



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMEN

Faculté des Sciences

Département de Chimie

Laboratoire des substances naturelles et bioactives

(LASNABIO)

MEMOIRE

*En vue de l'obtention du MASTER EN CHIMIE*

*Option : Molécules Bioactives, Synthèse et Application*

## Thème

**Evaluation des propriétés catalytiques des complexes de cuivre(II)**

**dérivés de structures pyrazoliques synthétisés « *in situ* »**

**dans l'oxydation du catéchol**

Présenté par : *Melle ABDELKRIM Habiba*

Soutenu le 05/06/16 devant le comité du jury composé de :

Président	DJABOU Nassim	MCA	Université de Tlemcen
Examineurs	BENDAHOU Mourad	Professeur	Université de Tlemcen
	AINSEBA Nabila	MCA	Université de Tlemcen

Sous l'encadrement du : **Dr. MERAD Nouria**

Année Universitaire **2015/2016**

## *Dédicace*

*Aux femmes de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celles qui sont toujours sacrifiées pour me voir réussir, à vous mes mère Fatima et Mimounna.*

*A mon père qui m'a toujours accompagné durant mon chemin d'études.*

*A mes frères NOUREDIN, SID AHMED, MOURAD et ma sœur HASSIBA.*

*A toute la famille du grand père jusqu'à mon neveu moaad .*

*A mon fiancé qui a fait preuve jusqu'à son dernier souffle, d'une détermination et d'un courage gravés à jamais dans mon cœur.*

*A mes amies qui m'ont aidés toujours et m'encouragés, qu'ils ont été toujours à mon côté, et aux collègues d'étude, Merci.*

*HABIBA*

## Remerciements

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Substances Naturelles et Bioactives de l'Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen sous la direction de Madame MERAD née BOUSSALAH Nouria (Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen). Qu'elle veuille trouver ici l'expression de ma reconnaissance pour l'intérêt et l'encouragement qu'elle a manifesté envers mon travail et pour ses précieux conseils.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent à Monsieur le Professeur GHALEM Said, Directeur du Laboratoire de Substances Naturelles et Bioactives, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et d'avoir mis à notre disposition le matériel et produits nécessaires à la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à remercier Monsieur DJABOU Nassim (Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen) de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Je tiens à adresser aussi mes remerciements à Madame AIN SEBAA Nabila (Docteur à l'Université de Tlemcen, annexe Maghnia) ainsi qu'à Monsieur BENDAHOU Mourad (Professeur à l'université de Tlemcen) d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Je ne peux, bien sûr, oublier de témoigner ma profonde gratitude à tous mes enseignants qui ont contribué à ma formation.

Un grand remerciement est adressé à ma camarade Mademoiselle BOUHASSAN Nadia, de m'avoir accordé ce qu'elle a de précieux, son temps, pour sa gentillesse ainsi que son dévouement. Que Monsieur MISSOUM Noureddine trouve toute ma reconnaissance pour l'aide qu'il m'a apportée.

## Sommaire

<i>INTRODUCTION GENERALE</i>	1
<i>Chapitre I : Recherche Bibliographique</i>	
I. Introduction	3
I.1. Recherche bibliographique	4
<i>Chapitre II : Synthèse des tripodes pyrazoliques monocentriques et bicentriques</i>	
I. Introduction	10
II. Stratégie de synthèse	10
Tripodes à jonction Azote-Carbone-Azote	
II.1. Synthèse de (3,5-diméthylpyrazol-1-yl) méthanol	10
II.2. Synthèse des tripodes monocentriques	11
II.3. Synthèse des tripodes bicentriques	11
III. Partie expérimentale	13
III.1. Synthèse du 3,5-diméthyl-1H-pyrazole	13
III.2. Synthèse du (3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl) méthanol	13
III.3. Synthèse de tripodes pyrazoliques monocentriques	14
III.3.1. Synthèse du N, N-bis ((3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl) méthyl) aniline L1.	14
III.3.2. Synthèse du N, N-bis((3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)méthyl)benzylamine L2.	14
III.3.3. Synthèse du ligand monocentrique le 2-(bis((3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)méthyl)amino)ethanol L5.	15
III.4. Synthèse de tripodes pyrazoliques bicentriques	16
III.4.1. Synthèse du N, N, N', N'-Tétrakis (3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)- $\alpha$ , $\alpha'$ -diamino-m-xylène L3	16
III.4.2. Synthèse du N, N, N', N'-Tétrakis ((3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl) méthyl) benzène-1,4-diamine L4.	17
<i>Chapitre III : Evaluation de l'activité catalytique des complexes de cuivre (II) dans la réaction d'oxydation du catéchol en o-quinone</i>	
I.Introduction	18
II. Les enzymes, catalyseurs des réactions au sein de l'organisme	19
II.1. Les enzymes	19
II.1. 1. Cofacteurs	19
II.1.2. Site actif	20
II.1.3. Les Différentes Catégories d'Enzymes	20
II.1.4. Les classes d'enzymes	21
II.2. Métalloenzymes	21
II.2.1. La Tyrosinase	22
II.2.2. La Catéchol Oxydase	23
III. Etude cinétique de l'oxydation du catéchol en O-quinone	24
III.1 Rappels et définitions	24
III.1.1. Activité Catalytique	24
III.1.2. Vitesse de formation du produit (V)	25

III.1.3. Concentration d'activité catalytique (b)	25
III.2. Etude Cinétique de l'oxydation du Catéchol seul	25
III.3 Etude Cinétique d'oxydation du Catéchol en O-quinone en présence des complexes préparés « <i>in situ</i> »	26
IV. Résultats et discussion	28
IV.1. Oxydation du catéchol en présence des complexes formés avec les ligands	28
IV.1.1. Première série : L1-L4	28
IV.1.2. Étude de l'effet de la nature du ligand sur la cinétique d'oxydation du catéchol en o-quinone.	30
IV.1.3. Deuxième séries : L6-L9	31
IV.1.4. Etude comparative des activités catalytiques des deux séries	32
IV.1.5. Troisième série : L5-L10	33
V. Conclusion	35
<i>CONCLUSION GENERALE</i>	36
<i>Reference</i>	38

# *Introduction Générale*

La chimie des protéines fascine les chimistes de synthèse, en particulier par les vitesses ou les sélectivités extraordinaires des réactions enzymatiques. C'est notamment le cas de l'activation de l'oxygène moléculaire, catalysée par des métallo-enzymes. Ce processus est primordial dans le monde du vivant puisqu'il permet d'utiliser l'oxygène de l'air dans des réactions d'oxydation désirées et contrôlées. Il existe aujourd'hui une approche bio-inspirée de cette catalyse chimique qui consiste à mimer en partie la structure d'un site actif d'enzymes pour essayer de reproduire son activité [1,2].

Le site actif protéique des métallo-enzymes définit l'environnement du métal (nature des ligands, géométrie du site de coordination), protège les espèces réactives formées, assure une sélection sur la nature du substrat et facilite son acheminement au site actif puis son évacuation après réaction. Une approche pour aborder et étudier ces phénomènes de reconnaissance, de contrôle et de réactivité consiste en l'élaboration de systèmes modèles, c'est-à-dire de systèmes artificiels de faible poids moléculaire reproduisant ou mimant un ou plusieurs aspects préjugés importants dans l'activité biologique.

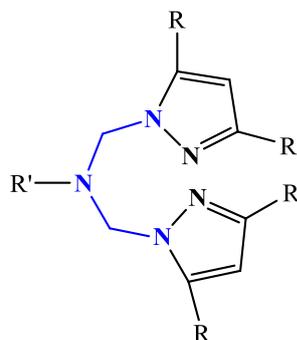
D'un point de vue appliqué, l'objectif d'un tel travail de modélisation chimique est d'élaborer de nouveaux récepteurs moléculaires avec comme perspective, à plus long terme, la mise au point de systèmes pouvant agir comme catalyseur.

La stratégie repose sur la synthèse de systèmes moléculaires fonctionnalisés par des groupements coordinants mimant les résidus imidazole des sites histidine classiquement présents au site actif des enzymes.

Il est à noter que dans les macromolécules biologiques, les principaux sites de chélation sont des atomes d'azote et d'oxygène et plus rarement l'atome de soufre. Parmi les groupes donneurs oxygénés, les groupements carboxyliques et phénoliques sont les plus importants, et dans le cas des groupes donneurs azotés ce sont les imidazoles.

Les applications diverses du pyrazole, un isomère structural de l'imidazole, et de ses dérivés dans différents domaines ; la médecine, la pharmacologie [ 3-6] et principalement les propriétés catalytiques de ses complexes de métaux de transition, ont encouragé beaucoup de chercheurs à mettre au point de nouveaux ligands polyazotés contenant un ou plusieurs hétérocycles insaturés à cinq chaînons.

Les tripodes pyrazoliques se caractérisent par la présence de deux atomes d'azote pyrazolique  $sp^2$  et un atome d'azote aminique  $sp^3$ , pouvant contribuer à la complexation d'un métal. En effet, les trois sites de complexation sont bien disposés pour orienter leurs doublets de façon pyramidale étant donné que la complexation se fait selon un arrangement en tripode (figure 1).



Tripode bipyrazolique à jonction N-C-N

Figure 1

Par ailleurs, la complexation de ces tripodes avec quelques métaux de transition aboutit à des composés ayant des propriétés catalytiques comparables à celles trouvées dans les systèmes biologiques.

L'objectif de notre travail est de synthétiser des ligands pyrazoliques monocentriques et bicentriques et d'évaluer les propriétés catalytiques de leurs complexes de cuivre (II) synthétisés « *in situ* » dans la réaction d'oxydation du catéchol en *o*-quinone dans le but de mimer une des fonctions de la tyrosinase qui est la catéchol oxydase.

Ce travail s'organise en trois chapitres

**Le premier chapitre** est réservé à l'étude bibliographique portant sur la synthèse de tripodes pyrazoliques. Ces composés sont particulièrement intéressants comme ligands pour la formation de complexes utilisés comme modèles de systèmes bioorganiques.

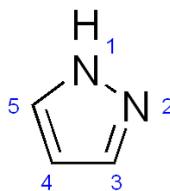
**Le deuxième chapitre** est consacré à la synthèse et la caractérisation des ligands obtenus par condensation d'amines avec le pyrazole. Ces tripodes sont caractérisés par la présence d'une jonction N-C-N (pyrazole) et d'une chaîne latérale comportant un groupement aryle qui leur confèrent un intérêt certain.

**Dans le troisième chapitre**, nous nous sommes inspirés des métalloenzymes pour étudier l'activité catalytique des complexes cuivriques des tripodes bipyrazoliques monocentriques et bicentriques synthétisés, dans la réaction d'oxydation du catéchol en *ortho*-quinone; une fonction principale de la tyrosinase.

# *Recherche Bibliographique*

## I. INTRODUCTION

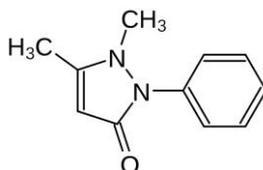
Le pyrazole est un hétérocycle aromatique caractérisé par une structure de cycle à 5 avec trois atomes de carbone et deux atomes d'azote en positions adjacentes. Par ailleurs cette structure est très rare dans la nature (figure 2).



Pyrazole

Figure 2

Depuis l'introduction de l'antipyrine (figure 3) en 1883 par Ludwig KNORR [7], une grande attention a été portée aux dérivés pyrazoliques. Ces structures ont été étudiées pour le développement de nouveaux composés ayant des activités hypoglycémiques, analgésiques, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, anti-mycobactérie, anti-oxydantes, antivirales, anti tumorales, analgésiques et antipyrétiques [8-15].



Antipyrine

Figure 3

Cet hétérocycle est également très présent dans l'agrochimie, on le retrouve dans de nombreux composés herbicides, fongicides et insecticides. Aussi, il est présent dans la formule de nombreux colorants, tant sous sa forme pyrazole que pyrazole condensé.

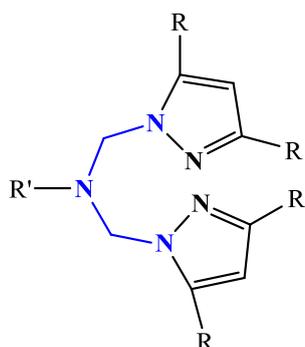
Depuis les travaux innovateurs de Driessen en 1982 [16,17], des ligands chélateurs à base de pyrazole et leurs complexes de métaux de transition ont été synthétisés en raison de leur stabilité structurelle et leur capacité catalytique. Ils sont utilisés en tant que catalyseurs pour les transformations biologiques [18-21], en tant qu'agents biologiques [22-24], en tant que capteurs de cancer, et comme des catalyseurs dans des réactions d'hydrolyse et l'oxydation [20, 25, 26,21].

Le pyrazole et ses dérivés ont la particularité de se coordonner facilement aux différents métaux de transition. La chimie de coordination de ces produits suscite un grand intérêt. Les complexes des métaux de transition dérivés des ligands pyrazoliques sont utilisés pour l'élaboration de modèles de métalloprotéines.

Dans ce chapitre, nous allons donner un aperçu bibliographique sur un certain nombre de ligands pyrazoliques synthétisés dans le but de complexer les métaux de transition pour en faire des modèles de métalloenzymes.

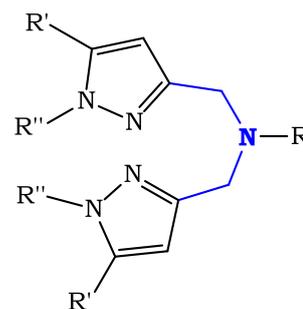
## II. RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

Un très grand nombre de structures de type tripode pyrazolique a été synthétisé. Ces structures possèdent un azote  $sp^3$  lié par deux chaînes carbonées à deux pyrazoles. Le pyrazole est lié à la chaîne soit au moyen d'un azote : ligand à jonction azote-carbone-azote, soit au moyen d'un carbone : ligand à jonction carbone-carbone-azote. Les tripodes possédants un seul centre de complexation sont monocentriques, et ceux avec deux centres de complexation sont bicentriques (figures 4-7).



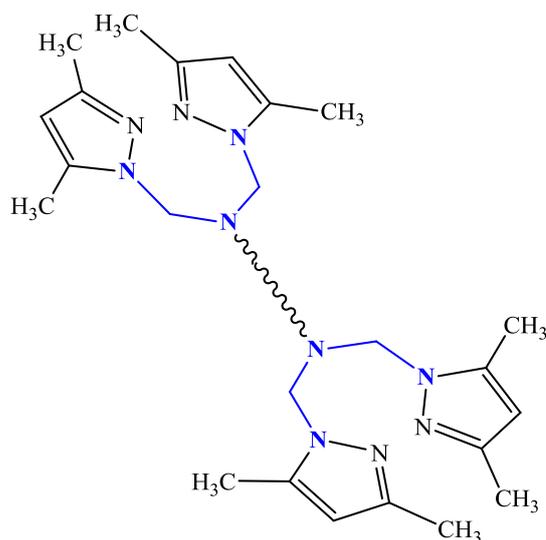
Monocentrique à jonction N-C-N

Figure 4



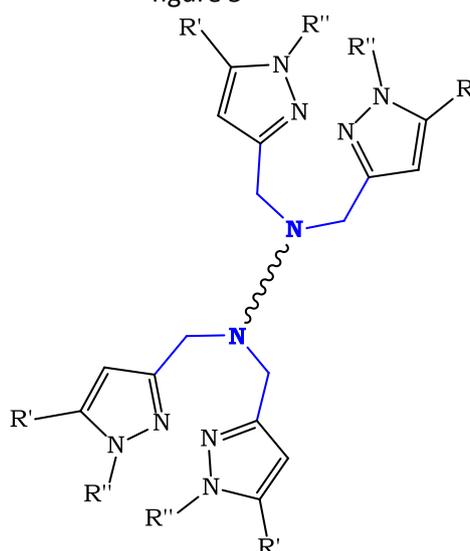
Monocentrique à jonction N-C-C

figure 5



Bicentrique à jonction N-C-N

Figure 6



Bicentrique à jonction N-C-C

figure 7

M. Daoudi et Coll. [27] ont synthétisé des séries de ligands pyrazoliques par condensation de l'aniline (3a-b), p-toluidine (4a-b), benzylamine (5a-b) ou *para*-phénylènediamines (6a-b) avec les pyrazoles *N*-hydroxyméthyl disubstitués ( 1 et 2) dans l'acétonitrile anhydre à température ambiante pendant 4 à 7 jours. Les réactions sont très lentes mais sélectives. La synthèse de ces ligands est relativement facile et les composés désirés sont isolés avec de bons rendements (Schéma 1).

Les composés pyrazoliques polydentés sont particulièrement intéressants comme ligands pour la formation de complexes polynucléaires, comme modèles de systèmes bioorganiques [28] et comme précurseurs de la catalyse [29].

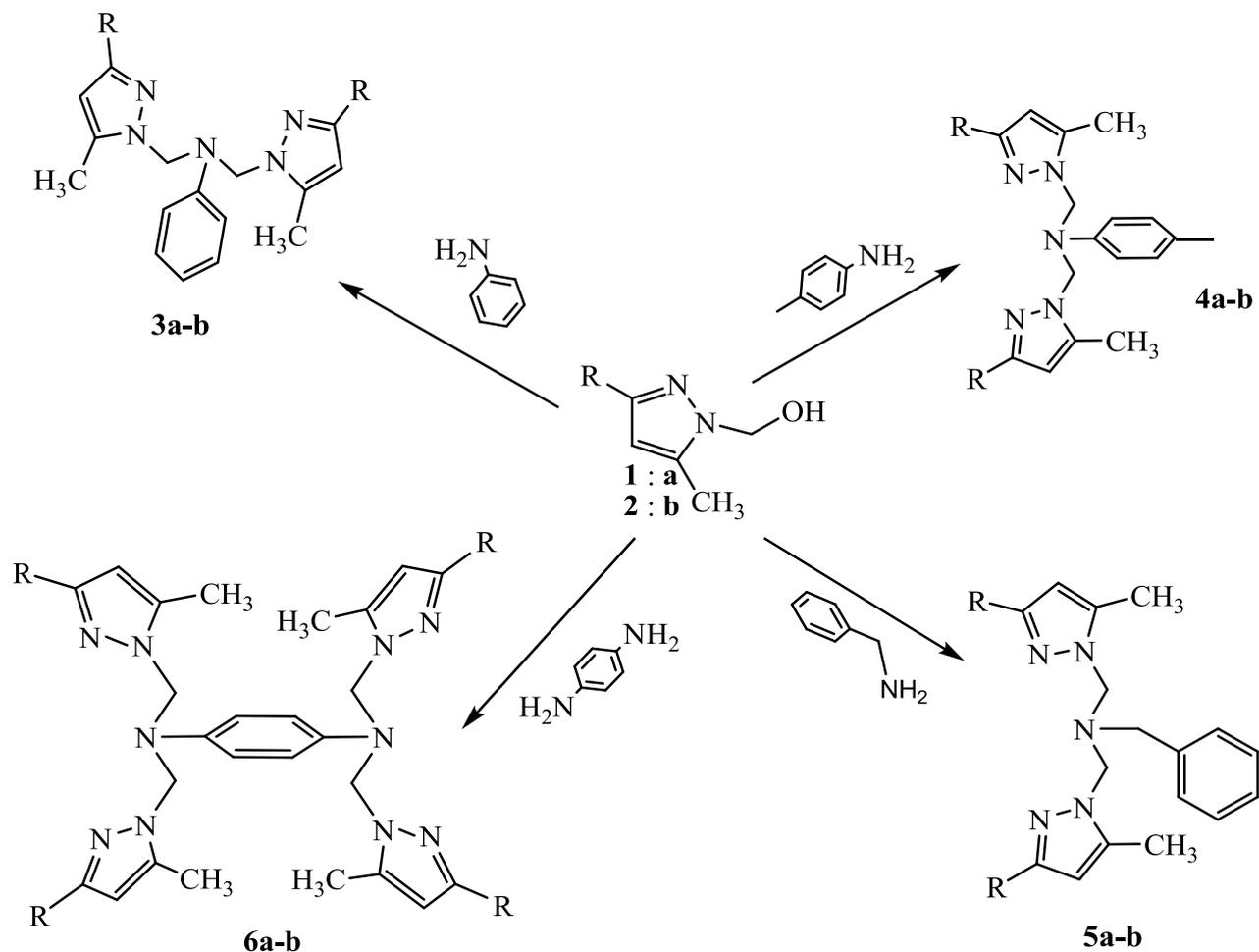


Schéma 1

Dans la littérature, plusieurs complexes de cuivre avec des ligands pyrazoliques ont été utilisés dans l'étude de l'oxydation de la catéchol en ortho-quinone ou du 3,5-di-tert-butylcatéchol en 3,5-di-tert-butylquinone.

Ainsi, Malachowski et coll. [30, 31] ont étudié l'activité catalytique des complexes mononucléaires de certains sels de cuivre avec le N,N-bis (3.5-diméthylpyrazol-1-ylméthyl)-1-hydroxy-2-aminoéthane et le N,N-bis (3.5-diméthylpyrazol-1-ylméthyl)benzylamine dans la catalyse de la réaction d'oxydation du catéchol (schéma 2). Les mêmes chercheurs [30] ont par ailleurs étudié l'effet du ligand le N,N,N',N'-tétrakis (3.5-diméthylpyrazol-1-ylméthyl)- $\alpha,\alpha'$ -diamino-m-xylène qui forme un complexe binucléaire avec le cuivre sur la même réaction et ont observé une activité catalytique beaucoup plus importante que dans les deux cas précédents. Effectivement, les complexes bicentriques comportant deux centres métalliques très proches l'un de l'autre s'avèrent être plus efficaces comme catalyseurs pour cette réaction. En effet, cette structure permet au catéchol de se lier aux deux centres cuivriques plus facilement. Cet état de transition facilite le transfert de deux électrons requis dans le processus d'oxydation [32].

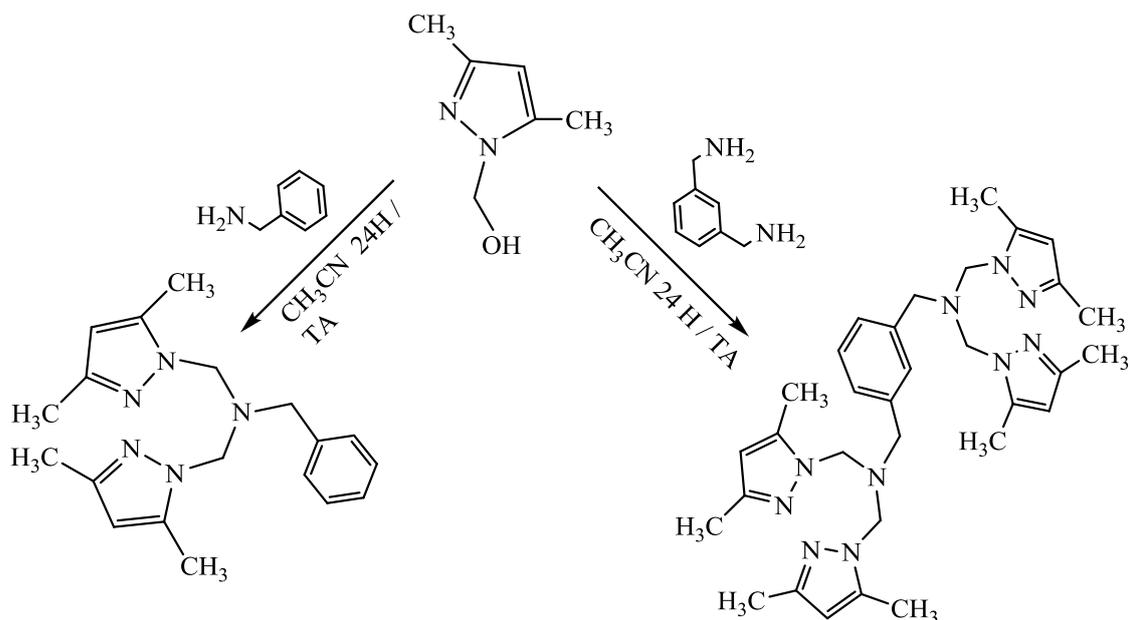


Schéma 2

Soo-Gyun et Coll. [33] ont synthétisé un nouveau tripode pyrazolique chiral en faisant réagir deux équivalents du (3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl) méthanol avec un équivalent de la L-alanine méthylester hydrochlorique et un équivalent de la 2,6-lutidine (2,6-diméthylpyridine) dans le dichlorométhane à température ambiante pendant trois jours. Le complexe de zinc de ce ligand est décrit comme étant un catalyseur potentiel dans la réduction énantiosélective de l'acétophénone en présence du catécholborane. Cette étude contribue à modéliser le site actif de l'anhydrase carbonique qui est une métalloenzyme à zinc appartenant à la famille des hydrolases ; elle catalyse l'équilibre hydratation-déshydratation de CO<sub>2</sub> (schéma 3).

Un ligand tripodal a été synthétisé par Percoraro et Coll. [34] avec une chaîne latérale contenant un groupement carboxylique, par condensation de la glycine éthyle ester hydrochloride avec le (3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl) méthanol dans l'acétonitrile anhydre à température ambiante. Du fait de la ressemblance structurale (trois azotes et un oxygène), ce ligand a été destiné à modéliser la structure du site actif de la superoxyde dismutase (SODs), une métalloprotéine dont l'activité enzymatique est la catalyse de la dismutation du superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène. Cette enzyme est une partie importante du système de défense contre les radicaux libres.

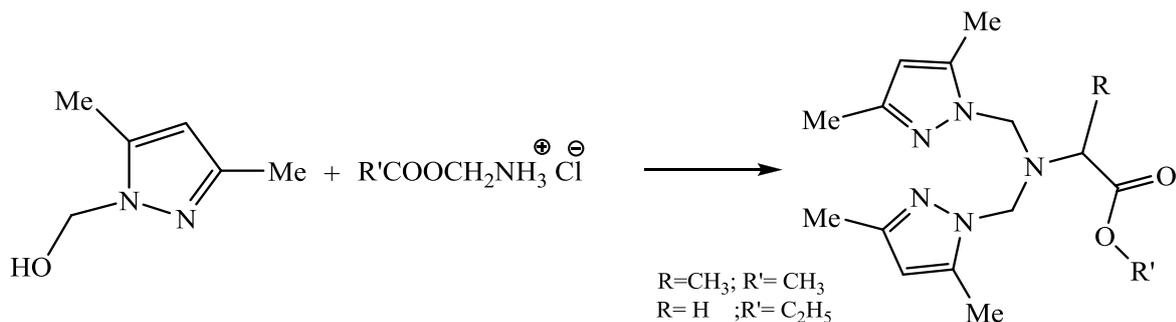


Schéma 3

A. Zerrouki et coll. [35] ont synthétisé trois nouveaux ligands tripodales : 3-[bis-(3,5-diméthyl-pyrazol-1-ylmethyl)-aminé]-propan-1-ol **L1**, 3-[bis-(5-méthyl-3-carbométhoxy-pyrazol-1-ylmethyl)-aminé]-propan-1-ol **L2** et 3-[bis-(5-méthyl-3-carboéthoxy-pyrazol-1-ylmethyl)-aminé]-propan-1-ol **L3**.

Les ligands L1-L3 ont été obtenus avec de très bons rendements par condensation des composés 1, 2 ou 3 avec une série d'aminoalcools dans un rapport 2 :1 dans l'acétonitrile à température ambiante pendant quatre jours ou dans quelques gouttes de solvant à 60 °C pendant 4 heures (schéma 4).

Une évaluation de l'activité catalytique des complexes de cuivre (II) préparés « *in situ* » pour les trois nouveaux composés (L1-L3) dans la réaction d'oxydation du catéchol en o-quinone en présence d'oxygène de l'air a été réalisée. Ces activités dépendent de la nature des ligands et des sels de cuivre.

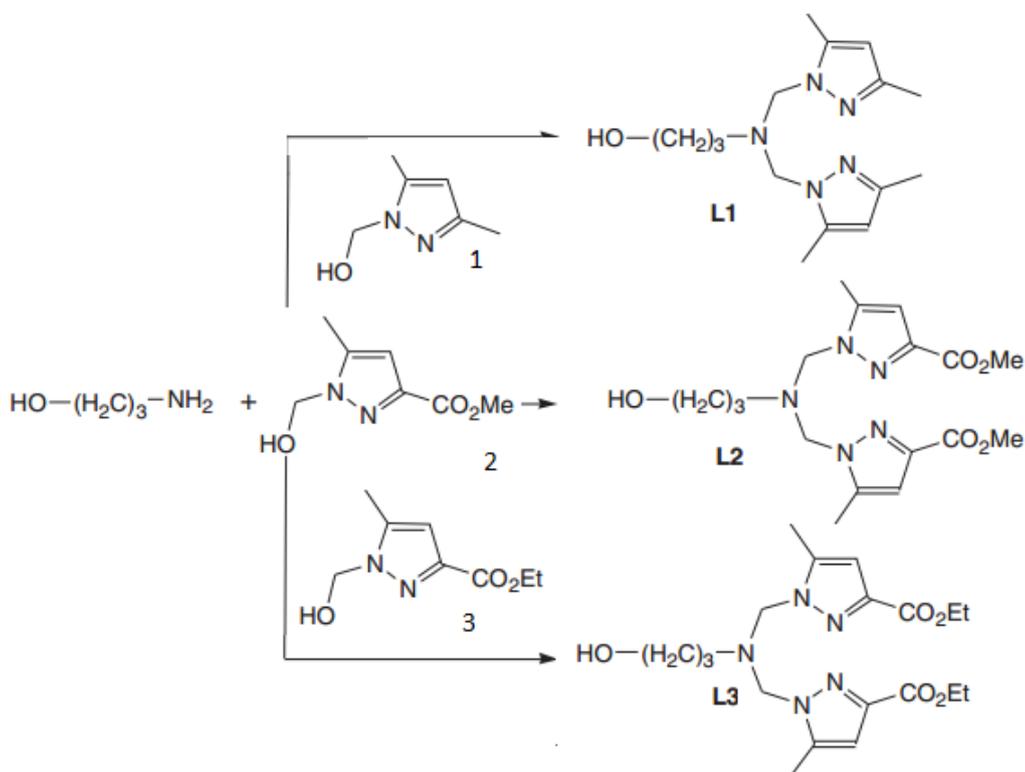


Schéma 4

Une série de tripodes à base de pyrazole et d'esters d'acides aminés a été élaborée par N. Boussalah et coll. [36,37]. Un premier ligand a été obtenu par condensation de la glycine avec le (3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl) méthanol dans l'acétonitrile anhydre à température ambiante et sous azote. Les autres ligands ont été préparés par condensation des chlorhydrates des esters des aminoacides dans l'acétonitrile ou le DMF à température ambiante pendant trois à cinq jours (schéma 5).

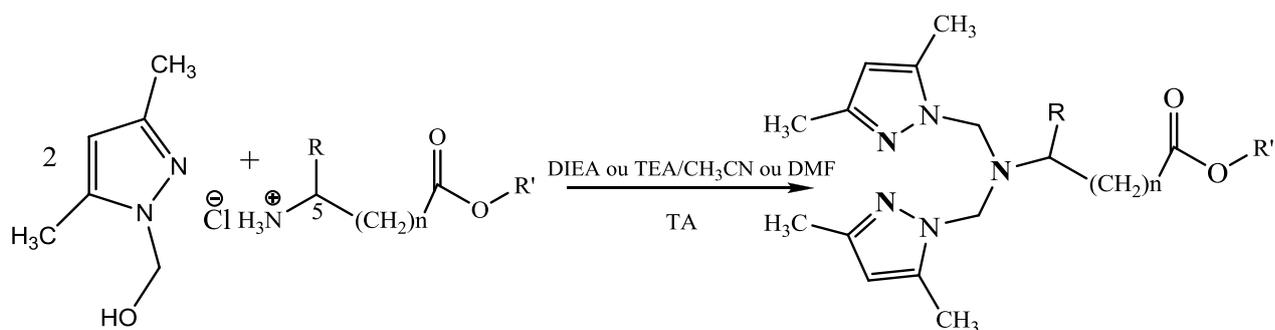


Schéma 5

Du fait de la ressemblance structurale de ces ligands avec le site actif de la tyrosinase, métalloenzyme responsable de la formation de la mélanine et d'autres pigments, les complexes cuivriques de ces ligands ont été synthétisés et utilisés comme catalyseurs dans la réaction d'oxydation de la catéchol en o-quinone en présence de l'oxygène de l'air dans le but de reproduire une des fonctions de la tyrosinase qui est la catéchol oxydase. Les résultats de cette étude attestent que ces complexes à cuivre ont un avenir prometteur dans le domaine de la catalyse biomimétique.

Y.Toubi et Coll. [38] ont synthétisé une nouvelle série de ligands tripodals: le N,N-bis((3-carboxyethyl-5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)méthyl)phénylamine **L1**, N,N-bis((3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)méthyl)phénylamine **L2**, N,N-bis((3-carboxyéthyl-5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)méthyl)pyridin-2-ylamine **L3**, N,N-bis((3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)méthyl)pyridin-2-amine **L4**, N,N-bis((3-carboxyéthyl-5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)méthyl)-2nitrophénylamine **L5**, et le N,N-bis((3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)méthyl)-2-nitrophénylamine **L6** (schéma 6). Une évaluation de l'activité catalytique des complexes de cuivre (II) de ces ligands préparés « *in situ* » a été réalisée. L'effet de la nature du ligand ainsi que celle du sel de cuivre sur l'activité catécholase a été étudié et le mécanisme réactionnel discuté.

Les ligands ont été préparés par addition d'un équivalent de l'aniline ou la pyridin-2-amine ou le 2-nitroaniline, et deux équivalents de 1- (hydroxyméthyl)-5-méthyl-1H-pyrazole-3-carboxylate d'éthyle **1** ou le (3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)méthanol **2**. La réaction a été réalisée dans l'acétonitrile anhydre à température ambiante pendant 4 à 5 jours. Les produits formés précipitent après addition d'eau glacée à la solution d'acétonitrile. Ils sont lavés à l'hexane et séchés dans le dessiccateur. Les rendements varient entre 73 et 96%.

Tous les complexes de cuivre(II) dérivés des ligands synthétisés catalysent la réaction d'oxydation du catéchol en o-quinone. Les auteurs ont démontré que la nature aromatique de la chaîne latérale a une grande influence sur les rendements de la réaction.

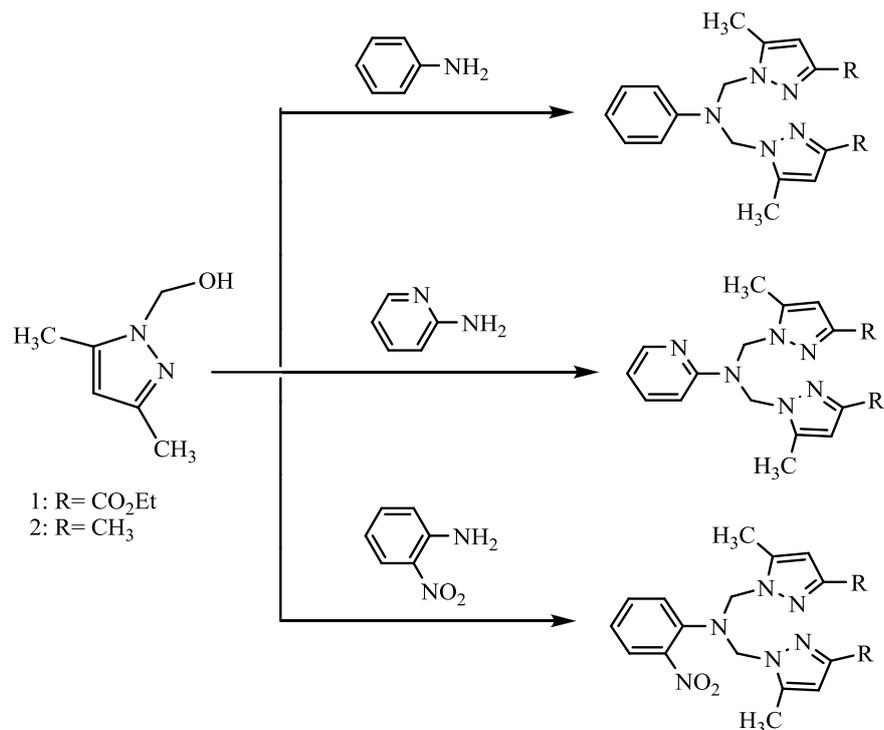


Schéma 6

L'étude bibliographique effectuée a montré que les complexes des métaux de transition dérivés des ligands à base de pyrazole sont de bons catalyseurs biologiques. Cependant, les complexes formés avec les ligands pyrazoliques bidentrés destinés à modéliser le site actif de la tyrosinase ont donné de meilleurs résultats que ceux formés avec les ligands monocentriques.

Dans ce travail, on s'est intéressé à l'étude de l'activité catalytique des complexes de cuivre (II) dérivés de ligands pyrazoliques monocentriques et bidentrés dans la réaction d'oxydation du catéchol en o-quinone dans le but de reproduire une des fonctions de la tyrosinase qui est la catéchol oxydase.

*Synthèse des tripodes  
pyrazoliques monocentriques  
et bicentriques*

## I. INTRODUCTION

Le travail présenté dans ce chapitre concerne l'élaboration et l'étude de système de type tripode. Le tripode possède un azote  $sp^3$  lié par deux chaînes carbonées à deux pyrazoles. Le pyrazole étant lié à la chaîne latérale soit au moyen d'un carbone : ligand à jonction Azote-Carbone-Carbone, soit au moyen d'un azote : ligand à jonction Azote-Carbone-Azote. Les composés synthétisés présentent soit un seul centre de complexation : ligands monocentriques, soit deux centres de complexation : ligands bicentriques. Les ligands bicentriques possèdent un centre phénylique, permettant la communication des deux centres métalliques une fois le ligand complexé.

Nous nous sommes particulièrement intéressés à la synthèse des ligands à jonction Azote-Carbone-Azote. Ces tripodes ont montré de bonnes propriétés de complexation avec certains métaux de transition tels que le cobalt (II), le cuivre (II) et le zinc (II).

La jonction Azote-Carbone-Azote est obtenue par action d'un dérivé du 1-hydroxyméthyl pyrazole sur une amine.

Une panoplie de tripodes a été synthétisée en faisant varier les amines primaires, les substituants du pyrazole et les conditions expérimentales en utilisant trois méthodes différentes : avec solvant, sans solvant et sous micro-onde.

## II. STRATEGIE DE SYNTHÈSE

### Tripodes à jonction Azote-Carbone-Azote

La stratégie de synthèse des structures envisagées dans ce travail repose essentiellement sur la création des liaisons azote-carbone-azote (Schéma 1). La synthèse de ces composés consiste en une bis ou tétra condensation entre deux ou quatre équivalents du (3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl) méthanol **1** et un équivalent de l'amine ou la diamine correspondante.

#### II.1. Synthèse de (3,5-diméthylpyrazol-1-yl) méthanol

Pour réaliser la synthèse des différents composés, nous avons d'abord préparé le précurseur de base **1** le 1-(hydroxyméthyl)-3,5-diméthyl-1H-pyrazole. Il est obtenu à partir du 3,5-diméthylpyrazole **1'**. Ce dernier est préparé par condensation de l'acétylène acétone avec l'hydrate hydrazine selon le mode opératoire décrit dans la littérature [39] (Schéma 7).

Les composés **1'** et **1** ont été isolés avec des rendements respectivement de 94% et 75%. Le spectre IR du composé **1**, pris dans le bromure de potassium, montre bien l'apparition de la bande  $\nu_{O-H}$  vers  $3100\text{ cm}^{-1}$  et la disparition de la bande  $\nu_{N-H}$  vers  $3140-3100\text{ cm}^{-1}$ . Ceci confirme la structure de notre précurseur de base. Le produit **1** fond entre  $98$  et  $100^\circ\text{C}$ .

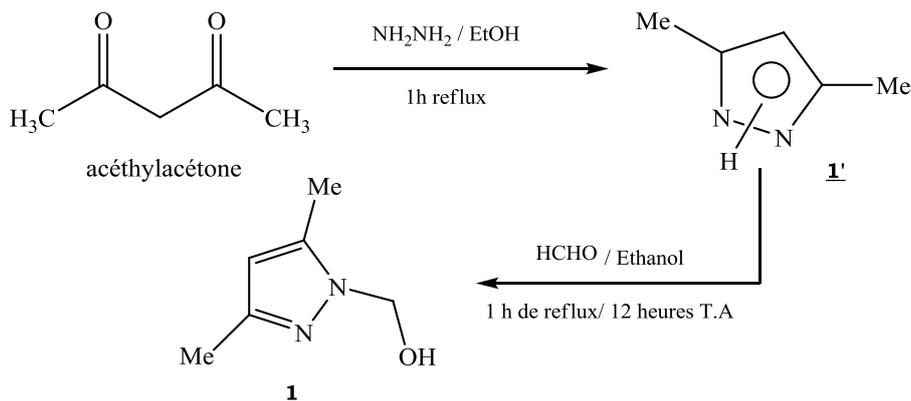


Schéma 7

### II.2. Synthèse des tripodes monocentriques

Ce type de ligand est caractérisé par la présence d'un seul site de coordination. La littérature rapporte [40] trois méthodes de synthèse pour ces molécules. :

- En utilisant l'acétonitrile ou le dichlorométhane comme solvant à température ambiante ou en chauffant entre 60 et 70 °C.
- En menant la réaction sans solvant.
- En absence de solvant et sous micro-onde.

Les ligands L1 et L2 ont été synthétisés selon la méthode décrite par M. Daoudi [27]. Ainsi la condensation de deux moles de (3,5-diméthylpyrazol-1-yl) méthanol **1** avec une mole d'amine primaire dans l'acétonitrile pendant cinq jours conduit aux ligands L1 et L2. Les tripodes synthétisés ont été isolés avec des rendements variant entre 65 et 85%. En menant la réaction à 60°C, les rendements étaient plus faibles de l'ordre de 40 à 45%.

Les spectres IR des deux composés montrent la disparition des bandes correspondantes aux vibrations N-H, ce qui montre que les amines primaires ont participé totalement à la réaction.

La synthèse du ligand L5 a été faite selon la méthode décrite par M.El Kodadi [41]. Elle consiste en une bicondensation entre deux équivalents de (3,5-diméthylpyrazol-1-yl) méthanol **1** et un équivalent de l'éthanolamine. La réaction est menée une fois à température ambiante dans l'acétonitrile pendant quatre jours et une autre fois à 65°C pendant 3 heures. Le produit est obtenu avec un très bon rendement (80 à 90%) (Schéma 8).

### II.3. Synthèse des tripodes bicentriques

Le L3 et le L4 sont obtenus par condensation de quatre moles de (3,5-diméthylpyrazol-1-yl) méthanol **1** avec une mole de paraphénylènediamine dans le cas du ligand L3 [26] ou le métaxylylènediamine dans le cas du ligand L4 [42] dans l'acétonitrile à température ambiante pendant sept jours. Les tripodes L3 et L4 ont été isolés avec un rendement de 75 à 77%. Les réactions menées à 65 °C pendant 5 heures ont donné de faibles rendements. L'absence des bandes correspondantes aux vibrations N-H confirme la tétra condensation (schéma 9).

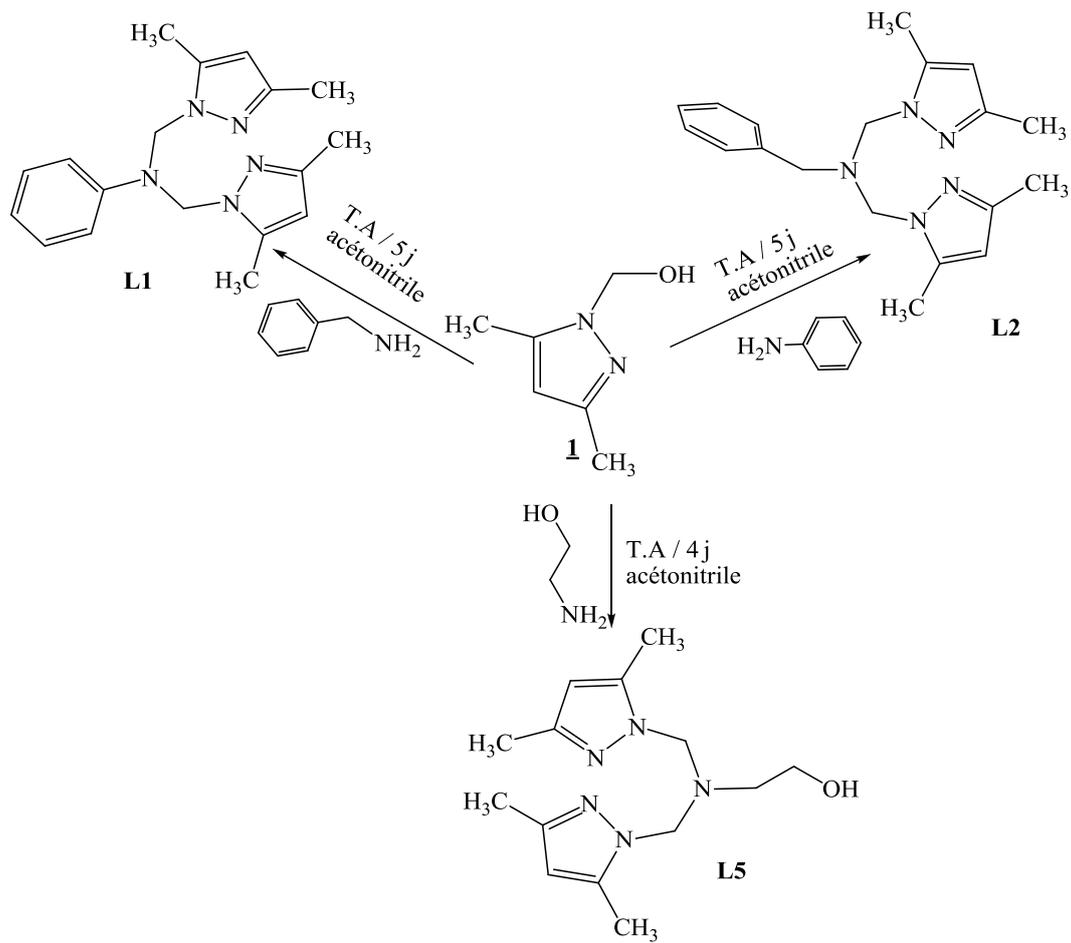


Schéma 8

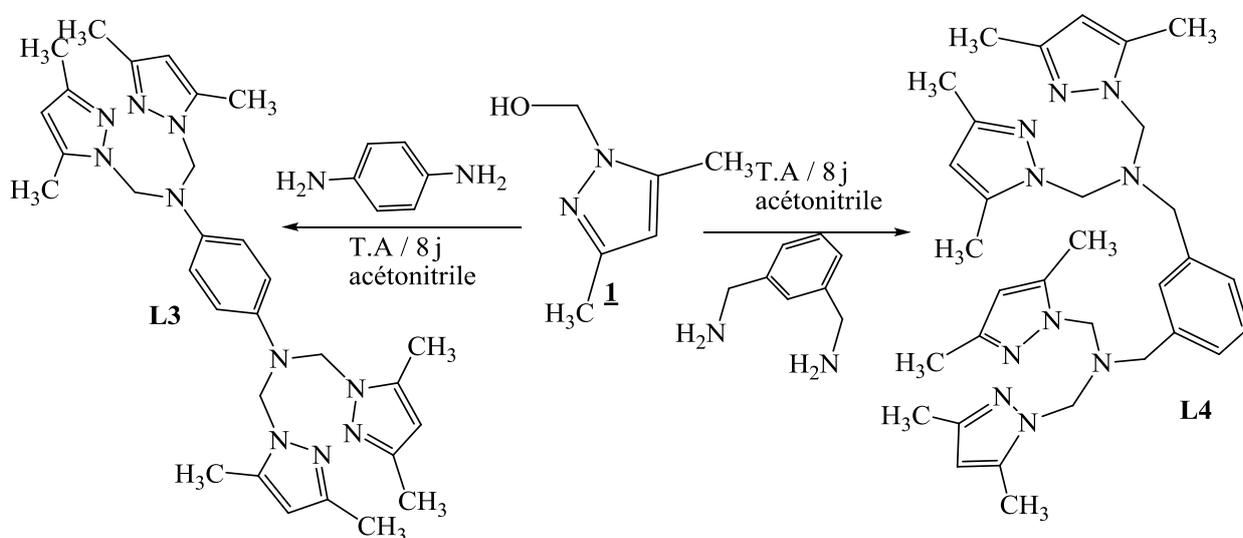
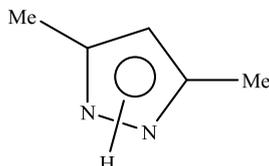


Schéma 9

### III.PARTIE EXPERIMENTALE

Les spectres IR ont été enregistrés sur un appareil **Perkin Elmer Spectrum Two** et les points de fusion ont été pris sur un banc Koffler au laboratoire de Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO), Université de Tlemcen.

#### III.1. Synthèse du 3,5-diméthyl-1H-pyrazole



Dans un ballon de 500 ml, muni d'un réfrigérant et d'une ampoule d'addition, on met 1,2 moles (120 g) d'acétylacétone dans 100 ml d'éthanol. A cette solution, on ajoute goutte à goutte une solution de 1,25 moles (115 g) de l'hydrate hydrazine à 35% dans 100 ml d'éthanol (réaction exothermique). Après addition totale de l'hydrate hydrazine, on porte le mélange à un léger reflux pendant une heure. On concentre la solution en évaporant le maximum d'éthanol. On ajoute un minimum d'eau froide dans un bain de glace, un précipité blanc prend en masse. On le filtre et on le sèche.

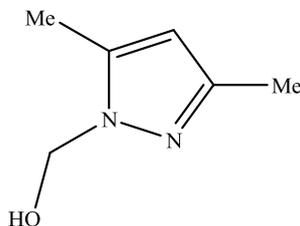
**Aspect :** Cristaux blancs

**Rendement:** 95%

**Point de fusion:** 98-100°C

**IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) :** 3140-3100 (νN-H) ; 3090 (νC-H, arom) ; 2900-2818 ((νC-H, CH<sub>3</sub>) ; 2730 ; 2535 ; 1660 ((νC=N); 1554 (νC=C); 1440 ; 1390 ; 1260 (δC-N); 1130 ; 980 ; 820 (δ=CH) ; 745 ; 690.

#### III.2. Synthèse du (3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl) méthanol



Dans un ballon de 250 ml, muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique, on introduit 0,55 mole (52,63 g) de 3,5-diméthylpyrazole avec un grand excès de formol 1,1 mole (48 ml) à 35% dans 50 ml d'éthanol. On porte le mélange à reflux pendant une heure, puis 20 heures sous agitation et à température ambiante. On concentre la solution. On ajoute de l'eau glacée et on laisse le ballon dans un bain de glace environ deux heures. On filtre et on lave trois fois avec l'éther diéthylique. On récupère un solide blanc.

**Aspect :** Cristaux blancs

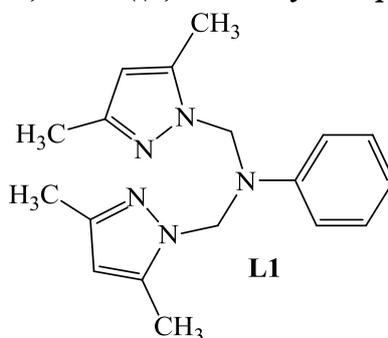
**Rendement :** 75%

**Point de fusion :** 107-110°C

**IR (KBr, cm<sup>-1</sup>)** : 3100 (νO-H) ; 2940-2900 ((νC-H,CH<sub>3</sub>) ; 2800 (νC-H,CH<sub>2</sub>) ; 1660-1554 ((νC=N) 1455 (νC=C); 1440 ; 1395; 1365 (δO-H); 1290 (δC-N); 1210 ; 1130 ; 1040 (νC-O) ; 980 ; 820 (δ=CH) ; 745 ; 680.

### III.3. Synthèse de tripodes pyrazoliques monocentriques

#### III.3.1. Synthèse du *N, N-bis((3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl) méthyl) aniline L1.*



Dans un ballon de 100 ml, muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique, on met 0,004 mol (0.42 g) de benzylamine dans 10 ml d'acétonitrile anhydre auquel on ajoute 0.008 mol (1g) de (3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl) méthanol dissout dans 10 ml d'acétonitrile. La réaction est conduite sous agitation à température ambiante pendant 5 jours. On sèche la solution sous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Après filtration, on évapore le solvant au rotavapeur et on obtient une huile jaunâtre. On lave le produit avec 10 mL d'éther.

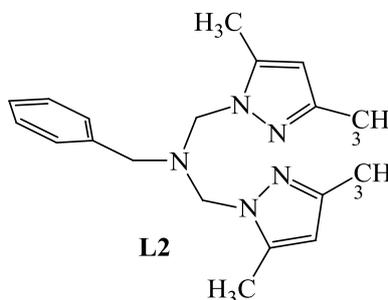
**Aspect** : Cristaux blancs

**Rendement** : 65%.

**Point de fusion** : 74-75°C.

**IR (KBr, cm<sup>-1</sup>)** : 3020 (νC-H arm) ; 2940-2900 ((νC-H,CH<sub>3</sub>) ; 2800 (νC-H,CH<sub>2</sub>) ; 1600-1570 ((νC=N) 1465 (νC=C); 1440 ; 1395; 1365 ; 1290 (δC-N); 820 (δ=CH) ; 745 ; 680.

#### III.3.2. Synthèse du *N, N-bis((3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)méthyl)benzylamine L2.*



Dans un ballon de 100 ml, équipé d'un réfrigérant et d'un barreau magnétique, on dissout 0.004 mol (0.37g) d'aniline dans 10 ml d'acétonitrile. On ajoute goutte à goutte 0.008 mol (1g) de (3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl) méthanol dissout dans 10 ml d'acétonitrile. La réaction est maintenue sous agitation pendant 3h à 70°C. On obtient un produit visqueux qu'on dissout dans 10 ml de dichlorométhane. On lave 3 fois avec 5ml d'eau ; on sèche la phase organique avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Après filtration, on concentre à sec au rotavapeur. Le

produit obtenu est lavé à l'éther et après une nuit au congélateur, un solide blanc apparait. Le produit est recristallisé dans un mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ / éther 90 :10.

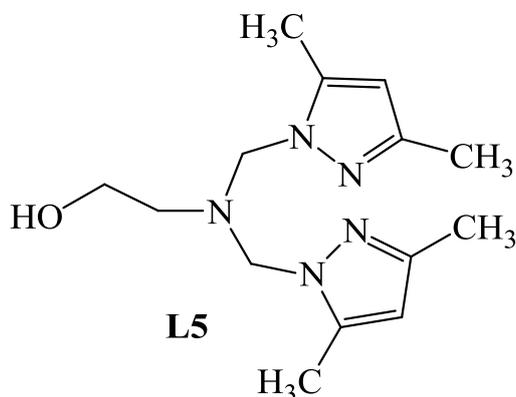
**Point de fusion :** 84-85°C

**Rendement :** 75%

La même réaction est menée à température ambiante pendant 5 jours. On sèche la solution avec du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Après filtration, on évapore le solvant à sec. L'huile obtenue cristallise après 48 heures.

**IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) :** 3035 ( $\nu\text{C-H arom}$ ) ; 2940-2900 ( $\nu\text{C-H,CH}_3$ ) ; 2860 ( $\nu\text{C-H,CH}_2$ ) ; 1660-1554 ( $\nu\text{C=N}$ ) 1475 ( $\nu\text{C=C}$ ); 1440 ; 1395; 1365 ( $\delta\text{C-N}$ ); 1250 ; 960 ; 820 ( $\delta=\text{CH}$ ) ; 745 ; 680.

### III.3.3. Synthèse du ligand monocentrique le 2-(bis((3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)méthyl)amino)ethanol L5.



Dans un ballon de 100 mL, muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique, on introduit 1,9 mmol (0,116g) d'éthanolamine dans 5mL d'acétonitrile anhydre. On ajoute 3,8 mmol (0,47g) du (3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl) méthanol dissout dans 7mL d'acétonitrile. On laisse la réaction à température ambiante pendant 6 jours. Une fois la réaction terminée, on sèche la solution avec du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Après filtration et évaporation, on obtient un solide blanc visqueux. Le produit est recristallisé dans l'acétate d'éthyle. Il cristallise au bout d'une semaine dans le dessiccateur.

**Aspect :** Cristaux blancs

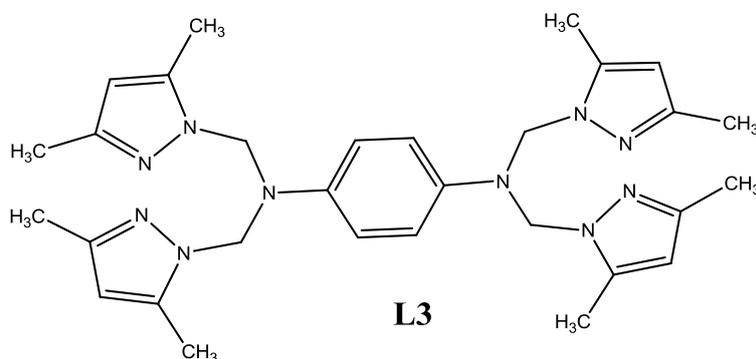
**Rendement :** 78%

**Point de fusion :** 82-84°C

**IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) :** 3260 ( $\nu\text{O-H}$ ) ; 3010 ( $\nu\text{C-H arom}$ ) ; 2967 ( $\nu\text{C-H,CH}_3$ ) ; 2830 ( $\nu\text{C-H,CH}_2$ ) ; 1560 ( $\nu\text{C=N}$ ) 1455 ( $\nu\text{C=C}$ ); 1395; 1300 ( $\delta\text{O-H}$ ); 1240 ( $\delta\text{C-N}$ ); 1060 ( $\nu\text{C-O}$ ) ; 980 ; 820 ( $\delta=\text{CH}$ ) ; 745 ; 680.

### III.4. Synthèse de tripodes pyrazoliques bicentriques

#### III.4.1. Synthèse du *N, N, N', N'*-Tétrakis (3,5-diméthyl-1*H*-pyrazol-1-méthyl)-*α, α'*-diamino-*m*-xylène L3



##### *Première méthode sans solvant :*

Dans un ballon de 100 ml, équipé d'un réfrigérant et d'un barreau magnétique, on place, après avoir broyé dans un mortier un mélange de 1g (0.008 mol) de (3,5-diméthyl-1*H*-pyrazol-1-yl)) et 0.21g (0.002 mol) de para-phénylènediamine. On chauffe pendant 4h dans un bain d'eau à 65°C. Une fois la réaction terminée, on dissout le mélange dans 15ml de dichlorométhane et on rince trois fois avec de l'eau. On sèche la phase organique avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. On filtre et on évapore. Des cristaux marron sont obtenus avec un rendement de 80%. Le produit est recristallisé dans un mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ éther 90 :10.

Point de fusion 174-175°C.

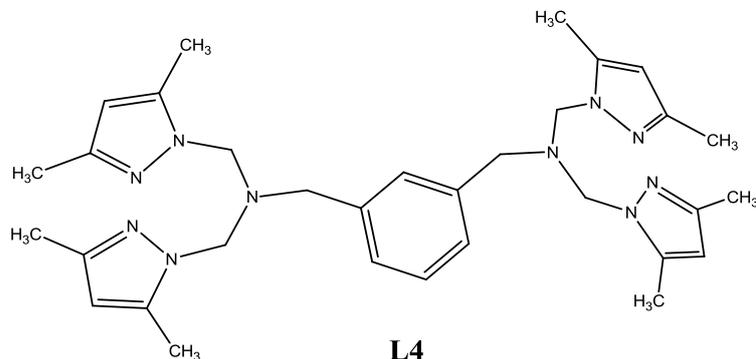
##### *Deuxième méthode avec solvant :*

Dans un ballon de 100 ml, équipé d'un réfrigérant et d'un barreau magnétique, on met 1g (0.008 mol) de (3,5-diméthyl-1*H*-pyrazol-1-yl)) dans 10 mL d'acétonitrile et on ajoute 0.21g (0.002 mol) de para-phénylènediamine. On maintient le mélange sous agitation et à température ambiante pendant 7 jours. Le produit précipite par simple addition d'eau glacée au mélange placé dans un bain de glace. Le produit est lavé à l'éther, séché sous vide puis recristallisé dans un mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ éther 90 :10.

Point de fusion 174-175°C.

**IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) :** 3010 (νC-H arom) ; 2980 (νC-H, CH<sub>3</sub>) ; 2890 (νC-H, CH<sub>2</sub>) ; 1534 ((νC=N) 1455 (νC=C); 1440 ; 1385; 1355 (δC-N); 1250 ; 960 ; 780 (δ=CH) ; 720.

**III.4.2. Synthèse du *N, N, N', N'*-Tétrakis ((3,5-diméthyl-1*H*-pyrazol-1-yl) méthyl) benzène-1,4-diamine **L4**.**



*Première méthode sans solvant :*

Dans un ballon de 100 ml, équipé d'un réfrigérant et d'un barreau magnétique, on place, après avoir broyé dans un mortier, un mélange de 1g (0.008 mol) de (3,5-diméthyl-1*H*-pyrazol-1-yl)) et 0.27g (0.002 mol) de méta-xylylènediamine. On chauffe pendant 5 heures dans un bain d'eau à 65°C. Une fois la réaction terminée, on dissout le mélange dans 15ml de dichlorométhane et on rince trois fois avec de l'eau. On sèche la phase organique avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Après filtration et évaporation, on obtient un produit huileux avec un rendement de 40%.

*Deuxième méthode avec solvant :*

Dans un ballon de 100 ml, équipé d'un réfrigérant et d'un barreau magnétique, on met 1g (0.008 mol) de (3,5-diméthyl-1*H*-pyrazol-1-yl)) dans 10 mL d'acétonitrile et on ajoute 0.27g (0.002 mol) de méta-xylylènediamine. On maintient le mélange sous agitation et à température ambiante pendant 8 jours. On ajoute un peu d'eau glacée et on extrait notre produit avec le dichlorométhane. La phase organique est séchée avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Après évaporation du solvant, on obtient un produit huileux jaunâtre.

*Etude de l'Activite catalytique  
des complexes de cuivre (II)  
dérivés de pyrazole dans la  
réaction d'oxydation du  
catéchol*

## I. INTRODUCTION

C'est à l'interface chimie-biologie que se place le travail que nous abordons dans cette partie du mémoire. Cette spécialité qui est la chimie bioinorganique s'intéresse à la synthèse de complexes artificiels pour comprendre le fonctionnement des systèmes biologiques, voire en reproduire l'activité.

Dans les processus biologiques, les réactions conduisent exclusivement à la formation du seul produit nécessaire et ceci avec une grande vitesse et dans des conditions douces de température, de pH, etc... Cette efficacité et cette spécificité sont assurées par l'intervention de catalyseurs biologiques dont on connaît plus ou moins bien le fonctionnement à présent : les enzymes.

Les enzymes sont des protéines de grande taille possédant une activité catalytique hautement spécifique. Elles doivent leurs propriétés à l'existence dans leur structure tridimensionnelle complexe d'une région restreinte appelée site actif. Les métaux de transition constituent l'un des principaux éléments des métalloenzymes qui sont responsables des transformations d'une série de molécules organiques. Dans le cas des métalloenzymes, un métal représente le site actif mais son activité catalytique dépend en grande partie de son environnement coordonné proche. Les interactions entre le récepteur et le ou les métaux sont à la base de toute action catalytique d'une métalloenzyme.

Parce que les caractéristiques physicochimiques d'un ion métallique coordonné à une protéine ne peuvent être fondamentalement différentes des propriétés du métal lui-même, la modélisation chimique s'avère être un outil puissant dans l'étude des sites actifs des métalloenzymes. Le biomimétisme consiste à reproduire la structure du site actif d'une enzyme afin de reproduire les caractéristiques spectroscopiques de l'enzyme (modèles structuraux) et son activité enzymatique (modèles fonctionnels).

Nous nous sommes intéressés dans ce chapitre à l'étude de l'activité catalytique de certains ligands organiques synthétisés dans la première partie de ce travail (chapitre II), capables de complexer le cuivre (II). L'intérêt de tels complexes réside dans leur ressemblance avec le site actif de la tyrosinase. Ainsi le modèle du système biologique doit mimer le comportement de l'enzyme.

Nous nous limiterons à l'étude cinétique de la réaction d'oxydation du catéchol en ortho-quinone par l'oxygène de l'air catalysée par des complexes de cuivre (II) synthétisés « *in situ* » en variant la nature des ligands organiques ainsi que la nature des anions. Cette réaction est la reproduction d'une des fonctions de la tyrosinase qui est la catéchol oxydase.

Avant de présenter et discuter les résultats de cette étude cinétique, nous avons jugé utile de donner quelques rappels concernant les caractéristiques structurales des enzymes.

## II. LES ENZYMES, CATALYSEURS DES REACTIONS AU SEIN DE L'ORGANISME

### II.1. Les Enzymes

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques. Il existe deux types d'enzymes ; Les ribozymes (ARN) et les enzymes protéiques.

Les enzymes protéiques sont des polymères d'acides aminés formant de longues chaînes repliées dans l'espace.

Toute enzyme comporte :

- Une structure primaire : séquence en acides aminés reliés entre eux par des liaisons peptidiques. Cette structure correspond à un enchaînement linéaire sans organisation particulière dans l'espace.
- Une structure tridimensionnelle comportant plusieurs niveaux d'organisation qui permettent d'obtenir la protéine repliée.

La structure tertiaire définitivement repliée correspond à l'état natif : la protéine a une forme compactée (on parle de *protéine globulaire*) stabilisée par de nombreuses liaisons (hydrogènes, ioniques, hydrophobes, pont disulfures). Cette forme permet l'activité enzymatique.

Pour certaines enzymes, on distingue un niveau d'organisation supplémentaire : la structure quaternaire.

L'ensemble des réactions chimiques qui ont lieu dans l'organisme nécessite la présence d'enzyme. Ces catalyseurs biologiques accélèrent la vitesse de réaction d'un facteur d'au moins  $10^6$  en abaissant l'énergie d'activation de cette réaction mais sans en modifier l'équilibre. Ils agissent en très faible quantité (la concentration d'une enzyme est de l'ordre de la femtomole,  $10^{-15}$  M) et se retrouvent intact à la fin de la réaction.

Le grand nombre de réaction au sein de l'organisme nécessite une spécificité des catalyseurs pour chacune de ces réactions : les enzymes sont des catalyseurs spécifiques.

#### II.1. 1. Cofacteurs

Concernant leur activité catalytique, certaines enzymes (holoenzymes) sont d'emblée actives alors que d'autres (hétéroenzymes) nécessitent la présence d'un cofacteur. Ces cofacteurs peuvent être classés en deux groupes :

- Des ions métalliques (le plus souvent bivalents) :  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ , etc.

Ces cofacteurs jouent un rôle dans la stabilisation de la structure de l'enzyme ou dans la fixation du substrat.

- Des coenzymes : ce sont des molécules organiques non protéiques bien plus petites que les monomères protéiques. Ils comportent généralement dans leur structure des hétérocycles. Ces cofacteurs jouent un rôle dans la catalyse enzymatique.

Le coenzyme est toujours associé à l'enzyme au cours de la réaction de catalyse. Il n'est pas spécifique d'une seule enzyme, mais spécifique d'un type donné de réaction.

Certaines coenzymes sont fixées de façon permanente à l'enzyme et sont indissociables (ce sont des groupements prosthétiques). Elles interviennent dans la réaction de manière catalytique.

D'autres sont fixées sur l'enzyme de façon transitoire, c'est-à-dire seulement le temps de la réaction enzymatique : on parle de coenzyme co-substrat. Elles interviennent dans la réaction de manière stœchiométrique.

### II.1.2. Site actif

Toutes les protéines se replient dans une conformation dite native et c'est dans cette conformation qu'elles acquièrent leur activité biologique (leur pouvoir de catalyseur dans le cas des enzymes).

L'activité des enzymes est liée à la présence dans leur structure d'un site particulier appelé le site actif qui a la forme d'une cavité ou d'un creux. Le site actif des enzymes est constitué d'acides aminés. Ce sont les groupements fonctionnels des radicaux (R) des acides aminés du site actif des enzymes qui interviennent dans la catalyse. Ces groupements sont peu nombreux. Il s'agit le plus souvent des résidus seryl, aspartyl ou glutamyl, cysteyle, histidyle, arginyle et tyrosyle. Les molécules ou ligands sur lesquels agit une enzyme sont définis comme les substrats de la réaction enzymatique. Ils se fixent dans le site actif de l'enzyme en formant des interactions avec la surface de la cavité du site actif. Ce site actif ne représente qu'environ 5% de la surface de l'enzyme.

Le site actif comporte deux sous-parties : -Le site de fixation

-Le site catalytique

Cette double action de fixation de substrat et de catalyse permet d'introduire la notion de spécificité enzymatique conduisant à la classification actuelle des enzymes.

On peut en effet distinguer deux grands types de spécificité : la spécificité de réaction et la spécificité de substrat. La spécificité de substrat correspond au fait qu'une enzyme fixe et transforme un substrat donné et pas un autre ; la spécificité de réaction quant à elle correspond au fait qu'une enzyme catalyse une réaction chimique donnée et pas une autre.

Une modification de l'environnement (température, pH, présence d'activateurs ou d'inhibiteurs) peut entraîner une modification de la vitesse de réaction.

### II.1.3. Les Différentes Catégories d'Enzymes

On peut distinguer trois catégories d'enzymes :

- **Les enzymes métaboliques** (ou systémiques), indispensables au fonctionnement harmonieux de chaque cellule dans chaque tissu de notre organisme. L'ensemble de ces enzymes métaboliques constitue le potentiel enzymatique, notre plus précieux capital santé.

- **Les enzymes digestives**, secrétées de la bouche jusqu'à l'intestin en passant par le pancréas, qui dégradent la nourriture de telle sorte que les nutriments puissent rejoindre la circulation sanguine après avoir passé la barrière intestinale. Il existe plusieurs types d'enzymes digestives, dont voici les principales :

- L'amylase, qui décompose les Hydrates de carbone ;
- la protéase, qui décompose les protéines ;
- la lipase, qui décompose les matières grasses ;
- la cellulase, qui décompose les fibres végétales.

• **Les enzymes alimentaires**, naturellement présentes dans tous les aliments crus, germes ou lactofermentés, apportent à l'organisme une source extérieure d'enzymes digestives lors du repas. Il existe aussi des compléments alimentaires exclusivement ou partiellement composés d'enzymes obtenues à partir de végétaux (ananas, papaye), d'animaux ou de fermentations microbiennes (Champignons, levures, bactéries).

#### II.1.4. Les classes d'enzymes

La spécificité de réaction permet ainsi de distinguer six grandes classes de réactions et donc six grandes classes d'enzymes dénommées EC pour « Enzyme Classification »

EC1 : les oxydoréductases

EC2 : les transférases

EC3 : les hydrolases

EC4 : les lyases

EC5 : les isoméras

EC6 : les ligases ou synthétases.

#### II.2. Métalloenzymes

Dans le cas des métalloenzymes, un métal représente le site actif mais son activité catalytique dépend en grande partie de son environnement coordinat proche. Les interactions entre le récepteur et le ou les métaux sont à la base de toute action catalytique d'un métalloenzyme.

Par exemple, le site actif de la carboxypeptase (figure 8) a été complètement décrit ; il est constitué d'un ion zinc, de deux molécules d'histidine, d'une molécule d'eau et de l'ion glutamate.



Figure 8 : Site actif de la carboxypeptase

### II.2.1. La Tyrosinase

La tyrosinase est une enzyme qui catalyse l'oxydation des phénols comme la tyrosine. Elle est très répandue parmi les plantes et les animaux. Une personne ayant un gène de tyrosinase muté est atteinte d'albinisme qui est une maladie génétique rare [42-45].

La tyrosinase (EC 1.14.18.1) ou monophénol monooxygénase appartient au groupe des enzymes oxydoréductases. Comme de nombreuses enzymes d'oxydo-réduction, on retrouve dans son site actif l'ion cuivre et nécessite pour fonctionner le NADP réduit [45-48].

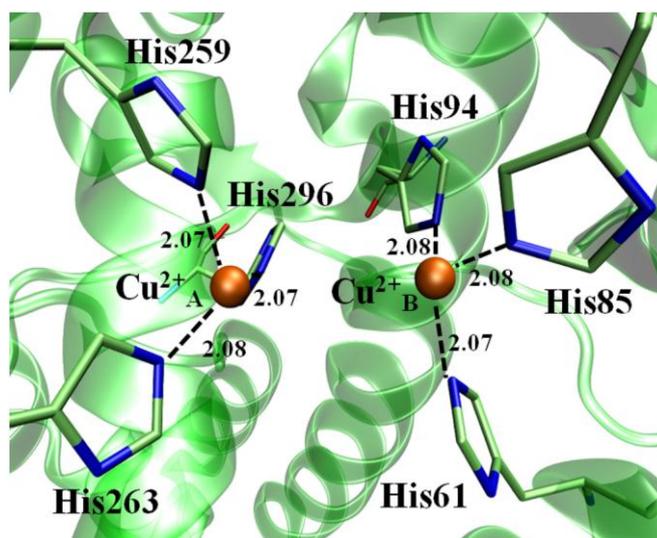


Figure 9: Site actif de la tyrosinase

Les tyrosinases catalysent l'étape initiale de la formation de la mélanine et autres pigments. Chez les mammifères, elle catalyse les réactions suivantes :

- L'hydroxylation de la L-tyrosine en 3,4-dihydroxyphénylalanine (L-DOPA) ; il s'agit de l'activité monophénol hydroxylase (schémas 10).

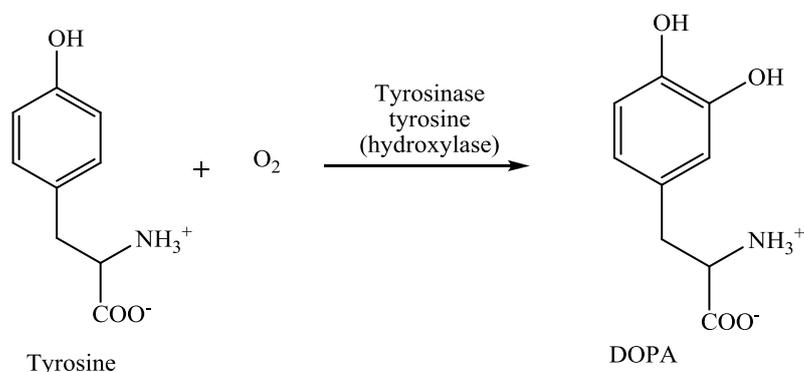


Schéma 10

- L'oxydation de la L-DOPA en Dopaquinone ; dans ce cas on parle d'une activité catéchol oxydase (schéma 11) [49].

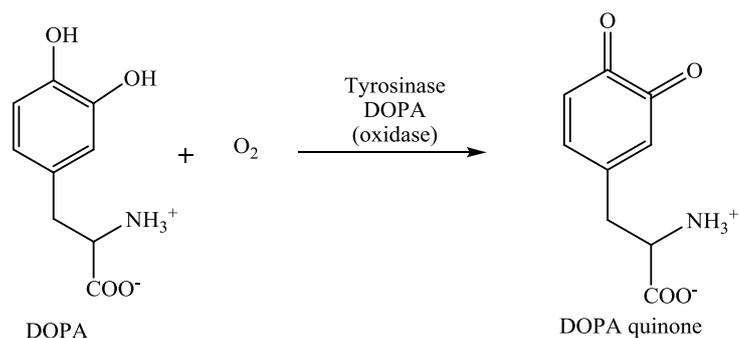


Schéma 11

Les quinones hautement réactives qui proviennent de cette oxydation s'auto-polymérisent pour former des mélanines qui sont des catéchols polyphénoliques. Cette oxydation est responsable de la formation de la mélanine et d'autres produits phénoliques naturels.

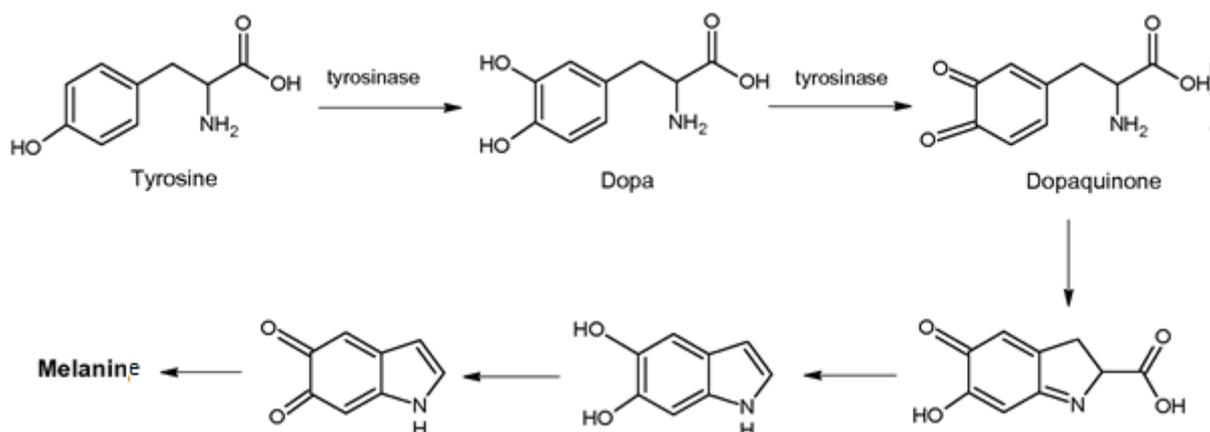


Schéma 12 : Principales étapes de la formation des mélanines

Bien que la tyrosinase joue un rôle important dans le métabolisme des animaux, les plantes et les microorganismes, certains troubles sont également associés à cette enzyme. Les modifications sur la répartition des mélanines donnent lieu à une série de troubles dermatologiques, parmi lesquels il y a ceux qui résultent de l'accumulation excessive de pigmentation de la peau, comme le mélasma, taches liées à l'âge et les dommages actiniques (kératose actinique). La carence en pigmentation dans les cas de l'albinisme oculo cutané est corrélée à diverses mutations de gènes de la tyrosinase humaine [50-52]

### II.2.2. La Catéchol Oxydase

Les catéchols oxydases ne catalysent que l'oxydation des catéchols en O-quinones correspondantes par l'oxygène moléculaire, sans présenter d'activité sur les mono phénols.

Lors de la réaction d'oxydation, le transfert des électrons du catéchol vers le cuivre (II) ne peut commencer qu'après formation d'un intermédiaire catécholate (schéma 16) entre le catéchol et le

cuivre. La vitesse de la réaction dépend du potentiel redox ainsi que d'un ajustement stérique entre le substrat et le complexe. La vitesse est fortement diminuée lorsque des facteurs stériques ou électroniques ne sont pas compatibles.

### Mécanisme de l'activité catéchol oxydase (catécholase) de la tyrosinase

Le mécanisme catalytique de la tyrosinase a été étudié pour la première fois par Solomon et ses collaborateurs [53]. Suite à ces travaux, un mécanisme des deux activités catalytiques de la tyrosinase a été proposé (schéma 13).

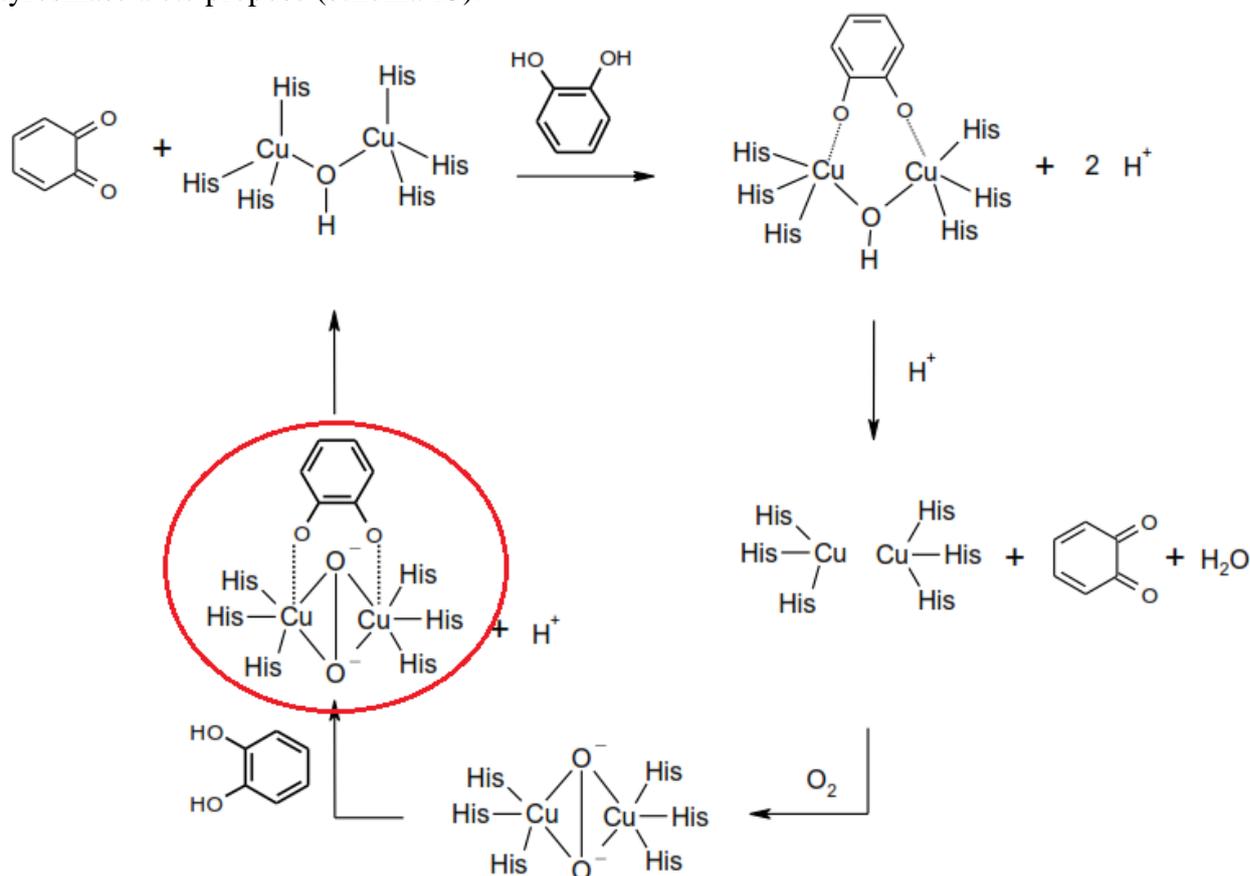


Schéma 13 : Mécanisme de l'activité catéchol oxydase de la tyrosinase [54]

## III. ETUDE CINÉTIQUE DE L'OXYDATION DU CATECHOL EN O-QUINONE

### III.1. Rappels et définitions :

#### III.1.1. Activité catalytique :

L'activité catalytique représente l'efficacité d'un catalyseur dans une réaction donnée. Cette activité peut être illustrée par différents moyens tels que la vitesse de formation du produit ( $V$ ), la concentration d'activité catalytique ( $b$ ).

### III.1.2. Vitesse de formation du produit (V)

La vitesse d'une réaction chimique (catalysée ou non) est définie comme la variation de la concentration du produit formé (o-quinone) par unité de temps :

$$V = \frac{dC}{dt}$$

La variation de l'absorbance est proportionnelle à la concentration en produit formé dans le milieu réactionnel, elle est définie par la loi de Beer-Lambert 1 :

$$A = \epsilon \cdot L \cdot C$$

Avec :

A : est l'absorbance

$\epsilon$  : est le coefficient d'extinction molaire, il s'exprime en l/mol/cm

L : est le trajet optique de la cuve, en général égal à 1cm.

C : est la concentration du produit formé (o-quinone). La vitesse de la réaction est définie par l'équation 2 et s'exprime en mol/l/s.

$$V = \frac{\Delta A}{\Delta t} \frac{1}{\epsilon \cdot L}$$

2

### III.1.3. Concentration d'activité catalytique (b)

La concentration d'activité catalytique est définie par l'équation 3 :

$$b = \frac{\Delta A}{\Delta t} \frac{1}{\epsilon \cdot L} \frac{V_{réact}}{V_{comp}} \cdot 10^6$$

3

b : concentration d'activité catalytique s'exprime ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ )

$\Delta A$  : variation d'absorbance

$\Delta t$  : variation du temps (min)

$V_{réact}$  : volume du mélange réactionnel total ou se fait la mesure ( $V_{réact} = 2,3 \text{ mL}$ )

$V_{comp}$  : volume du milieu contenant le complexe ( $V_{comp}$ )

## IV.2 Etude Cinétique de l'oxydation du Catéchol seul

Avant de commencer notre étude, on a vérifié que dans les conditions expérimentales utilisées, le catéchol ne s'oxyde pas en l'absence du catalyseur à base de cuivre. Le graphe (figure x) montre bien une absorbance pratiquement nulle en fonction du temps en l'absence du catalyseur dans les conditions de l'expérience.

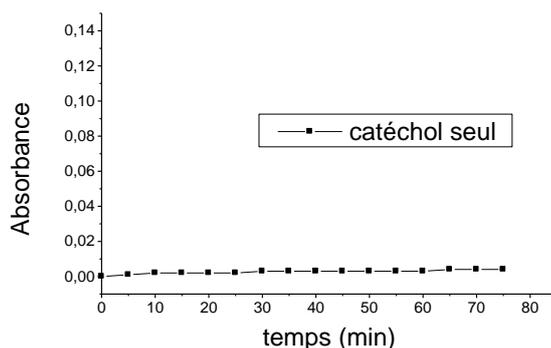


Figure 10 : Oxydation de la catéchol [ $10^{-1}$  mol/l] sans catalyseur

La même expérience a été reproduite une fois avec le ligand seul et le catéchol et une autre fois avec le sel et le catéchol. Aucune absorbance n'a été observée dans les deux cas.

### III.3. Etude Cinétique d'oxydation du Catéchol en O-quinone en présence des complexes préparés « *in situ* » :

L'oxydation du catéchol en O-quinone se fait suivant la réaction :

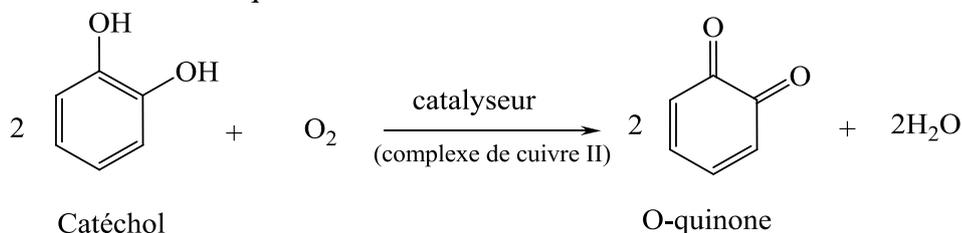


Schéma 14

Les mesures cinétiques ont été réalisées sur un spectrophotomètre UV-visible en suivant la formation de l'O-quinone en fonction du temps à 25°C. La bande caractéristique de l'O-quinone à 390 nm a été utilisée pour suivre l'oxydation du substrat. Le paramètre cinétique a été déterminé par la méthode de la vitesse initiale.

Le suivi de la réaction s'effectue dans un spectrophotomètre « Mecasys – Optizen POP », au laboratoire de Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO) à l'université de Tlemcen, dans des cuves en plastique non fermé afin de permettre à l'oxygène de l'air de jouer son rôle dans le mécanisme catalytique, pendant une heure avec des mesures d'absorbance tous les 5 minutes.

Dans cette étude, le complexe est préparé « *in situ* » en mélangeant 0.15 ml d'une solution  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/l de ligand [L1-L10] dissout dans le méthanol pour analyse et 0.15 ml d'une solution de sel de cuivre  $\text{CuX}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$   $2 \cdot 10^{-3}$  mol/l (avec  $\text{X} = \text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ). On laisse le mélange reposer environ 20 minutes et on ajoute ensuite 2 ml d'une solution de concentration  $10^{-1}$  mol/l en catéchol. Après l'addition, on suit l'évolution de l'absorbance à 390 nm en fonction du temps.

La littérature rapporte que l'activité catalytique des complexes à base de cuivre dépend de quatre facteurs importants : Nature de l'anion, l'effet stérique du ligand, propriétés électrochimiques du

complexe et le transfert d'électrons du catéchol au centre métallique. En vue d'examiner les deux premiers facteurs, nous avons effectué cette étude sur notre série de tripodes monocentriques et bicentriques synthétisée dans le deuxième chapitre et une deuxième série synthétisée au sein de notre laboratoire .

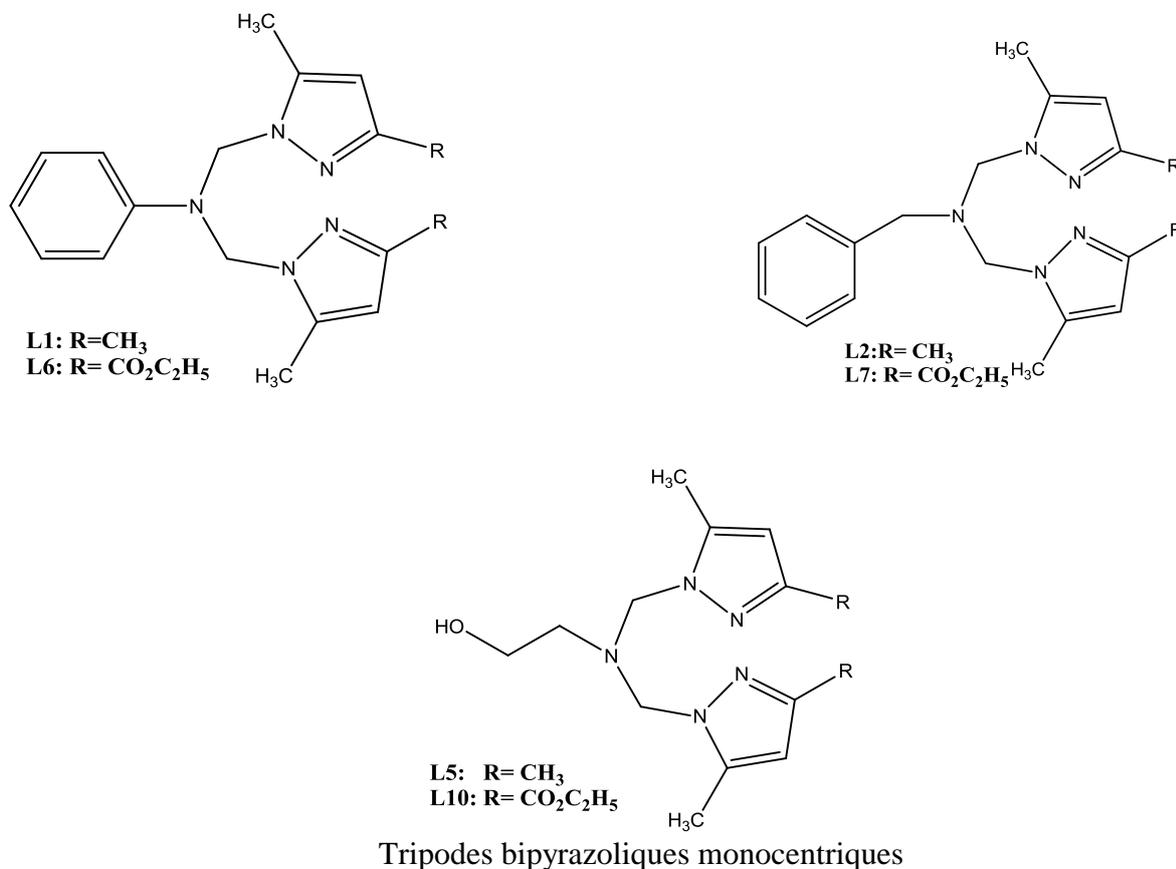
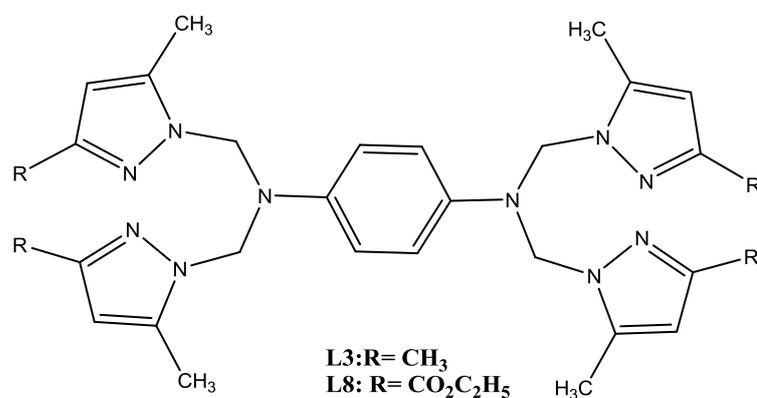
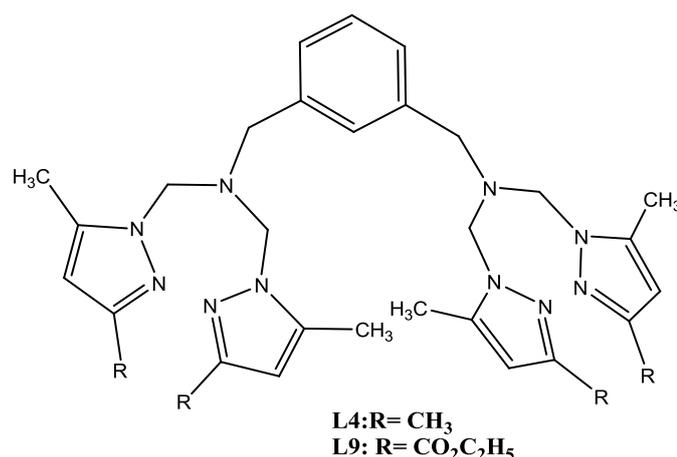


Figure 11





Tripodes bipyrazoliques bicentriques

Figure 12

Pour effectuer cette étude deux méthodes sont exploitées dans la littérature ; la première consiste à isoler d'abord le complexe et ensuite mélanger le catalyseur avec le catéchol, la deuxième méthode se base sur la synthèse du complexe « *in situ* », en mélangeant le ligand avec le sel métallique, suivi de l'addition du catéchol. Dans les deux cas, la vitesse de la réaction est déterminée par colorimétrie en suivant l'évolution de la formation de l'O-quinone.

Dans ce chapitre, nous avons fait une étude de l'effet catalytique de certains complexes de cuivre préparés avec les ligands pyrazoliques monocentriques et bicentriques dans la catalyse de la réaction d'oxydation du catéchol en o-quinone.

## V. RESULTATS ET DISCUSSION

Les tripodes peuvent être organisés en trois séries : Série 1 : L1, L2, L3 et L4, Série 2 : L6, L7, L8, L9 et une série de deux ligands L5 et L10.

### IV.1. Oxydation du catéchol en présence des complexes formés avec les ligands

#### IV.1.1. Première série : L1-L4

Après une durée de complexation de 20 minutes, nous ajoutons 2 ml de solution du catéchol, et nous suivons par colorimétrie l'évolution de la formation de l'O-quinone qui absorbe à une longueur d'onde de 390 nm.

Les figures 13-16 montrent l'évolution de l'absorbance en fonction du temps pour les 60 premières minutes de la réaction des complexes du cuivre (II), tandis que les concentrations d'activités catalytiques (b) sont rassemblées dans le tableau 1.

**Tableau 1:** Vitesses d'oxydation du catéchol ( $\mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$ )

Ligand /Sel	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	$\text{CuCl}_2$	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$
L1	57,98	4,79	8,62
L2	71,88	2,87	6,23
L3	129,86	21,08	28,27
L4	91,04	15,33	25,39

Comme le montre le tableau 1, tous les complexes catalysent la réaction d'oxydation du catéchol en O-quinone avec des vitesses d'oxydation qui varient de  $129,86 \mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$  dans le cas du complexe L3  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2]$  à  $2,87 \mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$  dans le cas du complexe L2  $[\text{CuCl}_2]$ . L'activité catalytique dépend énormément de la forme du tripode et du type de l'anion inorganique.

- Dans le cas de l'anion  $\text{NO}_3^-$  : les complexes formés avec les ligands bicentriques L3 et L4 donnent des vitesses d'oxydation respectivement de  $28,27$  et  $25,39 \mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$  beaucoup plus élevées que dans les cas des ligands L1 et L2, ligands monocentriques, respectivement  $8,62$  et  $6,23 \mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$ .

- L'anion  $\text{Cl}^-$  donne des vitesses d'oxydation de  $21,08$  et  $15,33$  pour les complexes formés avec les ligands L3 et L4. Les valeurs obtenues avec les ligands L1 et L2 sont beaucoup moins importantes  $4,79 \mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$  pour L1 et  $2,87 \mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$  pour L2.

Pour le cas de l'anion  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ , les résultats obtenus montrent des activités très importantes pour les quatre ligands qui atteignent des valeurs de  $129,86$  et  $91,04 \mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$  pour les ligands L3 et L4, ligands bicentriques. Les complexes des ligands L1 et L2 donnent des activités catalytiques respectivement de  $57,98$  et  $71,88 \mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$ .

La nature de l'anion affecte la géométrie des complexes de cuivre [55]. Ce facteur contribue à expliquer la différence de la réactivité des différents complexes dans la réaction d'oxydation du catéchol en O-quinone.

Néanmoins, la catalyse nécessite la présence d'un site vacant sur l'ion métallique pour permettre la fixation du catéchol. Il a été démontré en utilisant des modèles que le transfert d'électron entre le catéchol et le cuivre ne peut commencer que lorsque les espèces catéchol et cuivre constitueront l'intermédiaire catécholite (schéma 13).

Les complexes les plus actifs sont préparés à partir des ligands L1-L2, L3 et L4 et le sel  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ . Les ions  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  forment des liaisons relativement faibles avec le cation. Dans ce cas, le substrat peut aisément se substituer à l'anion avec formation du complexe Cu-ligand. Cependant, les anions  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{Cl}^-$  forment des liaisons plus fortes avec le cation ce qui pose problème quant à la coordination du substrat (formation du complexe Cu-ligand) expliquant ainsi une estimation décroissante de l'activité catalytique.

La nature du contre anion joue un rôle très important dans l'activité catalytique des complexes. En effet, les ligands se substitueront difficilement aux anions fortement liés au métal régissant ainsi la quantité de complexe formé et par voie de conséquence l'activité catalytique.

En comparant les activités des complexes formés avec les ligands L3 et L4 et ceux formés avec les ligands L1 et L2 avec les différents sels  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ,  $\text{CuCl}_2$  et  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ , on constate que les complexes dérivés des ligands L3 et L4, ligands bicentriques présentent des activités supérieures en comparaison avec ceux formés avec L1 et L2 qui eux sont des ligands monocentriques.

Les ligands L3 et L4, ligands bicentriques, forment probablement des complexes binucléaires avec le cuivre. Effectivement, ces complexes bicentriques comportent deux centres métalliques très proches l'un de l'autre et s'avèrent être plus efficace pour cette réaction. En effet, cette structure permet au catéchol de se lier aux deux centres cuivriques plus facilement. Cet état de transition facilite le transfert de deux électrons requis dans le processus d'oxydation [53].

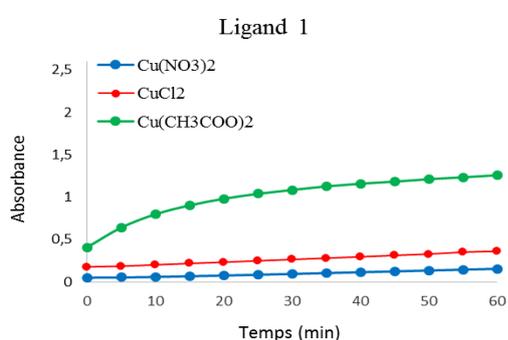


Figure 13 : oxydation du catéchol par les complexes du L1

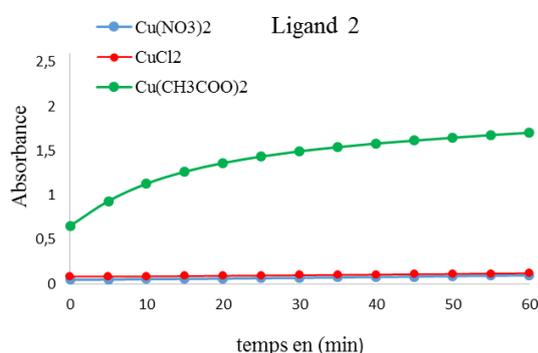


Figure 14 : oxydation du catéchol par les complexes du L2

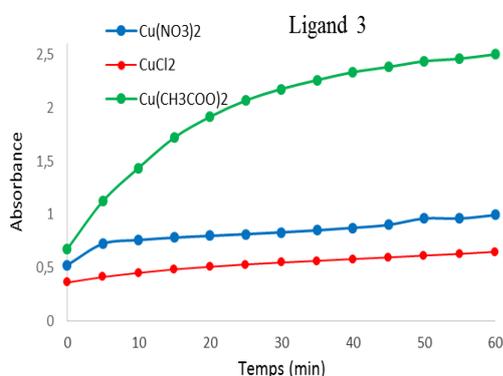


Figure 15 : oxydation du catéchol par les complexes du L3

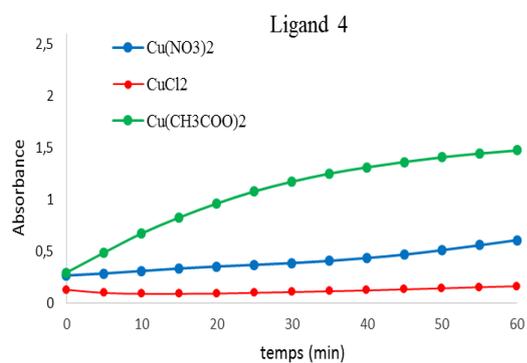


Figure 16 : oxydation du catéchol par les complexes du L4

#### IV.1.2. Étude de l'effet de la nature du ligand sur la cinétique d'oxydation du catéchol en o-quinone.

Dans cette étude nous voulons faire une comparaison entre l'activité catalytique des complexes de cuivre (II) formés par différents ligands pour le même anion.

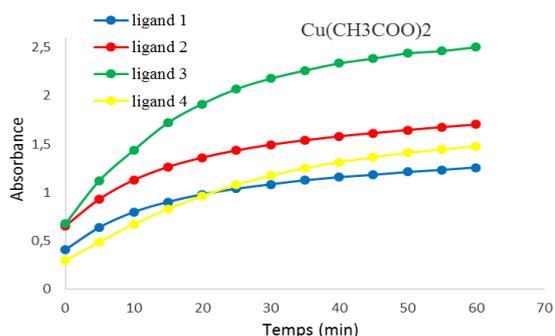


Figure 17 : oxydation du catéchol en présence de l'acétate

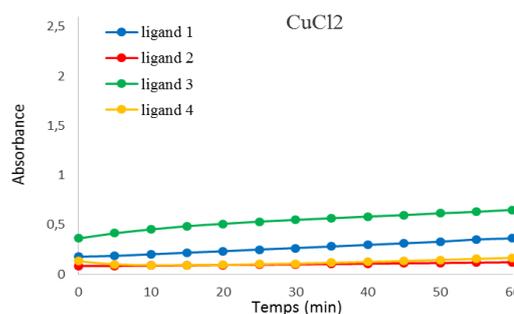


Figure 18 : oxydation du catéchol en présence des chlorures

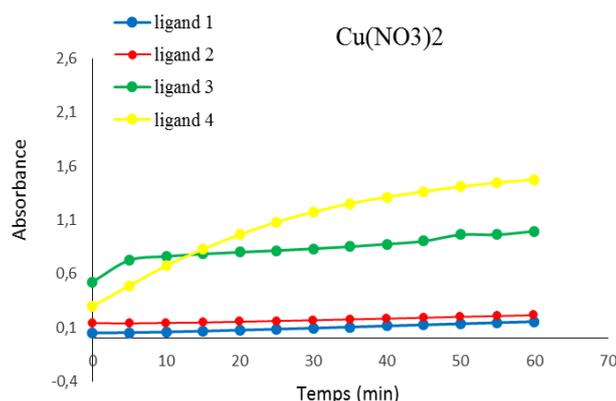


Figure 19 : oxydation du catéchol en présence des nitrates

Un examen des trois figures nous permet de remarquer que les complexes formés avec les ligands bicentriques donnent de meilleures activités que les complexes formés avec les ligands monocentriques. La figure 17 montre que dans le cas de l'anion  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  les complexes formés avec les différents ligands ont tous donné de très bonnes activités catalytiques.

#### IV.1.3. DEUXIEME SERIE : L6-L9

Comme le montre les résultats résumés dans le tableau 2, tous les complexes de cette série, excepté le L7 dans le cas de l'acétate, oxydent le catéchol en O-quinone avec des vitesses d'oxydation décroissantes allant de  $49,96 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  pour le complexe L6  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2]$  à  $10,06 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  pour le complexe L7  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2]$ .

Tableau 2: Vitesses d'oxydation du catéchol ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ )

Ligand /Sel	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	$\text{CuCl}_2$	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$
L6	46,96	34,02	41,69
L7	-	11,02	33,54
L8	21,08	52,23	53,67
L9	10,06	50,79	49,35

Dans le cas de l'anion  $\text{NO}_3^-$ , l'ordre de réactivité des ligands est  $\text{L8} > \text{L9} > \text{L6} > \text{L7}$ . Les complexes de ces ligands formés par le nitrate de cuivre ont montré de très bonnes activités catalytiques dans la réaction d'oxydation du catéchol en o-quinone. Le même ordre de réactivité a été observé avec le chlorure de cuivre. Dans le cas de l'acétate, les complexes formés avec le L8 et le L9 présentent des activités catalytiques moins importantes que celle obtenue avec le L6. Le complexe formé avec le ligand L7 n'a montré aucune activité catalytique dans cette réaction d'oxydation (figures 20-23).

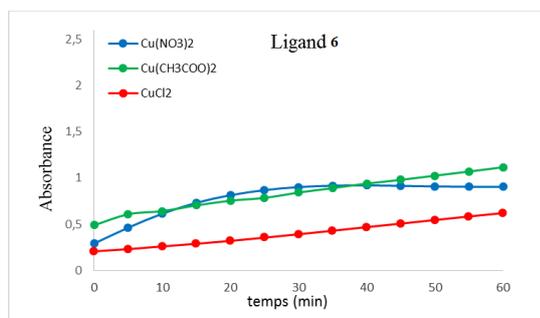


Figure 20 : oxydation du catéchol par les complexes du L6

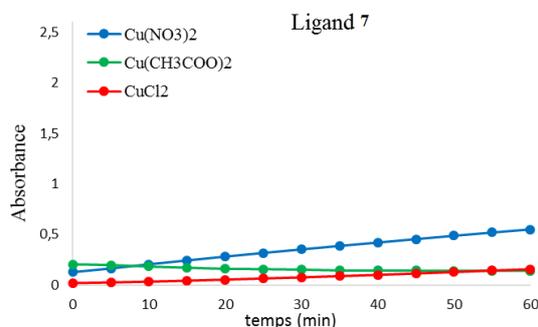


Figure 21 : oxydation du catéchol par les complexes du L7

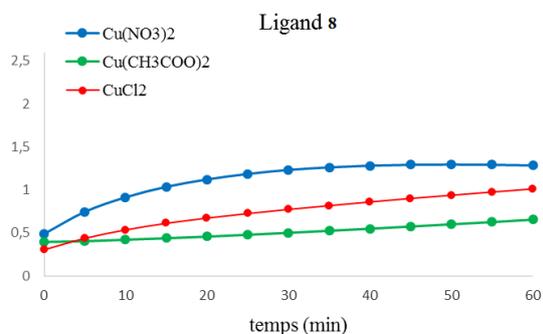


Figure 22 : oxydation du catéchol par les complexes du L8

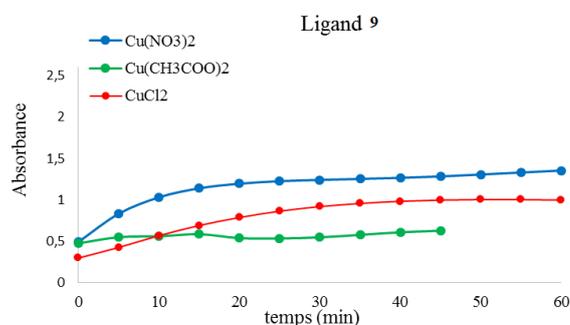


Figure 23 : oxydation du catéchol par les complexes du L9

#### IV.1.4. ETUDE COMPARATIVE DES ACTIVITES CATALYTIQUES DES DEUX SERIES

Les résultats reportés dans le tableau 3 rassemblent les différentes activités catalytiques des complexes de cuivre (II) préparés avec les ligands des deux séries étudiées précédemment et les sels de cuivre.

**Tableau 3** : Vitesses d'oxydation du catéchol ( $\mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$ )

Sel/Ligand	L1	L6	L2	L7	L3	L8	L4	L9
$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	57,98	16,96	71,88	-	129,86	21,08	91,04	10,06
$\text{CuCl}_2$	4,79	34,02	2,87	11,02	21,08	52,23	15,33	50,79
$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$	8,62	41,69	6,23	33,54	28,27	53,67	25,39	49,35

Comme on peut le constater, la nature du groupement R fixé en position 3 sur le cycle pyrazolique a un effet important sur le taux d'oxydation du catéchol en o-quinone.

Deux cas seront distingués :

1°. Cas ou R=CH<sub>3</sub> : cas des ligands L1, L2, L3 et L4

Quand on utilise l'ion CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>, l'ordre de réactivité est L3>L4>L2>L1. Les complexes de cuivre de ces ligands ont donné les meilleures activités catalytiques dans la réaction d'oxydation, particulièrement avec les ligands bicentriques L3 et L4 ( $57,98 \leq b \leq 129,86$ )  $\mu\text{mol. L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ . L'ordre de réactivité est pratiquement le même avec les ions Cl<sup>-</sup> et NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, mais les activités sont beaucoup moins importantes ( $2,87 \leq b \leq 21,08$ )  $\mu\text{mol. L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  et ( $6,23 \leq b \leq 28,27$ )  $\mu\text{mol. L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ .

2°. Cas ou R=CO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> : cas des ligands L6, L7, L8 et L9

Dans le cas de l'anion CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>, l'ordre de réactivité est L8>L6>L9 ( $10,06 \leq b \leq 21,08$ )  $\mu\text{mol. L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ . Le complexe avec L7 ne donne aucune activité. Les activités catalytiques obtenues avec les ions Cl<sup>-</sup> et NO<sub>3</sub><sup>-</sup> sont beaucoup plus importantes ( $11,02 \leq b \leq 52,23$ )  $\mu\text{mol. L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  et ( $33,54 \leq b \leq 53,67$ )  $\mu\text{mol. L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ . L'ordre de réactivité pour les deux sels est L8>L9>L6>L7. Toutefois, les meilleures activités sont obtenues avec les ligands bicentriques.

Les complexes de cuivre dérivés des ligands L1-L4, ligands portant un groupement méthyle en position 3 sur le cycle pyrazolique et l'acétate de cuivre donnent les meilleures activités catalytiques. Les concentrations des activités catalytiques de ces complexes binucléaires sont 3 à 9 fois plus élevées que celles de leurs analogues structuraux possédant un groupement ester en position 3 sur le cycle pyrazolique ligands L6- L9. Dans le cas des anions nitrates et des anions chlorures, les meilleures activités sont obtenues avec les complexes formés avec les ligands L6-L9.

L'étude comparative des concentrations des activités catalytiques des complexes de cuivre préparés avec les ligands portant un groupement méthyle sur le cycle pyrazolique L1-L4 d'une part et des complexes préparés avec les ligands portant un groupement ester L6-L9 d'autre part montre bien que cette activité dépend largement de la nature du groupement fixé en position 3 sur le cycle pyrazolique et de la nature de l'anion du sel de cuivre.

Dans la série 1 (R=CH<sub>3</sub>), les meilleures activités sont obtenues dans le cas de l'anion acétate (tableau 1), en revanche dans la série 2 (R=CO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>), les plus faibles activités sont obtenues avec ce dernier (tableau 2).

#### **IV.1.5. TROISIEME SERIE : L5-L10**

Des activités catalytiques ont été mesurées pour deux autres ligands pyrazoliques monocentriques ayant une chaîne latérale comportant deux atomes de carbone et un groupement hydroxyle en position 1. Les résultats sont résumés dans le tableau 4.

**Tableau 4** : Vitesses d'oxydation du catéchol ( $\mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$ )

Ligand /Sel	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	$\text{CuCl}_2$	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$
L5	66,13	80,98	53,12
L10	24,44	28,75	45,04

D'après les résultats de cette étude, on constate que la nature du groupement R fixé en position 3 sur le cycle pyrazolique influe sur la vitesse d'oxydation du catéchol en o-quinone.

En effet, quand  $\text{R} = \text{CH}_3$ , groupement donneur inductif, les meilleurs activités sont obtenues dans le cas des complexes formés avec l'acétate de cuivre ( $66,13 \mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$ ), le chlorure ( $80,98 \mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$ ) et le nitrate ( $53,12 \mu\text{mol. L}^{-1}. \text{min}^{-1}$ ). Cette activité diminue sensiblement quand  $\text{R} = \text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ , groupement attracteur mésomère (tableau 4) principalement dans le cas des acétates et des chlorures (figures 24 et 25).

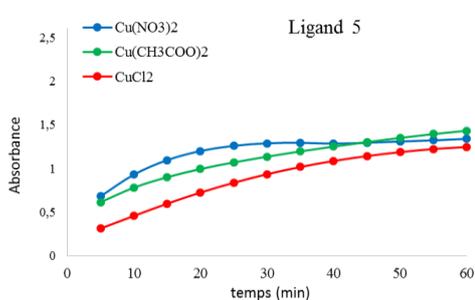


Figure 24 : oxydation du catéchol par les complexes du L5

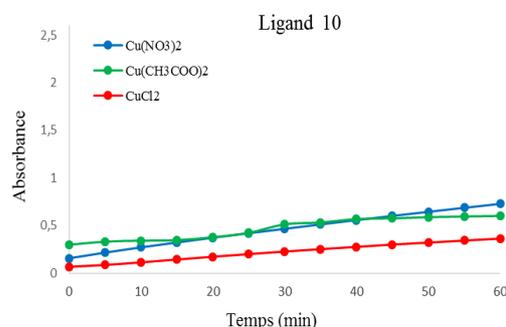


Figure 25 : oxydation du catéchol par les complexes du L10

## V. CONCLUSION

Nous avons préparé des complexes avec nos ligands tridentés synthétisés (chapitre II) et ceux synthétisés par ma camarade dans le laboratoire et avec les sels de cuivre (II). Notre objectif dans ce chapitre était d'évaluer leurs performances catalytiques dans l'oxydation du catéchol en o-quinone.

Pour faire cette étude, nous avons préparé les complexes « *in situ* », ce qui nous a permis de varier plus facilement la nature du ligand et des anions.

Les résultats obtenus montrent que nos complexes présentent une activité catalytique dans l'oxydation du catéchol dans des conditions très douces à une température de  $25^\circ\text{C}$  ou  $30^\circ\text{C}$  et en utilisant comme oxydant l'oxygène de l'air.

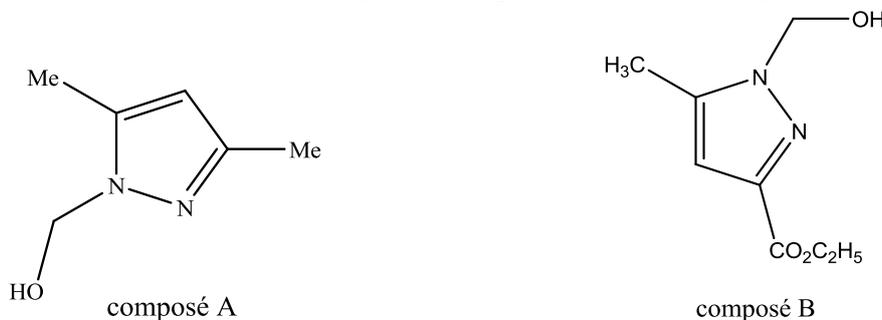
Les meilleures concentrations d'activité catalytique ont été obtenues avec les complexes formés avec les ligands de la série 1, série des ligands possédant un groupement méthyle en position 3 sur le cycle pyrazolique et avec l'acétate de cuivre. Les ligands bicentriques L3 et L4 ont donné de meilleures concentrations que les ligands monocentriques L1 et L2.

Les résultats étaient moins bons avec les ligands de la deuxième série, ligands avec un groupement ester en position 3 sur le cycle pyrazolique.

On peut conclure que les concentrations des activités catalytiques de ces complexes dépendent de la nature du substituant en position 3 du pyrazole, du nombre de centre de chélation du ligand et de la nature de l'anion du sel de cuivre.

*Conclusion Générale et  
perspectives*

L'objectif principal de ce mémoire de master consistait à synthétiser une série de composés tripodales bipyrazoliques monocentriques et bicentriques à base de (3,5-diméthylpyrazol-1-yl) méthanol (composé A) comme précurseur de base avec une série d'amines adéquates. Une évaluation de l'activité catalytique des complexes de cuivre II préparés « *in situ* » à partir de nos ligands synthétisés et une autre série de ligands analogues préparés à partir du 1-(hydroxyméthyl)-5-méthyle-1H-pyrazole-3-carboxylate d'éthyle (composé B) a été faite dans le but de mimer une des fonctions de la tyrosinase qui est la catéchol oxydase.



Dans le premier chapitre de ce mémoire, nous avons effectué une étude bibliographique portant sur les structures tripodales bipyrazoliques à jonction N-C-N, et l'intérêt des complexes de métaux de transition dérivés des ligands pyrazoliques monocentriques et bicentriques dans la catalyse biomimétique.

Dans le deuxième chapitre nous avons synthétisé une série de ligands tripodales monocentriques et bicentriques par la bi ou la tétra condensation du précurseur de base avec une série d'amines ou diamines appropriés dans un milieu anhydre, et à température ambiante. Les produits obtenus sont des composés purs ce qui a été confirmé par les points de fusion et l'analyse IR. Ces derniers ont été obtenus avec de bons rendements.

Dans le dernier chapitre, l'étude de l'activité catalytique a été réalisée sur les complexes préparés « *in situ* » à partir de nos composés et différents sels de cuivre II (l'acétate de cuivre, le nitrate de cuivre et le chlorure de cuivre) dans la réaction d'oxydation du catéchol en ortho-quinone. Les résultats ont montrés que les ligands (L1-L5) synthétisés à base du composé A se montrent plus efficaces dans la réaction d'oxydation du catéchol en ortho-quinone contrairement à leurs analogues structurels (L6-L10) synthétisés à partir du composé B.

Les meilleurs résultats sont remarqués dans le cas des ligands bicentriques des deux séries. Concernant la première série, les meilleurs résultats sont observés dans le cas des complexes formés par l'acétate de cuivre. En revanche, dans la deuxième série, les complexes formés par le nitrate de cuivre ont donné les meilleures activités.

L'activité catalytique des complexes dépend aussi bien de la nature du ligand, la nature du substituant fixé en position 3 du pyrasole ainsi que de la nature du contre anion.

En continuité à ce modeste travail de mémoire de master plusieurs points méritent d'être développés et valorisés.

- Synthétiser, isoler et caractériser les complexes de métaux de transition préparés à partir de nos ligands.
- Orienter et diriger les recherches vers le domaine de la catalyse biomimétique, non seulement c'est un domaine très important et d'actualité mais aussi nos composés possèdent un profil de catalyseurs.

- [1] Cf. Kovaleva and J.D.Lipscomb, "Versatility of biological non-heme Fe(II) centers in oxygen activation reactions," *Nat. Chem Biol*, vol. 4, pp. 186–193, 2008.
- [2] Cf. Cavazza C, Bochot C, Rousselot-Pailley P, Carpentier P, Cherrier M.V, Martin L, Marchi-Delapierre C, Fontecilla-Camps J.C, and Ménage S, "Crystallographic snapshots of the reaction of aromatic C–H with O<sub>2</sub> catalysed by a protein-bound iron complex," *Nat. Chem.*, vol. 2, pp. 1069–1076, 2010.
- [3] S. Ningaiah, U.K. Bhadraiah, S.D. Doddaramappa, S. Keshavamurthy, and C. Javarasetty, "Novel pyrazole integrated 1,3,4-oxadiazoles: synthesis, characterization And antimicrobial evaluation," *Bioorg Med Chem Lett*, vol. 24, pp. 245–248, 2014.
- [4] J. Regan, S. Breitfelder, and P. Cirillo, "Pyrazole urea-based inhibitors of p38 MAP kinase: from lead compound to clinical candidate," *J Med Chem*, vol. 45, pp. 2994–3008, 2002.
- [5] B.P. Bandgar, H.V. Chavan, and L.K. Adsul, "Design, synthesis, characterization and biological evaluation of novel pyrazole integrated benzophenones," *Bioorg Med Chem Lett*, vol. 23, pp. 912–916, 2013.
- [6] N.C. Desai, K.M. Rajpara, and V.V. Joshi, "Synthesis of pyrazole encompassing 2pyridone derivatives as antibacterial agents," *Bioorg Med Chem Lett*, vol. 23, pp. 2714–2717, 2013.
- [7] L. Knorr, "Einwirkung von Acetessigester auf Hydrazinchinizin derivative," *Chem Ber*, vol. 17, pp. 546–552, 1883.
- [8] G. Turan-Zitouni, M. Sivaci, F.S. Kılıc, and K. Erol, "Synthesis of some triazolyl-antipyrene derivatives and investigation of analgesic activity," *Eur J Med Chem*, vol. 36, pp. 685–689, 2001.
- [9] A.A. Bekhit and H.T.Y. Fahmy, "Synthesis and biological evaluation of some thio containing pyrrolo [2,3-d] Pyrimidine derivatives for their anti-inflammatory and anti-microbial activities," *Arch Pharm Pharm Med Chem*, vol. 2, pp. 111–118, 2003.
- [10] R.R. Ranatunge, R.A. Earl, D.S. Garvey, D.R. Janero, L.G. Letts, A.M. Martino, M.G. Murty, S.K. Richardson, D.J. Schwalb, D.V. Young, and I.S. Zemtseva, *Bioorg Med Chem Lett*, vol. 14, pp. 6049–6052, 2004.
- [11] E. Banoglu, C. Akoglu, S. Unlu, E. Kupeli, E. Yesilada, and M.F. Sahin, "Synthesis of some triazolyl-antipyrene derivatives and investigation of analgesic activity.," *Arch Pharm Pharm Med Chem*, vol. 337, pp. 7–14, 2004.
- [12] S.A.M. El-Hawash, E.A.M. Badawey, and I.M. El-Ashmawy, "Synthesis, evaluation of anticancer activity and compare analysis of N-bis(trifluoromethyl)alkyl-N'-substituted ureas with pharmacophoric moieties," *Eur J Med Chem*, vol. 41, pp. 155–165, 2006.
- [13] O. Rosati, M. Curini, M.C. Marcotullio, A. Macchiarulo, M. Perfumi, L. Mattioli, F. Rismondo, and G. Cravotto, "Synthesis, evaluation of anticancer activity and compare analysis of N-bis(trifluoromethyl)alkyl-N'-substituted ureas with pharmacophoric moieties," *Bioorg Med Chem*, vol. 15, pp. 3463–3473, 2007.
- [14] G. Szabo, J. Fischer, A. Kis-Varga, and K. Gyires, "New celecoxib derivatives as anti-inflammatory agents.," *J Med Chem*, vol. 51, pp. 142–147, 2008.
- [15] N. Benaamane, B. Nedjar-Kolli, Y. Bentarzi, L. Hammal, A. Geronikaki, P. Eleftheriou, and A. Lagunin, "Synthesis and in silico biological activity evaluation of new N-substituted pyrazolo-oxazin-2-one systems," *Bioorg Med Chem*, vol. 6, pp. 3059–3066, 2008.

- [16] W.L. Driessen, "Synthesis of some new pyrazole-containing chelating agents," *Recl Trav Chim*, vol. 101, p. 441, 1980.
- [17] H.L. Blonck, W.L. Driessen, and J. Reedijk, "Transition-metal co-ordination compounds of a novel aniline-based pyrazole derivative. X-Ray crystal structures of [NN-bis(3,5-dimethylpyrazol-1-ylmethyl) aminobenzene]-dichlorocobalt(II) and -dibromocopper(II)," *Chem Soc*, p. 1699, 1985.
- [18] F. Xue and J. Zhao, "Iron(II) complexes with functionalized amine-pyrazolyl tripodal ligands in the cross-coupling of aryl Grignard with alkyl halides," *TSA Hor*, vol. 40, p. 8935, 2011.
- [19] F. Xue and J. Zhao, "Cross-coupling of alkyl halides with aryl or alkyl Grignards catalyzed by dinuclear Ni(II) complexes containing functionalized tripodal amine-pyrazolyl ligands," *TSA Hor*, vol. 42, p. 5150, 2013.
- [20] M.El Kodadi, F. Malek, R. Touzani, and A. Ramdani, "Synthesis of new tripodal ligand 5-(bis(3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-ylmethyl)amino)pentan-1-ol, catecholase activities studies of three functional tripodal pyrazolyl N-donor ligands, with different copper (II) salts," *Catal Commun*, vol. 9, p. 966, 2008.
- [21] A. John, M.M. Shaikh, R.J. Butcher, and P. Ghosh, "Highly efficient palladium precatalysts of homoscorpionate bispyrazolyl ligands for the more challenging Suzuki–Miyaura cross-coupling of aryl chlorides," *Dalton Trans*, vol. 39, p. 7353, 2010.
- [22] J. Gätjens, C.S. Mullins, J.W. Kampf, and P. Thuéryb, "Synthesis, properties and molecular structures of iron(III), cobalt(II), nickel(II), copper(II), copper(I) and zinc(II) complexes with N,N-bis(pyrazol-1-ylmethyl)benzylamine," *VL Pecoraro*, p. 51, 2009.
- [23] C. Dowling, V.J. Murphy, and G. Parkin, "Bis(pyrazolyethyl) Ether Ligation to Zinc and Cobalt: Meridional vs Facial Coordination and the Suitability of Such Ligands in Providing a NNO Donor Set for Modeling Bioinorganic Aspects of Zinc Chemistry," *Inorg Chem*, vol. 35, p. 2415, 1996.
- [24] T. Harit, F. Malek, B.E. Bali, A. Khan, K. Dalvandi, B.P. Marasini, S. Noreen, Malik, S. Khan, and M.I. Choudhary, "Cobalt(II) complexes containing N'-substituted N,N',N-bis((1H-pyrazol-1-yl)methyl)amine ligands: The formation of four-coordinate or five-coordinate complexes as a function of the N'-substitution group in N,N',N-bis((1H-pyrazol-1-yl)methyl)amine," *Med Chem Res*, vol. 21, p. 2772, 2012.
- [25] Z. Chen, N. Karasek, D.C. Craig, and S.B. Colbran, "Copper(II/I) complexes of a bulky tris(pyrazolylmethyl)amine ligand," *J Chem Soc*, p. 3445, 2000.
- [26] S.-C. Sheu, M.-J. Tien, M.-C. Cheng, T.-I. Ho, S.-M. Peng, and Y.-C. Lin, "Synthesis, properties and molecular-structures of iron(III), cobalt(II), nickel(II), copper(II), copper(II) and zinc(II) complexes with n,n-bis(pyrazol-1-ylmethyl)benzylamine," *J Chem Soc*, p. 3503, 1995.
- [27] M.Daoudi, N.Ben Larbi, A.Kerbal, B.Bennani, J.P.Launay, J.Bonvoisin, T.Ben Hadda, and P.Dixneuf, "Synthesis, properties and molecular-structures of iron(III), cobalt(II), nickel(II), copper(II), copper(I) and zinc(II) complexes with n,n-bis(pyrazol-1-ylmethyl)benzylamine," *tetrahedron*, vol. 62, p. 3123, 2006.
- [28] T. N.Sorrell, V. A.Vankai, and M. L.Garvity, "Synthesis and reactivity of dinuclear copper complexes having a m-xylyl spacer between coordination units," *Inorg Chem*, vol. 30, p. 207, 1991.
- [29] A.Togni and L. M.Venanzi, "Nitrogen donors in organometallic chemistry and homogeneous catalysis," *Angew Chem*, vol. 1994, p. 497, 1994.

- [30] T.N.Sorell and D.L.Jameson, "Synthesis and characterization of sterically hindered CuN<sub>4</sub> complexes of tripod ligands," *Inorg Chem*, vol. 21, p. 1014, 1982.
- [31] H.Nishiyama, Y.Itoh, H.Matsumoto, S.Park, K.Itoh, and J.Ani, "New chiral ruthenium bis(oxazoliny)pyridine catalyst. efficient asymmetric cyclopropanation of olefins with diazoacetates," *Chem Soc*, vol. 116, p. 2223, 1994.
- [32] H.Nishiyama, Y.Itoh, Y.Sugawara, H.Matsumoto, K.Aoki, and K. Itoh, *Ruthenium Catalysts and Fine Chemistry*, vol. 68. Amazon France, 1995.
- [33] S.-G. Roh, Y.-C.Park, D.-K.Park, T.-J.Kim, and J.H.Jeong, *Amino Acids, Peptides and Proteins*, vol. 20. Amazon France, 2001.
- [34] M.Scarpellini, A. J. Wu, J. W.Kampf, and V. L.Pecoraro, "Corroborative models of the cobalt (II) inhibited Fe/Mn superoxide dismutases," *Inorg Chem*, vol. 44, p. 5001, 2005.
- [35] A. Zerrouki a, R.Touzani a,b, and S. Kadiri a, "Synthesis of new derivatized pyrazole based ligands and their catecholase activity studies," *Arab. J. Chem.*, vol. 4, pp. 459–464, 2011.
- [36] N.Boussalah, R.Touzani, I.Bouabdallah, S.El Kadiri, and S.Ghalem, "Synthesis, structure and catalytic properties of tripodal amino-acid derivatized pyrazole-based ligands," *J. Mol. Catal. Chem.*, vol. 306, pp. 113–117, 2009.
- [37] N. Boussalah, R.Touzani, I.Bouabdallah, S.Ghalem, and S.El Kadiri, "Oxidation catalytic properties of new amino Acid based on pyrazole tripodal ligands," *Int. J. Acad. Res.*, vol. 1, no. 2, pp. 137–143, 2009.
- [38] Y.Toubi, R.Touzani, S. Radi, and S.El Kadiri, "Synthesis, characterization and catecholase activity of copper (II) complexes with bispyrazol tri-podal Ligands," *J Mater Environ Sci*, no. 3 (2), pp. 328–341, 2012.
- [39] R. G.Jones, M. J.Hannet, and K. M.Lauglin, "The synthesis of furan, thiophene, and pyrrole-3,4-dicarboxylic esters," *J Org Chem*, vol. 19, pp. 1671–1680, 1954.
- [40] I.Bouabdellah, "Synthèse et étude de nouveaux ligands monocentriques et bicentriques à base d'hétérocycles," chimie org-biochimie, Faculté des sciences, Oujda, pp. 65, 2006.
- [41] M.El Kodadi, "nouveau tripodes pyrazoliques et quinoxalines fonctionnalisés.complexation,étude structurale et activité catalytiques et biologiques," chimie org-biochimie, Faculté des sciences, Oujda, pp. 52, 2005.
- [42] J. M. R. Caixeiro, V. T. Gonçalves, M. C. C. de Oliveira, C. M. R. Sant'Anna, V. M. Rumjanek, and J. B. N. DaCosta, "Dialkylphosphorylhydrazones as potent tyrosinase inhibitors," *J Braz Chem Soc*, vol. 23, no. 5, pp. 8–10, 2012.
- [43] B. Seo, J.Yun, S.Lee, M.Kim, K.Hwang, J.Kim, K. R. Min, Y.Kim, and D.Moon, "Barbarin as a new tyrosinase inhibitor from *Barbarea orthocerus*," *Planta Med*, vol. 65, pp. 683–686, 1999.
- [44] K.Shimizu, R.Kondo, K.Sakai, S-H.Lee, and H.Sato, "Inhibitory components from *Artocarpus incisus* on melanin biosynthesis," *Planta Med*, vol. 64, pp. 408–412, 1998.
- [45] R. Spritz, L.Ho, M.Furumura, and V. J. Hearing, "Mutational analysis of copper binding by human tyrosinase," *J Invest Dermatol*, vol. 109, pp. 207–212, 1997.
- [46] T.Klabunde, C.Eicken, J. C. Sacchettini, and B. Krebs, "Crystal Structure of a plant catechol oxidase containing a dicopper center," *Nat Struct Biol*, vol. 5, no. 12, pp. 1084–1090, 1998.

- [47] R. K. Tripathi, V. J. Hearing, K. Urabe, P. Aroca, and A. Spritz, "Mutational mapping of the catalytic activity of human tyrosinase," *J Biol Chem.*, no. 267 (33), pp. 23707–23712, 1992.
- [48] C. Olivares, J. C. Garcia-Borrón, and F. Solano, "Identification of active site residues involved in metal cofactor binding and stereospecific substrate recognition in mammalian tyrosinase. Implications to the catalytic cycle," *Biochemistry (Mosc.)*, vol. 41, pp. 679–686, 2002.
- [49] V. J. Hearing, "Mammalian monophenol monooxygenase (tyrosinase): purification, properties, and reactions catalysed," *Meth Enzym.*, vol. 142, pp. 154–167, 1987.
- [50] M. Sugumarán, *Molecular mechanisms for cuticular sclerotization*, vol. 21. Elsevier Amazon France, 1988.
- [51] M. Sugumarán, "Molecular mechanisms of mammalian melanogenesis - comparison with insect cuticular sclerotization," *FEBS Lett*, vol. 293, p. 4, 1991.
- [52] L. Zahed, H. Zahreddine, B. Nouredine, N. Rebeiz, N. Shakar, and P. Zalloua, "Molecular basis of oculocutaneous albinism type 1 in Lebanese patients," *J Hum Mol Genet*, vol. 50, p. 317, 2005.
- [53] E. I. Solomon, U. M. Sudaram, and T. E. Machonkin, "Multicopper oxydases and oxygenases," *Chem Rev*, vol. 96, pp. 2563–2605, 1996.
- [54] C. Gedermann, C. Eicken, and B. Krebs, "Structure of catechol oxydase: new insight into the function of type-3 copper proteins," *Acc Chem Res*, vol. 35, pp. 183–191, 2002.
- [55] M. R. Malachowski, B. Dorsey, J. G. Sackett, R. S. Kelly, A. L. Ferko, and R. N. Hardin, "Effect of ligand donors on the catalytic properties of metal-complexes - copper(ii) complexes as catalysts for the oxidation of 3,5-di-tert-butylcatechol," *Inorg Chim Acta*, vol. 249, p. 85, 1996.

# *Références*