentration…….84

Tableau 19 : variation de degré de formation α_{max} et de domaine d'existence ΔpH du complexe ML(OH) en fonction de la concentration…….85

Tableau 20 : variation de degré de formation α_{max}, pH_{max} et de domaine d'existence ΔpH du complexe MLH_2 et de résidu LH_2 en fonction de la concentration……...88

Tableau 21 : variation de degré de formation α_{max}, pH_{max} et de domaine d'existence ΔpH du complexe MLH_4 et de résidu LH_4 en fonction de la concentration…….....89

Tableau 22 : Comparaison des IC50 du ligand MΦHBMP et celles des références…….94

Tableau 23: Résultats du test carotène / acide linoléique du ligand synthétisé……....97

INTRODUCTION

Les phosphonates possèdent des propriétés très intéressantes qui laissent beaucoup de chercheurs se penchent sur leur synthèse. Ils sont bien solubles dans l'eau et ne sont pas volatiles et très stables dans les conditions chimiques rigoureuses. Ils sont utilisés généralement dans la préparation des catalyseurs hétérogènes, dans les cocatalyseurs et dans la préparation du polypropylène isotactique [1].

Les complexes métalliques des phosphonates sont utilisés comme catalyseurs, on peut citer parmi eux les complexes de Ca, Cd, Zn utilisés comme catalyseurs dans la réaction de polycondensation du poly (éthylène téréphtalate) [2, 3] et les complexes de l'Ir utilisés comme catalyseurs dans l'hydrogénation des oléfines [4].

Les α-Aminophosphonates et α-Hydroxyalkanephosphonates, sont les deux classes de phosphonates les plus importants et les plus utilisées dans l'industrie pharmaceutique pour la préparation des médicaments efficaces dans le traitement du cancer et du SIDA (anti-HIV prodrugs) [5, 6, 7]. Surtout les α-**A**minophosphonates sont des produits biologiquement très actifs [8] et considérés comme une classe importante d'agents antibiotiques et pharmaceutiques [9].

Les *a*-aminophosphonates chiraux constituent en outre de bons catalyseurs d'aldolisation asymétrique [10].

Les objectifs visés dans ce travail sont la synthèse d'un nouveau composé Organo-Phosphonique et la mise en évidence de ces applications dans les domaines de complexations et de biologies.

Le manuscrit est subdivisé en cinq chapitres, une introduction et une conclusion générale.

Le premier chapitre présente un bref rappel bibliographique sur les ligands, les complexes et les phosphonates.

Le deuxième chapitre présente la synthèse et la caractérisation de nouveaux dérivés de l'acide phosphonique.

Le troisième chapitre regroupe les résultats de l'étude électrochimique des propriétés du composé choisi, effectué par la potentiométrie et la voltampérométrie cyclique.

Le quatrième chapitre présente les résultats d'une étude d'application et de simulation des résultats expérimentaux dans la complexation métallique.

Le cinquième chapitre est consacré à une étude biologique pour évaluer l'activité antioxydante des ligands synthétisés.

On termine le travail par une conclusion générale.

I.1. Généralités sur les ligands et les complexes

I.1.1. Définitions

a. Complexes

Édifices polyatomiques constitués d'un ion ou d'un atome central, entouré d'atomes, d'ions ou de molécules associés à l'atome central par des liaisons chimiques [11].

b. Ligands

Les molécules, les ions ou atomes qui entourent l'atome central sont les ligands (aussi appelés coordinats), Liés au centre métallique par une liaison chimique [12].

La formule générale d'un complexe est donnée par :

$$[M\ X_x\ L_l\ ]^z$$

Où :

M : atome centrale (métal).

L : ligands anioniques.

X : ligands non chargés (ou cationiques).

z : charge du complexe.

l : nombre de ligands de type L coordonnés.

x : nombre de ligands de type X coordonnés.

Selon le nombre de liaisons qu'un ligand forme avec le métal, nous distinguons les ligands unidentés ayant une liaison avec le centre métallique et les ligands polydentés ayant plusieurs liaisons avec le centre métallique. Les ligands ayant plusieurs atomes donneurs arrangés convenablement pour occuper plusieurs places de coordination d'un seul métal et former un ou plusieurs cycles sont appelés chélatants.

Les complexes des ligands chélatants sont plus stables que ceux des ligands unidentés correspondants [13].

I.1.2. Réactions de complexation

D'une façon générale, la formation d'un complexe à partir d'un métal M et de n ligands L s'écrira :

$$M^{t+} + nL^{u-} \leftrightarrows [M(L)_n]^{t-nu}$$

À cette réaction est associée une constante d'équilibre K:

- K_f: constante de formation qui s'écrit : $K_f = \frac{[M(L)_n]}{[M][l]^n}$
- K_d: constante de dissociation qui s'écrit : $K_d = \frac{1}{K_f}$

I.1.3. Propriétés des complexes

Les propriétés particulières des complexes proviennent du fait que l'ion (ou l'atome) central est protégé des influences du milieu extérieur par la présence de ligands tout autour de lui. Ainsi par exemple, lorsque l'oxygène est complexé par l'hémoglobine, il peut être transporté sans réagir avec les différents composés du sang. Il ne sera libéré qu'au niveau des cellules où, en se fixant sur leurs membranes, l'hémoglobine va « s'ouvrir » pour relâcher l'oxygène. De plus, dans les cavités protégées par les ligands peuvent se produire des réactions particulières qui seraient empêchées par le milieu ambiant [14,15].

I.1.4. Applications des complexes

Les complexes métalliques ont une importance capitale en chimie et interviennent dans beaucoup de domaines d'avant-garde.

- **Les complexes métalliques en catalyse :**

La configuration des ligands autour d'un centre métallique, la possibilité d'échanger de ligands et la capacité de certains métaux à s'insérer dans des liaisons covalentes (en particulier les liaisons multiples) de façon réversible rend les complexes métalliques extrêmement utiles en catalyse. En effet, la coordination à un centre métallique abaisse l'énergie d'activation de réaction par formation d'un ou plusieurs complexes intermédiaires et influe sur la sélectivité de la réaction. Dans la nature, il y a aussi des complexes métalliques qui interviennent dans les métalloprotéines (fer dans l'hémoglobine, magnésium dans la chlorophylle, cuivre dans l'hémocyanine...). Ces complexes sont un des objets d'étude de la chimie bioinorganique [14].

D'autre part, l'industrie chimique utilise un grand nombre de catalyseurs homogènes, en particulier ceux dits de Ziegler-Natta, qui sont des complexes. On peut citer les complexes organométalliques mixtes de titane et d'aluminium qui catalysent la polymérisation d'oléfines et pour lesquels les chimistes Ziegler et Natta ont obtenu le prix Nobel de chimie en 1963. Les

complexes sont également utilisés en analyse chimique pour séparer des ions de nature différente, par extraction liquide-liquide [15].

Les complexes métalliques des phosphonates sont aussi très utilisés comme catalyseurs, on peut citer les complexes de Ca, Cd, Zn qu'ils sont utilisés comme des catalyseurs dans la réaction de polycondensation du poly (éthylène téréphtalate) [2, 3].

- **Les complexes en chimie des solutions :**

Les complexes en chimie des solutions ont des utilités multiples:

- Solubiliser un métal contenu dans un minerai (Exemple : l'or solubilisé comme un complexe cyanuré) [16].
- Caractériser la présence d'une espèce chimique par formation d'un complexe coloré [16].

- **En médecine :**

- Des complexes de platine **(Fig.1)** sont utilisés dans le traitement de certains cancers (cisplatine, carboplatine, oxaliplatine…) [17].

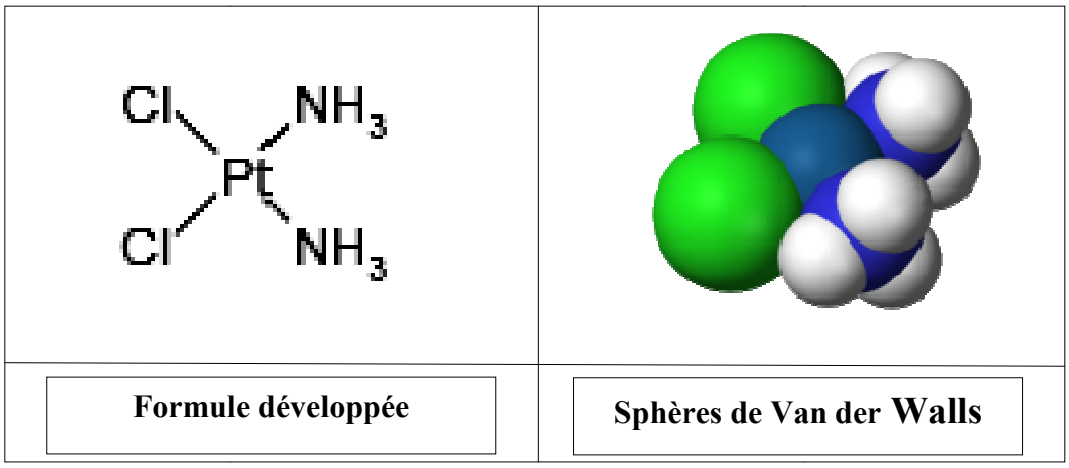


Figure 1 : Représentation du cisplatine $Pt(NH_3)_2Cl_2$.

- La capacité complexante de l'EDTA est mise à profit dans le traitement d'intoxication par des métaux, le plomb en particulier [17]. Le dérivé phosphonique de l'EDTA c'est l'EDTP forme des complexes plus stables.
- Des complexes de gadolinium sont utilisés comme agents de contraste en imagerie par résonance magnétique (IRM) [17].

I.2. Généralités sur les phosphonates

Les phosphonates sont des composés organiques mono ou polyphosphonates, en 1897 Von Baeyer et Hofmann ont synthétisés pour la première fois des bisphosphonates [18]. Le premier phosphonates naturel a été identifié en 1959 c'est l'acide 2-aminoethylphosphonique et se produit dans les usines par les plants et de nombreux animaux, principalement dans les membranes [19].

La structure générale des phosphonates est données par :

- $R\text{-}CH_2\text{-}PO\ (OR')_2$ pour les esters phosphoniques (avec R'= alkyl, aryle).
- $R\text{-}CH_2\text{-}PO(OH)_2$ pour les acides phosphoniques.

I.2.1. Les phosphites

La chimie du P(III) est dominée par la nucléophilie des phosphines et phosphites. La formation de la liaison P=O (575 kJ/mol, liaison forte) accompagnée de l'oxydation du P(III) en P(V) est la force motrice de nombreuses transformations.

On peut classer les phosphites en deux familles selon qu'il existe ou non des groupes hydroxyles sur le phosphore :

- Les trialkyles phosphites.
- Les phosphites d'ordres inférieurs : dialkyles, monoalkyles ou sans alkyles.

Les familles de phosphites les plus utilisées sont les trialkyles et les dialkyles phosphites:

I.2.1.a. Les trialkyles phosphites

Les trialkyles phosphites moins nucléophiles que les phosphines à cause des groupements alkoxy électroattracteurs, la plupart du temps les réactions d'alkylation nécessitent de longs chauffages. Une des applications les plus courantes de ces composés est la réaction d'Arbuzov : elle consiste en l'addition de trialkyles phosphites sur un dérivé halogéné pour conduire au phosphonate correspondant **(Schéma 1)** [20] :

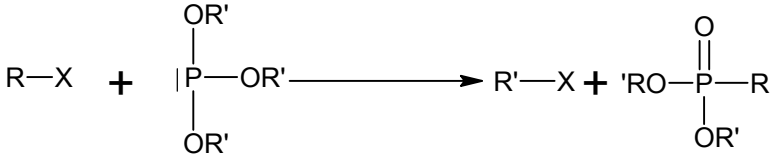


Schéma 1 : Réaction de Michaël Arbuzov.

I.2.1.b. Les dialkyles phosphites

Ces composés sont connus pour leur équilibre entre une forme phosphonate et une forme phosphite plus nucléophile **(Schéma 2)** :

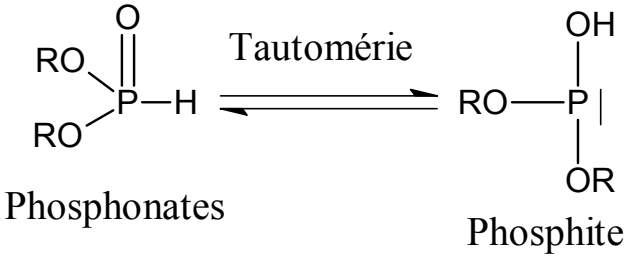


Schéma 2 : Equilibre phosphonate /phosphite.

Contrairement aux trialkyles phosphites, une base permet d'augmenter fortement la nucléophilie du phosphite et de réaliser des alkylations à des températures beaucoup plus basses : l'hydrure de sodium est ainsi utilisé dans la réaction de Michaëlis-Becker [21].

I.2.2. Synthèse des phosphonates

La méthode la plus communément utilisée est la réaction de Michaëlis-Arbuzov [22], mettant en jeu une trialkyle phosphite et un halogénure d'alkyle. Le Schéma 3 montre les étapes réactionnelles de cette réaction.

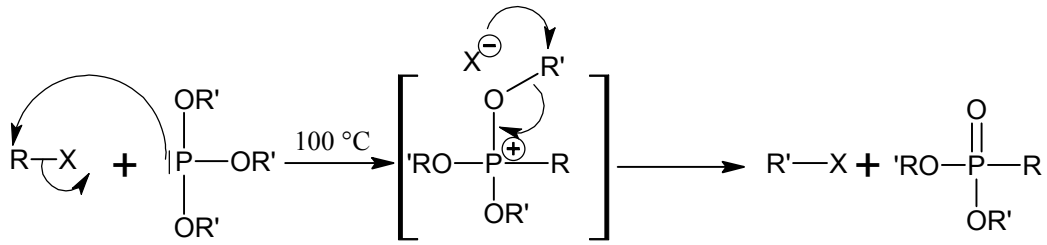


Schéma 3 : Les étapes de la réaction de Michaël Arbuzov.

I.2.3. Propriétés des phosphonates

Les principales propriétés des phosphonates sont les suivantes :

- Sont des agents de chélateurs très efficaces pour les ions métalliques.
- Elles inhibent la croissance des cristaux.
- Sont des produits très stables dans les conditions chimiques rigoureuses.
- Elles sont très solubles dans l'eau, et ne sont pas volatiles.

- Sont des intermédiaires dans la synthèse des grandes classes de composés tels que phosphoramides, poly (alkylène(s) H-phosphonate(s)), poly (alkylène(s) phosphate(s)), bisphosphonates… [23].
- Sont des composes biologiquement très actifs surtout les aminophosphonates [8].
- Sont des produits biodégradables [23].

I.2.4. La chimie des *a*-aminophosphonates

a. Propriétés :

Les *a*-aminophosphonates sont considérés comme une classe importante de composés, car ils présentent plusieurs activités biologiques intéressantes. Leur structure rappelle en effet celle des *a*-aminoacides. Ils trouvent de nombreuses applications en tant qu'analogues de peptides [24], qu'agents antibiotiques et pharmaceutiques [9] et en tant qu'inhibiteurs enzymatiques peptidiques [25] ou non peptidiques, dérivés par exemple d'un seul acide aminé. Ainsi, une série d'acides phosphoniques dérivés de la (*S*)-(4-phényl) phénylalanine a été étudiée dans le but d'optimiser la structure d'un inhibiteur de l'endopeptidase neutre. Cette protéine de zinc membranaire est impliquée dans la dégradation d'une hormone vasodilatatrice et son inhibition pourrait ainsi prévenir l'hypertension et le risque d'infarctus [26].

Les *a*-aminophosphonates chiraux constituent en outre de bons catalyseurs d'aldolisation asymétrique. La co-catalyse par des bases organiques (DBU, DBN, TMG) permet d'augmenter la sélectivité synthétique jusqu'à des excès énantiomériques de 99% tout en utilisant de faibles quantités de catalyseur [10].

b. Synthèse des α-Aminophosphonates :

La voie principale d'accès aux *a*-aminophosphonates est une réaction à trois composants connue sous le nom de réaction de Kabachnik-Fields **(Schéma 4)**. Elle met en jeu un composé carbonylé, une amine et un dialkylphosphite.

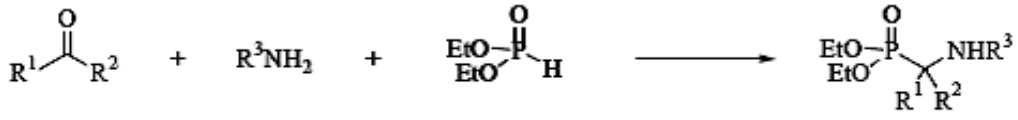


Schéma 4 : La réaction de Kabachnik-Fields.

Dans certains cas, la réaction est réalisée sans catalyseur [27]. Cependant, dans la plupart des cas, l'usage d'acides comme de bases [28] permet d'améliorer la réaction. De nombreux composés ont été utilisés, comme le perchlorate de lithium, le triflate d'aluminium (III) ou de magnésium [29], le pentachlorure de tantale [30], le trichlorure d'indium [31], le tris(dodécylsulfate) de scandium [32], le diiodure de cadmium [33], le sulfate de magnésium [34], la silice [35], l'alumine ou le trichlorure d'erbium [36], les triflates de lanthanide [37], le diiodure de samarium[38] ou l'acide trifluoroacétique [39].

Bien que de nombreuses suggestions aient été avancées, le mécanisme de cette réaction n'a pas été complètement élucidé [40]. Parmi les mécanismes actuellement envisagés, le plus plausible, de type Mannich **(Schéma 5)**, consiste en la condensation de l'amine sur le composé carbonylé suivie de l'hydrophosphorylation de l'imine intermédiaire.

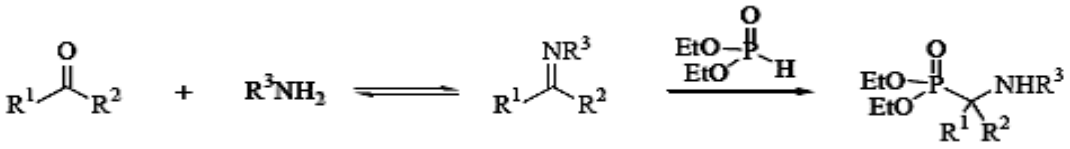


Schéma 5 : Le mécanisme réactionnel de Mannich.

Ce mécanisme offre un exemple d'une réaction plus générale, la réaction de Pudovik **(Schéma 6)**, qui consiste en l'addition d'un phosphite sur une liaison double C=O, C=N, voire C=C ou une liaison triple dans certains cas. Comme pour la réaction de Mannich, il est possible d'additionner le dialkylphosphite à des imines préformées, ce qui revient à réaliser une réaction de Pudovik au sens strict. Cette réaction a fait elle aussi l'objet d'études mécanistiques [41] et peut-être catalysée par diverses bases [42] ou divers acides de Lewis comme le trichlorure d'aluminium [43], le chlorure de diméthylaluminium [44], le trifluorure de bore [45], le tétrachlorure d'étain [46] ou le tétrachlorure de zirconium [47].

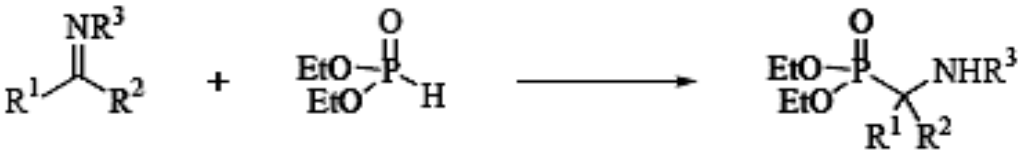


Schéma 6 : La réaction de Pudovik.

Il est également possible d'additionner des trialkylphosphites sur des imines [48] ou des sels d'iminium [49], selon des réactions de type Arbuzov **(Schéma 7)**.

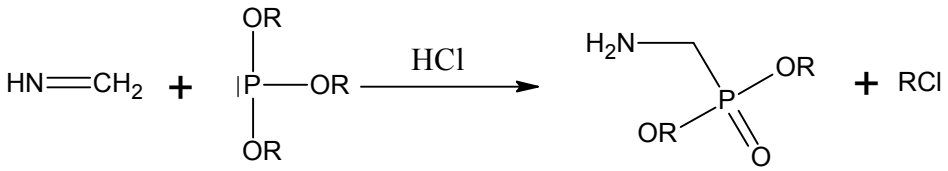


Schéma 7 : Réaction d'Arbuzov sur les imines.

I.2.5. Applications des phosphonates

Les phosphonates sont utilisés aujourd'hui dans tous les domaines de l'industrie, prenant par exemples :

- **L'industrie pétrolière :** comme des antitartres dans les gisements et les puits de forage.
- **Traitement des eaux :** systèmes de dessalement, eaux de refroidissement.
- Dans la fabrication du papier et du textile.
- **L'industrie des détergents :** ils sont utilisés comme une combinaison d'agents chélateurs.
- Ils sont largement utilisés comme des antibiotiques, inhibiteurs de l'enzyme de potentiel, effecteurs de la neurotransmission, dans l'agrochimie [50].
- **L'industrie agroalimentaire :** herbicide [51], fongicides [52], bactéricides [53], régulateurs de croissance des plantes [54,55].
- **Dans l'industrie des catalyseurs** : sont utilisés généralement dans la préparation des catalyseurs hétérogènes, cocatalyseur dans la préparation du polypropylène isotactique [1], les complexes des phosphonates avec le Ir sont utilisés comme catalyseurs dans l'hydrogénation des oléfines [4].
- **L'industrie d'automobiles** : ils assurent la protection pour les peintures métalliques des voitures.
- **Industrie pharmaceutique :** les phosphonates les plus utilisées dans l'industrie pharmaceutique comme des médicaments sont : les α-Aminophosphonates et α-Hydroxyalkanephosphonates, notamment dans la lutte contre le cancer et l'AIDS (anti-HIV prodrugs), prenant les deux exemples suivants :
  - la samarium-153-éthylène diamine tétraméthylene phosphonates, c'est un complexe de Samarium (Sm) et les deux ligands pamidronate **(Fig.2)** et aledronates **(Fig.3)** [5].

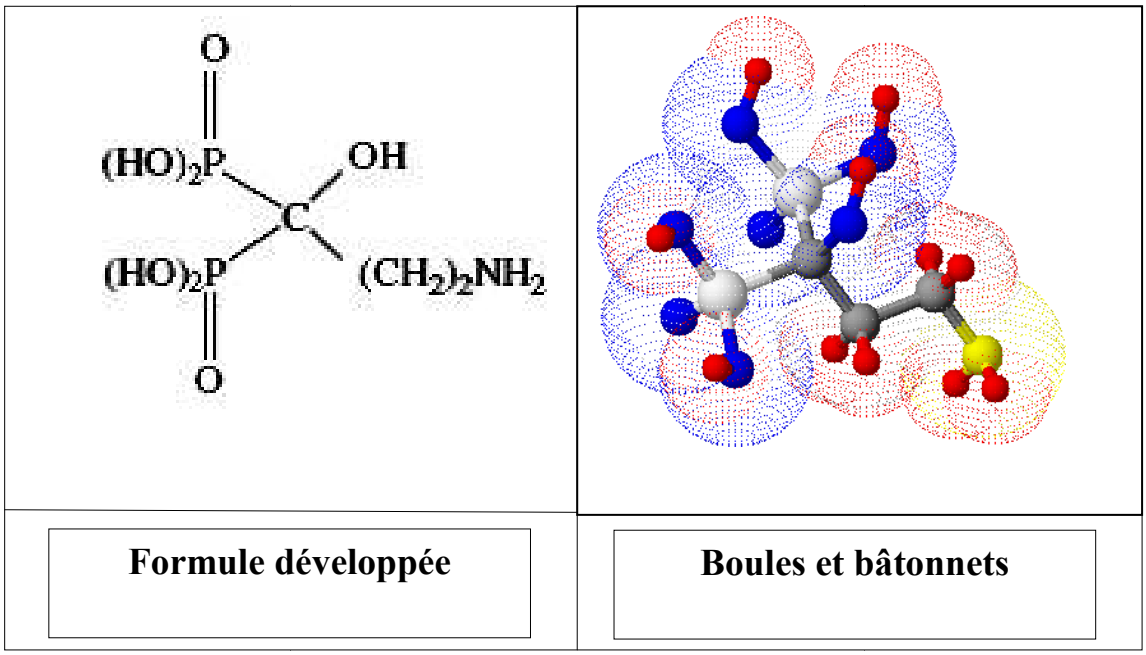


Figure 2 : La Structure du pamidronate.

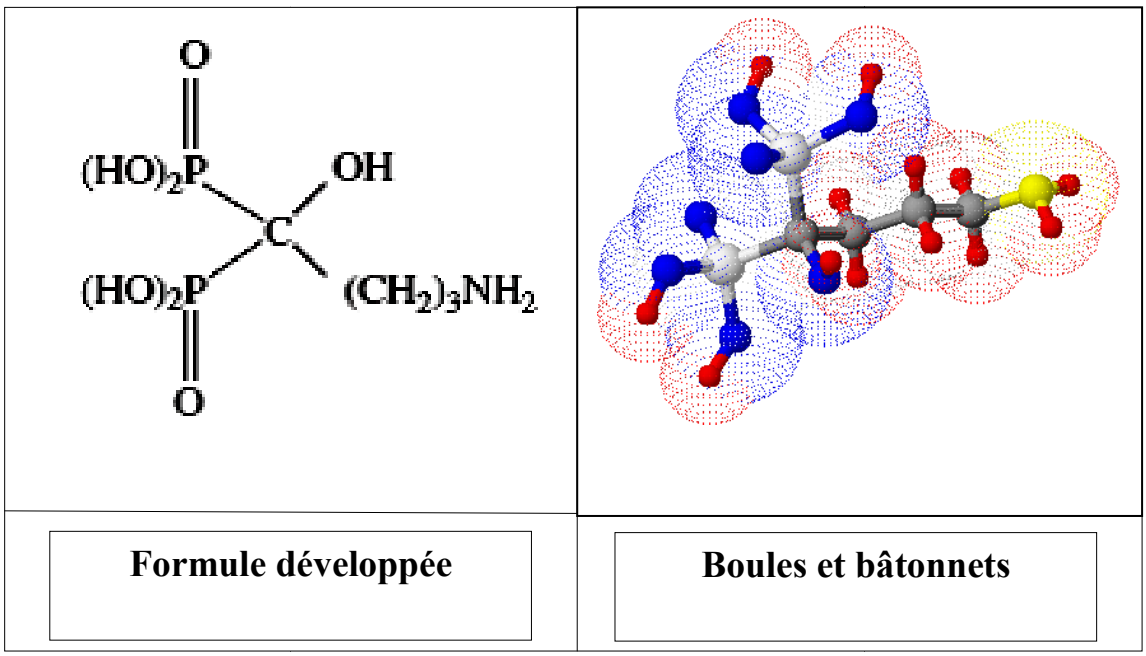


Figure 3 : La Structure de l'aledronate.

- Les analogues nucléosides sont largement utilisés comme des agents antiviraux dans le traitement de L'AIDS. Le seul agent clinique de traitement de l'AIDS approuve aux états unis est le 3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) [56,57]. Le mécanisme moléculaire d'action de

ces nucléosides consiste a sa conversion en 5'-monophosphate correspond par l'action du nucléoside cellulaire le Kinase, suivi par l'étape de phosphonylation catalyser par le Kinase pour donné le 5'-triphosphate correspond. Ça inhibe la synthèse du DNA pro viral [57,58], catalysée par HIV transcriptase inverse (RT), l'incorporation au 3' et en fin inhibe la croissance de la chaine du DNA [57,59].

Le AZT-5'-H-phosphonate **(Fig.4)** est l'un des composés les plus importants il est moins toxique que AZT (les valeurs de CC50 sont égales à 2.5 mM et 210 µM pour l' AZT-5'-H-phosphonate et L'AZT respectivement). La sélectivité totale (CC50 /IC50) de l' AZT-5'-H-phosphonate est supérieur a seul de l'AZT [60].

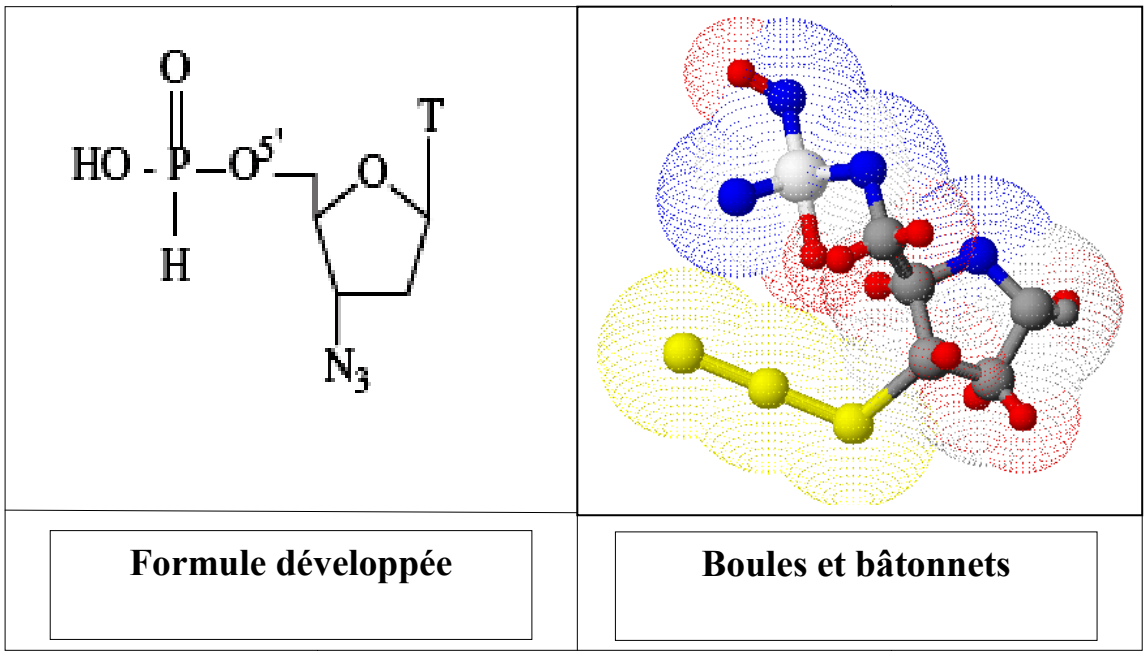


Figure 4 : La Structure de l'AZT-5'-H-phosphonate.

Le bis (isopropoxycarbonyloxyméthyl) ester de (R)-9-(2-phosphonylméthoxypropyl) adénine **(Fig.5)** est un anti-HIV efficace *in vivo*, et leur métabolisme cellulaire est rapporté par Naesens et al. [6] et Robbins et al. [7]. Le médicament le plus efficace et le plus active utilisé contre le AIDS aujourd'hui est le Viread®, il est disponible en trois formes pharmaceutiques : le Viread® lui-même **(Fig.6-a)**, Truvada® **(Fig.6-b)** (qu'est le Viread® combiné avec l'Emtriva® **(Fig.7)**), Atripla® **(Fig.6-c)** (qu'est le Viread® combiné avec l'Emtriva® et le Sustiva® **(Fig.8)**). Les trois médicaments : Viread®, Truvada® et Atripla® sont synthétisés à partir des phosphonates.

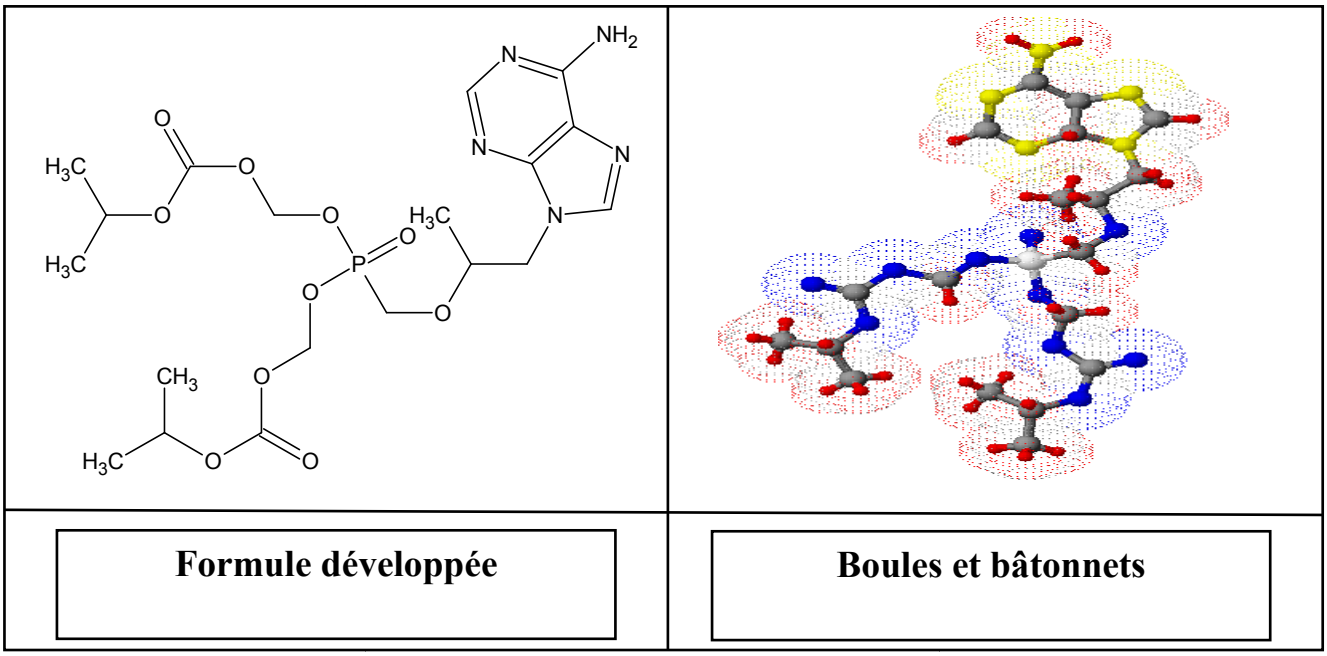


Figure 5 : La Structure du (isopropoxycarbonyloxymethyl) ester de (R)-9-(2-phosphonylmethoxypropyl) « Viread® ».

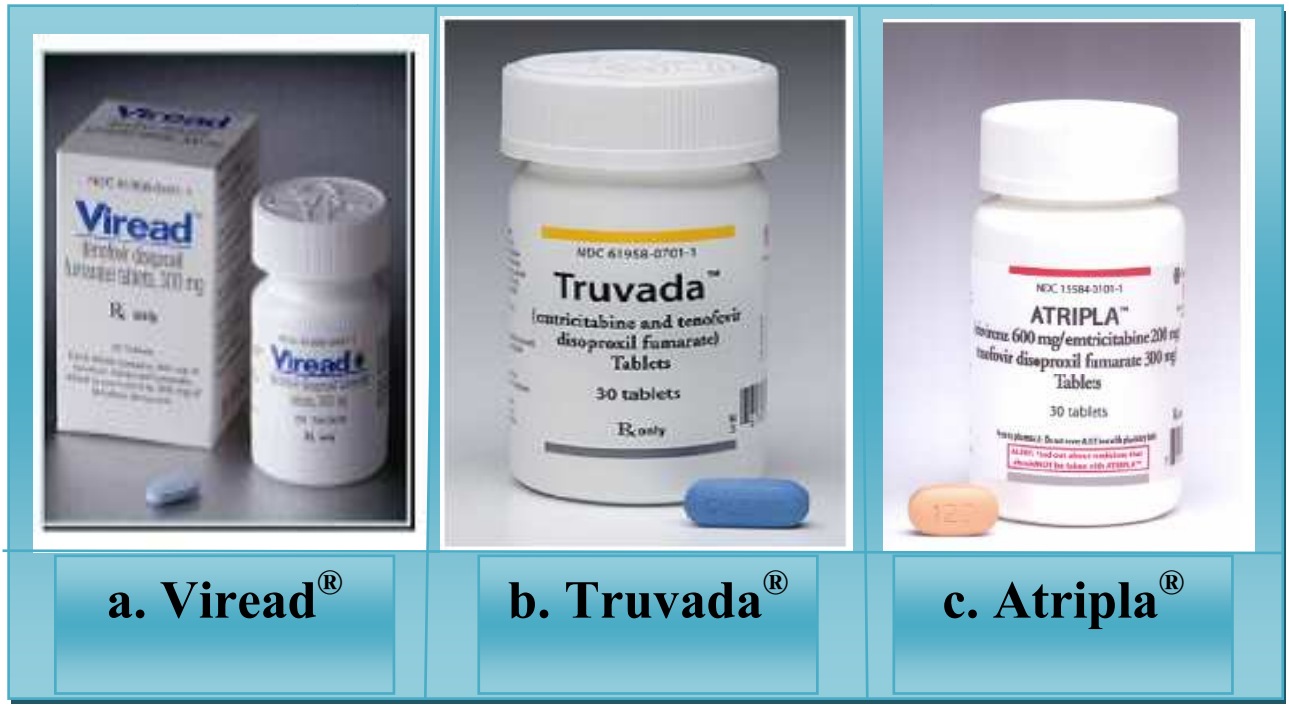


Figure 6 : différents types des médicaments de l'AIDS synthétisé à partir des phosphonates.

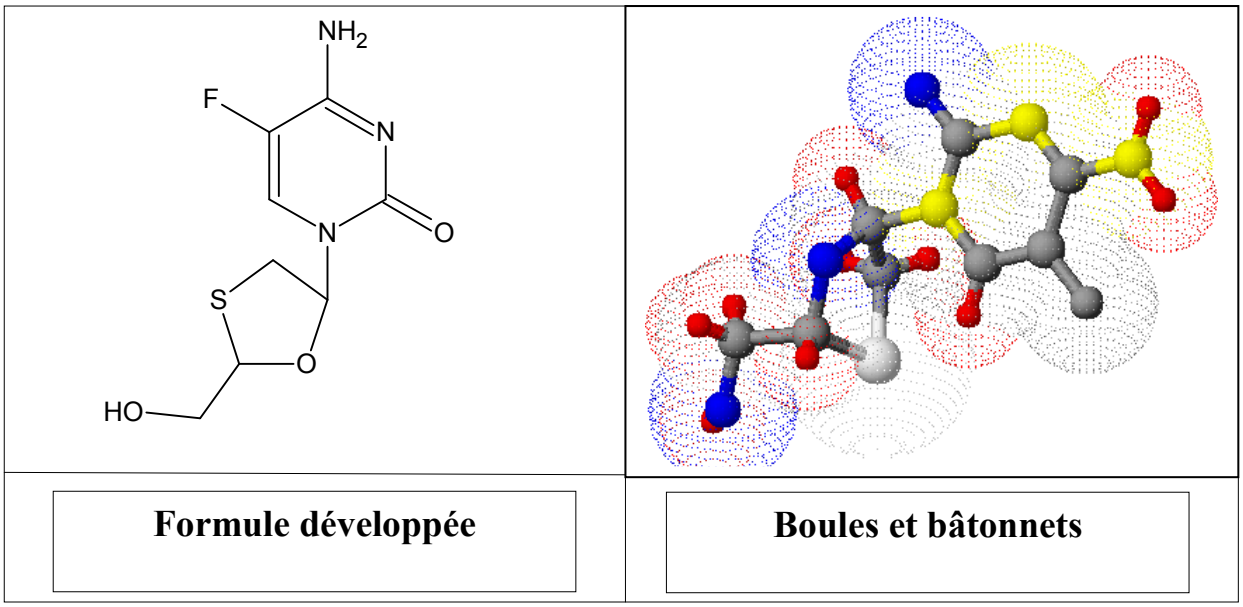


Figure 7 : La Structure de l'Emtriva®.

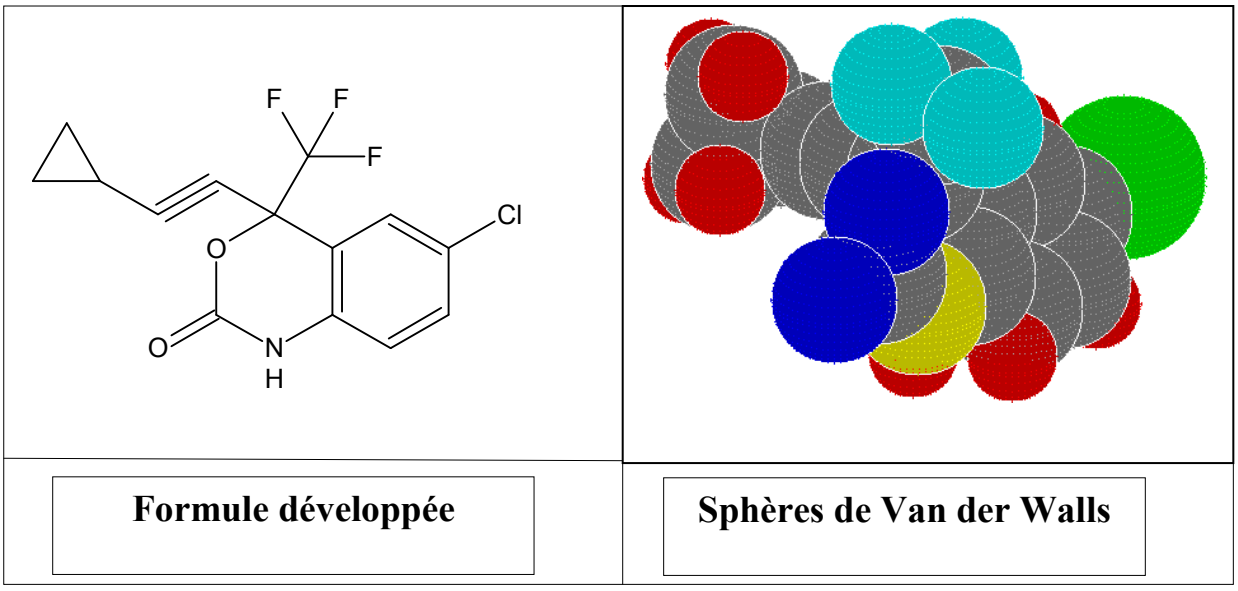


Figure 8 : La Structure du Sustiva®.

I.2.6. Phosphonates et environnement

Les phosphonates ont des propriétés différentes à celles des autres agents de chélatation, et pour cela ils sont utilisés dans nombreuses applications techniques et industrielles, ces propriétés influentes directement sur leur comportement environnementales.

Les phosphonates ont des réactions nombreuses avec l'extérieur (la nature et/ou l'environnement), prenant par exemples :

- ***Adsorption :*** Ils ont une interaction très forte avec les surfaces et surtout les surfaces métalliques [61].
- ***Remobilisation des métaux :*** Les métaux adsorbés sur une surface minérale peuvent être solubilisé par les agents de chélation. Ce processus est mentionné comme l'un des effets les plus nuisibles lorsqu'on augmente la concentration des agents de chélatation dans l'environnement [62] l'adsorption d'un métal en présence des phosphonates a étudié. Il y a une augmentation de l'adsorption de Cu en présence des phosphonates à bas pH, qui est causé par les effets électrostatiques [63]. À haut pH il y a la mobilisation de Cu due à la formation de dissous des complexes de Cu-phosphonate.
- ***Précipitation :*** dans nombreuses applications les phosphonates sont ajoutés aux eaux contenants des concentrations élevées des ions dissous, pour empêcher la formation des précipités, généralement due à l'insolubilité de certaine métal-phosphonates. Ce phénomène a des applications dans l'industrie des huiles où les phosphonates sont injectés [64,65].
- ***Dégradation :*** aucune biodégradation observée des phosphonates durant le traitement des eaux [66]. Mais la photodégradation des complexes des phosphonates avec le Fe(III) est observée (photodégradation rapide) [67,68]. La photodégradation des Aminopolyphosphonates est très rapide en présence de Mn(II) [69]. Les phosphonates et ses leurs complexes sont très stables aux conditions chimiques sévères (chimiquement non dégradables) [70,71].

D'une façon générale il y a un manque d'informations sur les phosphonates dans l'environnement, ce manque est lié aux problèmes analytiques de détermination de leurs traces de concentrations dans les eaux naturelles.

I.3. Métaux étudiés

Éléments de transition, ou métaux de transition, éléments chimiques couvrant les groupes allant des colonnes IIIb à IIb (ou colonnes 3 à 12) dans la classification périodique.

Tous ces éléments ont des configurations d'orbitales électroniques similaires, et donc des propriétés chimiques voisines.

I.3.1. Propriétés des éléments de transition

Les éléments de transition ont plusieurs valences ou nombres d'oxydation : de +1 à +8. Dans les composés organométalliques, caractérisés par des liaisons entre les métaux et des groupes organiques, les métaux de transition peuvent parfois avoir des degrés d'oxydation négatifs. Les éléments de transition possèdent des propriétés métalliques caractéristiques, comme la malléabilité, la ductilité, une grande conductibilité thermique et électrique, et un aspect métallique. Ils tendent à se comporter comme des agents réducteurs (donneurs d'électrons), mais sont moins puissants que les métaux alcalins et les métaux alcalino-terreux, qui présentent respectivement des valences de + 1 et + 2. En général, les éléments de transition ont des densités et des températures de fusion élevées. En outre, ils présentent des propriétés magnétiques et peuvent former des liaisons ioniques et covalentes avec les anions, ces composés étant vivement colorés.

I.3.2. Utilisations

Plusieurs éléments de transition et leurs dérivés sont des catalyseurs importants pour de nombreux procédés industriels, notamment pour la préparation des dérivés du pétrole et des matières plastiques, où les composés organiques sont hydrogénés, oxydés ou polymérisés (hydrogénation ; polymérisation). On emploie les dérivés du titane, de l'aluminium et du chrome dans la polymérisation de l'éthylène en polyéthylène. Des catalyseurs contenant du fer sont utilisés dans le procédé de préparation de l'ammoniac à partir de l'hydrogène et de l'azote. Des molécules contenant des éléments de transition interviennent dans les processus biochimiques de nombreux systèmes vivants, la plus connue étant la molécule complexe d'hémoglobine, contenant du fer, et qui transporte l'oxygène dans le sang de tous les vertébrés et de certains invertébrés.

L'utilisation des métaux en médecine ouvre donc de nouveaux horizons mais nécessite de prendre en compte leur complexité propre. Ainsi, lorsque l'on conçoit des complexes métalliques à visée thérapeutique, différents événements doivent entrer en considération [17].L'hydrolyse des complexes métalliques en milieu biologique peut s'avérer problématique.

Si on souhaite qu'un complexe actif atteigne son 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, 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 comme les protéines.

I.3.3. Le cuivre

Élément chimique métallique de couleur rouge-brun, de symbole Cu et de numéro atomique 29.

On a découvert des objets en cuivre datant du VII^{e} millénaire avant notre ère. Ainsi, le cuivre et ses alliages (en particulier le bronze) furent probablement les premiers métaux employés dans la fabrication d'objets. Des objets en cuivre ont en effet été retrouvés parmi les ruines de nombreuses civilisations anciennes, dont celles de l'Égypte, de l'Asie Mineure, de la Chine, de l'Europe du Sud-Est, de Chypre et de Crète. Le cuivre était connu des Indiens d'Amérique, et des minerais ont été découverts sur ce continent par les explorateurs européens. De nos jours, c'est l'un des métaux industriels les plus utilisés.

Les principales caractéristiques chimiques et physiques du cuivre sont résumées dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : Les caractéristiques du Cuivre.

Paramètre	Valeur	L'unité
Numéro atomique	29	-
Symbole	Cu	-
Masse moléculaire	63.546	g/mol
Electronégativité	1.9	-
Point de fusion	1083	°C
Point d'ébullition	2567	°C
Conductivité thermique	401.2 à 300K	W/(m K)
Densité	8.96	g/cm^3
Etats d'oxydation	2.1	-
Volume atomique	7.1	Cm^3/mol
1^{er} Potentiel d'ionisation	7.724	V
$2^{ème}$ Potentiel d'ionisation	20.292	V
Conductivité électrique	58.8×10^6 à 0°C	S/m
Rayon équivalant	1.17	A°
Rayon atomique	1.57	A°
Enthalpie de fusion	13.05	KJ/mol
Enthalpie de vaporisation	300.3	KJ/mol
Chaleur Spécifique	0.38	J/ (g °C)

a. Etat naturel

Moyennement abondant dans la croûte terrestre, le cuivre est inégalement réparti à la surface du globe et la plupart des gisements sont situés dans l'hémisphère Sud. Le cuivre existe à l'état natif ou combiné à d'autres corps, comme le soufre. Il existe environ 165 variétés de minerais de cuivre classés en deux types, les minerais sulfurés, les plus répandus, et les minerais oxydés.

b. Propriétés

Le cuivre pur est très malléable et ductile. C'est un excellent conducteur d'électricité d'une conductivité égale à 95 % de celle de l'argent. Le cuivre présente également une importante conductibilité calorifique. Il n'est attaqué que par les acides oxydants, tels que l'acide sulfurique à chaud et l'acide nitrique et présent donc une résistance convenable à la corrosion.

c. Le cuivre et la santé

Parmi les métaux utilisés en médecine, le cuivre et ses complexes occupent une place de choix [72].On distingue principalement trois types d'utilisation thérapeutique du cuivre (principalement sous sa forme Cu^{2+}) : dans le traitement des inflammations, des agressions infectieuses ou encore de certains cancers **(Fig.9)**.

Le traitement des maladies inflammatoires, comme l'arthrite rhumatoïde, est associé depuis les temps anciens à un régime alimentaire riche en cuivre, ou à l'application d'onguents et au port de bracelets de cuivre [73]. Le cuivre est de fait intimement lié aux processus d'inflammation, mais son rôle précis reste à déterminer.

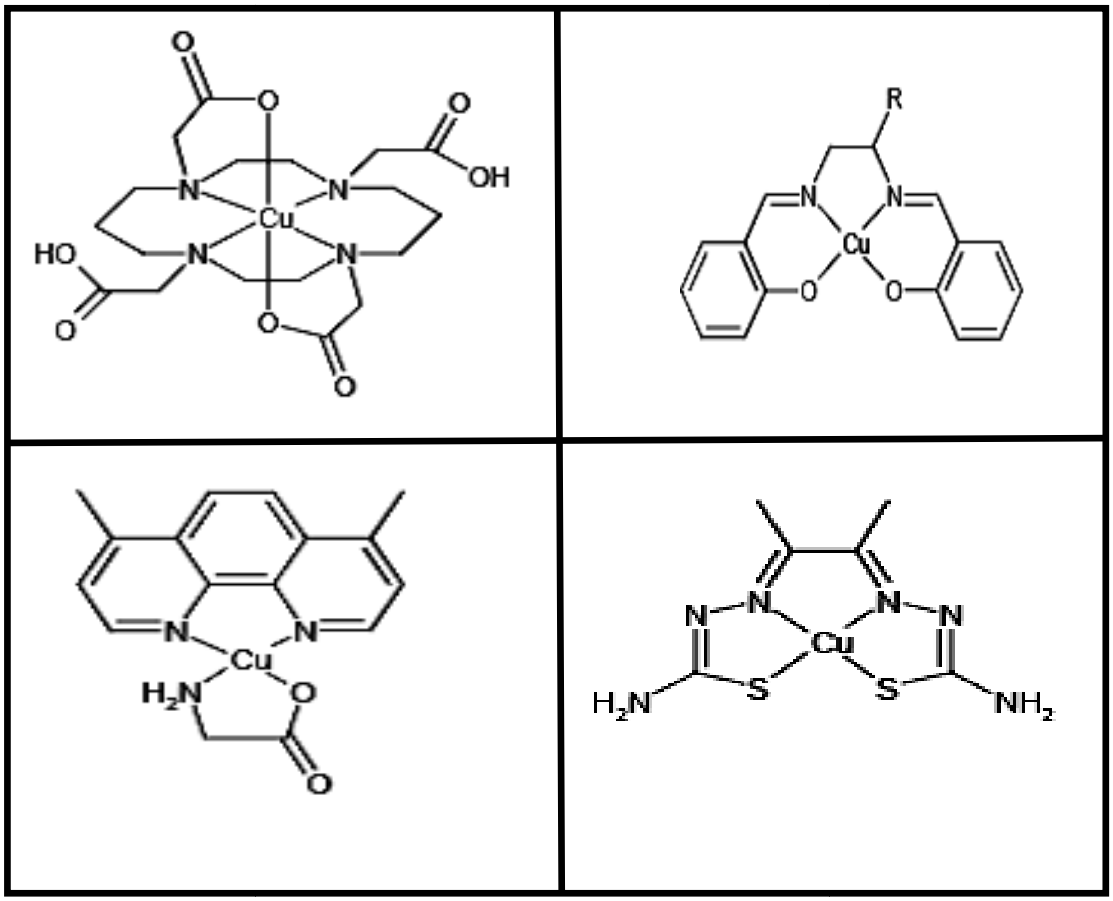


Figure 9 : Exemples de complexes de cuivre utilisés dans le traitement du cancer.

Avec le fer et le zinc, le cuivre est un des principaux éléments métalliques indispensables à tout organisme vivant. En solution, il peut adopter deux étages d'oxydation différents et se trouver ainsi sous la forme Cu^{+} ou Cu^{2+}. Cette propriété fait de lui un cofacteur clé dans de nombreuses réactions enzymatiques d'oxydoréduction, engendrant soit un processus de transfert électronique, soit la liaison, l'activation et la réduction de l'oxygène moléculaire, de l'ion superoxyde, des nitrites ou du monoxyde d'azote [74,75].

A titre d'exemple, quelques protéines au cuivre peuvent être citées [75,76]. Le cytochrome-c oxydase est un complexe protéinique ancré dans la membrane interne des mitochondries [77].Il catalyse la réduction de l'oxygène moléculaire en eau et utilise l'énergie produite par cette réaction pour créer un gradient de protons à travers la membrane dans le processus de respiration. La céruloplasmine peut lier au moins six ions de cuivre. Elle est impliquée dans les mécanismes de transport du fer. Le superoxyde dismutase est, quant à elle, localisée dans le cytoplasme où elle catalyse la dismutation des anions superoxyde. Le cuivre est indispensable à cette activité: durant la réaction catalytique, le cuivre (II) est tout d'abord

réduit par l'anion superoxyde O_2^- pour donner de l'O_2 et il est ensuite réoxydé lors de la production de l'H_2O_2. Aucun autre métal ne peut assurer cette fonction.

Cette liste est loin d'être exhaustive : on retrouve le cuivre dans des processus biologiques aussi divers que la respiration, le transport du fer, la protection face au stress oxydatif, la production hormonale, la pigmentation, la coagulation du sang, la croissance cellulaire et le développement.

Cependant, ce métal est également impliqué dans des réactions d'oxydoréduction générant le radical hydroxyl, qui cause des dommages irréversibles aux protéines, aux lipides et à l'ADN. Cette toxicité intrinsèque force les êtres vivants à adopter des stratégies visant à limiter la concentration de cuivre libre dans l'organisme. C'est ainsi que le cuivre est pris en charge par différentes protéines assurant son transport en milieu physiologique.

d. Le cuivre et le SIDA

La protéase du VIH-1 est une cible de choix dans le traitement du SIDA, car l'inhibition de son activité protéolytique contrecarre la réplication virale. Dans ce contexte, une approche de conception de nouveaux inhibiteurs non peptidiques de cet enzyme, réalisée au sein de laboratoire de Chimie Moléculaire Structurale de l'université de NOTRE-DAME DE LA PAIX (Belgique), avait permis d'épingler une famille originale de complexes métallo-organiques au cuivre (II). Les chercheurs ont entrepris la caractérisation physico-chimique et structurale de ces composés afin d'élucider leur mode d'interaction avec la protéase. En particulier, ils ont montrés que la stabilité thermodynamique de ces complexes en solution était indispensable à toute activité biologique. Enfin, ils ont réuni les critères structuraux responsables de l'activité anti-protéolytique de ces complexes au sein d'un modèle pharmacophorique optimalisé [78].

II.1. Réactifs et solvants

Les réactifs et les solvants utilisés dans la synthèse et la séparation chromatographique sont des produits Fluka, ils sont utilisés sans traitement au préalable :

- 4-méthylphényl hydrazine (≥98%).
- Acide phosphoreux (≥97.5%).
- Triméthylephosphite (≥97%).
- Formaldéhyde (≥36.5%).
- Dichlorométhane (≥99.5%).
- Acétone (≥99.8%).
- Chloroforme (≥99%).
- Acétate d'éthyle (>99%).
- Ether de pétrole (≥98.5%).
- Ether diéthylique (≥99%).
- Méthanol (≥99.5%).
- Ethanol absolu ≥99.5%).

II.2. Synthèse

On vise la synthèse des ligands flexibles résistent aux conditions rigoureuses appliquées dans les différents domaines de la vie quotidienne, a cete effet on met en jeu un composé carbonylé, une amine et un trialkylphosphite (triméthylephosphite)[79], ce dernier conduit à l'obtention du dérivé ciblé, mais il a des effets secondaires indésirables notamment son odeur désagréable, pour cette raison on a procédé à l'utilisation de l'acide phosphoreux au lieu de triméthylephosphite, le composé carbonylé (formaldéhyde) est utilisé pour crée un pont d'articulation – CH_2 entre l'azote de l'amine et le $–PO(OH)_2$ du phosphonate. Car ce dernier peut réagir directement avec l'amine pour former des composés rigides et moins intéressant dans la complexation et en la pratique.

La synthèse a été effectuée en absence et en présence des catalyseurs, trois séquences réactionnelles peuvent être suivi pour la synthèse du produit final.

II.2.1. Synthèse par phosphonylation de 4-méthylphényl hydrazine avec H_3PO_3

Trois composants ont été introduits dans cette réaction : aldéhyde, hydrazine et l'acide phosphoreux. La stratégie suivie dans cette synthèse est la suivante :

Des quantités adéquates de (4-méthylphényl) hydrazine et de l'acide phosphoreux sont solubilisés dans l'acide chloridrique 37%. A cette solution est ajouté le formaldéhyde 36% à température ambiante, à la fin de la réaction le mélange réactionnel est évaporé sous vide à l'aide du rotavape LABOROTA4000 pour conduire à une huile brune. L'huile obtenue est lavée sur colonne chromatographique.

La séquence réactionnelle de synthèse est représentée par le schéma 8.

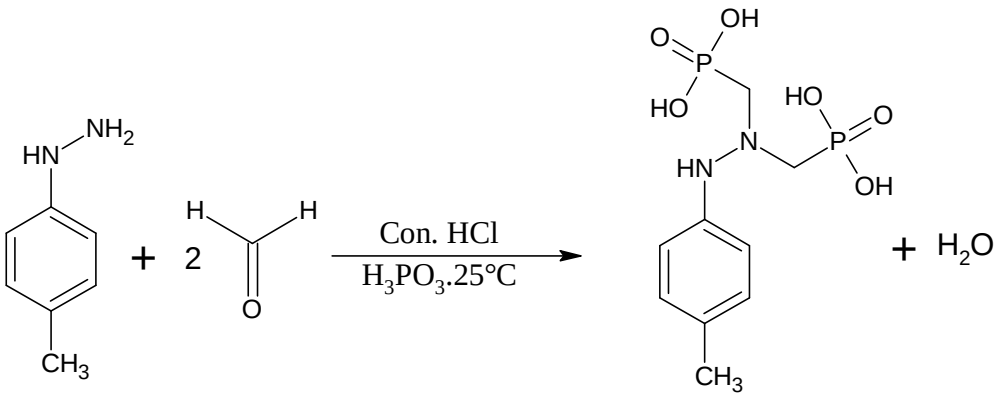


Schéma 8 : Schéma de synthèse par phosphonylation avec H_3PO_3.

Le mécanisme réactionnel proposé pour cette synthèse est le suivant :

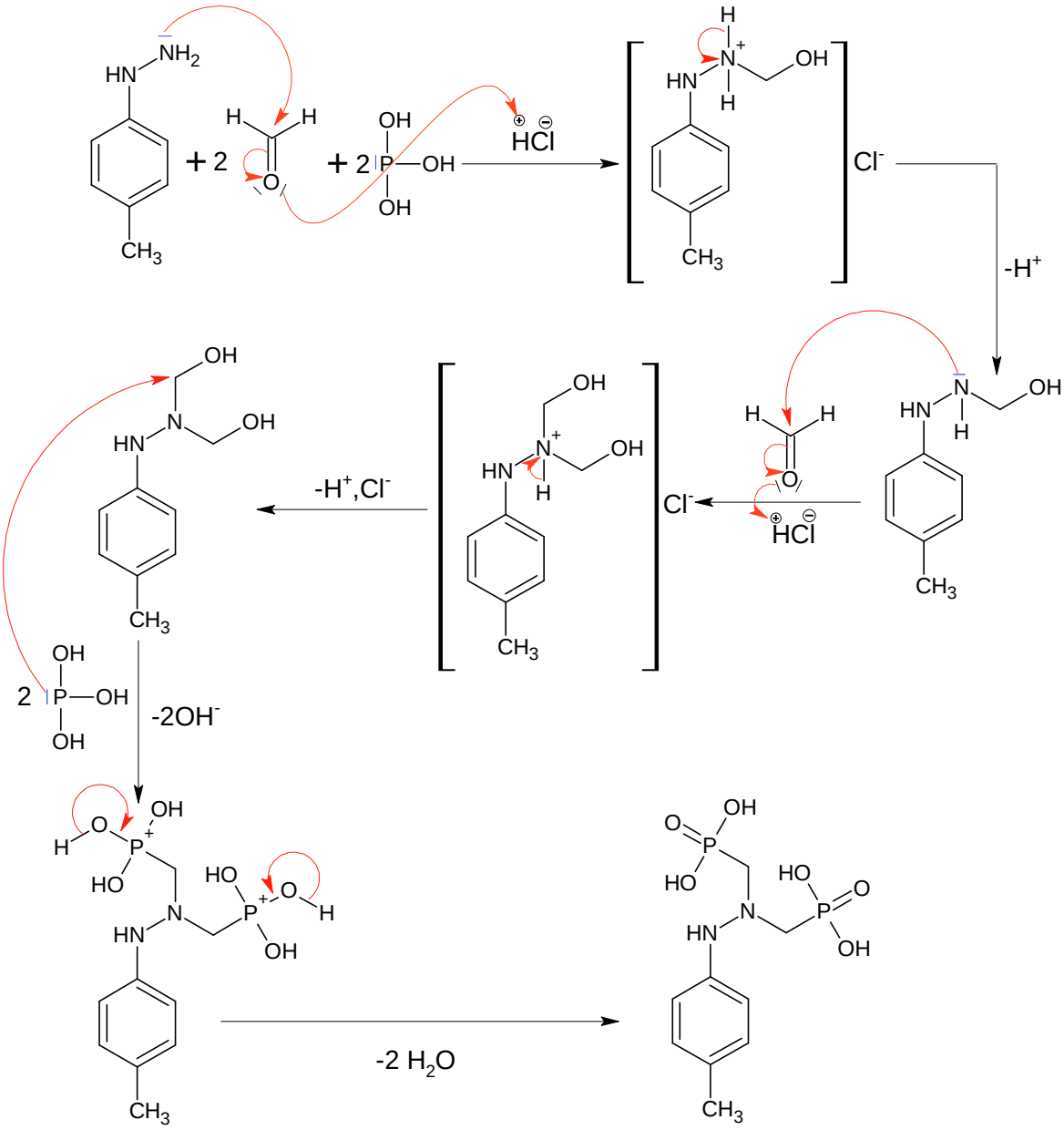


Schéma 9 : Le mécanisme réactionnel proposé pour la 1ère procédure de synthèse.

« Phosphonylation par H_3PO_3 »

II.2.2. Synthèse par phosphonylation de 4-méthylephényle hydrazine avec le triméthylephosphite $P(OCH_3)_3$

Dans ce procédé on ajoute un trialkylephosphite, au mélange réactionnel de l'amine et le formaldéhyde selon la réaction d'Arbuzov). La synthèse du produit final est présenté par le schéma 10, passe par trois étapes :

Etape.1. : Réaction amine-aldehyde

Le (4-méthylphényl) hydrazine est solubilisé dans l'éthanol absolu. A cette solution est ajouté le formaldéhyde. Le milieu réactionnel est alors agité à température ambiante, ensuite il est évaporé sous vide, on obtient un liquide visqueux de couleur marron foncé.

Etape.2. Réaction de phosphonylation : Le liquide visqueux obtenu est met en solution avec le trialkylephosphite sous agitation magnétique. Ensuite il est lavé plusieurs fois avec l'éther diéthylique. Après évaporation du mélange sous vide, on obtient un liquide huileux visqueux qui correspond à l'ester des phosphonates.

Etape.3. L'hydrolyse:

L'ester préparé est hydrolysé par ajout d'eau bidistillé en présence de méthanol. L'huile obtenue est lavée par l'éther plusieurs fois et évaporée pour donnée à la fin une huile brune de $R_f = 0.51$.

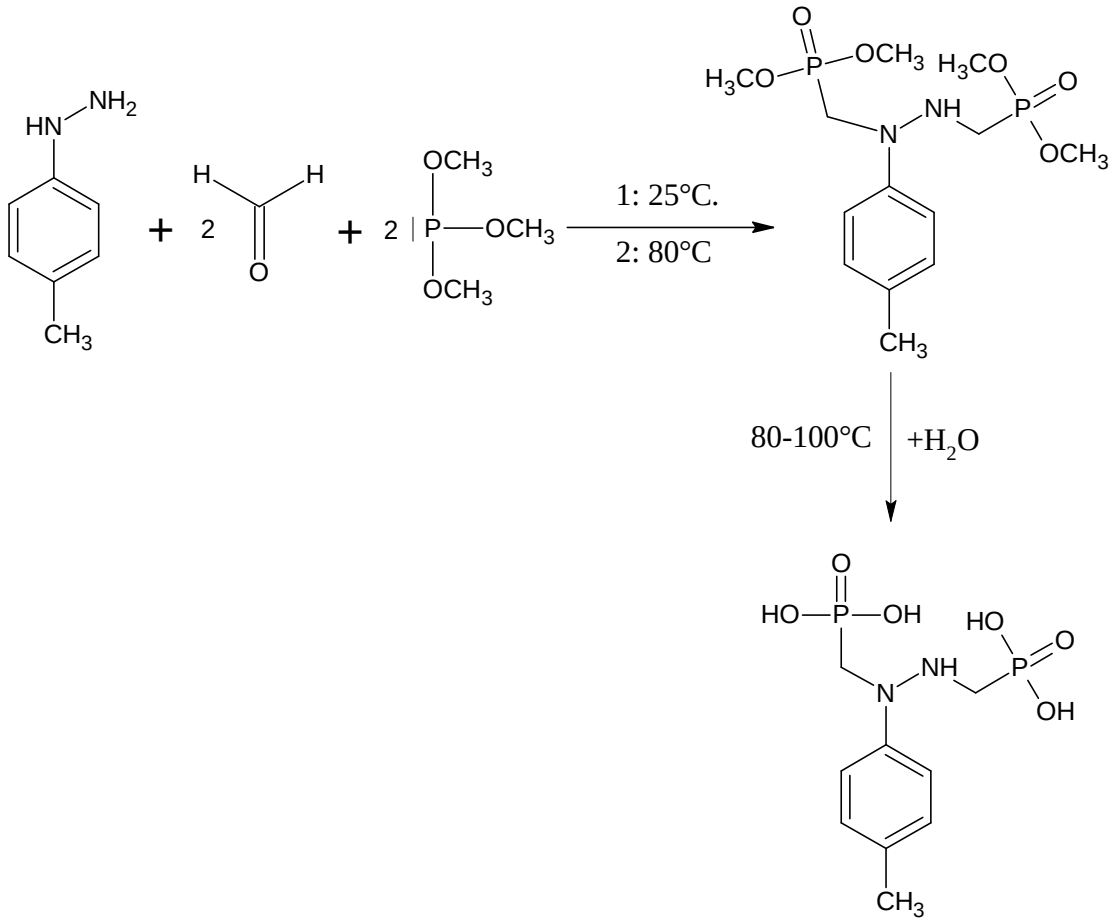


Schéma 10 : Réaction de synthèse par le triméthylephosphite $P(OCH_3)_3$.

On pense que le mécanisme le plus probable pour la synthèse du produit final est le suivant :

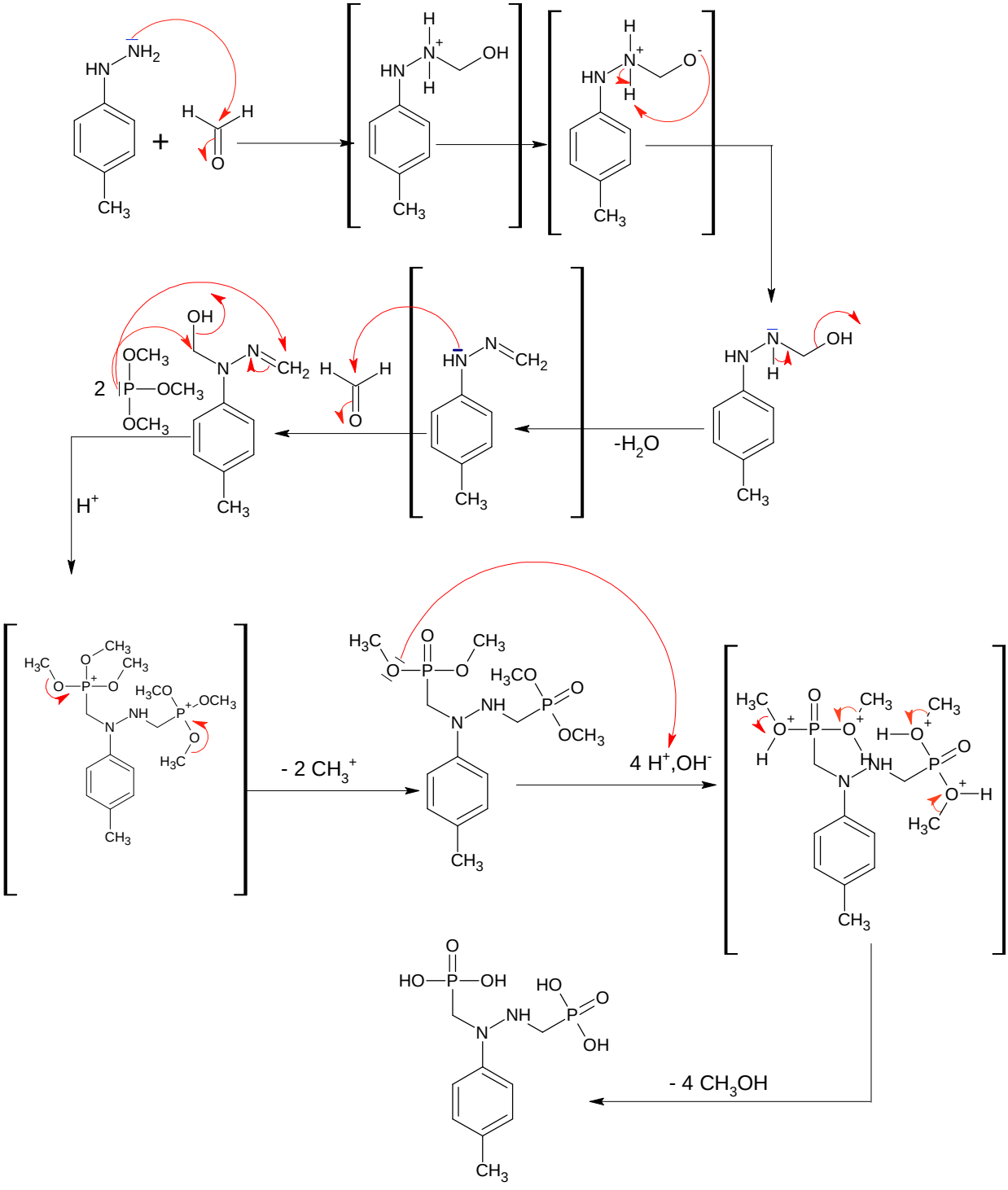


Schéma 11 : Le mécanisme réactionnel proposé pour la 2ème procédure de synthèse.

« Phosphonylation par $P(OCH_3)_3$ »

II.2.3. Synthèse par phosphonylation avec H_3PO_3 en présence du $LiClO_4$

Le perchlorate de Lithium a été utilisé comme catalyseur dans cette synthèse. La stratégie suivie dans cette synthèse est la suivante :

Le 4-méthylphényl hydrazine, l'acide phosphoreux et le $LiClO_4^-$ sont mises en solution dans l'éthanol. Le formaldéhyde est ensuite additionné à température ambiante.

La CCM de mélange réactionnel final révèle trois taches le R_f de l'un de ces produits correspond au composé obtenu par la première procédure de synthèse. Les trois constituants ont été séparés par la colonne chromatographique.

Selon une étude préliminaire menée par les rayons X les deux autres taches représentent le $LiClO_4$ et probablement le LiH_2PO_3.

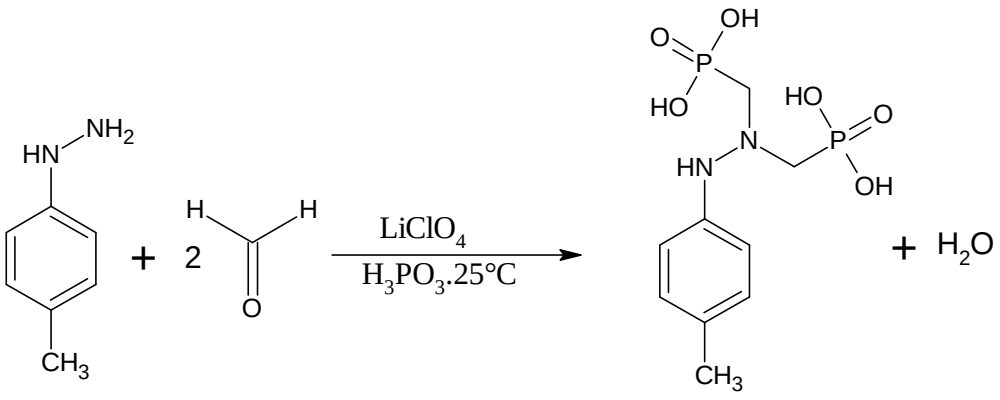


Schéma 12 : Réaction de synthèse par phosphonylation avec H_3PO_3 en présence du catalyseur $LiClO_4$.

II.3. Analyses chromatographiques

II.3.1. Analyse par chromatographie sur couche mince CCM

Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son rapport frontal R_f qui est le rapport de la distance parcourue par cette molécule sur celle parcourue par la phase mobile (front du solvant) et qui peut donc être compris entre 0 et 1 [80].

L'évolution des réactions de synthèse sont suivi par CCM, l'éluant utilisé est un mélange de solvants ; plusieurs systèmes d'élution sont met en évidence :

A la fin de la réaction de phosphonylation, on a calculés les rapports frontaux R_f de chaque substance, les valeurs trouvées sont regroupés dans le tableau 2.

Tableau 2: rapports frontaux des composés synthèsés.

Substance		PD	TMF	H_3PO_3	Ester	Produit final
R_f	Procédure2	0.89	/	/	057	0.51
	Procédure1	0.86	/	0.78	/	0.53

II.3.2. Séparation et purification sur colonne

a - Préparation de la colonne

La colonne est rempli par le gel de silice préparé par vois humide et verser à l'aide d'un entonnoir placé en haut de la colonne, lentement et uniformément à une hauteur convenable.

La surface supérieure de l'adsorbant est ensuite nivelée à l'horizontale en tapotant sur les parois de la colonne.

On ouvre le robinet pour laisser s'écouler l'éluant jusqu'à ce que le niveau de ce dernier soit de 1 à 2 mm environ au-dessus de la surface de l'adsorbant, puis on a refermé le robinet. La colonne obtenue est homogène et exempt des bulles d'aires.

b. Séparation et purification des produits

On dépose environ 5-6 gouttes du mélange à séparer à l'aide d'une micropipette, introduite au voisinage de la surface de l'adsorbant.

On ouvre le robinet et on laisse s'écouler l'éluant jusqu'à ce que le mélange soit adsorbé à la surface supérieure de l'adsorbant, puis on referme le robinet.

On verse lentement, tout au long des parois internes de la colonne, un peu (1 à 2 ml) d'éluant pour les rincer, et on laisse à nouveau s'écouler le liquide jusqu'à la surface supérieure du gèle de silice.

On fera s'écouler ensuite, successivement les solvants d'éluant de façon à augmenter la polarité au fur et a mesure que la polarité des substances à séparer augment.

II.4. Caractérisation physico-chimique

Les produits synthétisés sont caractérisés par : UV-Vis, IR, RMN ^{1}H et leur nature acido-basique.

II.4.1. Spectrophotométrie UV-visible

a. Principe :

L'absorption moléculaire dans le spectre ultraviolet et visible dépend de la structure de la molécule. L'absorption d'énergie est quantifiée et résulte du passage des électrons d'orbitales de l'état fondamental vers des orbitales d'un état excité d'énergie supérieure. La structure particulière d'une molécule est liée à une absorption plus ou moins importante à chaque longueur d'onde observable (UV de 200 à 400 nm ; visible de 400 à 800 nm), ce qui peut se traduire par l'établissement d'un spectre d'absorption.

L'absorption dans le domaine du visible est courante et se traduit par une coloration de l'échantillon ; la spectrométrie UV se limite, généralement aux systèmes conjugués. Cette sélectivité peut présenter un avantage : des groupes caractéristiques peuvent être reconnus dans des molécules de complexité très variable [81].

La spectrophotométrie UV-visible permettra donc :

- De reconnaître des groupements chimiques particuliers, surtout s'ils comportent des doubles liaisons, *a fortiori* conjuguées. L'interprétation d'un spectre ultraviolet est plus aisée que celle d'un spectre visible.
- En mesurant, à une longueur d'onde précise (la longueur d'onde d'absorption maximale de la molécule ou du complexe qu'elle forme avec un réactif, λ_{max}), l'intensité de cette absorption (densité optique, DO) par rapport à un témoin de concentration connue, de déterminer la quantité de la molécule présente dans un échantillon [81].

b. Mesure d'un échantillon :

Quelques gouttes du produit ont été diluées dans 10 ml de l'eau bidistillé, les mesures sont prisent sur des cuves en Quartz de trajet optique de l = 1cm.

Les spectres A = f(λ) sont enregistrés à l'aide d'un appareil UNICOM-UV 300 à double fiscaux, l'objectif principal est l'identification des λ_{max} des bondes d'absorption caractéristiques du produit synthétisé.

c. Caractérisation du produit synthétisé par la spectrophotométrie UV-Vis :

L'enregistrement des spectres de (4-méthylphényl) hydrazine et du composé synthétisé entre 190nm à 800 nm (**Fig.10**) montre que les deux produits ne présentent aucune absorption dans le visible, le produit de départ ((4-méthylphényl) hydrazine) est caractérisé par deux bandes d'absorption bien définie dans le domaine UV, une bonde très intense à λ_{max} **= 228 nm** et une bande d'intensité moyenne à λ_{max} **= 280 nm**, alors que le produit synthétisé est caractérisé par une bonde d'absorption relativement large d'intensité moyenne située à λ_{max} **= 244 nm** et un épaulement de faible intensité à $\lambda_{max} \approx$ **326 nm**.

On constate que la bonde d'absorption caractéristique du produit de départ à λ_{max} **= 228 nm** est remplacée dans le produit synthétisé par la bonde de λ_{max} **= 244 nm**, alors que celle située à λ_{max} **= 280 nm** est totalement disparue et remplacé par un épaulement large, ceci peu être attribuer aux modifications liés à la substitution des protons du groupement NH_2 ou –NH par des groupements $–CH_2PO(OH)_2$. La disparition de la bonde de λ_{max} **= 280 nm** et le déplacement très significatif (**16 nm**) de la bonde λ_{max} **= 228 nm** du produit de départ indiquent sans doute l'obtention d'un nouveau produit.

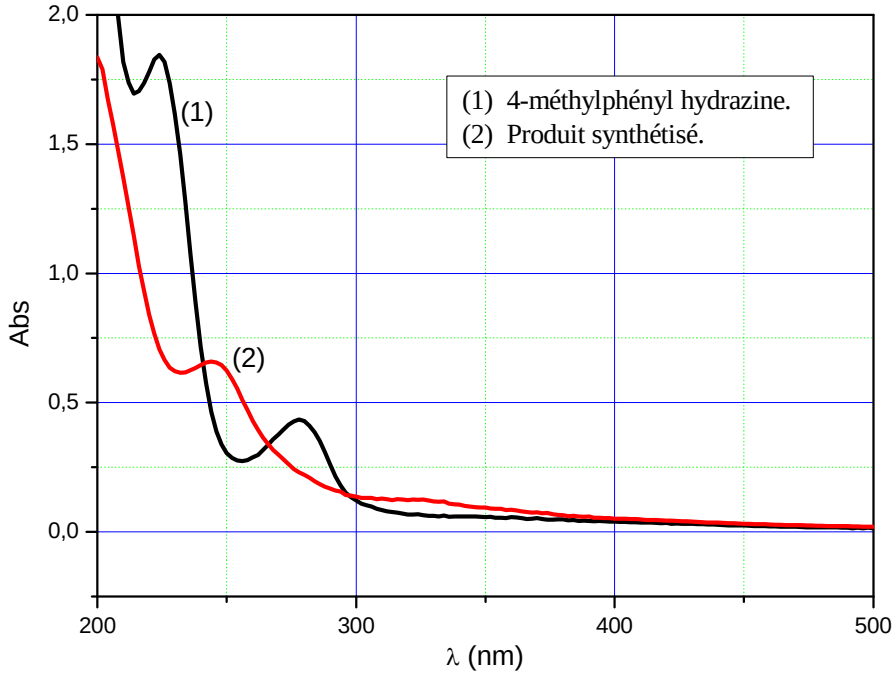


Figure 10 : Spectres UV-Vis de : (1) 4-méthylphényl hydrazine.

(2) Composé synthétisé.

II.4.2. Spectrophotométrie infrarouge

a. Principe de la technique :

Les radiations infrarouges se situent dans la partie du spectre électromagnétique comprise entre la région visible et celle des micro-ondes. La région la plus utile pour l'analyse de molécules organiques est celle située entre 4000 et 400 cm^{-1}. L'absorption de ces radiations par un composé provoque une variation de l'énergie de rotation et de vibration des liaisons chimiques de ce composé, qui peut être détectée (détecteur à thermocouple). On observe ainsi au niveau du spectre une série de bandes rotato-vibratoires dont le nombre d'onde $\overline{\nu}$, exprimé en cm^{-1}, dépend des masses relatives des atomes, de la constante de force des liaisons ainsi que de la géométrie des atomes (Loi de HUKE) [82].

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi C}\sqrt{\frac{K(M_x + M_y)}{M_x M_y}}$$

Où :

$\bar{\nu}$ **:** Fréquence de vibration (cm^{-1}).

C : vitesse de la lumière ($cm\ sec^{-1}$).

K: constante de force de la liaison ($dyne\ cm^{-1}$).

$\mathbf{M_x}$ **et** $\mathbf{M_y}$ **:** masses (g) des atomes x et y.

b. Echantillon de mesure :

Deux types de produits ont été analysés par IR produits solides et produits liquides visqueux.

Pour analyser les produits solides on a appliqué la technique des pastilles KBr. Pour les liquides visqueux on a déposé une goutte du produit sur l'un des lames de KBr ensuite elle est étalée pour obtenir un film transparent entre les deux lames.

Les lames de KBr n'ont subit aucune attaque toute au longue de l'analyse des échantillons qu'a durée plusieurs heurs. Ceci indique que les huiles visqueuses analysées sont des produits anhydres.

Les spectres IR (**Fig.11**) et (**Fig.12**) sont enregistrés sur un appareil de type WGH-30/30A, les pastilles sont préparées avec KBr pour IR.

La pastille d'un échantillon contient environ 1% du produit par rapport à la quantité de KBr.

Les valeurs des fréquences exprimées en $\bar{\nu}$ (cm^{-1}), des groupements fonctionnels sont regroupés dans le tableau 3.

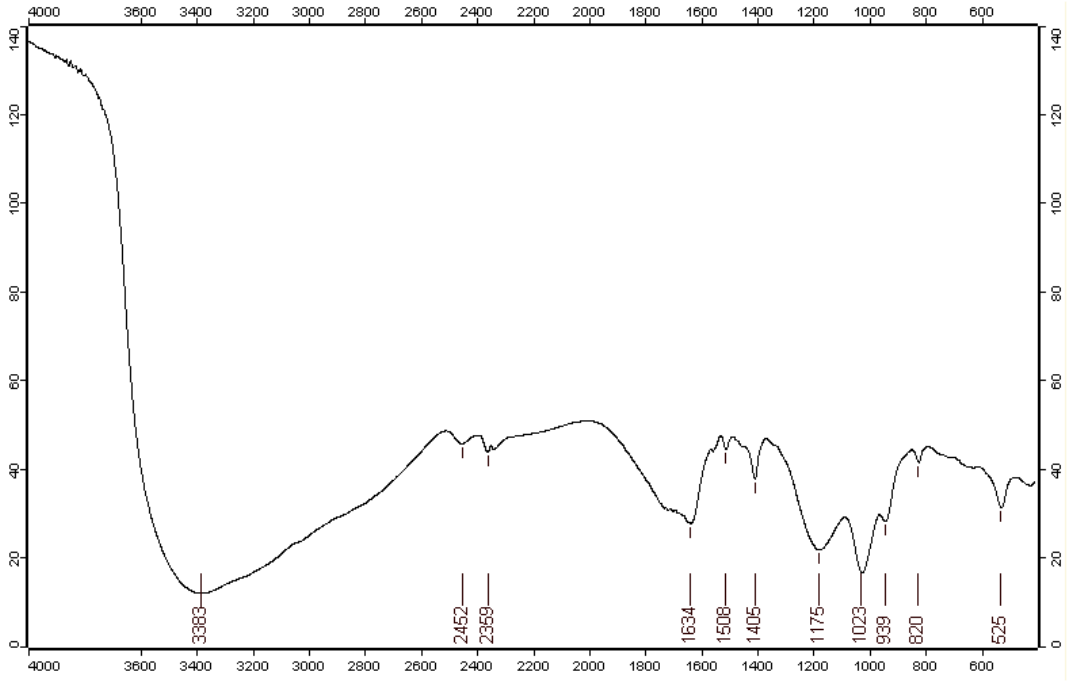


Figure 11 : Spectre IR du produit synthétisé par la 1ère procédure de synthèse.

« Phosphonylation par H_3PO_3 »

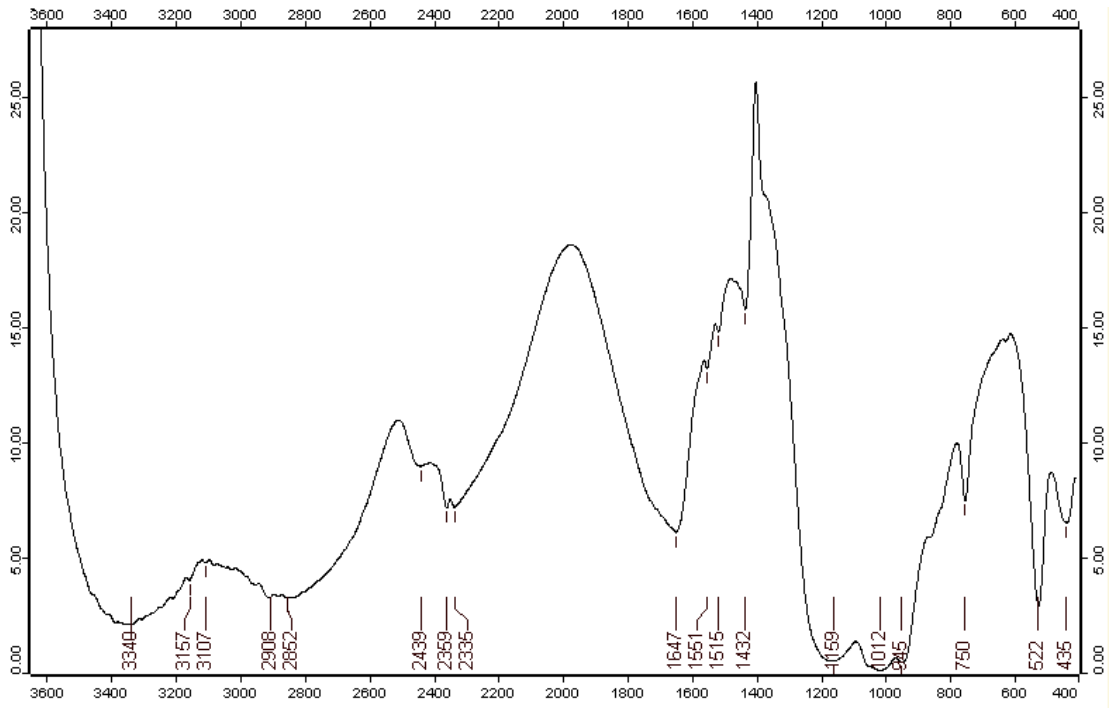


Figure 12 : Spectre IR du produit synthétisé par la 2ème procédure de synthèse.

« Phosphonylation par $P(OCH_3)_3$ »

Tableau 3 : Fréquences des groupements fonctionnels exprimées en $\bar{\nu}$ (cm^{-1}).

Produit synthétisé par H_3PO_3	Produit synthétisé par $P(OCH_3)_3$	Attribution
3383 cm^{-1}	3340 cm^{-1}	$\bar{\nu}_{-OH\ (acide)}$
/	3107 cm^{-1}	$\bar{\nu}_{-CH\ (Aromatiques)}$
/	2908 cm^{-1}	$\bar{\nu}_{-CH\ (Aliphatiques)}$
/	2852 cm^{-1}	$\bar{\nu}_{-CH\ (de-CH_2-N-)}$
2452 cm^{-1}	2439 cm^{-1}	$\bar{\nu}_{-P-OH}$
2359 cm^{-1}	2335 cm^{-1}	
1634 cm^{-1}	1647 cm^{-1}	
/	1551 cm^{-1}	
1508 cm^{-1}	1515 cm^{-1}	$\bar{\nu}_{-NH}$ amine secondaire
1405 cm^{-1}	1432 cm^{-1}	$\bar{\nu}_{-CH2-P}$
1175 cm^{-1}	1159 cm^{-1}	$\bar{\nu}_{-P=O}$
1023 cm^{-1}	1012 cm-^{1}	$\bar{\nu}_{-P-OH}$ élongation
939 cm^{-1}	945 cm^{-1}	
820 cm^{-1}	/	Cycle aromatique para disubstitué
/	750 cm^{-1}	CH Aromatique déformation dans le plan
525 cm^{-1}	522 cm^{-1}	CH Aromatique HP
/	435 cm^{-1}	δ cycle aromatique

II.4.3. RMN du ^{1}H

La réalisation d'un spectre RMN de ^{1}H est une étape fondamentale dans la détermination structurale d'une molécule. De plus, elle ne nécessite que quelques minutes, depuis l'avènement de la RMN à transformée de Fourier [83, 84].

En RMN du ^{1}H, trois informations sont importantes : le déplacement chimique (δ), l'intégration et le couplage.

a. Echantillon de mesure

Tous les produits sont solubles dans le diméthylsulfoxyde DMSO. Les échantillons de mesure ont été solubilisés et dilues par le diméthylsulfoxyde DMSO détouré, les spectres sont enregistrés par le spectromètre Bruker DPX200 (200MHz) au laboratoire SONA de la faculté de pharmacie d'Angers.

b. Caractérisation des produits synthétisés par la spectroscopie RMN ^{1}H :

Le spectre RMN ^{1}H du composé synthétisé par la procédure I indique la disparition du pic caractéristique de NH_2 du produit de départ (4-méthylphényl) hydrazine situé à δ_{NH2}= 10.25 ppm, ceci due à la substitution des protons de l'amine primaire NH_2 par deux groupements $-CH_2PO(OH)_2$ la structure correspondante à ce spectre peut être schématisée comme suite :

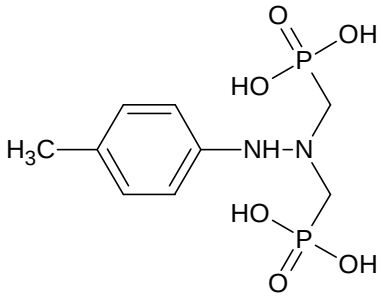


Schéma 13 : Structure du composé synthétisé par la procédure I

« Phosphonylation par H_3PO_3 ».

Le spectre RMN ^{1}H du produit synthétisé selon la procédure II montre la disparition totale du pic caractéristique de l'amine secondaire –NH– du produit de départ (4-méthylphényl) hydrazine situé à δ_{NH}= 8.2 ppm, alors que le pic caractéristique de la fonction $-NH_2$ révèle la présence d'un seul proton où lieu de deux. Ceci permet de conclure que la substitution des protons par groupements $-CH_2PO(OH)_2$ est effectuée à deux atomes d'azotes différents et que la structure probable peut être présentée par le schéma 14 :

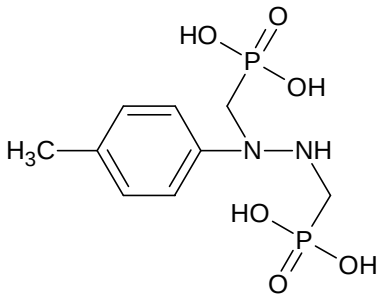


Schéma 14: Structure du composé synthétisé par la procédure II.

« Phosphonylation par $P(OCH_3)_3$ »

Les différentes valeurs des pics RMN ^1H caractéristiques du produit de départ ((4-méthylphényl) hydrazine), du composé synthétisé selon la **procédure. I** et du composé synthétisé selon la **procédure. II** Sont regroupées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Comparaison des pics RMN ^1H caractéristiques des produits synthétisés et du 4-méthylphényl hydrazine.

Produit de départ	Composés Synthétisés		Attribution δ (ppm)
	Procédure. I	Procédure. II	
10.25 (2H)	/	9.4 (1H)	δ_{NH_2}
8.2 (1H)	6.9 (1H)	/	δ_{NH}
7.1 (4H)	8.5 et 8.8 (4H)	8.4 et 8.78 (4H)	δ_{Ar}
/	6.6 (4H)	6.6 (4H)	δ_{CH_2}
2.3 (3H)	3.45 (3H)	3.43 (3H)	δ_{CH_3}
/	9 (4H)	8.98 (4H)	δ_{OH}

Noté l'attribution des pics caractéristiques des groupements fonctionnels : -P-OH, C-P, C-N, P=O identifier par l'IR et RMN ^{1}H a été faite on utilisant des références bien connues dans le domaine de la spectroscopie notamment le livre de : Robert M. Silverstien, Clayton Bassler, Terence C. Morrill intitulé « Spectrometric Identification of Organic compounds. Fourth edition », édite par John willey and Sons New york.Chischester, Brisban, Toronto, Singapor. Et certain articles et thèses des auteurs specialisés dans le domaine de synthèse et applications des phosphonates tel que les travaux de S. W. ANNIE BLIGHa, CATHERINE M. McGRATH[a], SALVATORE FAILLA[b] and PAOLO FINOCCHIARO[b]. Publier dans le Journal de: Phosphorous, Sulfur and Silicon 1996, Vol. 118.pp.189-194. Sur les « **α-Aminophosphonate Monoestèrs in one step »,** et ceux de la thèse d'Ibtissame ER-Rifai, Lille 1,2005. Pages : 93-94 Intitulé :

II.5. Nature des molécules synthétisées

Pour déterminer la nature des molécules synthétisées on a testé le pH d'une solution de 0.1ml du liquide visqueux diluer par l'eau bidistillé à 25 ml, la valeur mesuré correspondant à pH=1.508, elle est totalement différente de celles des réactifs de départ, et indique clairement et sans ambiguïté la nature acide de la molécule obtenue dans cette synthèse, ainsi que sa solubilité parfaite dans l'eau. Cette conclusion est confirmée plus tard par un titrage potentiométrique des produits synthétisés et elle on bon accord avec les spectres IR caractérisés par l'empreinte d'acide. Ceci permet de dénommer le produit obtenu Acide [2-(4-methylphenyl)-1-(phosphonomethyl) hydrazino] methylphosphonique synthétisé **МΦНВМР**, à l'aide du programme ACDLABS conformément au UPAC.

III.1. Etude de l'acidité du produit synthétisé

Les propriétés acides de la molécule synthétisée ont été mises en évidence on appliquant la méthode potentiométrique pH=f(V). Les données numériques ont été traitées par les programmes SUPERQUAD et HALTAFALL pour mieux comprendre les résultats obtenus il est utile de présenté brièvement les principes théoriques de cette technique, notions d'équilibres en solution et des programmes utilisés.

III.1.1. Principe de la méthode

La potentiométrie est couramment utilisée pour effectuer des mesures directes et sélectives de la concentration analytique, pour déceler les points de fin de titrage ou pour déterminer la valeur de diverses constantes d'équilibre.

Le principe général de la potentiométrie est d'utilisé le potentiel pour mesurer une concentration analytique. On mesure la différence de potentiel (d.d.p.) entre l'intérieur de l'électrode indicatrice (électrode de mesure) et la solution à analyser.

La plupart des mesures potentiométriques sont effectuées avec une électrode combinée où les électrodes indicatrices et de référence sont un tube avec deux parois.

Le potentiomètre permet, de mesurer l'évolution des concentrations d'un acide ou d'une base lors d'une titration. Grâce à la courbe de titrage on peut également déterminer la nature d'un acide inconnu, en mesurant son ou ses pKa.

III.1.2. Equilibre de protonation des ligands en solution

On peut définir, pour un ligand L^{n-} possédant des fonctions capables de fixer des protons, les équilibres de protonation suivants :

$$L^{n-} + i\,H^{+} \rightleftharpoons LH_i^{(n-i)-} \qquad 1 \le i \le n$$

A ces équilibres on associe les constantes thermodynamiques globales suivantes :

$$\beta_i^0 = \frac{(LH_i^{(n-i)-})}{(L^{n-}) \times (H^{+})^i}$$

Où ($LH_i^{(n-i)-}$), (L^{n-}) et (H^{+}) désignent les activités des espèces correspondantes. Or l'activité d'une espèce, par exemple L^{n-}, est fonction de sa concentration selon la relation :

$$(L^{n-}) = f[L^{n-}]$$

Où $[L^{n-}]$ désigne la concentration de L^{n-} et f son coefficient d'activité. Il est ainsi possible d'exprimer β_i^o comme le facteur des rapports des concentrations et des activités des espèces impliquées dans la réaction :

$$\boldsymbol{\beta_i^0 = \frac{[LH_i^{(n-i)-}]}{[L^{n-}] \times [H^+]^i} \times \frac{f_{LH_i^{(n-i)-}}}{f_{H^+} . f_{L^{n-}}}}$$

Deux cas sont à envisager :

a) Si la force ionique, $I = 0{,}5\Sigma C_i Z_i^2$ (où C_i est la concentration de l'espèce i et Z_i sa charge), tend vers 0 (cas idéal d'une solution infiniment diluée) alors f_i tend vers l'unité et les activités des espèces tendent vers les concentrations.

On a :

$$\boldsymbol{\beta_i^0 = \frac{[LH_i^{(n-i)-}]}{[L^{n-}] \times [H^+]^i}}$$

b) si la force ionique est maintenue constante, en utilisant un électrolyte support à une concentration largement supérieure à celles des espèces présentes, les facteurs d'activité sont constants, et on définit une constante globale apparente, fonction des concentrations des espèces :

$$\boldsymbol{\beta_i = \frac{[LH_i^{(n-i)-}]}{[L^{n-}] \times [H^+]^i}}$$

Il est possible d'envisager chaque étape de la protonation séparément :

$$L^{n-} + H^+ \xrightleftharpoons{K_1} LH^{(n-1)-}$$

$$LH^{(n-1)-} + H^+ \xrightleftharpoons{K_2} LH_2^{(n-2)-}$$

$$LH_{i-1}^{(n-i+1)-} + H^+ \xrightleftharpoons{K_i} LH_i^{(n-i)-}$$

$$LH_{n-1}^{-} + H^+ \xrightleftharpoons{K_n} LH_n$$

$$L^{n-} + nH^+ \xrightleftharpoons{\beta_n} LH_n$$

Où

$$\beta_n = \prod_{i=1}^{n} K_i$$

Les constantes K_1 à K_n correspondant à ces équilibres successifs sont appelées constantes étagées ou successives.

Rappelons que les pK_{ai} relatifs à l'ionisation du ligand acide sont reliés aux constantes de protonation étagées de la base conjuguée de la façon suivante :

$$pK_{a1} = \log K_n$$

$$pK_{ai} = \log K_{n-i-1}$$

$$pK_{an} = \log K_1$$

III.1.3. Equilibre de protonation des complexes

La formation d'un complexe entre un ligand donneur ionisable (comme dans notre cas) et un cation métallique accepteur M^{m+}, est décrit par l'équilibre suivant :

$$x\,M^{m+} + y\,L^{n-} + z\,H^+ \rightleftharpoons M_x L_y H_z^{(xm-ny+z)}$$

Cet équilibre est caractérisé par la constante thermodynamique globale :

$$\beta^{0}_{XYZ} = \frac{(M_X L_y H_Z^{(xm-ny+z)})}{(M^{m+})^x (L^{n-})^Y (H^+)^z}$$

Comme nous l'avons précisé précédemment l'utilisation d'un électrolyte support permet de fixer les facteurs d'activité et de définir une constante globale apparente :

$$\beta_{XYZ} = \frac{[M_X L_Y H_Z^{(xm-ny+z)}]}{[M^{m+}]^X [L^{n-}]^Y [H^+]^Z}$$

L'équilibre global de formation du complexe $M_xL_yH_z$ peut être décrit comme une somme d'équilibres successifs :

$$L^{n-} + H^{+} \underset{}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} LH^{(n-1)-} \qquad K_1 = \frac{[LH^{(n-1)-}]}{[L^{n-}] \times [H^+]}$$

$$M^{m+} + LH^{(n-1)-} \rightleftharpoons MLH^{(-m+n-1)-} \qquad K^{LH}_{MLH} = \frac{[MLH^{(-m+n-1)-}]}{[M^{m+}] \times [LH^{(n-1)-}]}$$

On définit alors la relation :

$$\beta_{111} = K_1 K^{LH}_{MLH}$$

On peut aussi considérer les équilibres :

$$M^{m+} + L^{n-} \rightleftharpoons ML^{(n-m)-} \qquad \beta_{110} = \frac{[ML^{(n-m)-}]}{[M^{m+}] \times [L^{n-}]}$$

$$ML^{(n-m)-} + H^{+} \rightleftharpoons MLH^{(n-1-m)-} \qquad K^{ML}_{MLH} = \frac{[MLH^{(n-1-m)-}]}{[ML^{(n-m)-}] \times [H^+]}$$

Avec : $\beta_{111} = \beta_{110} \times K^{ML}_{MLH}$

III.1.4. Dosages potentiométriques

III.1.4.1. Conditions expérimentales

Les titrages des dérivés phosphoniques ont été réalisés à l'aide d'un titrateur automatique : «TITRALAB 90» (**Fig.13**). C'est un titrateur potentiométrique piloté par ordinateur (PC 386), automatique réunissant les avantages des techniques analogiques (courbes informatives) et digitales (précision des résultats numériques). Il est relié à un certain nombre de périphériques : burette automatique « ABU 901 » à piston motorisé de contenance 10 ml, une cellule électrochimique à double parois, un agitateur magnétique « SAM7 », et un dispositif thermorégulateur de type « POLYSTAT CC1 ».

L'appareil est commandé par un logiciel « TIMTALK9 » installé au PC, ce logiciel permet de tracé les courbes de titrages et de stocké les datas bases nécessaires pour les calcules.

Les mesures du pH ont été effectuées à l'aide d'une électrode de verre combinée « **Red Rod** ». Cette électrode est constituée de deux compartiments de référence concentriques dans lesquels plongent deux électrodes Ag/AgCl. La jonction entre la référence externe et la solution de mesure est assurée par un diaphragme.



Figure 13 : Montage expérimental de titrage potentiométrique.

III.1.4.2. Préparation des solutions

a. Produits chimiques

Les produits utilisés sont :

- Acide phosphonique synthétisé dans ce travail.
- Perchlorates de Lithium : $LiClO_4$ Fluka (98.00%).
- Hydroxyde de Sodium : NaOH Fluka (98.47%).

b. Les solutions mères :

On a préparé les solutions mères suivantes :

- La molécule acide synthétisée 0.1 ml dilué dans 25 ml d'eau bidistillé.
- Perchlorates de Lithium : $[LiClO_4]$ = 1 mol/l.
- Hydroxyde de Sodium : [NaOH] = 1 mol/l.

c. Echantillons de mesure :

Pour la détermination des constantes d'acidités on a dilué 0.1 ml de l'acide par l'eau bidistillé jusqu'à 25 ml en suite on a dosé 20 ml de la solution obtenue à force ionique 0.1 mol/l maintenue constante à l'aide de l'électrolyte support $LiClO_4$ et à 25 °C. La recherche des conditions optimales pour doser 20 ml de cette solution montre que la concentration du titrant NaOH doit être égale [NaOH] = 1 mol/l. L'étude a été effectuée en milieu aqueux (eau bidistillé), les mesures ont été présent par une électrode de verre Red-Rod conçue pour des mesures de pH allant de 0 à 14.

III.1.4.3. Résultats et discussions :

a. Titration de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique :

L'allure générale de la courbe de titration d'une solution de 0.1 ml d'acide diluer à 25 ml et dosée par NaOH 1 mol/l, présente deux grandes sauts de pH (**Fig.14**), caractérisées par les points d'inflexions : P_1 (V=0.455ml ; pH=4.095), P2 (V=1.043ml ; pH=9.19), représente par la figure 15.

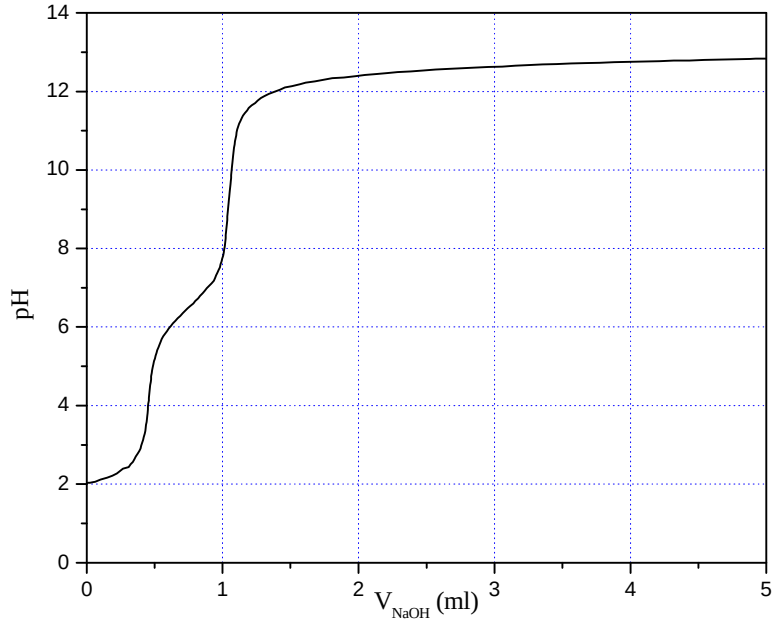


Figure 14 : Courbe de titration d'une solution de 0.1 ml de l'acide diluer à 25ml par NaOH 1 mol/l à I = 0.1mol/l et T = 25 °C.

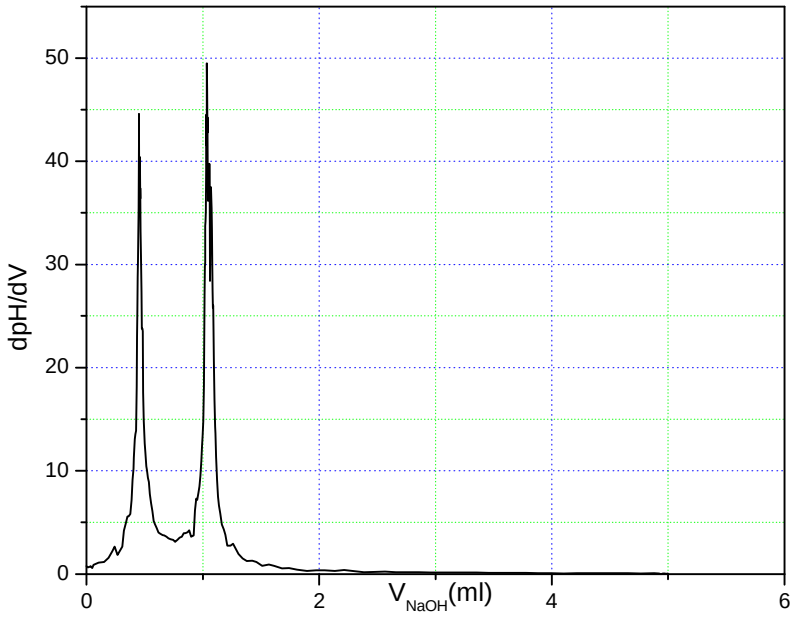


Figure 15 : La courbe dérivée de l'acide synthétisé $\frac{d\,pH}{d\,V} = f\,(V_{NaOH})$.

b. Traitement numérique des données expérimentales :

Avant d'aborder le traitement numérique et la discussion des résultats obtenus, il est utile de présente brièvement le programme SUPERQUAD et son principe de calcul utilisé dans la détermination des constantes d'équilibre en général.

b.1. Programme SUPERQUAD

Les données expérimentales de titrage potentiométriques pH=f(V) ont été traitées à l'aide du programme de calcul SUPERQUAD. Ce programme traite les données potentiométriques en général, pouvant correspondre à des systèmes à plusieurs constituants (un ou plusieurs ligands), plusieurs électrodes, et plusieurs complexes. Il est utilisé pour déterminer les constantes thermodynamiques d'équilibres par une approche des moindres carrées (pour minimiser la fonction d'optimisation choisi.) [85,86]. Ces équilibres peuvent être des équilibres de protonation ou de complexation métallique. Chaque point de la courbe de titrage représente un équilibre entre n espèces de formule générale $H_pM_qL_r$. Dans le cas ou seules les constantes de protonation sont considérées, q, le coefficient stœchiométrie du métal M prend alors la valeur de 0. La concentration de chaque espèce $H_pM_qL_r$ au $k^{ème}$ point est donnée par :

$$[\boldsymbol{H_pM_qL_r}]_k = \boldsymbol{\beta_{pqr}}[\boldsymbol{H}]_k^{\boldsymbol{p}}[\boldsymbol{M}]_k^{\boldsymbol{q}}[\boldsymbol{L}]_k^{\boldsymbol{r}}$$

Où β_{pqr} est la constante de formation de l'espèce prise en considération et $[H]_k$, $[M]_k$ et $[L]_k$ sont respectivement les concentrations libres en proton, métal et ligand au point k.

Les équations de bilan de masse pour le $k^{ème}$ point s'écrivent :

$$\boldsymbol{T_{k,1}} = [\boldsymbol{H}]_k + \sum_{i=1}^{n} \boldsymbol{p}\,\boldsymbol{\beta_{pqr}}[\boldsymbol{H}]_k^{\boldsymbol{p}}[\boldsymbol{M}]_k^{\boldsymbol{q}}[\boldsymbol{L}]_k^{\boldsymbol{r}}$$

$$\boldsymbol{T_{k,2}} = [\boldsymbol{M}]_k + \sum_{i=1}^{n} \boldsymbol{q}\,\boldsymbol{\beta_{pqr}}[\boldsymbol{H}]_k^{\boldsymbol{p}}[\boldsymbol{M}]_k^{\boldsymbol{q}}[\boldsymbol{L}]_k^{\boldsymbol{r}}$$

$$\boldsymbol{T_{k,3}} = [\boldsymbol{L}]_k + \sum_{i=1}^{n} \boldsymbol{r}\,\boldsymbol{\beta_{pqr}}[\boldsymbol{H}]_k^{\boldsymbol{p}}[\boldsymbol{M}]_k^{\boldsymbol{q}}[\boldsymbol{L}]_k^{\boldsymbol{r}}$$

Où $T_{k,1}$, $T_{k,2}$ et $T_{k,3}$ sont respectivement les concentrations analytiques en proton, en ion métallique et en ligand au point k.

Ces équations sont non linéaires avec comme inconnues $[M]_k$, $[L]_k$ et β_{pqr}. Les valeurs de $[H]_k$ sont données par les mesures potentiométriques. Les constantes de formation et de protonation ainsi que les paramètres $[M]_k$, $[L]_k$ et β_{pqr} sont ajustés en minimisant la somme des carrés des écarts U entre les valeurs calculées et mesurées des différentes concentrations analytiques. U est défini tel que :

$$\boldsymbol{U = \sum_{k=1}^{n} \sum_{j=1}^{3} (T_{k,j}^{calc} - T_{k,j}^{obs})^2}$$

La fiabilité des résultats obtenus par ce programme est basée sur deux critères : $\boldsymbol{\delta}$ et ***Chi-squared (U)***. Pour une confidence de 95% il faut que :

- $1 < \boldsymbol{\delta} < 3$. Sachant que : $\boldsymbol{\delta^2 = \delta_E^2 + (dE/dv)^2 \delta_v^2}$
- ***Chi-Squared (U)*** < 12.6.

b.2. Données traités par SUPERQUAD :

Pour le dosage d'un polyacide, la neutralisation de chaqu'une de ses fonctions acides nécessite le même nombre d'équivalents grammes du titrant utilisé (même volume pour chaque fonction).

Les calcules sont basés sur le volume du titrant consommé pour l'obtention du deuxième saut de pH, ceci pour évité l'imprécision qui peut avoir lieu lors de la détermination du volume du titrant correspond au premier saut de pH a cause de la dilution de la solution acide accompagne souvent par déprotonation partielle de l'acide. Le volume du titrant consommé au deuxième saut est :

$$\Delta V = V_2 - V_1 = 1.043 - 0.455 = 0.588 ml$$

Le volume correspond à la neutralisation des deux dernières fonctions acides (–OH) appartenant à deux atomes différents de phosphore.

Le programme SUPERQUAD calcul les constantes de formation globales des équilibres β, et leurs log(β), a partir des données suivantes :

- pH = f (V) : V est le volume du titrant exprimé en ml.
- Un model mathématique et des constantes globales arbitraires.
- Concentration de l'acide exprimée en mmol/ml.
- Concentration des protons exprimée mmol/ml.
- Concentration du titrant (base) exprimée en mol/l.

- Température.
- Volume initial d'échantillon de mesure en ml.

b.3. Résultats de calcul et discutions :

L'ensemble des résultats obtenus sont validés par les critères mathématiques de fiabilité du programme SUPERQUADE, $1 \leq \delta \leq 3$ et $S \leq 12.6$, pour une précision supérieure à 95%, ils confirment la présence de quatre fonctions acides autrement dit que le produit synthétisé est un titra acide.

Le tableau 5 présent la moyenne des valeurs des constantes de protonation calculées à partir de cinq expériences indépendantes.

Tableau 5 : Equilibres et constantes de protonation de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique à I = 0.1 mol/l et T = 25 °C.

Valeurs des critères de précision trouvées :

δ= 2.93 S= 7.08

Constantes de protonation globales			Constantes de protonation étagées	
Equilibres	Formule de β	log β	Equilibre	K
$L^{4-} + H^+ \rightleftharpoons HL^{3-}$	$\beta_1 = \frac{[HL^{3-}]}{[L^{4-}][H^+]} = 4.68\ 10^{10}$	10.67 ± 0.05	$L^{4-} + H^+ \rightleftharpoons HL^{3-}$	$K_1 = 4.68\ 10^{10}$
$L^{4-} + 2H^+ \rightleftharpoons H_2L^{2-}$	$\beta_2 = \frac{[H_2L^{2-}]}{[L^{4-}][H^+]^2} = 4.07\ 10^{27}$	17.61 ± 0.06	$L^{4-} + 2H^+ \rightleftharpoons H_2L^{2-}$	$K_2 = 8.70\ 10^{6}$
$L^{4-} + 3H^+ \rightleftharpoons H_3L^-$	$\beta_3 = \frac{[H_3L^-]}{[L^{4-}][H^+]^3} = 3.98\ 10^{23}$	23.60 ± 0.06	$L^{4-} + 3H^+ \rightleftharpoons H_3L^-$	$K_3 = 9.79\ 10^{5}$
$L^{4-} + 4H^+ \rightleftharpoons H_4L$	$\beta_i = \frac{[H_4L]}{[L^{4-}][H^+]^4} = 2.09\ 10^{25}$	25.32 ± 0.07	$L^{4-} + 4H^+ \rightleftharpoons H_4L$	$K_4 = 5.25\ 10^{1}$

b.4. Calcul des constantes d'acidités K_{ai} de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique :

Il est bien connu que les constantes de dissociation K_d sont liées aux constantes de formation K_f par la formule :

$$K_d = \frac{1}{K_f}$$

Dans notre cas les constantes d'acidités $\mathbf{K_{ai}}$ correspondantes aux constantes de dissociation, alors que celles de protonation $\mathbf{K_i}$ correspondantes aux constantes de formation ; la corrélation générale entre ces deux grondeurs peut être exprimée par la formule :

$$K_{ai} = \frac{1}{K_{(n-i)+1}}$$

Où

n = 4 : nombre de proton total de l'acide.

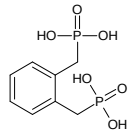
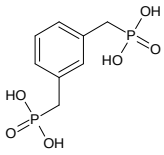
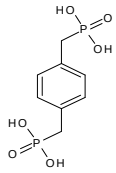
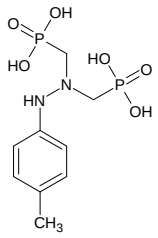
i = 1, 2, 3 ou 4 nombre de protons neutraliser ou dissocier.

Tableau 6 : Equilibres et constantes d'acidité de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique.

Equilibre	Constante d'acidité étagée	$pk_{ai} = -\log K_{ai}$
$H_4L \rightleftharpoons H^+ + H_3L^-$	$K_{a1} = \frac{[H^+][H_3L^-]}{[H_4L]} = \frac{1}{K_4} = 1.90\ 10^{-2}$	$pk_{aH_4L} = 1.72$
$H_3L^- \rightleftharpoons H^+ + H_2L^{2-}$	$K_{a2} = \frac{[H^+][H_2L^{2-}]}{[H_3L^-]} = \frac{1}{K_3} = 1.02\ 10^{-6}$	$pk_{aH_3L^-} = 5.99$
$H_2L^{2-} \rightleftharpoons H^+ + HL^{3-}$	$K_{a3} = \frac{[H^+][HL^{3-}]}{[H_2L^{2-}]} = \frac{1}{K_2} = 1.15\ 10^{-7}$	$pk_{aH_2L^{2-}} = 6.94$
$HL^{3-} \rightleftharpoons H^+ + L^{4-}$	$K_{a4} = \frac{[H^+][L^{4-}]}{[HL^{3-}]} = \frac{1}{K_1} = 2.14\ 10^{-11}$	$pk_{aHL^{3-}} = 10.67$

Le tableau 6 montre que la valeur de pk_{a1} est assez faible (pk_{a1} = 1.72) ce qui indique que le composé synthétisé a un pouvoir acide relativement élevé comparé avec d'autres acides dérivés de phényle phosphonates déterminés par S. CHAFAA et W. VOGT portes dans le tableau 7.

Tableau 7 : Comparaison de l'acidité de l'acide [2-(4-methylphenyl)-1 (phosphonomethyl) hydrazino] methylphosphonique avec celles des acides dérivés de phenyls phosphonates.

Molécule	pk_{a1}	pk_{a2}	pk_{a3}	pk_{a4}
	1.49	2.75	7.07	8.93
	1.73	2.44	7.27	8.27
	1.76	2.49	7.34	8.18
	1.72	5.99	6.94	10.67

Les pk_{a2} et pk_{a4} sont clairement moins fortes comparées avec pk_{a2} et pk_{a4} des phényles phosphonates alors que pk_{a3} est presque les mêmes. On peut aussi constate que la deuxième et la troisième fonction d'acidité ont presque le même pouvoir acide, ceci laisse pensé à la symétrie de ces deux fonctions.

b.5. Les courbes de distribution :

La figure 16 porte une présentation graphique de degré de formation des espèces acides en solution en fonction de pH (α = f (pH)) dans le domaine de pH expérimental exploité pour la détermination des constantes d'acidité, les calculs ont été établi par le programme SUPERQUAD qui donne on outre les constantes d'équilibre, les concentrations libres des : métal, ligand, espèces acides, espèces complexés et la force électromotrice à chaque valeur mesurée de pH.

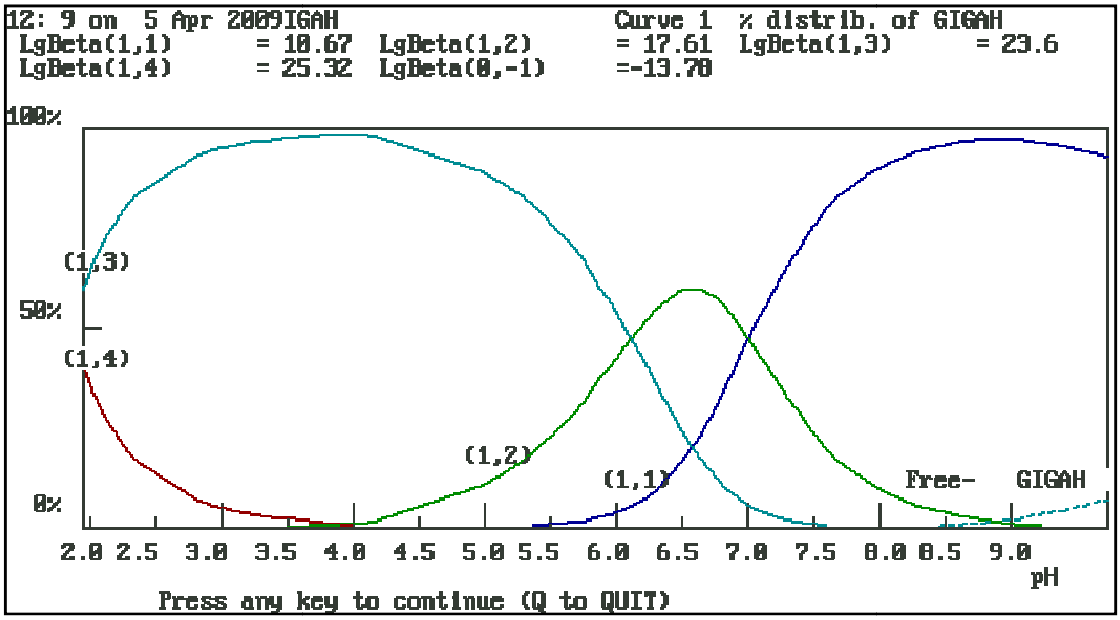


Figure 16 : Courbes de distribution des espèces protonées de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique calculées par SUPERQUAD.

III.2. ETUDE DES PROPRIETES ELECTROCHIMIQUES DE L'ACIDE {[2-(4-METHYLPHENYL) HYDRAZINE-1,1-DIYL] DIMETHANEDIYL} BISPHOSPHONIQUE.

Dans cette partie du chapitre III on a démontré que l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique est un substrat électroactif en suite on a étudie ses propriétés électrochimiques par la voltammétrie cyclique.

Pour mieux comprendre cette technique et son rôle dans la détermination de certains paramètres importants tels que les propriétés redox, la passivation, l'électropolymérisation …etc, et avant d'entamé le travail expérimental il est utile de rappelé certains notions et principes de cette technique.

III.2.1. Notions de voltamétrie cyclique

La voltamétrie est une technique d'électroanalyse basée sur la mesure du flux de courant résultant de la réduction ou de l'oxydation des composés tests présents en solution sous l'effet d'une variation contrôlée de la différence de potentiel entre deux électrodes spécifiques. Elle permet d'identifier et de mesurer quantitativement un grand nombre de composés (cations, certains anions, composés organiques), dont certains simultanément, et également d'étudier les réactions chimiques incluant ces composés.

La voltampérometrie [87] a pour principe d'enregistrer le courant résultant d'un balayage linéaire en potentiel entre deux valeurs extrêmes E_{min} et E_{sup}.

III.2.2. Principe de Voltamétrie cyclique

Cette méthode électrochimique consiste à relever les variations du courant lorsque l'électrode est soumise à un balayage linéaire de potentiel, lors d'une microélectrolyse d'une substance en solution. Cette techniques potentiocinétique consiste à imposer à l'électrode un potentiel variable par rapport à une électrode de référence.

Le potentiel de l'électrode obéit à une loi linéaire :

$$E(t)=E_i \pm v_t$$

Avec $v=dE/dt$

E_i : la valeur initiale du potentiel (V).

V : vitesse de balayage en tension (V/s).

t : temps (s).

Cette méthode permet de déceler rapidement l'existence de différentes étapes réactionnelles en jouant seulement sur la vitesse de balayage [88]. Ainsi, les caractéristiques des pics et des paliers obtenus fournissent des informations sur la nature des réactions et sur les mécanismes réactionnels.

La voltampérométrie permet également d'apprécier le degré de réversibilité du système redox étudié, en appliquant un signal triangulaire à une électrode immobile dans une solution non agitée d'une substance électroactive.

III.2.3. Expressions mathématiques des courants et des potentiels de pic dans un transfert de charge

1) Lors d'une cinétique de transfert électronique rapide (réversible) [89] comparée à celle de diffusion du réactif, le courant de pic est donné par l'expression suivante :

$$\boldsymbol{I_p = 0.296\, A\, n^{3/2} D_{ox}^{1/2} C_{ox} v^{1/2}}$$

Et le potentiel de pic est donné par l'expression :

$$\boldsymbol{E_p = E_{1/2} - 0.029/n}$$

La différence des potentiels de pic de réduction et d'oxydation est exprimée par :

$$\boldsymbol{(Ep_c - Ep_a) = 0.059/n} \qquad \text{À } 25° \text{ C}$$

2) dans le cas de la cinétique de transfert électronique semi-rapide [90], le courant est donné par la relation :

$$\boldsymbol{Ip_c = 0.269\, An^{3/2} D_{ox}^{1/2} C_{ox} K_s v^{1/2}}$$

3) Quand la cinétique de transfert électronique est lente (irréversible) [91], l'expression du courant devient :

$$\boldsymbol{Ip_c = 0.299 A\, n\, (n\alpha)^{1/2} D_{ox}^{1/2} C_{ox} v^{1/2}}$$

Où :

D_{ox} : coefficient de diffusion de l'espèce réactive (cm^2/s).

C : concentration de l'espèce réagissant au sein de l'électrolyte (mol/cm^3).

n : nombre total d'électrons transférés.

v : Vitesse de balayage (V/s).

A : surface de l'électrode (cm^2).

I_p : intensité du courant du pic (A).

α : coefficient de transfert de charge.

K_s : constante de vitesse.

V : volte.

III.2.4. Critères d'analyse et de discrimination des différents systèmes

L'étude des variations du courant et du potentiel en fonction de la vitesse de balayage (I_p=f ($v^{1/2}$)) et E_p=f (logv) peut nous informer sur la nature de l'étape limitante du courant mesuré et sur le mécanisme de l'électrode.

- Si I_p=f ($v^{1/2}$) est une droite, la réaction est régie par la diffusion pure.
- Si I_p=f ($v^{1/2}$) est une courbe de concavité tournée vers l'axe des courants, le processus à l'électrode comporte un transfert de charge accompagné d'une adsorption, et dans le cas ou la concavité est tournée vers l'axe des vitesses de balayage, le processus à l'électrode est associé à une réaction chimique.
- Si E_p=f (logv) est une droite :
    - De pente nulle, la réaction à l'électrode est rapide.
    - De pente différente de zéro et égale à-30αn (mV), il s'agit d'un transfert de charge lent.
- Si E_p=f (logv) est une courbe et I_p=f ($v^{1/2}$) est une droite, on a affaire à des processus semi rapides.

III.2.5. Partie expérimentale

Dans cette partie, on a étudié les propriétés électrochimiques de l'acide synthétisé par voltampérométrie cyclique.

III.2.5.1. Appareillage :

L'enregistrement des voltampérogrammes cycliques I = f (E) est effectué à l'aide d'un potentiostat /galvanostat, type voltalab 32 équipé par l'interface DEA332 et le logiciel "voltammaster2"assisté par un micro-ordinateur (**Fig.17**).

Les mesures ont été effectuées dans une cellule électrochimique à double paroi à 25 °C et sous atmosphère inerte (Azote).

Les cinq trous du couvercle de la cellule contient permetent l'introduction des tubes d'entrée et de sortie de l'Azote et de trois électrodes :

- E_T: électrode de travail (disque de platine) type Radiomèter Analytical F3700 692-11-001.de diamètre d = 1mm.
- E_A: contre électrode ou électrode auxiliaire (un fil de platine) type Radiomèter Analytical 700-11.
- E_R: électrode de référence au calomel ECS ($Hg/HgCl_2$) saturée en KCl type Radiomèter Analytical 700-11.

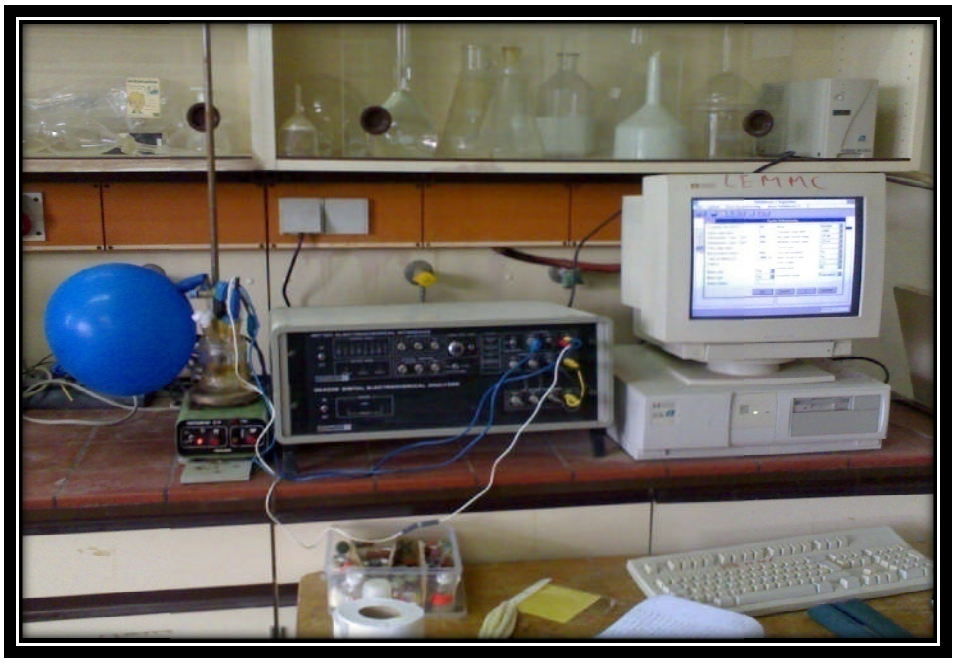


Figure 17: Montage expérimental utilisé pour les mesures Voltampérométriques.

III.2.5.2. Préparation des solutions

Les solutions de l'acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique préparées ont des concentrations égales à 3×10^{-3}mol/l.

L'électrolyte support utilisée est le $LiClO_4$ (Fluka), la force ionique est égale à 0.1mol/l.

Toutes les solutions ont été préparées avec l'eau bidistillé préparée au laboratoire (LEMMC) à l'aide d'un bidistillateur GFL Type2104.

III.2.5.3. Domaine de potentiel étudié :

La figure 18 présente le voltampérogramme cyclique de l'électrolyte support $LiClO_4$ 0.1 mol/l en milieu aqueux, ce voltampérogramme montre que le domaine de potentiel exploitable en présence de $LiClO_4$ est limité entre -900 mV/ECS et +900 mV/ECS.

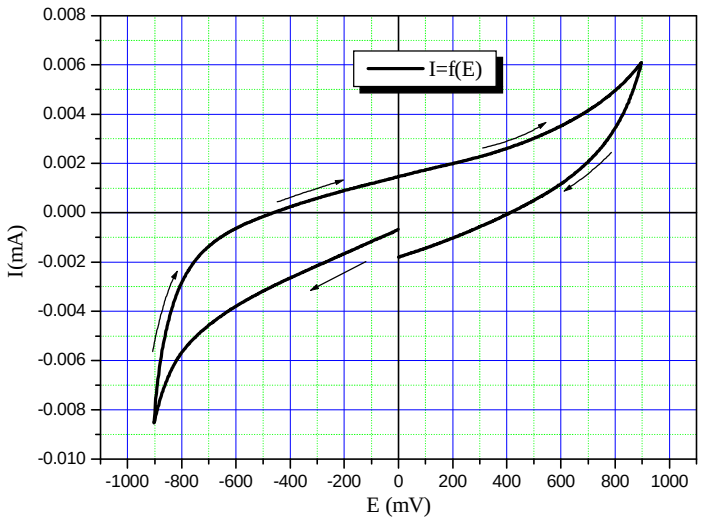


Figure 18 : Voltampérogramme cyclique de l'électrolyte support $LiCLO_4$ 0.1 mol/l en milieu aqueux, V_b=100 mV/s, E_T : disque de platine Φ=1mm^{2,} E : file de platine, E_{Ref} : ECS.

III.2.6. Comportement électrochimique de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique synthétisé

Le voltampérogramme cyclique de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique synthétisé **(Fig.19)** présente deux pics cathodique :

Epc_1 = -484 mV/ECS, Epc_2= -718 mV/ECS et deux pics anodiques Epa_1= -405 mV/ECS et Epa_2= -628 mV/ECS attribués successivement à la réduction et l'oxydation de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique, la différence de potentiel du premier couple redox $\Delta E_1 = E_{pc1} - E_{pa1}$ = -405 – (-484) = 79 mV/ECS alors que celui de couple deux est $\Delta E_2 = E_{pc2} - E_{pa2}$ = -628 – (-718) = 90 mV/ECS, cette différence montre que le système est quasi réversible.

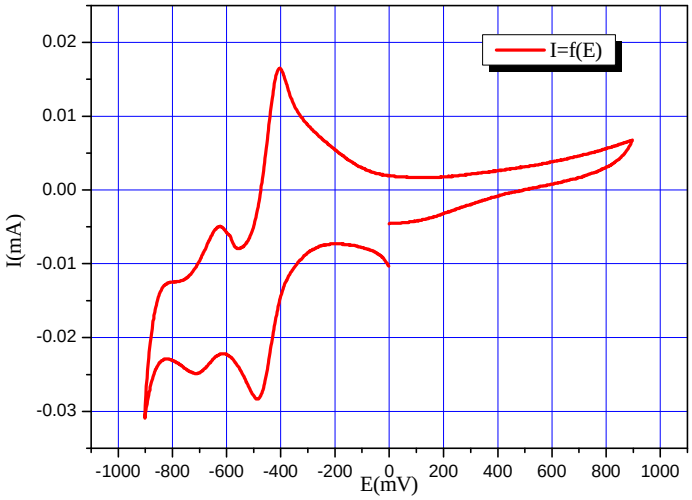


Figure 19 : Voltampérogramme cyclique I = f (E) de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique synthétisé. C=310^{-3}mol/l, I=0.1mol/l, V_b=100 mV/s en milieu aqueux.

L'évolution du voltampérogramme cycliques enregistré en fonction de balayage successif **(Fig.20)** montre une légère décroissance d'intensité des pics inseigneficatif.

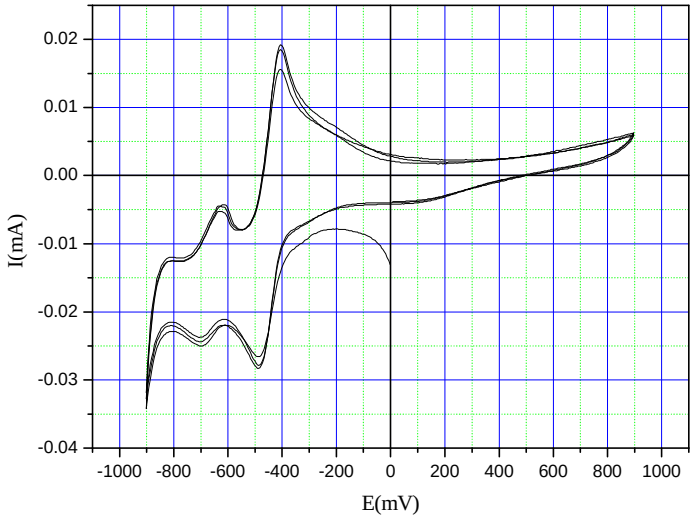


Figure 20 : Evolution du voltampérogramme cyclique de l'Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique synthétisé au cours de balayage successif C = 3 10^{-3}mol/l, I = 0.1 mol/l en milieu aqueux. N_{cycle}= 5 cycles.

III.2.6.1. Effet de la vitesse de balayage

La figure 21 présente les voltampérogrammes cycliques d'une solution contenant 310^{-3}M de l'acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique synthétisé et 0.1mol/l de $LiClO_4$, enregistrés dans le domaine de potentiel allant de 0mV/ECS à -1000mV/ECS aux vitesses de balayage (150, 100,75 ,50) mV/s, à pH initial de la solution (pH = 2.04).

On observe un léger déplacement des potentiels des pics en fonction de la vitesse de balayage, ce qui confirme que le système n'est pas réversible et que le rapport $\frac{I_a}{I_c} \neq 1$.

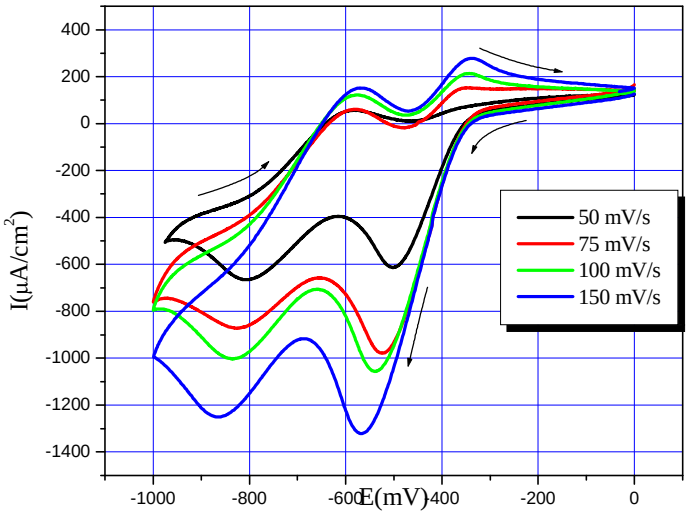


Figure 21 : Voltampérogrammes cycliques d'une solution de l'acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique C = 3 10^{-3}mol/l enregistrés à différentes vitesse de balayage de V_{b1}=50mV/s, V_{b2}=75mV/s, V_{b3}=100mV/s et V_{b3}=150mV/s. I= 0.1 mol/l.

Elle montre que les voltampérogrammes de l'acide synthétisé ont la même allure générale.

L'intensité des pics croit avec l'accroissement de la vitesse de balayage en se déplaçant légèrement vers des potentiels moins négatifs pour les pics anodiques et vers des potentiels plus négatifs pour les pics cathodiques.

III.2.6.2. Le processus électrochimique à la surface de l'électrode :

Le tableau 8 regroupe les valeurs de l'intensité I_{pa} de la solution du produit synthétisé en fonction de V_b et la racine carrée de V_b. la courbe des intensités des pics en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage est une droite de pente positif (non nulle)(**Fig22**), ceci indique que la réaction d'oxydation est contrôlée par la diffusion des espèces électroactives vers l'électrode de travail.

Tableau 8 : Variation d'intensité du pic anodique I_p en fonction de V_b et $V^{1/2}$.

Ip (µA)	**V_b (mV/s)**	**$V^{1/2}(mV/s)^{1/2}$**
85.42	50	7.071
150.96	75	8.66
205.13	100	10
303.49	150	12.25

Le tracé Ip= f ($V^{1/2}$) obtenu est une droite (**Fig.26**) donc le système est purement diffusionnel.

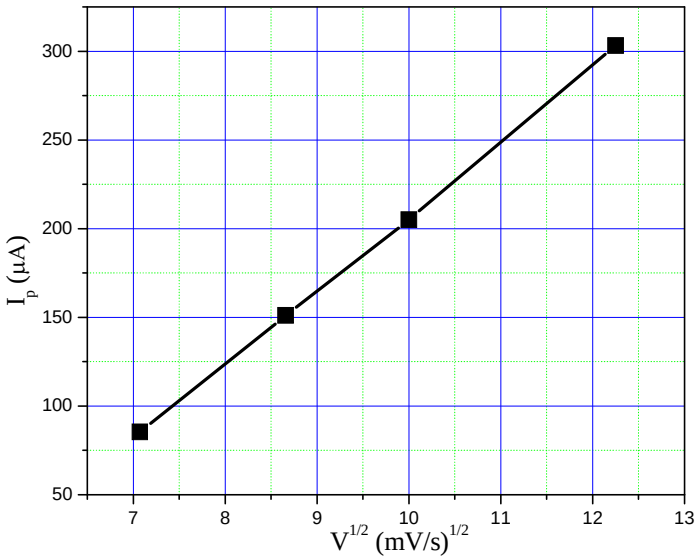


Fig.22 : variation de l'intensité des pics (Ip) en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage.

Le tableau 9 ressemble les variations du potentiel du pic E_p caractéristique de la solution de l'acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique en fonction de la vitesse de balayage et log(V_b)

Le tracé Ep= f (log (V_b)) est une courbe (**Fig.23**) selon cette analyse, on peut déduire que le processus à la surface de l'électrode est un système semi rapide.

Tableau 9 : Variation de potentiel de pic (Ep) en fonction de V_b et en fonction de log(V_b).

Ep (mV/ECS)	V_b (mV/s)	LogV
-500.83	50	1.699
-521.68	75	1.875
-538.26	100	2
-567.794	150	2.176

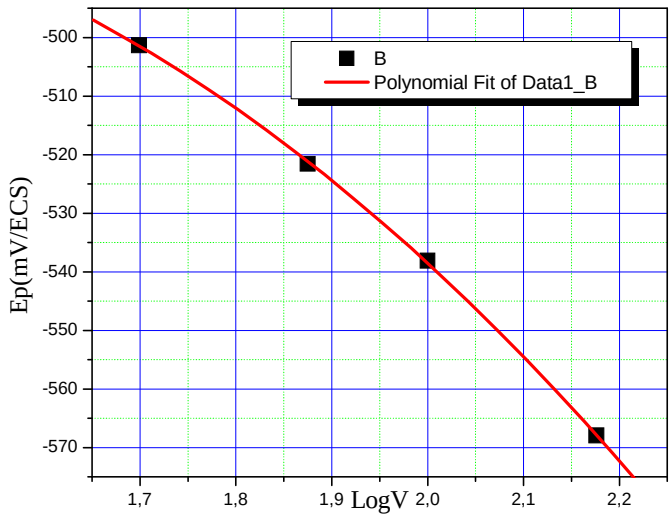
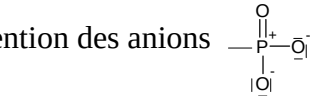


Figure 23 : Variation du potentiel du pic (Ep) en fonction du logarithme décimal de la vitesse de balayage (logV_b).

IV. APPLICATION A LA COMPLEXATION DU CUIVRE

Afin de pouvoir évaluer l'aspect pratique du produit synthétisé et son éventuelle utilisation dans des applications quotidiennes, notamment dans le traitement des eaux et la récupération des métaux, on a étudié son affinité à former des complexes métalliques.

L'hypothèse de formation des complexes par cet acide est fondue sur la présence de deux doublets d'électrons libres appartenant aux atomes d'azote, qui peuvent contribuer à la formation des liaisons datives avec les cations métalliques d'une part et de la possibilité de création des sites favorables à la complexation par la déprotonation des groupements acides phosphoniques pour l'obtention des anions  d'une autre part.

Dans ce chapitre sont présentés les résultats de l'étude de l'affinité de l'acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique à former des complexes avec les cations de cuivre (Cu^{2+}), le principal élément de la série des métaux de transition.

L'étude a été effectuée par la méthode potentiométrique en mesurant le pH = f (V), et confirmée qualitativement par la voltampérommétrique cyclique I = f (E), (V : volume du titrant, I : intensité du courant et E : potentiel).

Après avoir déterminé le modèle des complexes formés en solution aqueuse, on a effectué une étude de simulation des résultats expérimentaux à l'aide du programme HALTAFAL.

IV.1. Résultats expérimentaux de la complexation des cations Cu^{2+}

IV.1.1. Résultats de l'étude potentiométrique

Pour étudié la complexation des cations Cu^{2+} par l'acide MΦHBMP en milieu aqueux, on a choisi un système simple de rapport molaire MΦHBMP/Cu^{2+} égale à un, les concentrations des constituants de ce mélange sont :

$$C_{acide} = C_{Cu^{2+}} = \frac{1.38\ 10^{-4}\text{mol}}{\text{l}};\ C_{NaOH} = 0.01\,\frac{\text{mol}}{\text{l}};\ I = \frac{0.1\text{mol}}{\text{l}}\,(LiClO_4) \text{ et } T = 25°C\ .$$

Les courbes de titrage de l'acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique MΦHBMP en absence et en présence des ions Cu^{2+} sont superposés et présentés sur la figure 24.

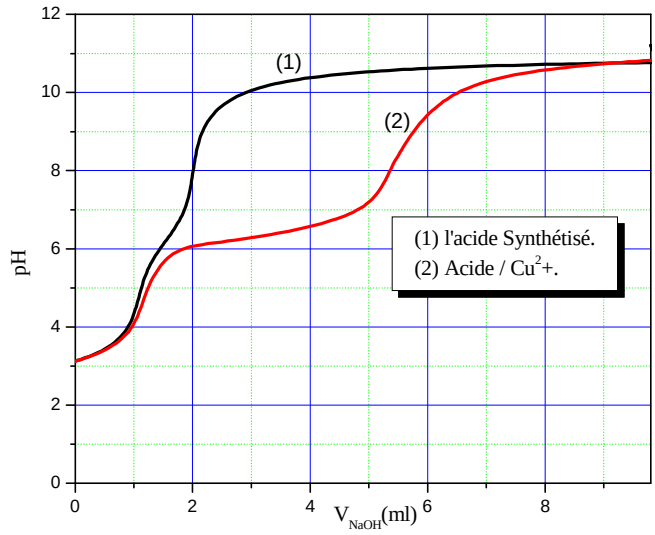


Figure 24 : Courbe de titration (V_{NaOH}, pH) : $C_{M\Phi HBMP} = C_{Cu^{2+}} = 1.38\ 10^{-4} mol/l$, C_{NaOH}=0.01mol/l, I= 0.1mol/l et T=25°C en milieu aqueux.

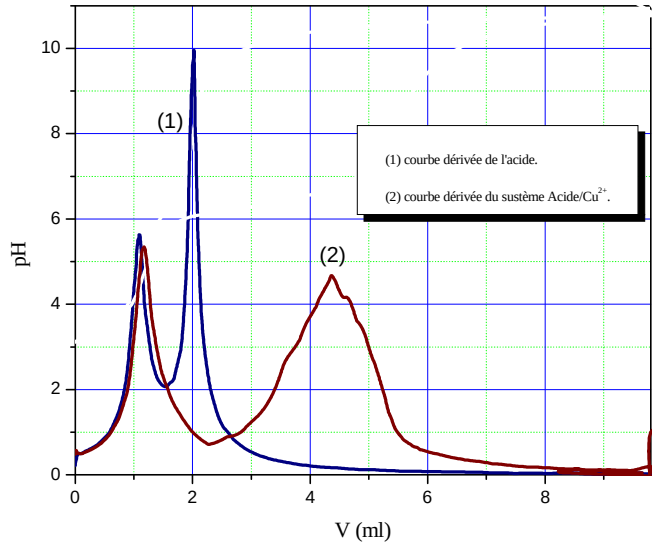


Figure 25 : Comparaison de dérivées $\frac{dpH}{dV} = f(V)$ des courbes de titration des systèmes MΦHBMP et MΦHBMP/Cu^{2+}.

L'examen de cette figure montre des abaissements très significatifs des valeurs de pH du système acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphoniques / Cu^{2+} dans la zone de pH limitée entre $4 \leq$ pH ≤ 11, alors que à pH < 4 et pH > 11 on note une convergence totale des deux courbes. Ceci mène à déduire que la zone principale de la formation de nouvelles espèces, qui ne peuvent être que des complexes de Cu^{2+}, a eu lieu

entre $4 \leq pH \leq 11$ et que leurs formation est accompagnée avec des réactions de compétition entre les ions Cu^{2+} et les protons H^{+} de l'acide ce qu'explique l'augmentation de la concentration des H^{+} en solution.

La convergence des courbes de titration des deux systèmes à pH<4 et pH>11 n'indique pas forcement l'absence de formation de complexes dans ces zones, mais elle indique en particulier l'absence des réactions de compétition entre Cu^{2+} et l'acide à pH<4, car le MΦHBMP est riche en doublet libres d'électrons provient des atomes d'azote d'amine et des oxygènes des groupements –P=O de phosphonate, ce qui permet probablement a sa forme acide de former des complexes titra protonés de type [Cu MΦHBMP] $^{2+}$, qu'on symbolisés pour facilité leur lecture $[CuLH_4]^{2+}$ sans qu'il soit nécessaire d'avoir des réactions de compétition ou de déprotonation.

Le volume de titrant correspond au deuxième saut de pH de l'acide en présence de Cu2+ est 2.2 fois supérieur à celui de son saut en absence de ces cations (**Fig.25**).

Tableau 10 : paramètres caractéristiques des courbes de titrage des systèmes MΦHBMP et MΦHBMP/Cu^{2+}.

Point d'inflexion	Paramètres	MΦHBMP	MΦHBMP/Cu^{2+}
1	pH_1	5.104	4.660
	$\Delta pH = pH_{Acide} - pH_{Acide/Cu}$	0.565	
	V_1 (ml)	1.011	1.156
	$\Delta V = V_{acide/Cu} - V_{Acide}$	0.145	
2	pH_2	8.368	7.917
	$\Delta pH = pH_{Acide} - pH_{Acide/Cu}$	0.451	
	V_2 (ml)	2.004	5.331
	$\Delta V = V_{acide/Cu} - V_{Acide}$	3.327	
Déférence de pH	$\Delta pH = pH_2 - pH_1$	3.264	3.257
Déférence de Volume	$\Delta V = V_2 - V_1$	0.993	4.175

IV.1.1.1. Modélisation des solutions et calcule des constantes de stabilité des complexes formés

Pour déterminer le nombre de complexes de Cu^{2+} formés en solution on a traité les données pH = f(V) par le programme SUPERQUAD, on tenant en compte les complexes qui peuvent être chimiquement valide ; plusieurs modèles constitués de complexes mononucléaires, plus au moins protonés de type ML , MLH, MLH_2,…MLH_n, $ML(OH)_n$, où n=1,2,3 ou 4 ont été testés. Le modèle qui répond mieux aux critères mathématiques du programme SUPERQUAD : $1 \leq \delta \leq 3$ et $S \leq 12.6$, est constitué de cinq complexes de type

$[CuL]^{2-}$, $[CuLH_2]$, $[CuLH_4]^{2+}$, $[CuLOH]^{3-}$ et $[CuL(OH)_2]^{4-}$ où L = R− $(CH2PO_3^{2-})_2$= MΦHBMP^{4-}. Dont les constantes de stabilités sont regroupées dans le tableau 11.

Tableau 11 : constantes de stabilité des complexes de Cu^{2+} formés. $[Cu\ MΦHBMP]^{2+i-4}$, i = 0, 2, 4, -1 ou -2.

Complexe	β	log β	S	δ
$[CuL]^{2-}$	$2.84\ 10^{9} \pm 0.04$	9.45 ± 0.02	9.33	0.6594
$[CuLH_2]$	$1.60\ 10^{21} \pm 0.06$	21.20 ± 0.03		
$[CuLH_4]^{2+}$	$6.41\ 10^{29} \pm 0.09$	29.81 ± 0.05		
$[CuLOH]^{3-}$	$2.98\ 10^{2} \pm 0.07$	2.47 ± 0.03		
$[CuL(OH)_2]^{4-}$	$2.47\ 10^{-5} \pm 0.12$	$- 4.61 \pm 0.05$		

Le domaine de pH interprété effectivement dans ce traitement numérique est limité entre $pH_{initial}$ = 2.75 et pH = 7.5, le pourcentage de formation des complexes trouvé par SUPERQUAD est présenté graphiquement par la figure 26.

Le pourcentage de formation maximal de chaque complexe et son domaine de pH, déterminés des courbes de répartition de la figure 26 sont regroupés dans le tableau 12.

Tableau 12 : α_{max}, pH_{max} et ΔpH de formation de chaque complexe.

Complexe	α_{max}	pH_{max}	ΔpH
$[CuL]^{2-}$	**58%**	**6.48**	**5.1 – 7.5**
$[CuLH_2]$	**30%**	**5.75**	**3.45 – 6.82**
$[CuLH_4]^{2+}$	**α = 45%**	**pH = 2.75**	**2.72 – 5.1**
$[CuLOH]^{3-}$	**40%**	**7.15**	**5.70 – 7.5**
$[CuL(OH)_2]^{4-}$	**α = 50%**	**pH = 7.5**	**≥ 6.1**

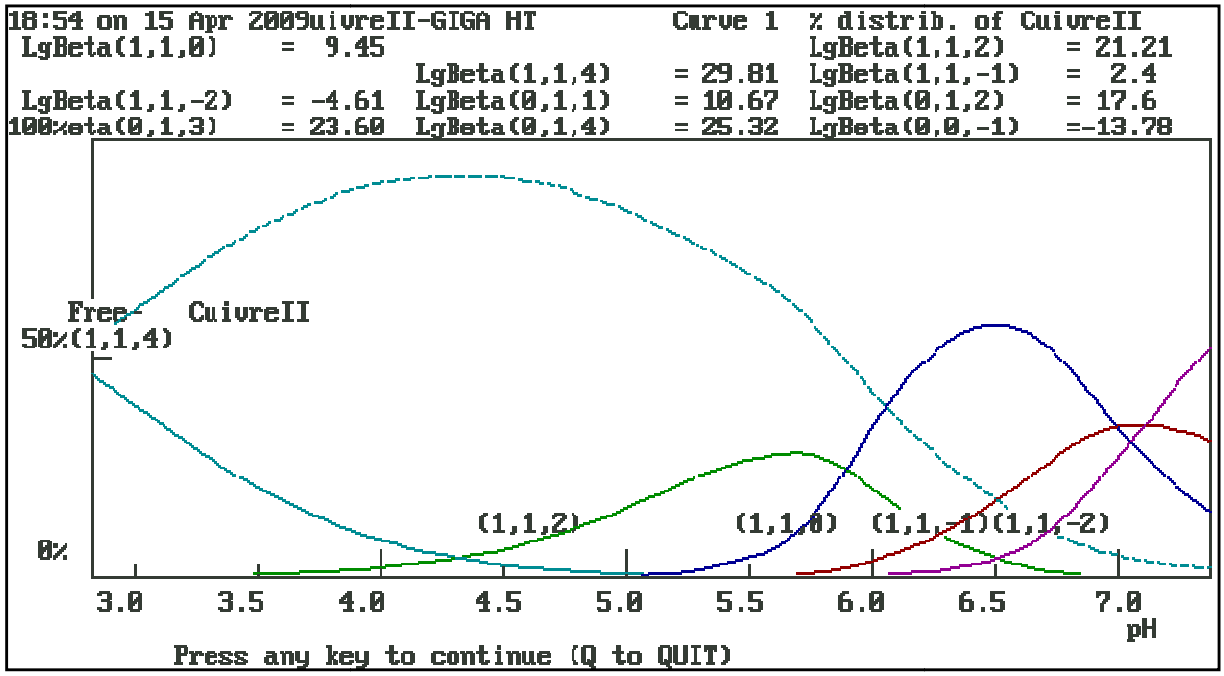


Figure 26 : Courbes de distribution des complexes de Cu^{2+}, trouvées par SUPERQUAD.

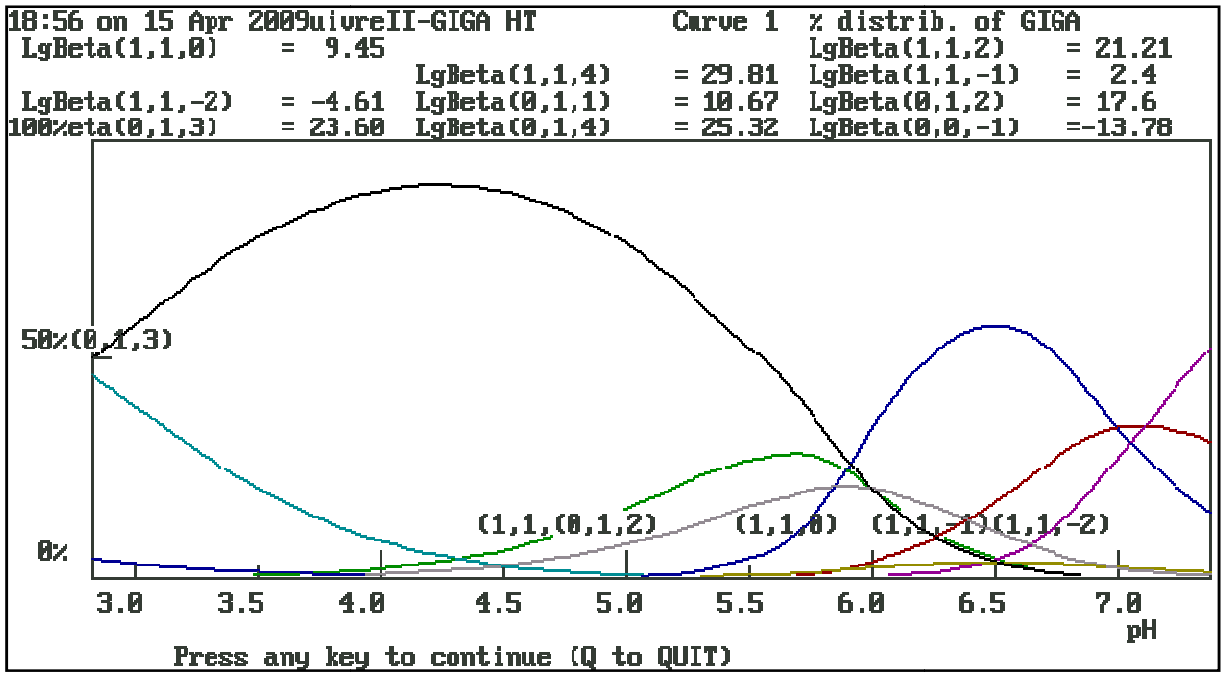
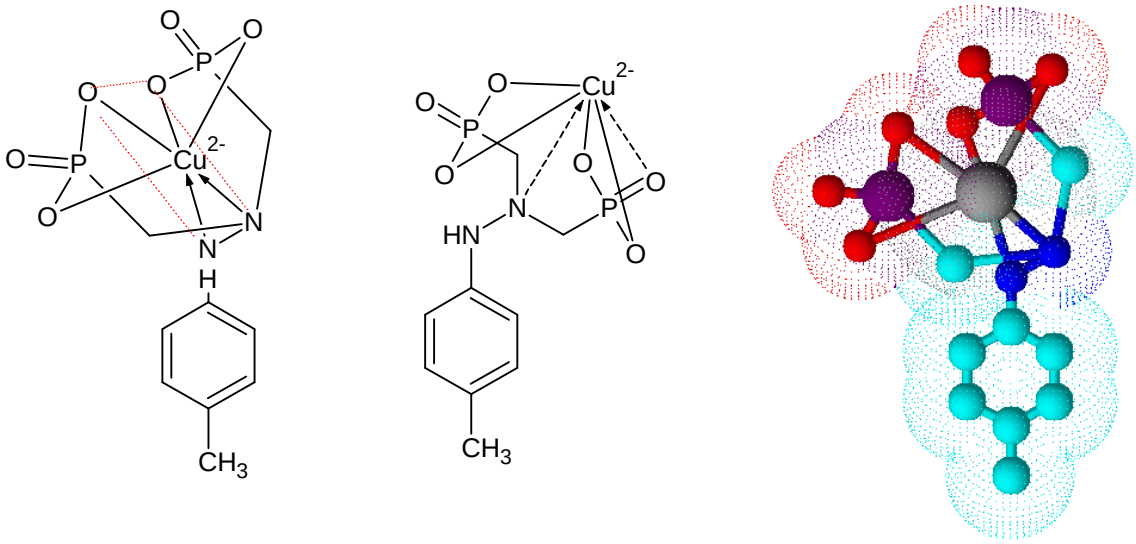


Figure 27: Courbes de distribution des complexes de Cu^{2+} en présence des espèces protonés trouvées par SUPERQUAD.

L'affinité de l'acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique MΦHBMP à former des complexes métalliques avec les cations Cu^{2+} donne lieu à la naissance d'un nouveau ligand amine bi-phosphonique, de types chélatant, ses complexes $[CuLH_i]^{(i+2)-4}$ i= 0, 1, 2, 3 ou 4 peut avoir les structures suivantes :



(a) **(b)** **(c)**

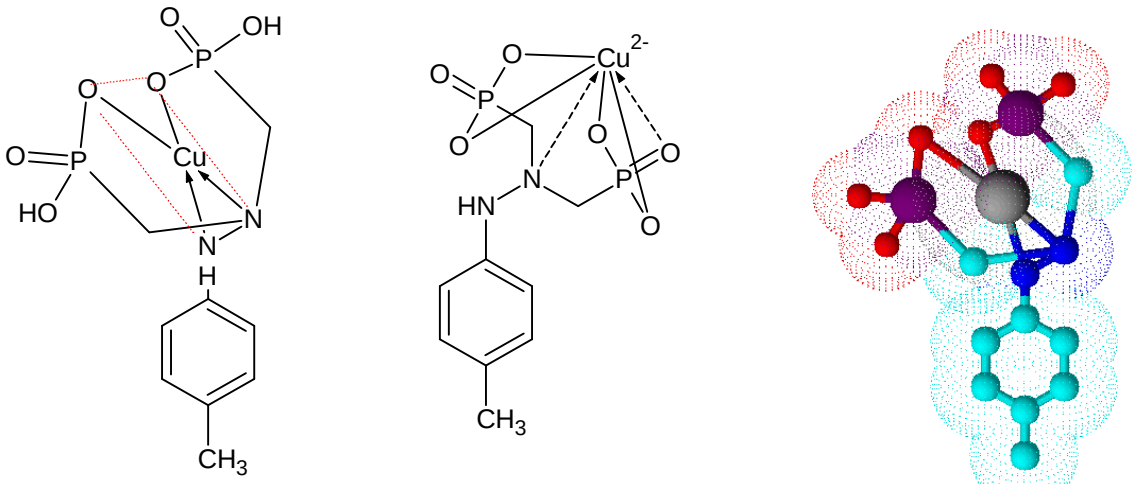
Schéma 15 : La Structure du complexe $[CuL]^{2-}$ du ligand substitue en amine primaire.

a) Structure proposée.

b) structure optimisée par le logiciel ACDLABS.

c) structure à 3D par le logiciel ACDLABS.

La structure probable du complexe **MLH_2** formés peut être présentée par le schéma 16 :



(a) **(b)** **(c)**

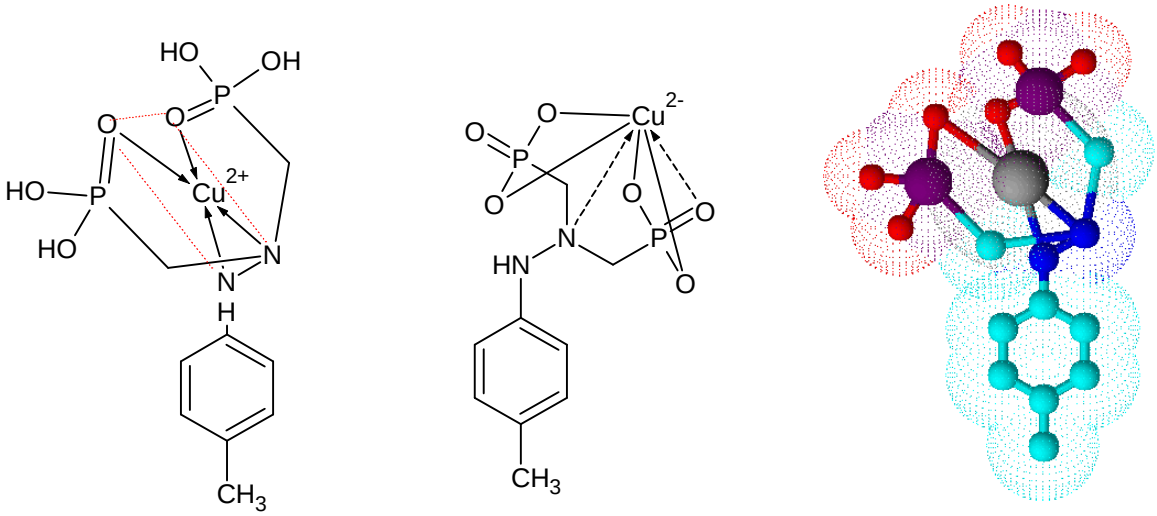
Schéma 16 : La Structure du complexe MLH_2 du ligand substitue en amine primaire.

a) Structure proposée.

b) structure optimisée par le logiciel ACDLABS.

c) structure à 3D par le logiciel ACDLABS.

La structure probable du complexe **MLH_4** formés peut être présentée par le schéma 17 :



(a) **(b)** **(c)**

Schéma 17 : La Structure du complexe MLH_4 du ligand substitue en amine primaire.

a) Structure proposée.

b) structure optimisée par le logiciel ACDLABS.

c) structure à 3D par le logiciel ACDLABS.

IV.1.2. Résultats de l'étude voltampérométrie cyclique appliquée aux solutions des systèmes MΦHBMP/ Cu^{2+}

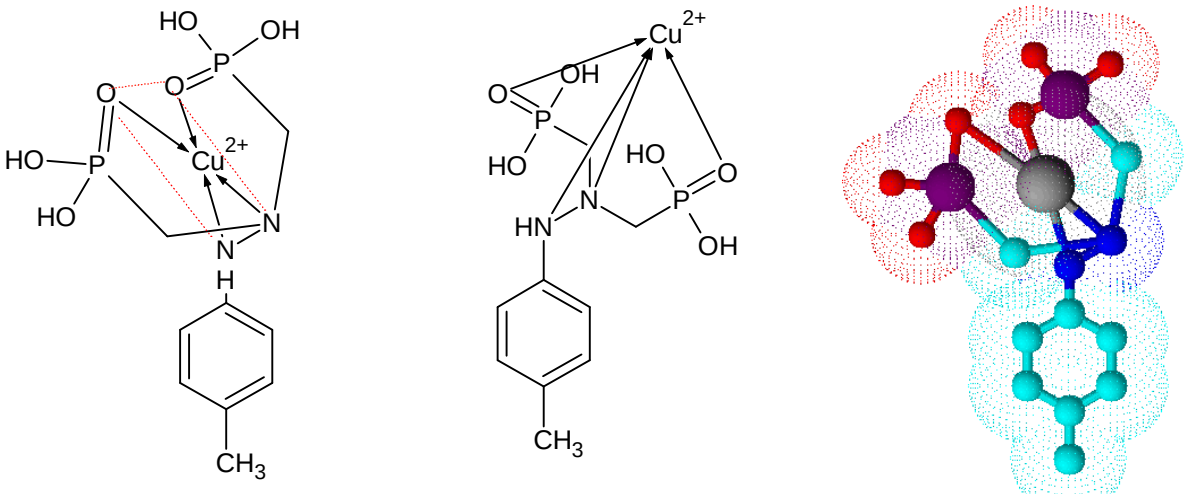
Le voltampérogramme cyclique du chlorure de Cu(II) enregistré entre -1000 et 1000 mV/ECS à vitesse de balayage V_b=100 mV/s **(Fig. 28.B),** de concentration 3.10^{-4} mol/l, I=0.1mol/l et à température ambiante montre:

- un pic cathodique attribué à la réduction du Cu^{++} à -19.77 mV/ECS.
- Deux pics anodiques apparaissent respectivement à101 mV/ECS et 164 mV/ECS correspondants à l'oxydation successive du cuivre à Cu/Cu^{+} et Cu^{+}/Cu^{++}.

Le voltampérogramme cyclique d'une solution équimolaire du système Ligand /Cu(II) enregistré dans le même domaine de potentiel **(Fig. 28.C)** montre des propriétés bien différentes de celles de ses constituants MΦHBMP et Cu^{2+}, il est caractérisé par :

1. Un pic cathodique intense Ep_{c1}=-1000mV/ECS et d'un pic anodique large d'intensité faible vers Ep_{a1}= -286mV/ECS.
2. On constate la disparition totale des pics caractéristiques du ligand P_{c1}, P_{c2}, P_{a1}, P_{a2} situés successivement à Ep_{c1}=-484 et à Ep_{c2}=-718 mV/ECS et la disparition du pic cathodique du cuivre P_c (Epc= -19.77 mV/ECS) et du pic anodique P_{a1} (E_{pa1}=164mV/ECS) et un déplacement significatif de son pic d'oxydation P_{a1} de 101mv/ECS à 256 mv/ECS.
3. La disparition du pic de réduction de Cu^{2+} indique l'absence de ces cations à l'état libre dans la solution, ceci est expliqué par la complexation de Cu^{2+} par le ligand.

Le voltampérogramme du système Ligand/Cu^{2+} est enregistré à pH initial de la solution (pH=1.837), dans cette zone de pH on a observé lors de l'étude potentiométrique pH=f(V) que les courbes du ligand en absence et en présence de Cu^{2+} sont convergées totalement et par conséquent aucune réaction de compétition n'a eu lieu dans cette zone, ceci mène a conclure que la formation de complexe détecté à cette pH due à l'intervention des doublets d'électrons libers de deux atomes d'azote des fonctions amines secondaires et tertiaires et ceux de l'oxygène des groupements –P ═ O des phosphonates, le complexe caractérisé par le voltampérogramme cyclique de la figure 28.C correspondant au type : $[CuLH_4]^{2+}$ peut être présenté par de structure :



(a) (b) (c)

Schéma 18 : La structure du complexe MLH_4 convenable au résultat de la voltampérométrie cyclique.

a) structure proposée.

b) structure optimisée par le logiciel ACDLABS.

c) structure à 3D par le logiciel ACDLABS.

Ce résultat confirme celui de l'étude potentiométrie dans lequel on a démontré la formation du complexes Cu MΦHBMP titra protonés de β_{CuLH4}= 6.41 10^{29} ± 0.09.

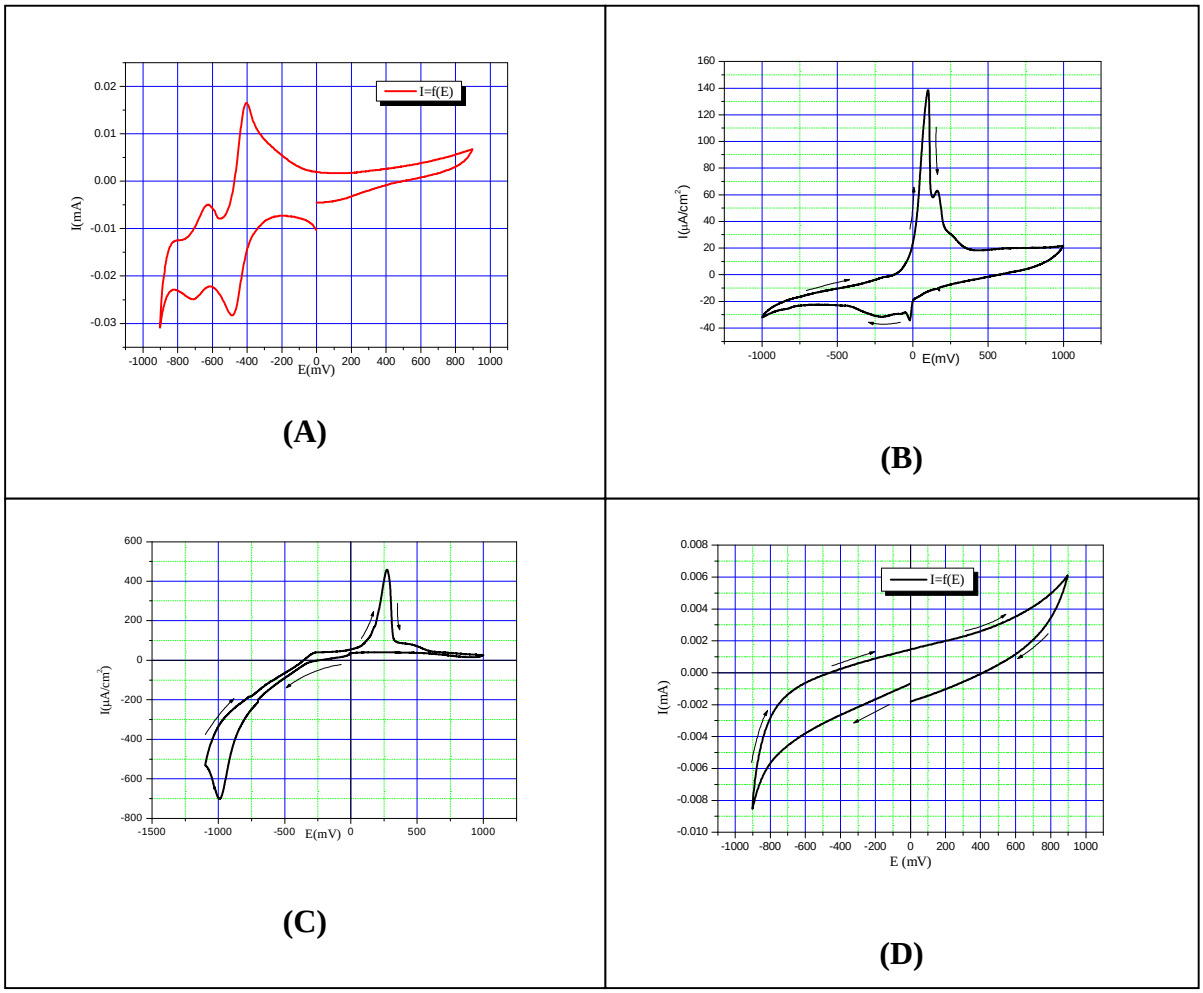


Figure 28 : Voltampérogrammes cycliques caractéristiques des solutions :

A- Ligand. **B- Cations de Cu^{2+}.**

C- Ligand/Cu^{2+}. **D- Electrolyte support ($LiClO_4$).**

$C_{Cu^{2+}} = C_{M\Phi HBMP} = 3.10^{-3}$ mol/l, I=0.1mol/l ($LiClO_4$), E_T: Disc de platine (Φ=1mm²),

E_{Aux}= file de platine, E_{Ref}= ECS, V_b=100 mV/$_S$, en milieu aqueux.

IV.1.2.1. Effet de la vitesse de balayage

La figure 29 présente les variations du voltampérogramme cyclique d'une solution du système ligand/Cu^{2+} de rapport 1 à C = 3.10^{-3} mol/l, de force ionique maintenue constante à 0.1mol/l par $LiClO_4$, ces variations sont enregistrées dans le domaine allant de 1000 mV/ECS à -1000 mV/ECS à différentes vitesses de balayage (50, 75, 100, 150) mV/s, à pH initial=1.873 de la solution.

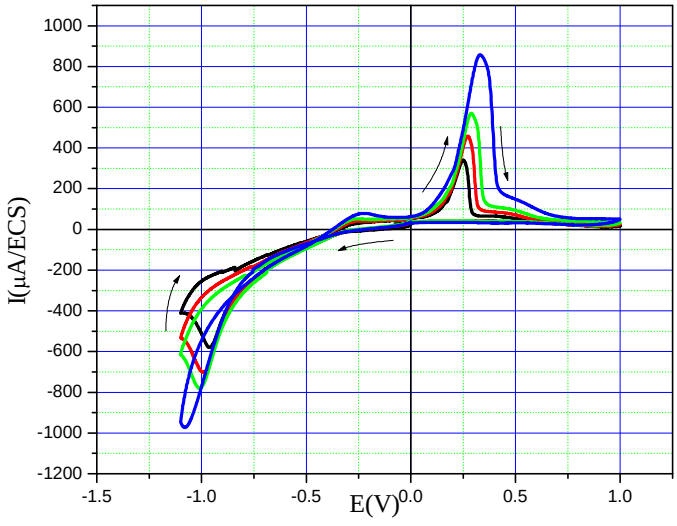


Figure 29 : Variations du voltampérogramme cyclique du complexe de Cu^{2+} en fonction de vitesse de balayage. $C_L = C_{Cu2+} = 3.10^{-3}$mol/l, I=0.1 mol/l, température ambiante, et pH=1.837. V_{b1}=50mV/s, V_{b2}=75mV/s, V_{b3}=100mV/s et V_{b4}=150mV/s, I=0.1 mol/l, en milieu aqueux.

Selon la figure 29, les voltampérogrammes du complexe de cuivre enregistrés en fonction de V_b ont la même allure générale. On sait que, le courant de pic (Ip_a) est proportionnel à la concentration et augmente avec la racine carrée de la vitesse de balayage.

Lors du balayage allé (**Fig.29**), on remarque que l'intensité du pic cathodique augmente avec l'augmentation de la vitesse et déplace légèrement vers des potentiels plus négatifs.

Au balayage retour, l'intensité du pic d'oxydation croit avec l'accroissement de la vitesse de balayage, le pic déplace légèrement vers des potentiels plus positifs.

IV.1.2.2. Variation de l'intensité des pics d'oxydation en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage

Les valeurs des paramètres électrochimiques caractéristiques du complexe déterminées à différentes vitesses de balayage sont regroupées dans le tableau 13.

La représentation des intensités des pics anodiques en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage, I = f ($(V^{1/2})$) est une courbe de concavité tournée vers l'axe des vitesses (Fig.30), ceci indique un transfert de charge associé à une réaction chimique.

Tableau 13 : Evolution de l'intensité du pic anodique (Ipa) en fonction de V_b des solutions des complexes de Cu^{2+}.

Ip_a (µA)	V_b(mV/s)	$V^{1/2}(mV/s)^{1/2}$
326,215	50	7.071
440,175	75	8.66
561,114	100	10
851,283	150	12.25

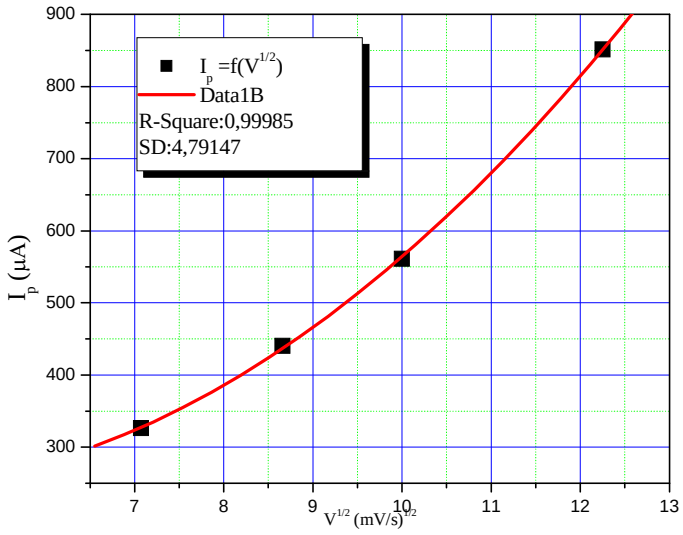


Figure 30 : La courbe I = f ($V^{1/2}$) du système L/Cu^{2+}.

IV.1.2.3. Variation du potentiel du pic d'oxydation en fonction de la vitesse de balayage

Le tracé de l'évolution des potentiels de pic d'oxydation en fonction du logarithme décimal de la vitesse de balayage E = f (LogV) tableau 14 est une courbe (Fig.31), selon Shain et Nicholson le processus lent à la surface de l'électrode est un système lent régit par un transfert de charge associé à une réaction chimique.

Tableau 14 : Variation du potentiel de pic (Epa) des solutions des complexes de Cu^{2+} en fonction de la vitesse de balayage.

Ep_a (mV/ECS)	V_b(mV/s)	LogV
-960.018	50	1.699
-988.994	75	1.875
-1015.415	100	2
-1076.077	150	2.176

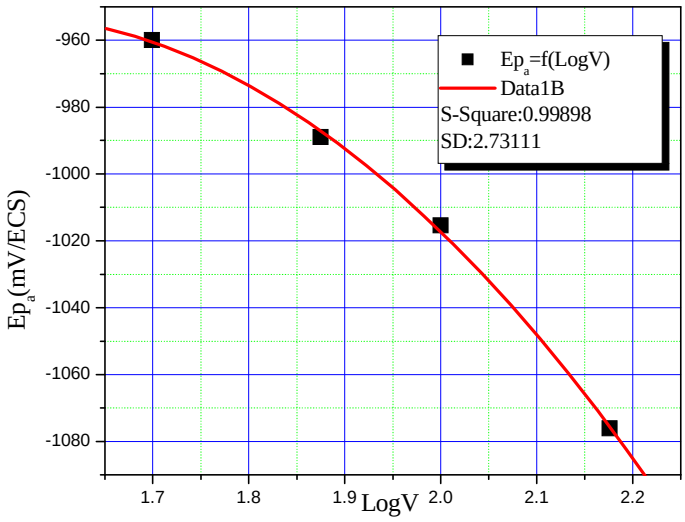


Figure 31 : Variation du potentiel du pic anodique (Epa) en fonction du logarithme décimal de la vitesse de balayage (V_b).

Signalons que le processus à la surface de l'électrode est un système semi rapide régit par la diffusion dans le cas du ligand.

IV.2. Simulation de l'effet de la concentration sur le degré de formation α des complexes de Cu^{2+}

En général les données potentiométriques expérimentales pH= f(V) exploités pour la détermination des constantes d'équilibres en solution (constantes d'acidité, constantes de basicité, constantes de stabilité,…etc) par le programme SUPERQUADE se limitent a la partie de la courbe correspondante à la neutralisation effective des fonctions acides ou basiques, ceci ne permet pas de s'informer correctement sur le domaine de pH entier en solution aqueuse ($0 \leq pH \leq 14$), lors de la détermination de degré de formation à partir des constantes d'équilibres trouvées, les informations fournies ainsi par les courbes de distributions correspondantes sont incomplètes et insuffisantes d'une part et d'une autre part la réalisation d'une série d'expériences en fonction de la concentration est très couteuse, soit au niveau de la concentration des produits qui peuvent être difficiles à synthétiser, soit au niveau du temps qui peut duré plusieurs jours ou même plusieurs semaines.

Afin d'éviter les inconvénients de synthèse on a fait recoure à une application de simulation à l'aide du programme HALTAFAL qui répond aux conditions les plus exigeantes et les plus larges pour obtenir un maximum d'informations.

IV.2.1 Programme HALTAFALL

Le programme HALTAFALL permet de calculer le pourcentage de formation et le domaine de pH d'existence de chaque espèce présente en solution à partir des courbes de répartition $\alpha = f(pH)$. Il permet aussi de calculé l'ensemble des constantes de protonation et de complexation [92].

Ce programme est écrit en **FORTRAN 77**, ses applications principales sont en chimie analytique : simulation de courbes de titrages spectrophotométriques, potentiométriques, compléxométriques etc.…

Ce programme est un simulateur des expériences et permet d'optimiser les conditions de mesure les plus favorables.

Principe du calcul :

On s'intéresse aux solutions homogènes monophasiques constituer par exemple de trois composants A, B et C dont les concentrations analytiques sont A_T, B_T, C_T et les concentrations libres a, b, c.

Les complexes auront une écriture :

$$X_i = A_p B_q C_r$$

Et leurs concentrations :

$$C_i = K_i a^p b^q c^r$$

D'où :

$$A_T = a + \sum p K_i a^p b^q c^r$$

$$B_T = b + \sum q K_i a^p b^q c^r$$

$$C_T = c + \sum r K_i a^p b^q c^r$$

K_i **:** Constante déterminé auparavant.

Le but du calcule est de résoudre ce système d'équations.

IV.2.2. Les courbes simulées de distribution des espèces protonées du ligand MΦHBMP et ses complexes métalliques de Cu^{2+}

Pour calculer le degré de formation des espèces protonées $\mathbf{H_r L_q^{pZ_H+qZ_L}}$ (q=1, p= 1, 2, 3 ou 4. Z_L= -4 et Z_H= +1) du ligand Acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique, on a utilisé les constantes de protonation globales β déterminer par SUPERQUAD au chapitre (III). Le déroulement d'un calcul de α=f (pH) par HALTAFAL nécessite les données suivantes : nombre de paramètres, espèces présentes en solution, dont l'eau est incluse, constantes globales β_i ($i = 1,2,3\ ou\ 4$), constante d'eau K_w et définition des modèles mathématiques correspondants aux équilibres de protonation globales qui peuvent être présentées sous forme simplifier suivant :

		H	L	code
$H^+ + L^{4-} \rightleftharpoons HL^{3-}$	i = 1	1	1	1
$2\,H^+ + L^{4-} \rightleftharpoons H_2L^{2-}$	i = 2	2	1	1
$3\,H^+ + L^{4-} \rightleftharpoons H_3L^{-}$	i = 3	3	1	1
$4\,H^+ + L^{4-} \rightleftharpoons H_4L$	i = 4	4	1	1

Pour les complexes $\mathbf{M_r L_q H_p^{rZ_M+pZ_H+qZ_L}}$ (p = 0, 1, 2, 3, 4, -1 ou -2 ; r = q =1 ; Z_{Cu}= +2 ; Z_H= +1 et Z_L = -4).

Le model mathématique traité par SUPERQUAD est de type :

		M	L	H	code
$M^{2+} + L^{4-} \rightleftharpoons ML^{2-}$	; r =q = 1	1	1	0	1
$M^{2+} + L^{4-} + H^{+} \rightleftharpoons MLH^{-}$	; r = q= p =1	1	1	1	1
$M^{2+} + L^{4-} + 2H^{+} \rightleftharpoons MLH_2$	; r=q=1 , p=2	1	1	2	1
$M^{2+} + L^{4-} + 3H^{+} \rightleftharpoons MLH_3^{+}$	; r=q=1 , p=3	1	1	3	1
$M^{2+} + L^{4-} + 4H^{+} \rightleftharpoons MLH_4$	; r=q=1 , p=4	1	1	4	1
$M^{2+} + L^{4-} + OH^{-} \rightleftharpoons MLOH$	; r=q=1 , p=-1	1	1	-1	1
$M^{2+} + L^{4-} + 2OH^{-} \rightleftharpoons ML(OH)_2$	; r=q=1 , p=-2	1	1	-2	1

Le model retenu et traité ensuite par HALTAFAL est :

M	L	H	code
1	1	0	1
1	1	2	1
1	1	4	1
1	1	-1	1
1	1	-2	1

Le code 1 ordonne au programme de calculé le paramètre.

Le code 0 ordonne le programme de fixé le paramètre.

Le programme exige aussi la mention de tolérance de calcul, la concentration analytique et la précision du domaine de pH ainsi que le nombre de point voulu. Plus le nombre de points est grand (pas le plus petit), plus l'information obtenu est précise.

La possibilité de simulation des résultats expérimentaux, provient du principe de l'indépendance des constantes d'équilibres aux concentrations des espèces en équilibre, c'est

cet aspect qui nous a permet d'étudier par simulation, l'effet de la concentration sur le α et pH de formation des espèces protonés et des complexes.

IV.2.2.1. Résultats de simulations obtenues par le programme HALTAFALL

Après l'exécution du programme HALTAFAL, on obtient les valeurs de degré de formation α = f (pH) qui permet la représentation graphique des espèces formés en solution, sous forme de courbes de distribution, ces courbes indiquent le domaine de pH d'existence de chaque espèce, son degré et son pH de formation maximum ainsi que son domaine de pH de domination.

La figure 32 représente une comparaison des courbes de formations obtenus dans le domaine de pH effective et celles simulés par HALTAFALL sur le domaine de pH complet, allant de pH = 0 à pH = 14.

On observe que les informations données par les courbes de formation des espèces H_4L et du ligand libre L^{4-} sont insuffisantes dans le domaine de pH allant de 2 à 11, le domaine effectif exploité dans les calcules des constantes d'équilibres par SUPERQUADE.

Le tableau 15 regroupe les valeurs des constantes de protonation, le degré $\alpha_{max,}$ pH_{max} et ΔpH de formation.

Tableau 15 : $\alpha_{max,}$ pH_{max} et domaine de formation des espèces $H_rL_q^{pZ_H+qZ_L}$.

Espèces	Constantes de protonation β_i	Δ pH de formation	α_{max}	pH_{max}
L^{4-}	- -	>8	100%	13.27
LH	$4.66\ 10^{10} \pm 0.11$	5 – 11	98 %	08.89
LH_2	$4.05\ 10^{17} \pm 0.13$	3.28 – 9.29	61 %	06.48
LH_3	$3.99\ 10^{23} \pm 0.13$	0 – 7.76	97 %	04.10
LH_4	$2.10\ 10^{25} \pm 0.16$	0 – 4.5	100 %	0

On constate que l'espèce H_2L^{2-} a le taux de formation le plus faible par rapport aux autres espèces on peut établir la séquence suivante :

$$\alpha_{H_4L}(100\%) > \alpha_{H_3L}(98\%) \approx \alpha_{HL}(97\%) > \alpha_{H_2L}(61\%)$$

Le taux de formation du ligand libre L^{4-} est 100% à partir de pH = 13.

H_3L domine entre pH = 2.16 et pH =5.98, H_2L domine entre pH = 6 et pH = 6.98, LH domine entre pH=7 et pH=10.75, H_4L domine entre pH= 0 et pH=2 et L domine à pH>11.

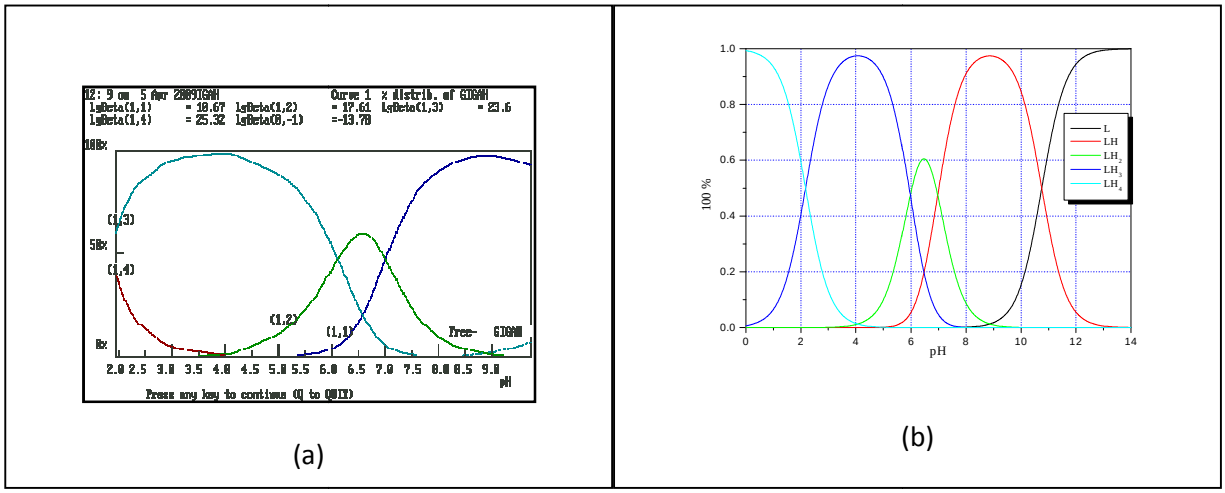


Figure 32 : Courbes de distribution des espèces acides du MΦHBMB :

(a) Courbe trouvée expérimentalement.

(b) Courbe simulées sur le domaine pH = 0 ─ 14.

Les courbes de formation trouvées et simulées sont parfaitement convergées, ceci mène a conclure que la concentration du ligand n'a aucune effet sur α_{max} et pH_{max} de formation des espèces protonés ni sur leurs domaine d'existence **(Fig.33)**.

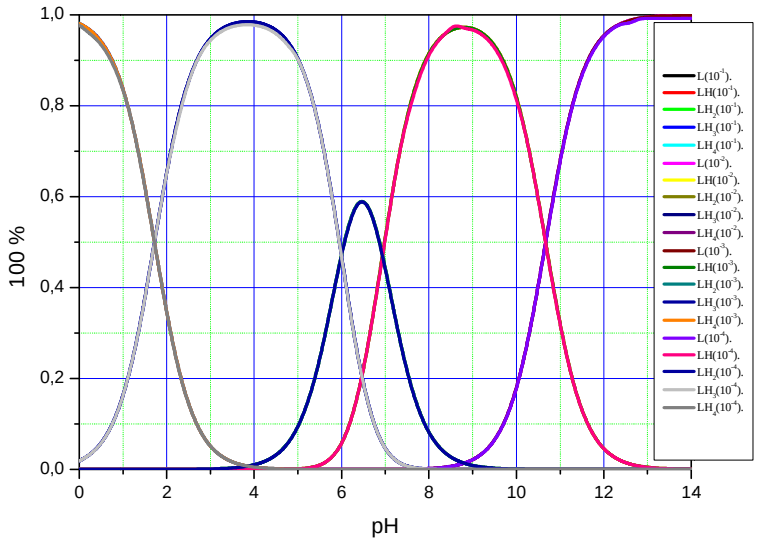


Figure 33 : Simulation de l'effet de concentration sur les courbes de formation des espèces protonés de MΦHBMP.

C_1= 10^{-4} mol/l, C_2=10^{-3}mol/l, C_3=10^{-2}mol/l et C_4=10^{-1}mol/l.

IV.2.2.2. Résultats de simulation de l'effet de la concentration sur le degré de formation des complexes de cuivre formés avec le ligand synthétisé dans une solution aqueuse

Dans cette partie on a effectué une étude de simulation de l'effet de la concentration sur le degré de formation (α_{max}), pH_{max} et le domaine d'existence (ΔpH) de différentes espèces présentes en solution. Les principaux résultats obtenus sont représentées par la figure 34:

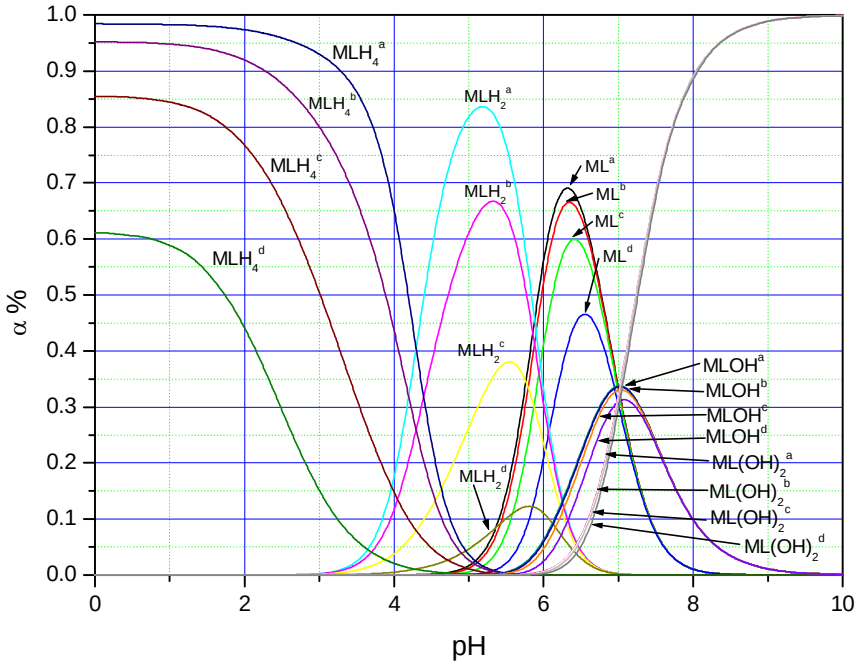


Figure 34 : Effet de la concentration sur α_{max}, pHmax de formation et le domaine d'existence des complexes de Cu formés en solution.

a: C =1.38 10^{-1} mol/l, b: C =1.38 10^{-2} mol/l, c: C =1.38 10^{-3} mol/l, d: C =1.38 10^{-4} mol/l.

Pour mieux illustré l'effet de la concentration sur les complexes, on a étudié cette influence sur chaque espèce séparément. Les concentrations choisies pour la simulation sont :

a: C =1.38 10^{-1} mol/l, b: C =1.38 10^{-2} mol/l, c: C =1.38 10^{-3} mol/l et d: C =1.38 10^{-4} mol/l.

IV.2.2.2.a. Le complexe ML

La figure 35 montre que α_{max} de formation du complexe ML est proportionnelle aux concentrations ($C_L\uparrow$ et $C_M\uparrow$ => $\alpha_{max}\uparrow$), et que le domaine de son existence ΔpH déplace légèrement ver les pH les plus acides ainsi que le pH_{max} (**Tableau 16)**.

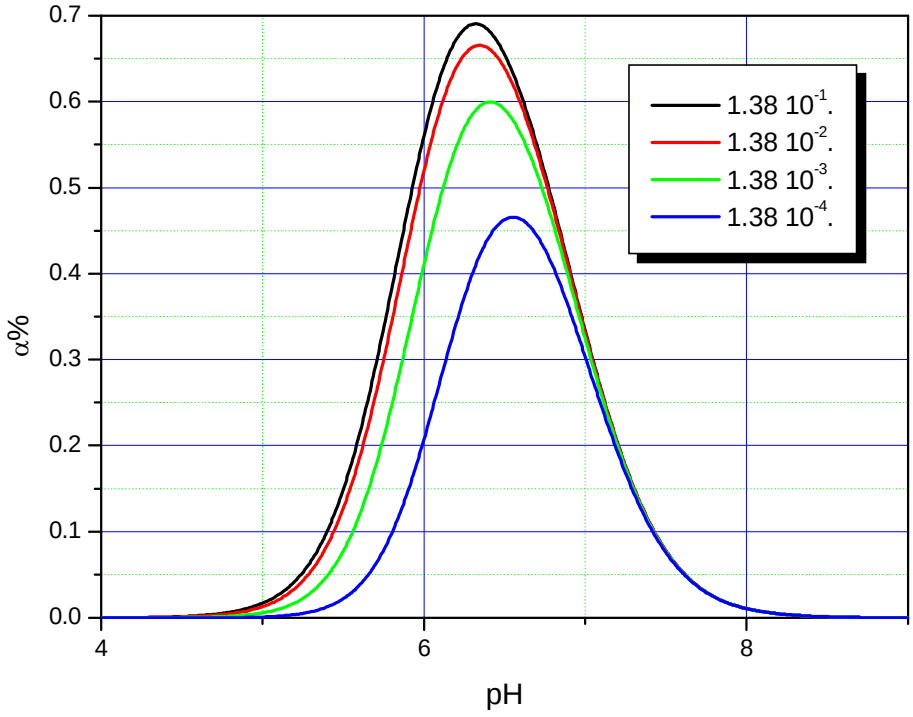


Figure 35 : Effet de la concentration sur le degré de formation et le domaine d'existence du complexe ML.

Tableau 16 : variation de degré de formation α_{max} et de domaine d'existence ΔpH du complexe ML en fonction de la concentration.

$C_L = C_M$ (mol/l)	α_{max}(%)	ΔpH	pH_{max}
$1.38\ 10^{-1}$	69.19	4.49 – 8.41	6.31
$1.38\ 10^{-2}$	66.76	4.64 – 8.41	6.36
$1.38\ 10^{-3}$	60.09	4.87 – 8.41	6.41
$1.38\ 10^{-4}$	46.86	5.09 – 8.41	6.55

IV.2.2.2.b. Le complexe MLH_2

On constate que la concentration a un effet clair et très important sur le α_{max} et pH_{max} de formation du complexe **(Fig.36)**.

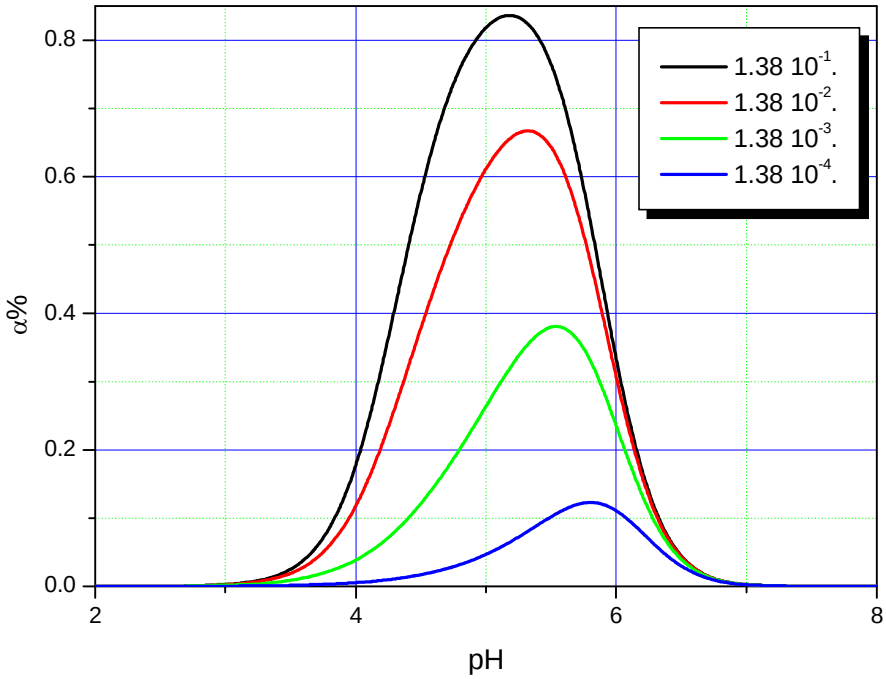


Figure 36 : Effet de la concentration sur le degré de formation et le domaine d'existence du complexe MLH_2.

Les variations principales sont portées dans le tableau 17 :

Tableau 17: variation de degré de formation α_{max} et de domaine d'existence ΔpH du complexe MLH_2 en fonction de la concentration.

$C_L = C_M$ (mol/l)	α_{max}(%)	ΔpH	pH_{max}
$1.38\ 10^{-1}$	83.69	2.74 – 7.01	5.18
$1.38\ 10^{-2}$	66.98	2.85 – 7.01	5.32
$1.38\ 10^{-3}$	38.49	2.96 – 7.01	5.54
$1.38\ 10^{-4}$	12.28	3.22 – 7.01	5.82

IV.2.2.2.c. Le complexe MLH_4 :

La figure 37 montre que le complexe MLH_4 est formé à partir de pH = 0, et que l'augmentation de la concentration, augmente significativement son degré de formation.

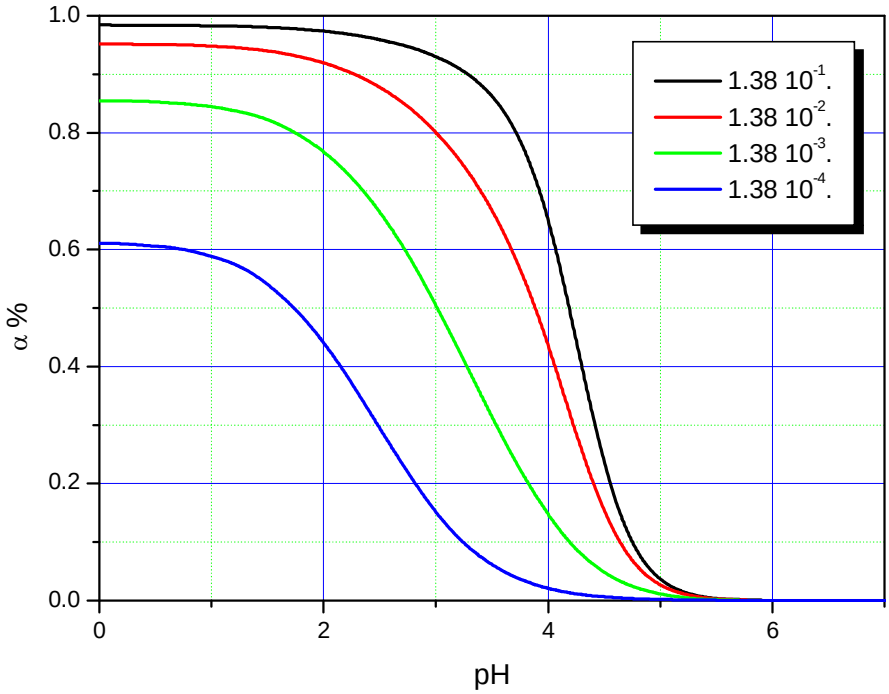


Figure 37 : Effet de la concentration sur le degré de formation et le domaine d'existence du complexe MLH_4.

Les variations principales sont rassemblées dans le tableau 18, ce qu'est intéressant dans ce cas est le domaine de pH de formation qui s'étende sur des zones de pH plus larges lorsque la concentration est plus grande.

Tableau 18 : variation de degré de formation α_{max} et de domaine d'existence ΔpH du complexe MLH_4 en fonction de la concentration.

$C_L = C_M$ (mol/l)	α_{max}(%)	ΔpH	pH $_{max}$
$1.38\ 10^{-1}$	98.07	0.00 – 5.67	0.00 – 2.32
$1.38\ 10^{-2}$	94.95	0.00 – 5.67	0.00 – 1.90
$1.38\ 10^{-3}$	85.74	0.00 – 5.67	0.00 – 1.22
$1.38\ 10^{-4}$	61.08	0.00 – 5.67	0.00 – 0.80

IV.2.2.2.d. Le complexe ML(OH)

L'effet de la concentration sur α_{max} et pH_{max} du complexe hydroxyle ML(OH) est limité **(Fig.38)**, on constate de faible augmentation de α_{max} avant qu'il devient stable.

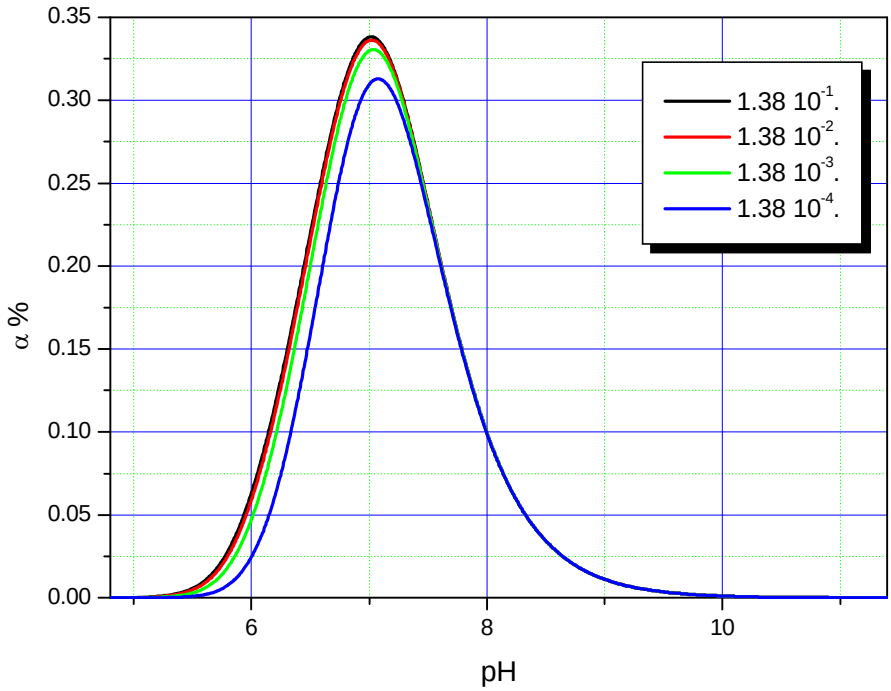


Figure 38 : Effet de la concentration sur le degré de formation et le domaine d'existence du complexe ML(OH).

Dans le tableau 19 sont regroupées les valeurs de α_{max} et pH_{max} calculées à différentes concentrations.

Tableau 19 : variation de degré de formation α_{max} et de domaine d'existence ΔpH du complexe ML(OH) en fonction de la concentration.

$C_L = C_M$ (mol/l)	α_{max}(%)	ΔpH	pH_{max}
$1.38\ 10^{-1}$	34.02	5.08 – 10	7.02
$1.38\ 10^{-2}$	33.62	5.25 – 10	7.03
$1.38\ 10^{-3}$	33.09	5.44 – 10	7.05
$1.38\ 10^{-4}$	31.46	5.61 – 10	7.09

IV.2.2.2.e. Le complexe $ML(OH)_2$

Pratiquement la concentration n'a pas d'effet sur les paramètres α_{max} et pH_{max} du $ML(OH)_2$ (Fig.39).

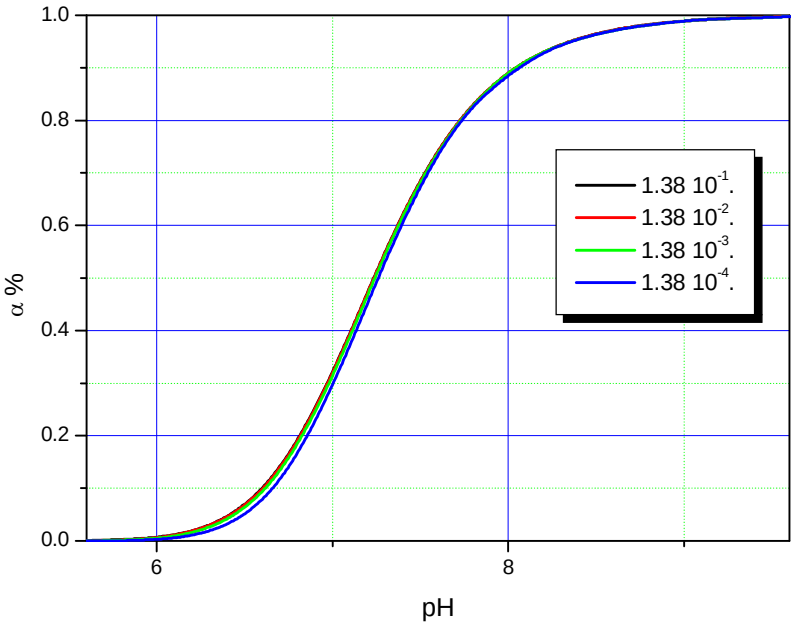


Figure 39 : Effet de la concentration sur le degré de formation et le domaine d'existence du complexe $ML(OH)_2$.

IV.2.2.3. Vérification de la loi de conservation da la matière

La formation des complexes est accompagnée par la diminution des concentrations libres du métal et du ligand. Le ligand se trouve sous forme d'espèces plus ou moins protonées selon la zone de pH étudiée (H_4L, H_3L^-, H_2L^{2-}, HL^{3-} et L^{4-}), pour mieux illustré la dépendance de formation des complexes aux différentes espèces du ligand, on a présenté séparément les courbes de formation de certaines complexes et celles de résidus d'espèces impliquées dans la complexation a partir des résultats de l'étude de l'effet de la concentration par simulation.

Nous avons choisi les complexes ML^{2-}, MLH_2 et MLH_4^{2+} pour la représentation des résultats de la simulation des courbes de formation des complexes et des résidus des espèces de ligand.

La figure 40 présente l'effet de la concentration sur la formation du complexe ML^{2-} et le résidu de l'espèce L^{4-} qui est pratiquement consommé totalement.

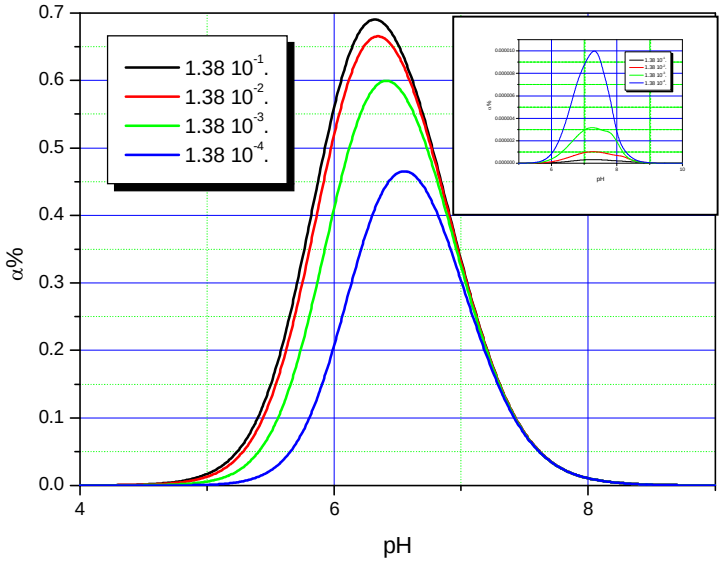


Figure 40 : Effet de la concentration sur la formation du complexe ML et sur le résidu de L^{4-}.

Sur la figure 41 est représenté l'effet de la concentration sur la formation du complexe MLH_2 et le résidu de l'espèce H_2L^{2-} implique dans la complexation.

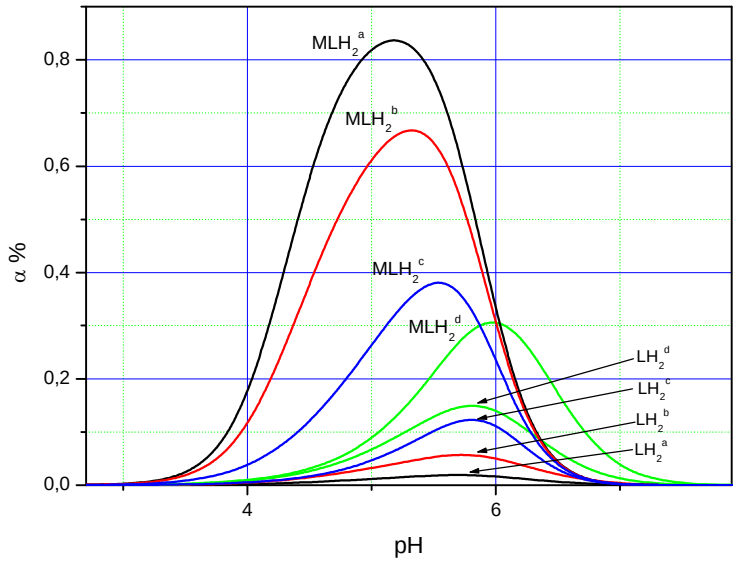


Figure 41 : Effet de la concentration sur la formation du complexe MLH_2

Et sur le résidu de LH_2^{2-}.

a : C=1.38 10^{-1} mol/l, b : C=1.38 10^{-2}mol/l, c : C=1.38 10^{-3}mol/l, d: C=1.38 10^{-4}mol/l.

Les principaux paramètres caractéristiques du complexe MLH_2 et du résidu H_2L^{2-} sont regroupés dans le tableau 20.

Tableau 20 : variation de degré de formation α_{max}, pH_{max} et de domaine d'existence ΔpH du complexe MLH_2 et de résidu LH_2 en fonction de la concentration.

$C_L = C_M$ (mol/l)	$\alpha_{max}^{Rés}$ (%)	α_{max}^{Comp} (%)	$\Delta pH_{Ré}$	ΔpH_{Comp}	$pH_{max}^{Rés}$	pH_{max}^{Comp}
$1.38\ 10^{-1}$	2.03	83.69	3.65 – 7.22	2.47 – 7.01	5.67	5.18
$1.38\ 10^{-2}$	5.73	56.98	3.41 – 7.58	2.85 – 7.01	5.72	5.32
$1.38\ 10^{-3}$	15.02	38.49	2.91 – 7.79	2.96 – 7.01	5.82	5.54
$1.38\ 10^{-4}$	30.82	12.28	2.71 – 7.98	3.22 – 7.01	5.99	5.82

La figure 42 présente les courbes de formation du complexe MLH_4^{2+} et celles du résidu H_4L.

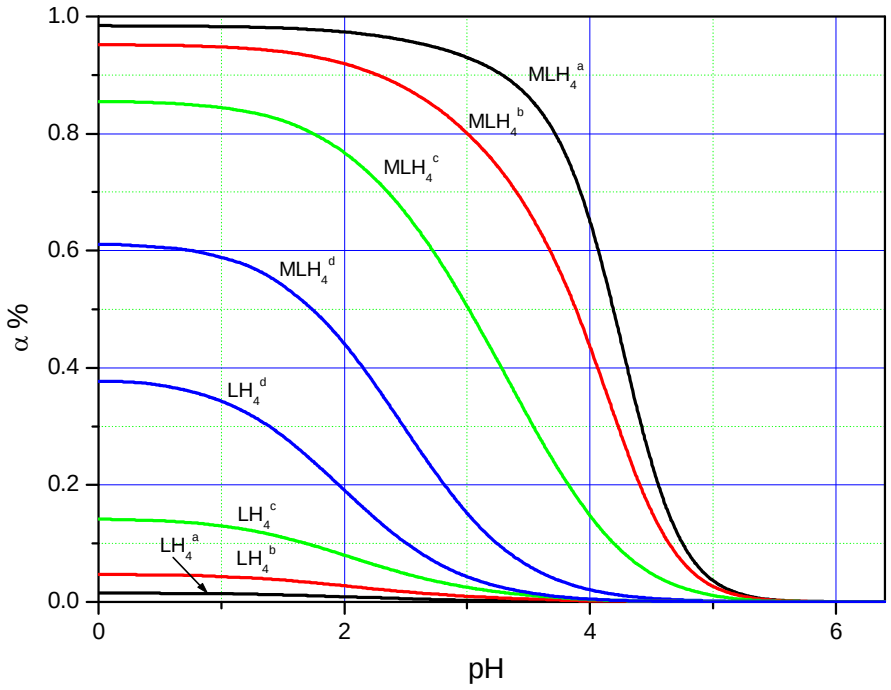


Figure 42 : Effet de la concentration sur la formation de complexe MLH_4

Et sur le résidu de LH_4.

a : C=1.38 10^{-1} mol/l, b : C=1.38 10^{-2}mol/l, c : C=1.38 10^{-3}mol/l, d: C=1.38 10^{-4}mol/l.

Les principaux paramètres caractéristiques du complexe MLH_4 et du résidu H_4L sont regroupés dans le tableau 21.

Tableau 21 : variation de degré de formation α_{max}, pH_{max} et de domaine d'existence ΔpH du complexe MLH_4 et de résidu LH_4 en fonction de la concentration.

$C_L = C_M$ (mol/l)	$\alpha_{max}^{Rés}(\%)$	$\alpha_{max}^{Comp}(\%)$	$\Delta pH_{Ré}$	ΔpH_{Comp}	$pH_{max}^{Rés}$	pH_{max}^{Comp}
$1.38\ 10^{-1}$	1.46	98.07	0.00 – 4.71	0.00 – 5.67	0.00	0.00–2.32
$1.38\ 10^{-2}$	4.85	94.95	0.00 – 4.36	0.00 – 5.67	0.00	0.00–1.90
$1.38\ 10^{-3}$	14.26	85.74	0.00 – 4.07	0.00 – 5.67	0.00	0.00–1.22
$1.38\ 10^{-4}$	37.69	61.08	0.00 – 3.88	0.00 – 5.67	0.00	0.00–0.80

Selon les figures 40, 41 et 42 et les tableaux 20 et 21 on constate que :

- le taux de complexation est proportionnel à la concentration alors que celle du résidu de l'espèce correspondant est inverse.
- Le pH de formation maximal des complexes est plus acide que celui des espèces du ligand convenables implique dans la complexation.
- Le complexe se trouve dans un domaine de pH plus acide que le résidu adéquat.
- Le pH de formation des complexes et des résidus plus concentrées est plus acide.
- la loi de la conservation de la matière est vérifie entre le complexe et le ligand, prend prenons a titre d'exemple la formation du complexe MLH_2 à pH=5.32 pour C=$1.38\ 10^{-2}$mol/l trouve que :

  $\alpha_{max}^{Rés} = 56.98$ et $\alpha_{max}^{Comp} = 5.73$, donc

  La somme des concentrations doit vérifier la relation :

$$\alpha_{maxT}(LH_2) = \alpha_{maxR}(LH_2) + \alpha_{max}(MLH_2)$$

$$\alpha_{maxT}(LH_2) = 5.73 + 56.98 = 62.71$$

Cette valeur correspond exactement à α de formation de l'espèce H_2L^{2-} trouvée lors de l'étude de l'acidité du ligand H_4L à ce pH.

V. TESTES BIOLOGIQUES

V.1. Évaluation de l'activité antioxydante du produit synthétisé

L'étude de la réactivité des antioxydants représente une voie de recherche importante dans plusieurs domaines. Les antioxydants ont un rôle fondamental dans la protection des systèmes biologiques.

Les composés antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt certain dans la conservation des denrées comestibles pour l'industrie agroalimentaire, ils pourraient s'avérer utiles dans la prophylaxie ou le traitement de nombreuses pathologies [92].

Le terme *antioxydant* (on dit parfois *antioxygène*) était à l'origine utilisé pour désigner les substances chimiques qui empêchent les réactions avec l'oxygène. À la fin du XIX^{e} siècle et au début du XX^{e} siècle les propriétés des antioxydants ont été largement étudiées pour leur utilisation dans les procédés industriels afin de réduire par exemple la corrosion des métaux, la vulcanisation du caoutchouc et la polymérisation des carburants dans les moteurs à explosion [93].

En biologie, les premières recherches sur les antioxydants concernèrent la réduction de l'oxydation des acides gras insaturés, cause du rancissement. L'activité antioxydante était facilement mesurée en enfermant des corps gras dans des récipients hermétiques avec de l'oxygène, puis en vérifiant le taux d'absorption de ce dernier. Cependant, ce n'est qu'avec l'identification des vitamines A, C et E qu'est apparue l'importance des antioxydants dans la biochimie des organismes vivants [94].

Les mécanismes possibles des antioxydants ont été étudiés à partir du moment où l'on a compris qu'une substance antioxydante devait être elle-même facilement oxydable. Les recherches sur l'action de la vitamine E dans la limitation de l'oxydation des lipides ont démontré son rôle dans l'élimination des molécules contenant un atome d'oxygène actif avant que ces derniers n'attaquent les cellules [95].

V.2. Propriétés

D'un point de vue chimique, un antioxydant n'est qu'un composé réducteur : il va donc pouvoir réagir avec un oxydant pour le neutraliser. Les antioxydants vont ainsi réduire les

radicaux libres si dangereux pour l'organisme en raison de leur pouvoir oxydant très élevé. Ainsi, les antioxydants présents dans les aliments protègent les molécules organiques, par exemple les graisses ou l'ADN, de l'oxydation et semblent jouer un rôle protecteur contre la cancérogenèse [96].

V.3. Mesure de l'activité antioxydante du ligand synthétisé par la méthode DPPH

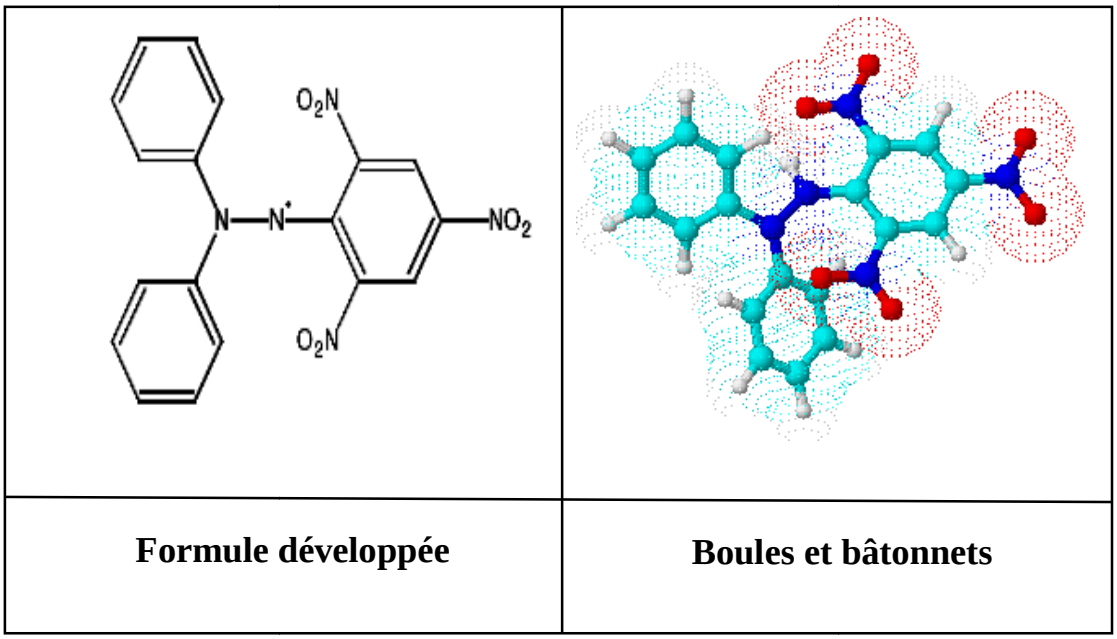
Ce test est basé sur la mesure de la capacité des produits étudiés au cours de notre travail à inhiber le radical DPPH (1,1-diphényl-2-pycril-hydrazyl).

V.3.1. Le radical DPPH

Ce radical **(Fig.43)**, stable au cours du temps, est largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé quelconque [97].

Le DPPH agit en tant qu'un radical libre stable efficace réduit par un antioxydant, montrant un spectre de bande d'absorption à λ_{max}=517 nm avec un couleur violette, la réduction de ce radical nous donne la coloration jaune [98].

Si le composé testé a une activité anti-DPPH, une réduction du nombre de radicaux aura lieu, entrainant ainsi une baisse du signal de spectre UV (absorbance). Plus le composé antioxydant est concentré plus la baisse du signal est importante.



Formule développée	Boules et bâtonnets

Figure 43 : Structure chimique du radical DPPH.

V.3.2. Résultats de mesure de l'activité antioxydante du ligand synthétisé obtenus par DPPH

V.3.2.1. Mode opératoire de l'essai DPPH

L'activité anti-radicalaire du Ligand synthétisé a été évaluée *in vitro,* par le test au DPPH. Le DPPH (2.2 diphenyl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette, vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2.2 diphényl 1 picryl hydrazine. Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Pour cela, des volumes, contenant des quantités équivalentes à celles du ligand synthétisé ont été incubés avec une solution méthanolique de DPPH à 40 µg / ml. A des intervalles de temps réguliers (30min).

Nous avons utilisés un appareil de type UNICOM-UV 100 pour mesurer les absorbances des échantillons. Les absorbances à 517 nm ont été enregistrées.

Pour chaque test, l'activité antioxydante d'un produit est exprimée en pourcentage d'inhibition en utilisant la formule suivante :

$$\%\, \boldsymbol{d'inhibition} = \frac{\boldsymbol{A_{DPPH} - A_{echantillon}}}{\boldsymbol{A_{DPPH}}} \times \mathbf{100}$$

Le profil d'activité antioxydante (la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration) du ligand testé vis-à-vis du radical DPPH est présenté par la figure 44.

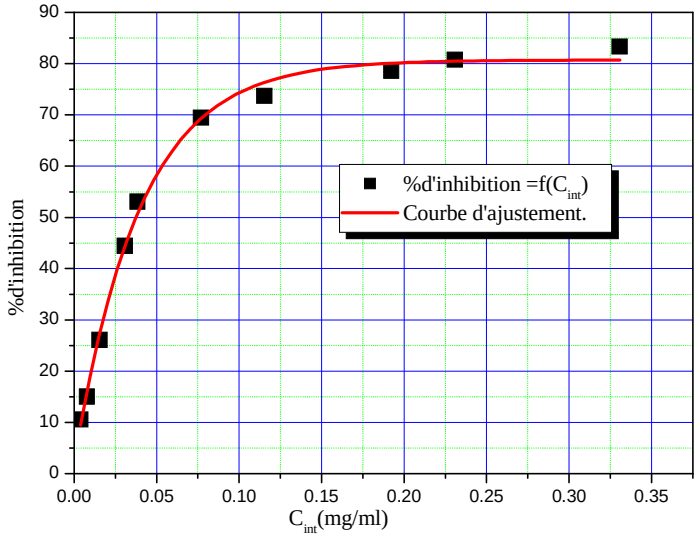


Figure 44 : Influence de l'activité antioxydante du ligand MΦHBMP sur le radical DPPH.

L'activité d'un antioxydant peut être caractérisée par une grandeur appelée l'IC50 : Concentration de l'antioxydant qui permet l'inhibition de 50% du signal de référence.

La IC50 permet de comparer l'activité de différents composées antioxydants. Il est à noter que plus la IC50 est petite plus l'antioxydant a une activité plus importante.

Pour notre ligand la valeur de l'IC50 est déterminé à partir de la courbe de la figure 49, la valeur trouvée est IC50 = 0,038±0,006

Les résultats obtenus pour le ligand testé sont exprimés par rapport à ceux obtenus pour la Quercetine, Rutin et l'acide Gallique prise comme référence, ils sont regroupés dans le tableau 24.

Tableau 22 : Comparaison des IC50 du ligand MΦHBMP et celles des références.

MOLECULE	IC 50 mg/ml
MΦHBMP	0,038±0,0055
Rutine	$0,004\pm0,0008^{ns}$
Quercetine	0,0034±0,000053
Acide Gallique	$0,00058\pm 0,00001^{ns}$

On remarque que le composé testé présente une capacité de capture des radicaux libres importante malgré que son activité antioxydante est inférieure à celle des standards.

V.4. Mesure de l'activité antioxydante totale par la méthode β-carotène-acide linoléique

Dans cet essai la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition des composés organiques volatils et les hydroperoxydes des diènes conjuguent qui surviennent l'oxydation de l'acide linoléique [100,101].

V.4. 1. Mode opératoire du teste β-Carotène-acide linoléique

On a préparé la solution de β–carotène-acide linoléique comme suit :

- Dissolution de 0.5 µl de β-carotène dans 1ml de chloroforme (pour HPLC) ;
- Ajout de 25 µl de l'acide linoléique et 200mg de Tween40 à la solution précédente;
- Evaporation complète du chloroforme utilisé par un évaporateur sous vide à 35°c ;
- Ajout de 100 ml de l'eau oxygénée avec une agitation vigoureuse ;
- On met 2.5 ml de mélange réactionnel obtenu dans des tubes à essais pour chaque extrait (produits à testés) ;
- On ajout 350 µl de chaque extrait (produit à testé) de concentration 2.5 g/l, aux tubes à essais précédents ;
- Les tubes à essais contenants les mélanges finals sont incubés pendant 48h à la température ambiante ;

La même procédure est répétée avec l'antioxydant synthétique BHT comme contrôle positif et avec un blanc.

Les absorbances de chaque extrait (produits à testés) et du BHT sont enregistrées en fonction de temps et mesurées à λ_{max}= 490 nm durant une période de 48h.

La représentation graphique (**Fig.45**) des résultats du Tableau 25 (**ABS = f (temps)**), montre que :

- Au début du temps, de 0 h jusqu'à 6 h on observe que l'absorbance du ligand synthétisé est supérieure à celle du BHT et après 24 h l'absorbance du BHT devient la même à celle de ce ligand. Donc on peut conclure que notre ligand reste stable *durant* 6 h, après il perd partiellement sa stabilité (**08.45%** après 24h et**20.37%** aprés48h);

- Une grande variation de l'absorbance du MeOH et de l'eau a été observée en fonction de temps;

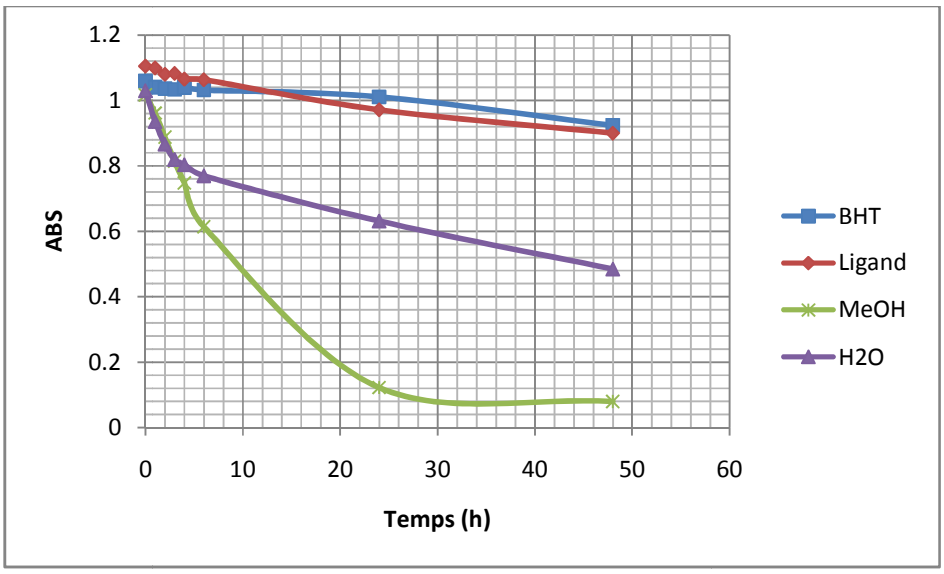


Figure 45 : Variations des absorbances du ligand synthétisé en fonction du temps.

Après calcules des pourcentages d'inhibition du ligand synthétisé, du BHT, du MeOH et de l'eau, une étude comparative sur l'activité et la stabilité a été effectue (**Fig.46**).

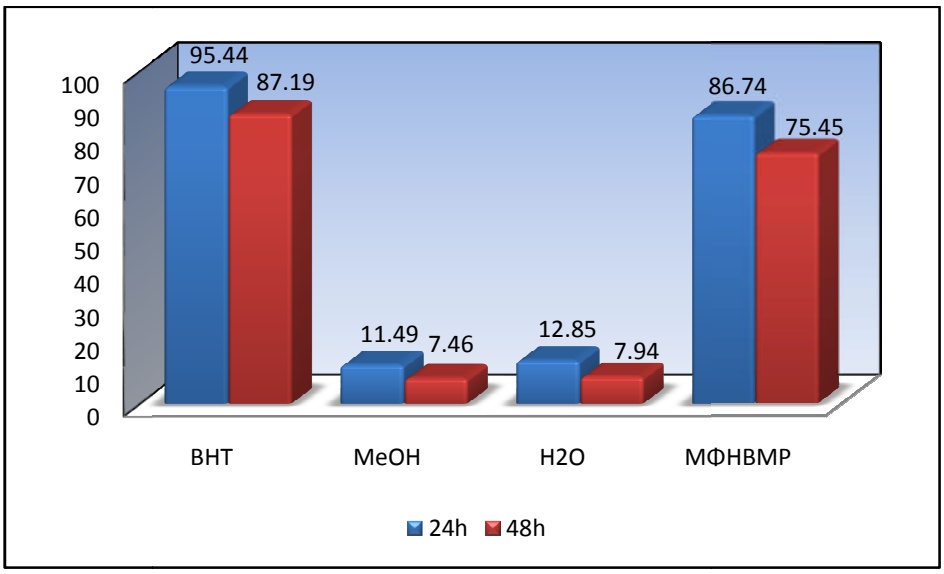


Figure 46 : Comparaison des pourcentages d'inhibition du ligand synthétisé avec celles du BHT, MeOH et H_2O.

Les résultats terrés à partir de l'histogramme de la figure 46 sont présentés dans le Tableau 26.

Tableau 23 : Résultats du test carotène / acide linoléique du ligand synthétisé.

	BHT	**MΦHBMP**	**MeOH**	**H_2O**
t = 24 h	95.44	82.18	11.49	12.85
t = 48 h	87.19	75.45	7.46	07.94

Les résultats présentés dans le Tableau 26 montrent que le ligand synthétisé possède une activité antioxydante très importante et cette activité reste stable et constante en fonction de temps.

CONCLUSION GENERAL

Les travaux décrits dans ce mémoire apportent une nouvelle contribution à la synthèse, la caractérisation et l'application des nouvelles phosphonates. Ils présentent une étude détaillée de simulation en combinant des approches théorique avec des résultats expérimentaux à l'aide d'un programme de calcul HALTAFALL.

Les résultats majeurs peuvent être résumés comme suite :

- Synthèse, purification et caractérisation de nouvelles molécules α-aminophosphonates de la classe des acides bi-phosphoniques par deux voies :
  - Phosphonylation directe du dérivé aminé par l'acide phosphorous H_3PO_3 pour obtenir l'acide pur.
  - Synthèse d'un ester de phosphonates par phosphonylation du dérivé amine avec le triméthyle phosphite suivie par l'hydrolyse qui conduit à l'obtention de l'acide α-aminophosphonique.
- Mis au point du pouvoir acide de la molécule choisie pour les travaux de ce mémoire l'acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique MΦHBMP : pk_{a1}=1.72, pk_{a2}=5.99, pk_{a3}=6.94 et pk_{a4}=10.67.
- L'acide {[2-(4-methylphenyl) hydrazine-1,1-diyl] dimethanediyl} bisphosphonique MΦHBMP est un substrat électroactive caractérisé par deux pics cathodiques Epc_1=-484 mV/ECS, Epc_2= -718 mV/ECS et également deux pics anodiques Epa_1=-405 mV/ECS, Epa_2= -628 mV/ECS, qui indiquent la réduction et l'oxydation de MΦHBMP en deux étapes.
- L'affinité de cette molécule à formé des complexes métalliques en solution aqueuse est mis en évidence avec le Cu^{2+}, le meilleur modèle trouvé est constitué de cinq complexes de type : $[CuL]^{2-}$, $[CuLH_2]$, $[CuLH_4]^{2+}$, $[Cul(OH)]^{3-}$ et $[CuL(OH)_2]^{4-}$ dont la stabilité est exprimée en unité logβ est :

$$\boldsymbol{log\beta_{[CuL]^{2-}} = 9.45 \pm 0.02 \ , log\beta_{[CuLH_2]^{0}} = 21.20 \pm 0.03}$$

$$\boldsymbol{log\beta_{[CuLH_4]^{+2}} = 29.81 \pm 0.05 \, , log\beta_{[CuL(OH)]^{3-}} = 2.47 \pm 0.03}$$

$$\text{Et } \boldsymbol{log\beta_{[CuL(OH)_2]^{4-}} = -4.61 \pm 0.05}$$

La complexation a été confirmée par une étude électrochimique réalisée par la méthode voltampérométrie cyclique qu'a montrée que le système MΦHBMP/Cu^{2+} est caractérisé par un pic cathodique à Ep_{c1}=-1000mV/ECS, un pic anodique large d'intensité faible à Ep_{a1}= -286mV/ECS et un pic anodique à Ep_{a2}=256 mV/ECS, ces caractères sont totalement différents de ceux du ligand et du Cu^{2+}.

- Une étude de simulation effectuée sur l'effet de la concentration nous à permis de conclure que :
  - Le pH de formation maximal, le degré de formation maximal et le domaine de pH de formation du complexe dépendent de la concentration de ses constituants et suit la corrélation suivante :

    Lorsque $\mathbf{C_i\uparrow \Rightarrow \alpha_{fmax}\uparrow, \Delta pH_f\uparrow}$ **et** $\mathbf{pH_{fmax}\downarrow}$.
  - Les complexes sont formés dans des intervalles de pH (ΔpH) plus acides que celles des espèces du ligand plus ou moins protonés correspondantes.
  - Le degré de formation α des complexes est inversement proportionnel à celui de l'espèce du ligand plus ou moins protoné correspondante.
- Les testes biologiques effectués sur la molécule MΦHBMP par la technique de DPPH et la technique β-carotène montrent que l'acide α-aminophosphonique obtenu, est un antioxydant efficace et très important caractérisé par IC50 = 0,038±0,006.
- Ce travail ouvre de nombreuses perspectives importantes :
  - La poursuite de la synthèse des molécules analogues et l'étude des complexes d'autres métaux de transition et lourds pour valoriser leur importance dans le traitement des eaux et la récupération des métaux.
  - La poursuite des applications biologiques pour valoriser leur toxicité et leur éventuelle utilisation dans le domaine pharmacologique *in vivo*.
  - Application dans le domaine d'inhibition de la corrosion et antitartre.

REFERENCES

[1] D. Urkovich, M. Bahitov, E. Kuznetsov. *Izv. VUZ, Khim. i Khim. Teknol*. **1977**, 8, 1249.

[2] K. Troev, Ts. Kisyova, At. Grozeva, G. Borisov. *Eur. Polym. J.* **1993**, 29, 1499.

[3] K. Troev, Ts. Kisyova, At. Grozeva, G. Borisov. *Eur. Polym. J.* **1993**, 29, 1211.

[4] E. Nifantief, T. Kuhareva. *Zh. Obshch. Khim*. **1981**, 51, 2146.

[5] M. Neves, L. Gano, N. Pereira, M. C. Costa, M. R. Costa, M. Chandia, M. Rosado, R. Fausto. *Nucl. Med. Biol*. **2002**, 29, 329.

[6] L. Naesens, N. Bischofberger, P. Augustijns, P. Annaert, G. Van den Mooter, MN. Arimilli et al. *Antimicrob Agents Chemother*. **1998**,42,1568–73.

[7] B.L. Robbins, R.V. Srinivas, C. Kim, N. Bischofberger, A .Fridland. *Antimicrob Agents Chemother*. **1998**, 42, 612–7.

[8] S. Goumain, « *Monosaccharides des hémicelluloses : Matière première pour la chimie organique fine* »**.**Université de Reims Champagne-Ardenne 51687 Reims cedex 2 France, **1996**.

[9] F. R. Atherton, C. H. Hassal, R. W. Lambert. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 29.

[10] P. Dinér, M. Amedjkouh. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2091.

[11] R.A. Paris, J. P. Scharff, « *Complexes chimiques*, *Encyclopédie universels*». France, **1985**.

[12] A. Ringbom, « *Les complexes en Chimie Analytique* ». Dunod, Paris ,**1967**.

[13] M. I. Bruce, G. Wilkinson, F. G. A. Stone, E. W. Abel. « *Comprehensive Organometallic Chemistry* », Pergamon (Oxford), **1982**.

[14] G. O. Spessard, G. L. Miessler. « *Organometallic Chemistry* ». Prentice Hall (New Jersey), **1997**.

[15] C. D'Ham, A. Romieu, M. Jaquinod, D. Gasparutto, J. Cadet. *Biochemistry*. **1999**, *38*, 3335-3344.

[16] G. W. Parshall, S. D. Ittel. « *Homogenous Catalysis* ». Wiley, New York, **1992**.

[17] J. Buffle, A. Tessier, W. Haerdi. « *Complexation of Trace Metals in Natural Waters* ». Martinus Nijhoff/Dr Junk Publishers, The Hague, **1984**.

[18] C.W. Schwietert, J.P. McCue, « *Coordination compounds in medicinal chemistry* ». Coord Chem Rev, **1999**.

[19] A.S. Paraskar, A.Sudalai. http://en.wikipedia.org/wiki/phosphonates. From Wikipidia the free encyclopedia. Consulté en ligne le 08.05.2008 à 10 :19.

[20] A. Dos Santos, L. El Kaim, L. Gaultier. *Synlett*, **2005**, 15, 2335.

[21] G. M. Kosolapoff. *J. Amer. Chem. Soc*.**1946**, *66*, 1103.

[22] A.K. Bhattacharya, G. Thyagarajan. *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 415.

[23] K.D. Troev, «*Chemistry and Application of H-Phosphonates* ». Elsevier Science, 19 juillet **2006**.

[24] N. E. Jacobsen, P. A. Bartlett, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 654; P. Kafarski, B. Lejczak. *Phosphorus, Sulfur, Silicon Rel.* **1991**, *63*, 19.

[25] M. C. Allen, W. B. Fuhrer, Tuck, R.Wade, J. M. Wood. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1652.

[26] S. De Lombaert, L. Blanchard, J. Tan, Y. Sakane, C. Berry, R. D. Ghai. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 145.

[27] S. Chandrasekhar, C. Narsihmulu, S. Shameem Sultana, B. Saritha, S. Jaya Prakash,.*Synlett* **2003**, 8, 505 ; H. Takahashi, M. Yoshioka, N. Imai, K. Onimura, S. Kobayashi. *Synthesis* **1994**, 37, 763.

[28] E. K. *J*. Fields. *Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 1528 ; J. Lukszo, R.Tyka, *Synthesis* **1977**, 50, 239.

[29] A. Heydari, A. Karimian, J. Ipaktschi. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6729; Azizi, N.; Saidi, M. R. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 49, 4630.

[30] H. Firouzabadi, N. Iranpoor, S. Sobhani. *Synthesis.* **2004**, 16, 2692.

[31] S. Chandrasekhar, S. Jaya Prakash, V. Jagadeshwar, C. Narsimulu, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 5561; B. C. Hajra, A. Jana, U. *Org. Lett.* **1999**, 1, 1141.

[32] K. Manabe, S. Kobayashi. *Chem. Commun.* **2000**, 7, 669.

[33] V. Y. Pavlov, M. M. Kabachnik, E. V. Zobnina, V. P. Timofeev, I. O. Konstantinov, B. G. Kimel, G. V. Ponomarev, I. P. Beletskaya. *Synlett.* **2003**, 15, 2193.

[34] E. D. Matveeva, T. A. Podrugina, E. V. Tishkovskaya, L. G. Tomilova, N. S. Zefirov. *Synlett.* **2003**, 15, 2321.

[35] B. Kaboudin, A. Rahmani. *Synthesis.* **2003**, 10, 2705.

[36] B. Kaboudin, A. Rahmani. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 8211.

[37] S. Lee, J. H. Park, J. Kang, J. K. Lee. *Chem. Commun.* **2001**, 12, 1698 ; Lee, S.-G. ; Lee, J. K. ; Song, C. E. ; Kim, D.-C. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2002**, *23*, 667.

[38] F. Xu, Y. Luo, M. Deng, Q. Shen. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 24, 4728.

[39] T. Akiyama, M. Sanada, K. Fuchibe. *Synlett.* **2003**, 17, 1463.

[40] R. A. Cherkasov, V. I. Galkin. *Russ. Chem. Rev.* **1998**, *67*, 857 ; R. Gancarz, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 10627 ; M. N. Dimukhametov, E. V. Bayandina, E. Y. Davydova, A. T. Gubaidullin, V. A. Alfonsov. *Mend.Comm.* **2003**, *13*, 150.

[41] W. M. Henderson, , W. H. Shelver. *J. Pharm. Sci.* **1969**, *58*, 106 ; L. V. Hopkins, J. P. Vacik, W. H. Shelver. *J. Pharm. Sci.* **1972**, *61*, 114 ; A. Oussaid, F. Benyaqad, B. Oussaid, C. Pradel, B. Garrigues. *Phosporous, Sulfur, Silicon.* **2003**, *178*, 1183.

[42] K. M. Yager, C. M. Taylor, A. B. Smith. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9377 ; D. Simoni, F. P. Invidiata, M. Manferdini, I. Lampronti, R. Rondanin, M. Roberti, G. P. Pollini. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7615 ; A. Keplacz, A. Zwierzak. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1079.

[43] A. Manjula, V. Rao, P. Neelakantan. *Synth. Commun.* **2003**, *33*, 2963.

[44] S. Doye. *Synlett.* **2004**, 10, 1653.

[45] I. Schlemminger, A. Willecke, W. Maison, R. Koch, A. Lützen, , J. Martens. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I.* **2001**, 1, 2804.

[46] S. Laschat, H. Kunz. *Synthesis.* **1992**, 13, 90.

[47] J. S. Yadav, B. V. S. ; B. V. S. Reddy, K. S. Raj, K. B. Reddy, A. R. Prasad. *Synthesis.* **2001**, 15, 2277.

[48] B. Boduszek. *Pol. J. Chem.* **2001**, *75*, 663 ; B. Boduszek, M. Soroka. *Pol. J. Chem.* **2002**, 76, 1105 ; M.-P. Teulade, P. Savignac. *Synthesis.* **1987**, 11, 1037.

[49] U. Jahn, J. Andersch, W. Schroth. *Synthesis.* **1997**, 5, 573 ; A. Atmani, J.-C. Combret, C. Malhiac, , J. K. Mulengi. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 6045 ; K. Moonen, C. V. Stevens. *Synthesis.* **2005**, 18, 3603.

[50] P. A. Bartlett, C. K. Marlowe, P. E. Giannousis, J. E. Hanson. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol*. **1987**, 52, 83–90; Collinsova´, M.; Jira´cˇek, J. Curr. *Med. Chem*. **2000**, 7, 629–647; Yiotakis, A.; Georgiadis, D.; Matziari, M.; Makaritis, A.; Dive, V. Curr. *Org. Chem*. **2004**, 8, 1135– 1158; Dive, V.; Georgiadis, D.; Matziari, M.; Makaritis, A.; Beau, F.; Cuniasse, P.; Yiotakis, A. Cell. *Mol. Life Sci*.**2004**, 61, 2010–2019.

[51] D. D. Baird, R. P. Upchurch, W. B. Homesley, J. E. Franz. *Proc. North Cent. Weed Control Conf*, **1971**, 26, 64.

[52] L. Divinskaya, V. Limanov, E. Skrotsova. *Zh. Obshch. Khim*, **1966**, 36, 1244.

[53] E. Nifantief, A. Zavalishina, *Zh. Obshch. Khim*, **1967**, 37, 1854.

[54] Herbicide Handbook of the Weed Science Society of America, Fourth Edition, WSSA, Champaign, Illinois, **1979**.

[55] R. E. Hoagland. *Weed Sci*, **1980**, 28, 393.

[56] H. Mitsuya, K. Weinhold, P. A. Furman, M. H. St. Clair, S. N. Lehrman, R. C. Gallo, D. Bolognesi, D. W. Barry, S. Broder. *Proc. Natl. Acad. Sci*., *USA*, **1985**, 82, 7096.

[57] P. A. Furman, J. A. Fyfe, M. H. St. Clair, J. Rideout, G. A. Freeman, S. N. Lehrman, D. P. Bolognesi, S. Broder, H. Mitsuya, D. W. Barry. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, **1986**, 83, 8333.

[58] C. F. Perno, R. Yarchoan, D. A. Cooney, N. R. Hartman, D. S. Webb, Z. Hao, H. Mitsuya, D. G. Johns, S. Broder. *J. Exp. Med*, **1989**, 169, 933.

[59] T. S. Lin, R. F. Schinazi, W. H. Prusoff. *Biochem. Pharmacol*, **1987**, 36, 2713.

[60] J. Machado, H. Salomon, M. Olivera. *Nucleosides Nucleotides*, **1999**, 18, 901; N. Tarussova, M. K. Kukhanova, A. A. Krayevsky, E. K. Karamov, V. V. Lukashov, G. B. Kornilayeva, M. A. Rodina, G. A. Galegov, *Nucleos. Nucleot*, **1991**, 10, 351.

[61] A.T. Stone, M.A. Knight, B. Nowack. "*Speciation and chemical reactions of phosphonate chelating agents in aqueous media*". In: Lipnick RL, Mason RP, Phillips ML, Pittman CU, editors. Chemicals in the environment: fate, impacts and remediation, ACS Symposium Series No. 806. Washington, DC: American Chemical Society, **2001**.

[62] M. Uller G, F. U. Orstner. *Z Wasser Abwasser Forsch*. **1976**, 9, 150.

[63] B. Nowack, A.T. Stone. *Environ Sci Technol* **1999**, 3, 3627–33.

[64] F.H. Browning, H.S. Fogler. *Langmuir* **1995**, 11, 4143–52.

[65] A.J. Gerbino. " *Quantifying the retention, release of polyphosphonates in oil and gas producing formations using surface complexation and precipitation theory*". Dissertation, Rice University, Texas, **1996**.

[66] B .Horstmann, A .Grohmann. *Vom Wasser.* **1988**, 70, 163–78.

[67] M. G Uller, J. Steber, H .Waldhoff. *Vom Wasser.* **1984**, 63, 63–78.

[68] F.G. Kari, W. Giger. *Environ Sci Technol.* **1995**, 29, 2814–27.

[69] K. Fischer. *Water Res.* **1993**, 27, 85–493.

[70] A.E. Martell, R.J. Motekaitis, A.R. Fried, J.S. Wilson, D.T. MacMillan. *Can J Chem.* **1975**, 53, 3471–6.

[71] N.A. Kaslina, I.A .Polyakova, A.V. Kessenikh, B.V. Zhadanov, M.V.Rudomino, N.V. Churilina, M.I.Kabachnik. *J Gen Chem USSR.* **1985**, 55, 472–5.

[72] J.R.J. Sorenson, G.P. Ellis and G.B.West Editors., *Elsevier Science Publischers*. **1989**, 42, 437-568.

[73] J.E Weder, C.T. Dillon, T.W. Hambley, B.J. Kennedy, P.A. Lay, J.R. Biffin, H.L. Regtop, and N.M.Davies. *Coord Chem Rev*. **2002**,232, 95-126.

[74] J.P. Klinman. *Chem Rev.* **1996**, 96, 2541-2561.

[75] E.I. Solomon, U.M. Sundaram, and T.E. Machonkin. *Chem Rev*. **1996**, 96, 2563-2605.

[76] R. Uauy, M. Olivares and M.Gonzalez. *Am J Clin Nutr*. **1998**, 67, S952-S959.

[77] A.F. Miller. *Curr Opin Chem Biol*. **2004**, 8, 162-168.

[78] Marie, Ledecq, « *Les complexes métallo-organiques au cuivre (II), une nouvelle famille d'inhibiteurs de la protéase du virus de l'immunodéficience humaine de type 1* ».Thèse de doctorat en science de l'université de Notre-Dame de la Paix, Namur, Belgique, **2004**.

[79] P. G. Baraldi, M. Guarneri, F. Moroder, G. P. Polloni, D. Simoni. *Synthesis*. **1982**, 11, 653.

[80] K. Randerath. « *Chromatographie sur couches minces* ». Gauthier-Villars, Paris, **1971**. P 132-134.

[81] R.M. Silverstein, G.C. Basler, T.C.Morill. « *Identification spectrométrique de composés organiques* ». De Boeck Université, Paris, Bruxelles, **1998.**

[82] H. H. Willard, L. L. Merritt Jr., J. A. Dean et F. A. Settle Jr. «*Instrumental Methods of Analysis*». Wadworth Publishing Co., New York, **1981**.

[83] W.R. Croasmun. « *Two-dimensional NMR spectroscopy – applications for chemists and biochemists* ». Carlson, R.M.K. VCH, New-York, **1987**.

[84] J.B. Lambert, E.P. Mazzola. « *Nuclear magnetic resonance spectroscopy – an introduction to principles, applications and experimental methods* ». Pearson/Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey**, 2003.**

[85] A. Sabatini, A. Vacca, P. Gans. *Coord. Chem. Rev*. **1992**, 120, 389-405.

[86] P. Gans, A. Sabatini, A . Vacca. *Inorg. Chim. Acta*. **1976**, 18, 237-239.

[87] A.J. Bard, L.R. Faulkner. « *Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications, 2nd ed* ». John Wiley and Sons, New York, **2001**.

[88] R. Greef, R. Peat, D.Pletcher. «*Instrumental Methods in Electrochimestry*». Southampton Electrochimistry Group, Ellis Horwood Limited.New Yourk **1985**.

[89] R. Sercik, *C.Z. Chem*. **1948**, 13, 349.

[90] H. Matsuda, Y. Ayabe. *Electrochem*. **1955**, 59, 494

[91] P.Delahay, j.*Am.Chem.Soc*. **1990,** 75, 1953.

[92] N.Ingrt, W. K. A. Kolowicz, L. G. Sillen, B. Warnquit, *Talanta* . **1967**, 14, 1261.

[93] Th. HENNEBELLE. « *investigation chimique,chimiotaxonomique et pharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants : Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbénacées)* », thèse doctorat en chimie organique et macromoléculaire.université des sciences et technologies de Lille, Soutenue le 24 novembre **2006**.

[94] S. Hercberg, P. Galan, P. Preziosi, S. Bertrais, L. Mennen, D. Malvy, A.M. Roussel, A. Favier, S. Briancon. « *The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals*». Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale, Unite de Recherche Medicale INSERM/Institut National de la Recherche Agronomique/Conservatoire National des Ants et Metiers (CNAM), Paris, France. Arch Intern Med. **2004** Nov 22;164(21):2335-42.

[95] G. Bjelakovic, D. Nikolova, L.L. Gluud, R.G. Simonetti, C. Gluud. «*Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various*

diseases », Cochrane Database of Systematic Reviews, 2008;2 DOI:10.1002/14651858. CD007176.

[96] H. Sies, W. Stahl. *Am. J. Clin. Nutr.* **1995**, 62, 1315S-1321S.

[97] D. Tasdemir. «*Phytochemical and biological investigation of turkish Leonurus species, emphasizing on the diterpenoids of Leonurus persicus*». Mémoire de doctorat, Institut Suisse de la Technologie, Zurich , **1997**.

[98] Q. Yingkum, C.Yingjie, P.Yupin, M. Hisashi et Y. Masayuki. *Chem. Pharm. Bull.* **2002,** 50, 1507-1510.

[99] D. Lee, N. Kim, S. Lee. *J Biological & pharmaceutical bulltin*. **2001,** 24, 727-728.

[100] H. Wiseman. *Biochem. Soc. Symp.* **1995,** 61, 209-219.

[101] N. Cotelle, J.L. Bernier, J.P. Catteau, J. Pommery, J.C. Wallet, E.M. Gaydou. *Free Radic. Biol. Med*. **1996**, 20, 35-43.