



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique  
**UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA**



FACULTE DES MATHÉMATIQUES ET SCIENCES DE LA MATIÈRE

Thèse

Présentée pour l'obtention du diplôme de

## DOCTORAT

Domaine: Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : Electrochimie des substances bioactives  
d'intérêts pharmaceutiques

Présentée par : BOUTARFAIA Amira

### *Thème*

**Synthèse et étude de l'activité antioxydante et antimutagène de  
quelques porphyrines H<sub>2</sub>TPP(o,p-methoxy) et H<sub>2</sub>TPP(p-acetyl)**

**Soutenu le 21/01/2021**

#### **Devant le jury :**

M. Bechki Lazhar,	Professeur,	Université de Ghardaïa,	Rapporteur
M. Lanez Touhami,	Professeur,	Université d'El-Oued,	Co- Rapporteur
M.Saidi Mokhtar,	Professeur,	Université de Ouargla,	Président
M.Belfar Mohamed Lakhdar,	MCA,	Université de Ouargla,	Examineur
Melle. Mahfoudi Reguia,	MCA,	ENS de Laghouat,	Examinatrice
M. HadeF Derradji,	MCA,	Université de Ouargla,	Examineur

**Année universitaire : 2020/2021**



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



**UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA**

FACULTE DES MATHÉMATIQUES ET SCIENCES DE LA MATIÈRE

Thèse

Présentée pour l'obtention du diplôme de

## **DOCTORAT**

Domaine: Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : Electrochimie des substances bioactives  
d'intérêts pharmaceutiques

Présentée par : BOUTARFAIA Amira

### *Thème*

**Synthèse et étude de l'activité antioxydante et antimutagène de  
quelques porphyrines H<sub>2</sub>TPP(o,p-methoxy) et H<sub>2</sub>TPP(p-acetyl)**

**Soutenu le 21/01/2021**

**Devant le jury :**

M. Bechki Lazhar,	Professeur,	Université de Ghardaïa,	Rapporteur
M. Lanez Touhami,	Professeur,	Université d'El-Oued,	Co- Rapporteur
M.Saidi Mokhtar,	Professeur,	Université de Ouargla,	Président
M.Belfar Mohamed Lakhdar,	MCA,	Université de Ouargla,	Examineur
Melle. Mahfoudi Reguia,	MCA,	ENS de Laghouat,	Examinatrice
M. HadeF Derradji,	MCA,	Université de Ouargla,	Examineur

**Année universitaire : 2020/2021**

## شكر و تقدير

قال تعالى ﴿ وَمَنْ يَشْكُرْ فَإِنَّمَا يَشْكُرُ لِنَفْسِهِ ﴾ ( لقمان : 12 )

الحمد لله السميع العليم ذي العزة والفضل العظيم والصلاة والسلام على المصطفى الحبيب و على اله و صحبه أجمعين. نحمد الله عز و جل الذي وفقنا في اتمام هذا البحث العلمي، والذي ألهمنا الصحة و العافية و العزيمة. فالحمد لله كثيرا.

أتقدم بالشكر الى من جرع الكاس فارغا ليسقيني قطرة حب، الى من حصد الاشواك عن دربي ليمهد لي طريق العلم «ابي العزيز و امي الغالية».

كما أتقدم بالشكر و الامتنان الى كل من البروفيسور « بشكي لزهري » و البروفيسور « العائز التهامي » لإشرافهما على مذكرة بحثي واللذان لم يدخرا وسعا في تقديم النصيحة و التوجيه طيلة هذه الدراسة من خلال ارشاداتهم القيمة و توجيههم في كل خطوات البحث. كما أتوجه بالشكر و التقدير الى البروفيسور «سعيد مختار» على ترأسه لجنة المناقشة و المناقشين الذين تفضلوا بقبول مناقشة هذه الدراسة و بذلا الوقت و الجهد في التدقيق و اثناء هذا البحث شكلا و مضمونا.

كما اشكر كل طاقم مخبر تثمين و ترقية الموارد الصحراوية بجامعة قاصدي مرباح ورقلة كما لا انسى ان اشكر مسؤول مخبر تثمين و ترقية المواد الصحراوية بجامعة حمه لخضر وادي سوف المهندس « علي طليبة» لما قدمه من مساعدة و نصائح طيلة هذا العمل. و في الاخير اتوجه بشكري الخالص لكل اصدقائي طلبة الدكتوراه دون استثناء احد و الى كل شخص قدم لي يد المساعدة ولو كان بكلمة طيبة.

*Boutarfaia amira*

# اهداء

لله الحمد كله و الشكر كله ان وفقنا وألهمنا الصبر على المشاق لانجاز هذا العمل المتواضع.  
اهدي عملي هذا الى من ادين له بحياتي، الى من ساندني وكان شمعة تحترق لتضيء  
طريقي، الى من علمني ان الدنيا كفاح و سلاحها العلم و المعرفة، الى الذي لم يبخل علي بأي  
شيء، الى من سعى من اجل راحتي و سعادتي، الى من انهل من خيره و عطائه الى اعظم  
واعز رجل في الكون والدي العزيز « احمد بوطرفاية » ادامك الله و رعاك لتكون منارة في  
حياتنا.

الى ثمرة جهدي التي انارت دربي بنصائحها، الى نور العين و مهجة الفؤاد ، الى من  
منحتني القوة و العزيمة لمواصلة الدرب، الى من ساندتني في صلاتها و دعائها ، الى نبع  
العطف و الحنان الى اجمل ابتسامة في حياتي الى ارواح امرأة في الوجود امي الغالية  
« خديجة بوطرفاية » حماك الله و ادامك في حياتنا.  
الى زهرات حياتي ، الى جوهرتي الثمينة و كنزي الغالي اختاي « زينب و نجية » حماكما  
الله

الى من كان السند والعطاء، من قدم لي الصبر والأمل والمحبة زوجي العزيز  
« محمد » حفظك الله

الى اهلي و عائلة زوجي و اصدقائي الذين رافقوني لكم مني حبي و امتناني.

*Boutarfaia amira*

## Sommaire

<b>RESUME.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	<b>X</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>XI</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>XV</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>XVI</b>

### Partie 1: Domaine de recherche

#### Chapitre 1 : Introduction

1.1.1.Introduction	1
1.1.2. Les porphyrines	1
1.1.2.1.Nomenclature	1
1.1.2.2.Structure	2
1.1.2.3. Caractérisation des porphyrines	3
1.1.2.3.1. Spectroscopie UV-Visible	3
1.1.2.3.2. Résonance magnétique nucléaire RMN	4
1.1.2.3.2.1. Spectroscopie RMN du proton (RMN <sup>1</sup> H)	4
1.1.2.3.2.2. Spectroscopie RMN du carbone 13 (RMN <sup>13</sup> C)	6
1.1.2.3.2.3. Spectrométrie de masse	6
1.1.2.3.3.Voltamétrie cyclique	7
1.1.2.4. Méthode de synthèse des porphyrines	8
1.1.2.4.1. Les porphyrines méso-substituées	8
1.1.2.4.2.Les porphyrines β-substituées	11
1.1.2.L'acide désoxyribonucléique (ADN)	12
1.1.2.1.Définition	13
1.1.2.2.Structure	13
1.1.2.3.Transmission de l'information génétique	16
1.1.2.4.Fonction	16
1.1.2.5.Mutation	16
1.1.2.5.1.Type de mutations	17
<b>Chapitre 2 : Méthodologie expérimentale</b>	<b>18</b>
1.2.1.Voltamétrie cyclique (CV)	19
1.2.2.La spectrophotométrie UV-Visible	24

1.2.3.Docking moléculaire	25
1.2.3.1.Modélisation du potentiel énergétique	26
1.2.3.2.La modélisation moléculaire	26
1.2.3.3.Le Champ de Forces	27
1.2.3.4.La théorie de la densité fonctionnelle (DFT)	27

## **Partie 2: Résultats et discussions**

<b>Chapitre 1 : Activité antioxydante</b>	<b>30</b>
2.1. Produits chimiques	31
2.2. Activité antioxydant	32
2.2.1. L'activité des radicaux anioniques superoxydes	32
2.2.2.Etude électrochimique de l'interaction entre les ligands et le radical anion superoxyde	33
2.2.2.1. Le rapport des constantes de liaison ( $K_{ox}/K_{red}$ )	34
2.2.2.2. Constante de liaison	36
2.2.2.3. L'énergie libre	37
2.2.2.4.Coefficient de diffusion	38
<b>Chapitre 2: Activité antimutagène</b>	<b>41</b>
2.2.L'activité antimutagène	42
2.2.1.Interaction de l'ADN	42
2.2.2.Extraction l'ADN	42
2.2.2.1.Procédure d'extraction	43
2.2.2.2.Estimation de la pureté de l'ADN	44
2.2.2.3. Étude électrochimique d'interaction de l'ADN	44
2.2.2.3.1. Constantes de liaison	44
2.2.2.3.2.L'énergie libre	46
2.2.2.3.3.La taille du site	48
2.2.2.3.4.Coefficient de diffusion	49
2.2.2.4.Étude spectroscopique d'interaction de l'ADN	52
2.2.2.4.1.L'interaction à pH=7,2	52
2.2.2.4.1.1.Constantes de liaison	53
2.2.2.4.1.2.L'énergie libre	54
2.2.2.4.2.L'interaction à pH=6	55
2.2.2.4.2.1.Constantes de liaison	56

2.2.2.4.3.L'interaction à pH=9	58
2.2.2.4.3.1.Constantes de liaison	59
2.2.2.5.Étude moléculaire de l'interaction avec l'ADN	60
2.2.2.5.1.Optimisation structurale des ligands	60
2.2.2.5.2.Amarrage moléculaire	61

### **Partie 3 : Expérimentale**

3.1. Les produits chimiques	67
3.2. Voltamétrie cyclique	67
3.3. UV-visible	68
3.4. Docking moléculaire de l'ADN	68
Conclusion	70
Conclusion générale	101

## Résumé

Ce travail s'articule autour de l'évaluation de l'activité antioxydante et de l'activité antimutagène, où nous avons étudié l'activité antioxydante de toutes les porphyrines préparées, où nous avons pu déterminer l'énergie libre et la liaison en utilisant la technique de voltamétrie cyclique.

Pour estimer l'activité antimutagène entre les dérivés de porphyrine et L'acide désoxyribonucléique (ADN), les coefficients de corrélation ont été déterminés par la technique de voltamétrie cyclique, qui sont proches des résultats obtenus par la spectroscopie électronique. Les résultats obtenus sont confirmés par une simulation partielle à l'aide d'AutoDock.

Afin de confirmer davantage l'interaction entre les composés préparés et l'acide désoxyribonucléique, le coefficient de diffusion à l'état libre et lié a été calculé à partir des données électrochimiques.

Enfin, la taille du site de liaison entre les dérivés préparés et l'acide désoxyribonucléique a été déterminée à l'aide des données voltamétrie cyclique.

Mots clés :

Activité antioxydante, activité antimutagène, acide désoxyribonucléique, rapport des constantes de liaison, énergie libre de liaison, coefficient de diffusion.

## **Abstract**

This work revolves around the evaluation of antioxidant activity and antimutagenic activity, where we studied the antioxidant activity of all prepared porphyrins, where we were able to determine free energy and binding using the cyclic voltametry technique.

To estimate the antimutagenic activity between porphyrin derivatives and deoxyribonucleic acid (DNA), correlation coefficients were determined by the cyclic voltametry technique, which are close to the results obtained by electron spectroscopy. The results obtained are confirmed by a partial simulation using AutoDock.

In order to further confirm the interaction between the prepared compounds and deoxyribonucleic acid, the diffusion coefficient in the free and bound state was calculated from the electrochemical data.

Finally, the size of the binding site between the prepared derivatives and the deoxyribonucleic acid was determined using cyclic voltametry data.

Key words :

Antioxidant activity, antimutagenic activity, deoxyribonucleic acid, ratio of binding constants, free binding energy, diffusion coefficient.

## المخلص

يتمحور هذا العمل حول تقدير الفاعلية المضادة للأوكسدة و الفاعلية المضادة للطفرات, حيث قمنا بدراسة الفاعلية المضادة للأوكسدة لجميع مركبات البورفيرين المحضرة حيث تمكنا من تحديد الطاقة الحرة و الترابط باستعمال تقنية الفولتامترية الحلقي.

تقدير الفاعلية المضادة للطفرات بين مشتقات البورفيرين و الحمض النووي منقوص الاكسجين ADN, تم تحديد معاملات الترابط بتقنية الفولتامترية الحلقي والتي تكون متقاربة مع النتائج المتحصل عليها بواسطة طيف الامتصاص الالكتروني. بواسطة المحاكاة الجزئية باستعمال برنامج AutoDock يتم تأكيد النتائج المتحصل عليها.

لتأكيد التفاعل أكثر بين المركبات المحضرة و الحمض النووي منقوص الأوكسجين تم حساب معامل الانتشار في الحالة الحرة و المرتبطة من خلال المعطيات الكهروكيميائية.

و أخيرا حدد مقاس موقع الترابط بين المشتقات المحضرة و الحمض النووي منقوص الاوكسجين من خلال المعطيات الفولطأمبيرومترية الحلقي.

### الكلمات المفتاحية:

الفاعلية المضادة للأوكسدة، الفاعلية المضادة للطفرات، الحمض النووي منقوص الأوكسجين، نسبة ثابت الترابط، الطاقة الحرة للترابط معامل الانتشار.

## LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des abréviations	Définitions
<b>TPPH<sub>2</sub></b>	meso-tetraphenylporphyrin TPPH <sub>2</sub>
<b>TPPH<sub>2</sub>(p-methyl)</b>	meso-tetra4-methophenyl-porphyrin TPPH <sub>2</sub> (p-methyl)
<b>TAcPPH<sub>2</sub></b>	meso-tetra4-actophenyl-porphyrin TAcPPH <sub>2</sub>
<b>PdTAcPP</b>	Palladium tetra4-actophenyl-porphyrin
<b>RMN</b>	Résonance magnétique nucléaire
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>D</b>	coefficient de diffusion
<b>UV</b>	Ultraviolet
<b>CV</b>	Voltamètre cyclique
<b>ROS</b>	Espèces réactives à l'oxygène
<b>E<sub>Pa</sub></b>	Potentiel de pointe anodique
<b>E<sub>Pc</sub></b>	Potentiel de pointe cathodique
<b>I<sub>Pa</sub></b>	Courant de pointe anodique
<b>I<sub>Pc</sub></b>	Courant de pointe cathodique
<b>ΔG</b>	énergie libre
<b>MM</b>	Mécanique moléculaire
<b>DFT</b>	La théorie de la densité fonctionnelle
<b>EDTA</b>	Acide éthylènediamine tétraacétique
<b>DMF</b>	N,N-diméthylformamide
<b>TBATFB</b>	tetra-n-butylammonium tetrafluoroborate

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
<b>Figure.1.1.</b>	Structure de la porphyrine	1
<b>Figure.1.2.</b>	Nomenclature des porphyrines	2
<b>Figure.1.3</b>	Mise en évidence du système $\pi$ à 18 électrons	2
<b>Figure.1.4.</b>	Schéma de coordination du métal dans la cavité porphyrinique. À gauche, métal de taille adaptée à la cavité. À droite, métal plus gros que la cavité. D'après The Porphyrin Handbook.	3
<b>Figure.1.5.</b>	Profil des bandes Q pour quatre principaux types de spectres d'absorption de porphyrines bases libre	4
<b>Figure.1.6.</b>	Cône d'anisotropie magnétique d'une porphyrine	5
<b>Figure.1.7.</b>	Spectre RMN $^1\text{H}$ de la porphyrine dans $\text{CDCl}_3$	5
<b>Figure.1.8.</b>	Principe de la technique MALDI	7
<b>Figure.1.9.</b>	Oxydation et réduction par étapes d'un macrocycle de porphyrine	7
<b>Figure.1.10.</b>	Voltamétrie cyclique du TPP dans $\text{CH}_2\text{Cl}_2$	8
<b>Figure.1.11.</b>	Méthode de Rothmund	9
<b>Figure.1.12.</b>	Méthode d'Adler et Longo	9
<b>Figure.1.13.</b>	Méthode de Lindsey	10
<b>Figure.1.14.</b>	Méthode de MacDonald	10
<b>Figure.1.15.</b>	Synthèse d'un pyrrole tétrasubstitué selon la méthode de Knorr	11
<b>Figure.1.16.</b>	Synthèse d'un pyrrole selon la méthode de Barton-Zard	12
<b>Figure.1.17.</b>	Les différentes méthodes envisageables pour la synthèse d'une porphyrine à partir de précurseurs oligopyrroliques. D'après the Porphyrine Handbook	12
<b>Figure.1.18.</b>	Structure et numérotation des bases azotées de l'ADN	14
<b>Figure.1.19.</b>	La structure moléculaire de l'ADN	14
<b>Figure.1.20.</b>	Les quatre bases de l'ADN	15
<b>Figure.1.21.</b>	Structure nucléotide de l'ADN	16
<b>Figure.1.22.</b>	Des différents types de mutations	17
<b>Figure.1.23.</b>	Voltammogrammes cycliques	19

<b>Figure.1.24.</b>	Voltammogrammes cycliques pour des systèmes : Quasi-rapide (A), système lent (B) et système rapide (C).	21
<b>Figure.1.25.</b>	Voltammogrammes cycliques de l'oxygène saturé DMF/0.1 Bu <sub>4</sub> NBF <sub>4</sub> , sur une électrode à disque GC en l'absence et présence de PdTAcPP, taux de balayage 100 mV/s, T=28°C (ma propre œuvre)	20
<b>Figure.1.26.</b>	Le spectre d'absorption de 0,001 M de PdTAcPP / tompon (7,2) en concentration d'ADN croissante et le courbe de F (1/C)=A <sub>0</sub> /(A-A <sub>0</sub> ) de PdTAcPP-DNA (ma propre œuvre)	23
<b>Figure.1.27.</b>	Représentation schématique du docking de deux molécules. (Molécules de départ, Complexe molécules).	25
<b>Figure.2.28.</b>	La formule chimique des dérivés de la porphyrine étudiés	31
<b>Figure.2.29.</b>	Voltammogrammes cycliques d'oxygène saturé DMF/0.1 Bu <sub>4</sub> NBF <sub>4</sub> sur une électrode GC en l'absence et en présence de concentrations différentes de TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH <sub>2</sub> (c) et de PdTAcPP (d) vitesse de balayage 100 mV/s, T = 28° C	33
<b>Figure.2.30.</b>	Voltammogrammes cycliques de O <sub>2</sub> <sup>-</sup> sur une électrode GC polie en l'absence (1,3, 5et 7) et en présence de 4,9×10 <sup>-3</sup> M (2), 1.34M(4), 2.65M (6), 10 <sup>-3</sup> M (8), de TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH <sub>2</sub> (c) et de PdTAcPP (d) respectivement en solution de DMF avec un électrolyte de soutien 0,1 M TBATFB à 100 mV.s <sup>-1</sup>	34
<b>Figure.2.31.</b>	Processus redox général du TPPH <sub>2</sub> libre et lié à O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	35
<b>Figure.2.32.</b>	Les diagrammes de log (1/C) par rapport au log i/(i <sub>0</sub> - i) pour l'O <sub>2</sub> <sup>-</sup> avec une concentration variable de TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (d), TAcPPH <sub>2</sub> (c) et de PdTAcPP (d) dans le DMF/0,1 Bu <sub>4</sub> NBF <sub>4</sub> , utilisé pour calculer les constantes de liaison des produits O <sub>2</sub> <sup>-</sup> - TPPH <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> <sup>-</sup> - TPPH <sub>2</sub> (p - methyl), O <sub>2</sub> <sup>-</sup> - TAcPPH <sub>2</sub> et O <sub>2</sub> <sup>-</sup> - PdTAcPP.	37
<b>Figure.2.33.</b>	Succession de voltammogrammes cycliques à l'électrode GC O <sub>2</sub> <sup>-</sup> - TPPH <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> <sup>-</sup> - TPPH <sub>2</sub> (p - methyl), O <sub>2</sub> <sup>-</sup> - TAcPPH <sub>2</sub> et O <sub>2</sub> <sup>-</sup> - PdTAcPP dans du DMF saturé en oxygène/0,1 Bu <sub>4</sub> NBF <sub>4</sub>	38

	à différentes vitesses de balayage (100-500 mV, incrément 100 mV) T = 28° C.	
<b>Figure.2.34.</b>	Spectres électroniques de l'ADN	43
<b>Figure.2.35.</b>	Voltammogrammes cycliques de 1mM TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl)(b) et TAcPPH <sub>2</sub> (c) enregistrés à une vitesse de balayage du potentiel de 0,1V s <sup>-1</sup> sur une électrode à disque GC à 298K en l'absence et en présence d'une concentration croissante d'ADN dans une solution d'éthanol/phosphate tampon de 0,1 M 90% à pH =7,2 (a, c) et pH=9 (b) avec un électrolyte de support de 0,1 M Bu <sub>4</sub> NBF <sub>4</sub>	45
<b>Figure.2.36.</b>	Graphiques de $\log \frac{1}{1} - (i/i_0)$ par rapport à $\log \frac{1}{[ADN]}$ utilisés pour calculer les constantes de liaison des composés TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b) et TAcPPH <sub>2</sub> (c) avec l'ADN à partir des données de CV à des pH = 7,2(a, c) , pH=9 (b) et T= 298K	47
<b>Figure.2.37.</b>	Graphique de $C_b / C_f$ contre [ADN] pour le calcul de la taille du site de liaison de TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b) et TAcPPH <sub>2</sub> (c) sur l'ADN à partir des données de CV à des pH = 7,2 ; pH=9 et T= 298K	47
<b>Figure.2.38.</b>	Comportement voltampérométrique cyclique du TPPH <sub>2</sub> et du TAcPPH <sub>2</sub> sur l'électrode GC en l'absence (1, 3, 5) et en présence respectivement de 6.06 (2), 6.06 (4), 6.06 (6) μM ADN dans une solution d'éthanol/phosphate tampon 0,1 M à 90% à un pH = 7,2, pH=9 et à des taux de balayage de 0,5, 0,4, 0,3, 0,2 et 0,1 V.s <sup>-1</sup> avec un électrolyte de support de 0,1 M TBATFB. La flèche verticale indique une vitesse de balayage croissante	50
<b>Figure.2.39.</b>	Graphiques de $\sqrt{v}$ contre $i_p$ utilisés pour calculer les coefficients de diffusion de l'ADN libre et de l'ADN lié aux dérivés de la porphyrine (TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b) TAcPPH <sub>2</sub> (c)) à partir des données de CV à des pH = 7,2 ; pH=9 et T= 298 K	51

<b>Figure.2.40.</b>	Spectres d'absorption UV-visible de 1mM de TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH <sub>2</sub> (c), PdTAcPP(d) en présence de concentrations croissantes d'ADN dans une solution d'éthanol/phosphate tampon 0,1M 90% (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) à pH = 7,2 et 298K	53
<b>Figure.2.41.</b>	Graphiques de $\frac{A_0}{A-A_0}$ par rapport à 1/[ADN] utilisés pour calculer les constantes de liaison des composés TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH <sub>2</sub> (c) PdTAcPP (d) avec l'ADN	54
<b>Figure.2.42.</b>	Spectres d'absorption UV-visible de 1mM de TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH <sub>2</sub> (c), PdTAcPP(d) en présence de concentrations croissantes d'ADN dans une solution d'éthanol/phosphate tampon 0,1M 90% (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) à pH = 7,2 et 298K	56
<b>Figure.2.43.</b>	Graphiques de $\frac{A_0}{A-A_0}$ par rapport à 1/[ADN] utilisés pour calculer les constantes de liaison des composés TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH <sub>2</sub> (c) PdTAcPP (d) avec l'ADN à pH=6	57
<b>Figure.2.44.</b>	Spectres d'absorption UV-visible de 1mM de TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH <sub>2</sub> (c), PdTAcPP (d) en présence de concentrations croissantes d'ADN dans une solution d'éthanol/phosphate tampon 0,1 90% (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) à pH = 9 et 298K	58
<b>Figure.2.45.</b>	Graphiques de $\frac{A_0}{A-A_0}$ par rapport à 1/[ADN] utilisés pour calculer les constantes de liaison des composés TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH <sub>2</sub> (c) PdTAcPP (d) avec l'ADN à pH=9	59
<b>Figure.2.46.</b>	Représentation ORTEP de ligands TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH <sub>2</sub> (c) et PdTAcPP (d). Déplacement les ellipsoïdes sont dessinés au niveau de probabilité de 30% et les atomes H sont représentés comme petits sphères de rayons arbitraires. Les codes de couleur sont le carbone noir,	61

	l'hydrogène blanc, l'azote bleu, Oxygène rouge et palladium gris.	
<b>Figure.2.47.</b>	Structure cristalline d'Acide désoxyribonucléique (ADN) (PDB ID : 1BNK)	61
<b>Figure.2.48.</b>	Poses d'amarrage de TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH <sub>2</sub> (c) et PdTAcPP (d) l'emplacement des ligands au petit sillon	63
<b>Figure.2.49.</b>	Poses d'amarrage du TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH <sub>2</sub> (c) et PdTAcPP (d) avec de l'ADN (PDB ID : 1BNK) illustrant les interactions entre l'ADN et les ligands examinés.	64
<b>Figure.2.50.</b>	Présentation tridimensionnelle des interactions de TPPH <sub>2</sub> (a), TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH <sub>2</sub> (c) et PdTAcPP (d) avec l'ADN. L'ADN est présenté par structure secondaire, par CPK et par des lignes colorées par type d'atomes (C : gris ; H : bleu ciel ; et O : rouge).	65

### *Liste des tableaux*

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau.2.1.</b>	Valeurs de la IC <sub>50</sub> obtenues en utilisant l'activité de piégeage des radicaux O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	32
<b>Tableau.2.2.</b>	Variations du potentiel de pointe et diminution du courant anodique de pointe des formes TPPH <sub>2</sub> , TPPH <sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH <sub>2</sub> et PdTAcPP liées à O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	35
<b>Tableau.2.3.</b>	Constantes de liaison et valeurs des énergies libres de liaison des produits O <sub>2</sub> <sup>-</sup> – TPPH <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> <sup>-</sup> – TPPH <sub>2</sub> (p – methyl), O <sub>2</sub> <sup>-</sup> -TAcPPH <sub>2</sub> et O <sub>2</sub> <sup>-</sup> —PdTAcPP	37
<b>Tableau.2.4.</b>	Valeurs des coefficients de diffusion de TPPH <sub>2</sub> , TPPH <sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH <sub>2</sub> et PdTAcPP libres et liés à O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	39
<b>Tableau.2.5.</b>	Valeurs de la constante de liaison et de l'énergie libre de liaison pour des composés TPPH <sub>2</sub> , TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) et TAcPPH <sub>2</sub> avec l'ADN à partir des données de CV à des pH = 7,2 ; pH=9 et T= 298K	47
<b>Tableau.2.6.</b>	Valeurs de la taille du site de liaison obtenues en utilisant le graphe de C <sub>b</sub> / C <sub>f</sub> en fonction de l'ADN à partir des données de CV à des pH = 7,2, pH=9 et T= 298K	49
<b>Tableau.2.7.</b>	Valeurs des constantes de diffusion des formes libres et liées à l'ADN du TPPH <sub>2</sub> , TPPH <sub>2</sub> (p – methyl) et du TAcPPH <sub>2</sub> à partir des données de CV à des pH = 7,2 ; pH=9 et T= 298 K	52
<b>Tableau.2.8.</b>	Valeurs de la constante de liaison et de l'énergie libre de liaison pour des composés TPPH <sub>2</sub> , TPPH <sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH <sub>2</sub> et PdTAcPP avec l'ADN à partir des données de CV à des pH= 7,2 et T= 298K	55
<b>Tableau.2.9.</b>	Valeurs de la constante de liaison et de l'énergie libre de liaison pour des composés TPPH <sub>2</sub> , TPPH <sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH <sub>2</sub> et PdTAcPP avec l'ADN à partir des données de CV à des pH = 6 et T= 298K	58
<b>Tableau.2.10.</b>	Valeurs de la constante de liaison et de l'énergie libre de liaison pour des composés TPPH <sub>2</sub> , TPPH <sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH <sub>2</sub> et PdTAcPP avec l'ADN à partir des données de CV à des pH = 9 et T= 298K	60
<b>Tableau.2.11.</b>	Valeurs d'énergie libre de liaison et les constants des liaisons obtenues pour les adduit TPPH <sub>2</sub> – ADN, TPPH <sub>2</sub> (p – methyl) – ADN, TAcPPH <sub>2</sub> – ADN et PdTAcPP – ADN par Docking moléculaire	62

## **INTRODUCTION GENERALE**

La porphyrine et ses dérivés ont attiré l'attention de nombreux chercheurs dès les premiers jours de leur découverte [1]. La fonctionnalisation des anneaux de pyrrole de carbone est extrêmement facile et ouvre la voie à une grande variété de composés, avec des fragments organiques et inorganiques attachés [2]. Ils peuvent agir comme des ligands, offrant une voie simple pour la synthèse de complexes polynucléaires ; en fonction des substituants, il est possible de varier le donneur, en jouant sur les capacités de donneur et d'accepteur. Cette substitution peut également être utilisée pour moduler certaines propriétés des porphyrines telles que la cytotoxicité. C'est le cas des ligands, qui peuvent renforcer la liaison de l'ADN par une interaction hydrophobe avec l'ADN [3-5]. Les ligands interagissent sélectivement avec des séquences nucléotidiques spécifiques et se lient au sillon mineur de l'ADN duplex du tractus AT D[6, 7].

La conception de toute molécule, qui peut affecter les activités de clivage de l'ADN double brin, doit inclure un centre métallique réactif comme Pd et également des éléments de reconnaissance qui se lient à l'ADN duplex et aux sites coupés. La porphyrine est convertie en ion par oxydation réversible à un électron. Les substituants de la porphyrine sont capables d'influencer ce comportement redox en modifiant le niveau d'énergie de l'HOMO, et la réversibilité peut être considérablement réduite. Les propriétés d'oxydoréduction ont été largement étudiées, en tenant compte, par exemple, de l'environnement de l'unité porphyrine, de la communication métal-métal chez les espèces polynucléaires et du rôle des ligands de pontage.

Les dérivés de la porphyrine ont été inclus dans des systèmes organométalliques ayant un avenir dans la découverte de médicaments, s'avérant très actifs contre plusieurs formes de cancer avec un large éventail d'études réalisées afin de comprendre leur comportement. Les propriétés redox des dérivés de la porphyrine ont été associées à leurs activités biologiques et des études informatiques ont été menées pour clarifier cette relation.

Dans le cadre de cette thèse de doctorat, nous avons étudié l'interaction avec l'ADN de quatre dérivés de porphyrine dans le laboratoire de valorisation des ressources et des technologies sahariennes (VTRS) de l'université d'El Oued. L'énergie libre de liaison et la constante de liaison de l'interaction de ces dérivés avec l'ADN ont été déterminées expérimentalement en utilisant des techniques électrochimiques, basées sur la voltamétrie cyclique, ainsi que des techniques spectroscopiques basées sur la spectroscopie UV. Les résultats obtenus sont confirmés par l'arrimage moléculaire à l'aide des outils AutoDock. L'étude de l'arrimage permet

d'activer un ligand de l'ADN, mais aussi de calculer la longueur des liaisons hydrogène établies entre le ligand et les nucléotides de l'ADN.

Les travaux de recherche expérimentale et l'étude d'arrimage moléculaire ont été réalisés dans le laboratoire VTRS de l'université d'El Oued. Ils sont répartis en trois parties, à savoir :

- La première partie est composée de deux chapitres ; le premier chapitre comprend un aperçu bibliographique de la porphyrine, l'ADN, le second chapitre concerne un contexte théorique des techniques expérimentales utilisées dans notre travail.
- La deuxième partie concerne les résultats et leur discussion, elle est divisée en deux chapitres ; dans le premier et le deuxième chapitre sont respectivement présentés l'étude des activités anticancéreuses et antioxydantes en utilisant des techniques électrochimiques, spectroscopiques et moléculaires d'ancrage.
- La troisième partie contient un chapitre comprenant la présentation des différentes techniques expérimentales utilisées dans ce travail.
- Le travail est enfin complété par une conclusion jugée utile pour valoriser ce travail.

# **Partie 1**

**Domaine de recherche**

# **Chapitre 1**

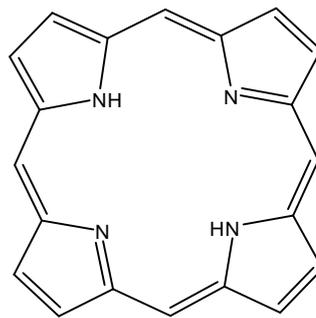
## **Introduction**

### 1.1.1.Introduction

Les porphyrines constituent une classe essentielle de molécule biologique aux applications multiples [8]. Il existe en effet une porphyrine associée au fer (hème) : dans les hémoglobines et les myoglobines, les transporteurs d'oxygène atmosphérique ; dans les catalase et la peroxydase, capables de catalyser le transfert d'oxygène moléculaire et d'oxygène atomique éliminé d'un substrat, respectivement ; dans les cytochromes, qui agissent dans la chaîne respiratoire intracellulaire en tant que transporteurs d'électrons, ou encore dans la photosynthèse chez les plantes et les bactérie photosynthétique [9].

### 1.1.2.Les porphyrines

Les porphyrines proviennent du grec porphura qui signifie violet (pourpre) font partie de la famille des macrocycles azotés aromatiques [10], dont les quatre noyaux pyrroliques reliées entre elles par des ponts méthènes [11] , Figure 1.1.



**Figure.1.1.**Structure de la porphyrine

Elles jouent un rôle essentiel dans les milieux vivants, pouvant absorber l'énergie lumineuse et effectuer des réactions de transfert d'énergie et d'électrons (système photosynthétiques) exemple de chlorophylle est en charge de collecter l'énergie lumineuse pour transformer en énergie chimique [12], ou transporter des petites molécules (transport de l'oxygène par l'hème) exemple d'hémoglobine transport de l'oxygène, le site actif de la molécule est une porphyrine de fer [13].

#### 1.1.2.1.Nomenclature

La nomenclature des porphyrines ayant fait l'objet de différents types de nomenclature. La structure exacte a été décrite par Fisher au début de XXème siècle, Figure 1.2.a. La fin de XXème siècle instaurée la nomenclature IUPAC [14] qui a quand même gardé quelques noms triviaux essentiellement pour des dérivés naturels[15], Figure 1.2.b.

Le noyau porphyrinique est formé de la réunion cyclique, de quatre noyaux de pyrrole reliés par des ponts méthènes, en position méso (carbones 5,10,15,20) [16]. Deux des quatre atomes d'azote sont porteurs d'un hydrogène, de même que les carbones aux sommets, position  $\beta$  (carbones 2, 3, 7, 8, 12, 13,17et 18) et  $\alpha$ -pyrroliques sont utilisés [17].

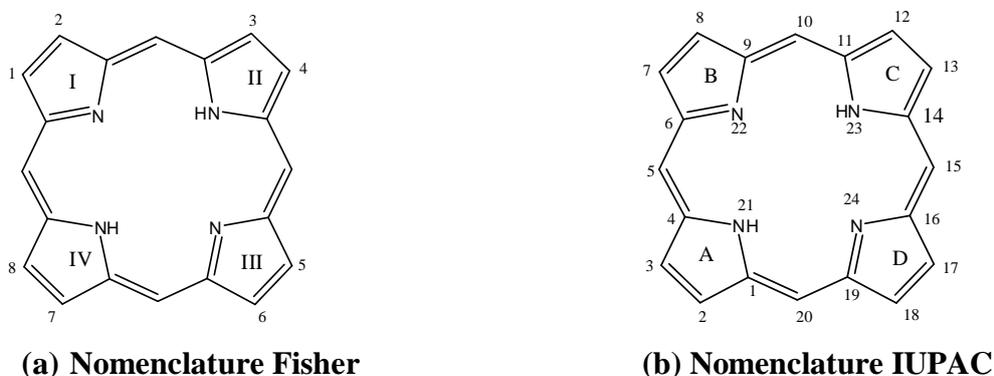


Figure.1.2.Nomenclature des porphyrines

### 1.1.2.2.Structure

Les porphyrines sont des molécules macrocycliques. Elles sont des systèmes conjugués possédant au total 22 électrons  $\pi$  délocalisés dont 18 forment le système aromatique [18].

Ce caractère aromatique confère aux porphyrines une stabilité importante ainsi qu'une forte absorption dans le domaine du visible [19].

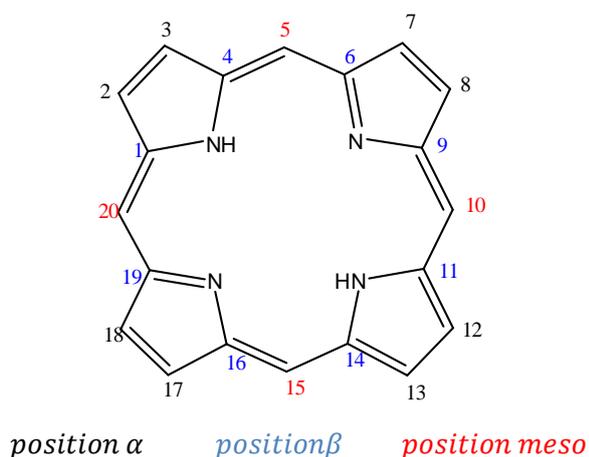
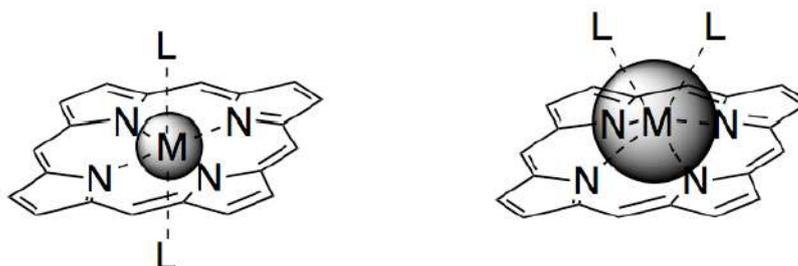


Figure.1.3.Mise en évidence du système  $\pi$  à 18 électrons

Les porphyrines, dites bases libres, peuvent être métallées au centre du macrocycle par la plupart des métaux de la classification périodique pour donner des métalloporphyrines. Le métal M est alors stabilisé par des liaisons « N-M » avec les quatre atomes d'azote. Les propriétés des métalloporphyrines dépendent du métal présent dans la cavité porphyrinique. La

cavité de la porphyrine a une taille constante du fait de la rigidité du cycle aromatique. Or, certains métaux de transition sont trop gros pour la cavité porphyrinique et se situent hors du plan défini par les quatre atomes d'azote du cycle (Figure 8). La plupart des métaux à l'intérieur de la cavité porphyrinique peuvent compléter leur sphère de coordination par des ligands axiaux qui sont typiquement des molécules de solvant et sont donc relativement labiles [14].



**Figure.1.4.** Schéma de coordination du métal dans la cavité porphyrinique. À gauche, métal de taille adaptée à la cavité. À droite, métal plus gros que la cavité. D'après The Porphyrin Handbook.

### 1.1.2.3.Caractérisation des porphyrines

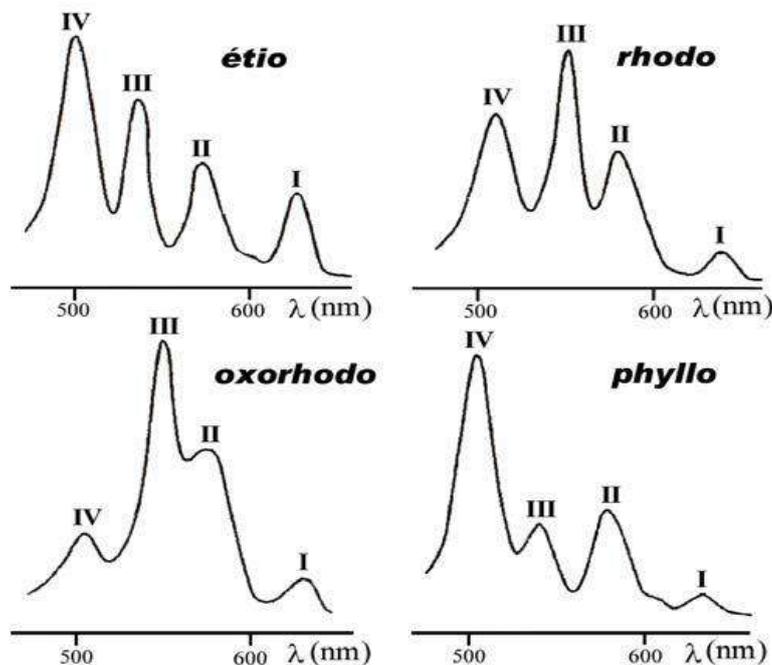
#### 1.1.2.3.1.Spectroscopie UV-Visible

Sur un spectre UV-Visible de porphyrines, on distingue deux types de bandes d'absorption qui ont pour origine des transitions électroniques différentes. Les porphyrines possèdent un système d'électrons p fortement conjugué [20]. Ces molécules absorbent dans le domaine du visible et présentent un spectre d'absorption très caractéristique. Il résulte de transitions :

$p \rightarrow p^*$  et se compose d'une bande intense ( $\epsilon > 100000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ ) entre 390 et 430 nm (proche UV) [21] appelée bande de Soret ou bande B et de quatre autres bandes situées entre 480 et 700 nm (Visible) d'intensité dix à vingt fois plus faible appelées bandes Q.

La région du spectre située dans le domaine du visible, généralement sensible aux variations de structures, renseigne sur la substitution du macrocycle. En effet, les quatre bandes Q, numérotées de I à IV en partant des énergies les plus basses, voient leurs intensités relatives varier notablement en fonction de la nature et de la position des substituants [22].

On distingue essentiellement quatre types, appelés, étio, rhodo, oxorhodo, et phyllo [23].



**Figure.1.5.** Profil des bandes Q pour quatre principaux types de spectres d'absorption de porphyrines bases libre

### 1.1.2.3.2. Résonance magnétique nucléaire RMN

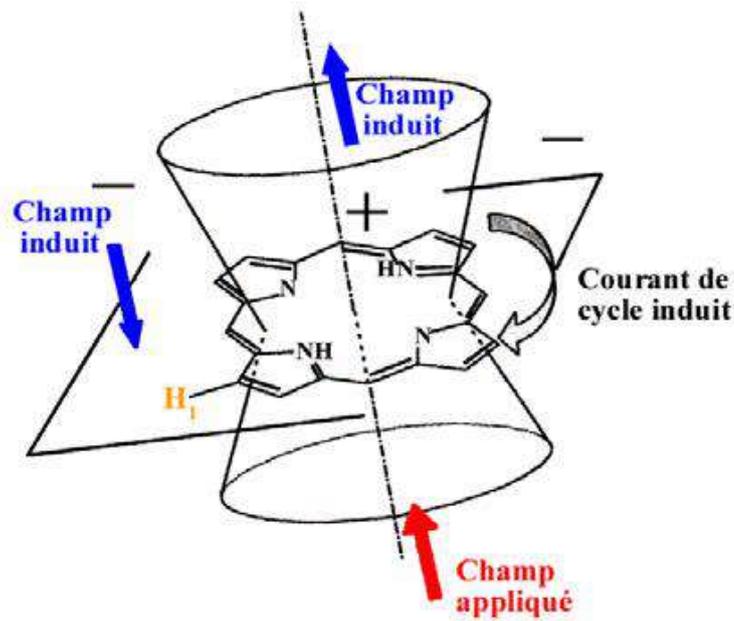
#### 1.1.2.3.2.1. Spectroscopie RMN du proton (RMN $^1\text{H}$ )

La résonance magnétique nucléaire du proton appliquée aux macrocycles porphyriniques possède deux signaux caractéristiques. Il apparaît les positions méso et les positions  $\alpha$  et  $\beta$ .

Les protons  $\beta$  pyrroliques aux alentours de 8-9 ppm. La multiplicité de ces protons dépend de la symétrie de la porphyrine et de la nature des substituants en position méso.

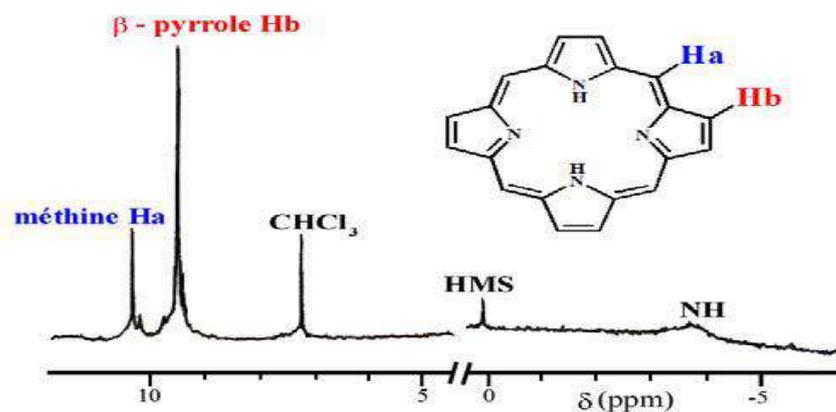
Les protons des azotes pyrroliques aux alentours de -2ppm. Ces protons sont échangeables et forment un signal large [24].

En raison de la structure aromatique du noyau porphyrinique, les protons de cœur sont inclus dans un très fort cône de blindage. Le courant de cycle généré par le champ magnétique induit un important cône d'anisotropie magnétique dont l'axe est perpendiculaire au plan du macrocycle. Ainsi les protons à l'intérieur de ce cône (H des azotes pyrroliques) sont blindés vers 3ppm alors les protons situés à l'extérieur (H.  $\beta$  .pyrroliques) sont fortement déblindés [25].



**Figure.1.6.**Cône d'anisotropie magnétique d'une porphyrine

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  de la porphine (porphyrine sans aucun substituant), est constitué de 3 singulets à -3,76, 9,74 et 10,50 ppm [26]. Ces signaux sont attribués respectivement aux protons liés aux atomes d'azote, aux protons des positions  $\beta$ -pyrroliques et aux protons méthines, (position *méso*). Puisque ces derniers sont liés à des carbones essentiellement déficients en électrons, ils sont plus déblindés que les protons  $\beta$ -pyrroliques. De plus l'unicité des signaux des protons  $\beta$ -pyrroliques s'explique par la tautomérie des protons NH internes [27], Figure 1.7.



**Figure.1.7.**Spectre RMN  $^1\text{H}$  de la porphine dans  $\text{CDCl}_3$

### 1.1.2.3.2.2. Spectroscopie RMN du carbone 13 (RMN $^{13}\text{C}$ )

Le spectre RMN $^{13}\text{C}$  du macrocycle porphyrinique se compose essentiellement de trois zones :

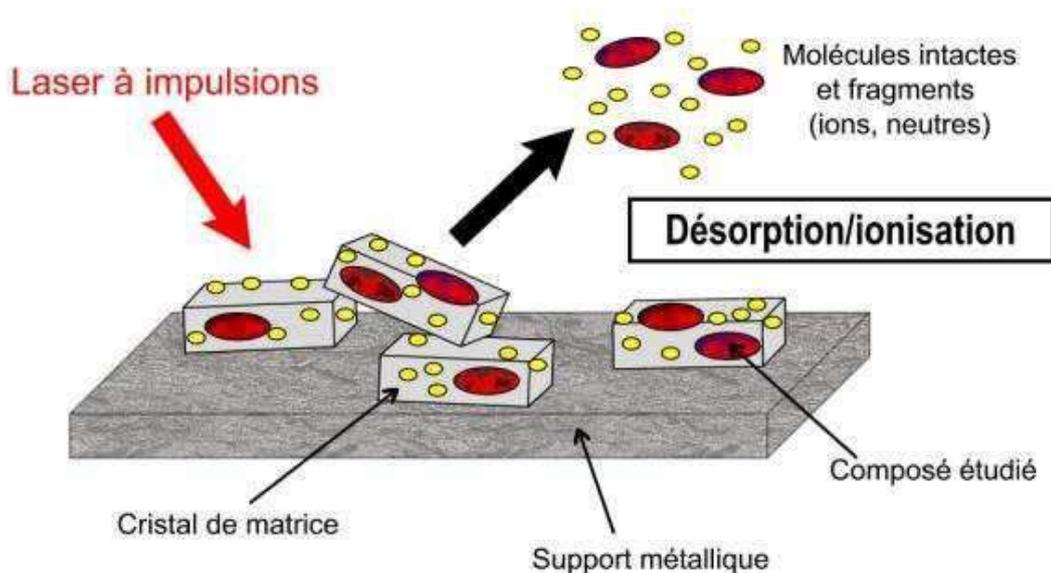
- Les carbones méso qui résonnent entre 95 et 120 ppm,
- Les carbones  $\beta$ -pyrroliques qui résonnent vers 130 ppm,
- Les carbones  $\alpha$ -pyrroliques qui résonnent vers 145 ppm,

Le signal correspondant aux carbones  $\alpha$ -pyrroliques est généralement élargi et assez mal défini. Ceci est la conséquence directe de la tautomérie des protons NH internes [28]. Ce phénomène peut également affecter dans certains cas la forme des signaux des carbones  $\beta$ -pyrroliques. Un abaissement de température ( $-60^\circ\text{C}$ ) permet de ralentir la tautomérie et à cette température on observe pour les carbones  $\alpha$ -pyrroliques deux pics correspondant chacun à quatre carbone[29].

Notons par ailleurs qu'en RMN $^{13}\text{C}$ , la résonance des noyaux est relativement peu sensible aux courants de cycle [30].

### 1.1.2.3.2.3. Spectrométrie de masse

Un des avantages de la spectrométrie de masse est l'emploi d'une faible quantité d'échantillon (<1mg). Elle permet d'observer la masse molaire ainsi que des fragmentations correspondant à la perte de substituants périphériques. Du fait de la faible volatilité des porphyrines, les méthodes classiques d'ionisation sont difficilement applicables. En effet, de telles méthodes nécessitent, lorsqu'elles sont appliquées aux porphyrines, de chauffer fortement l'échantillon ou encore d'introduire celui-ci directement dans la chambre d'ionisation. Il en résulte généralement un risque de dégradation thermique ou chimique du produit que l'on souhaite analyser. Afin de résoudre ce problème, des techniques d'ionisation, réalisées dans des conditions plus douces, sont utilisées. Par exemple, la méthode SIMS (bombardement atomique de l'échantillon par des ions césium) ou la méthode MALDI (désorption laser) sont particulièrement bien adaptées. Les spectres peuvent être également effectués par électro-nébulisation (ESI) en mode positif en utilisant les ions du polyéthylène glycol comme référence interne. Dans le cas de la méthode SIMS, l'échantillon est un dépôt solide de porphyrine sur un support métallique. Pour les deux autres méthodes, le composé est dissous dans un solvant ou un mélange de solvants [31].

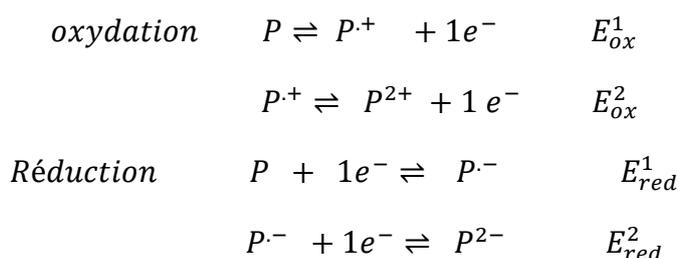


**Figure.1.8.** Principe de la technique MALDI

### 1.1.2.3.3. Voltamétrie cyclique

Cela vaut la peine de dire que les potentiels redox sont affectés par des substituants des porphyrines. Le type de métal et son degré d'oxydation (dans le cas des porphyrines métallées) affectent également le potentiel redox [32].

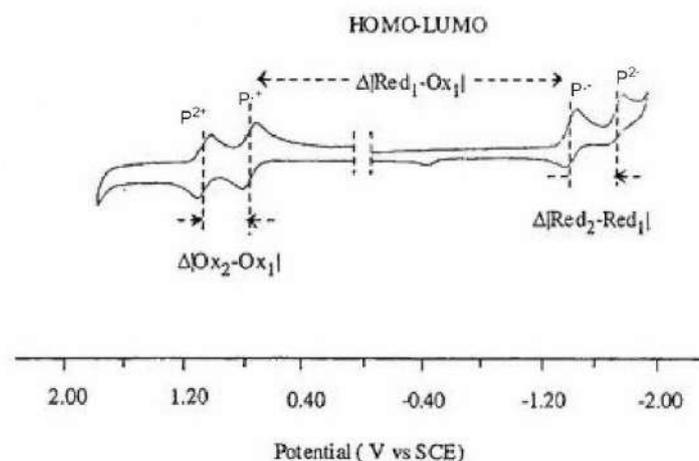
On discutera des généralités sur la voltamétrie cyclique. Par exemple, chacun d'eux pourrait être oxydé par étapes ou réduit par deux électrons au niveau du système cyclique pour donner des radicaux cationiques et des dications, et –un anion foncier et des dianions [33].



**Figure.1.9.** Oxydation et réduction par étapes d'un macrocycle de porphyrine

Les premières études électrochimiques de la tétraphényl porphyrine TPP ont utilisé une grande partie de la voltamétrie cyclique pour résoudre les potentiels demi-onde de chaque réaction d'électrode [34]. Kadish a montré que presque toutes les porphyrines présentent une grande différence potentielle régulière 12 entre la première et la deuxième oxydation focalisée sur le macrocycle, ou les premières et deuxièmes réductions focalisées sur le macrocycle, 32. Cela se réfère à un écart identique entre l'orbitale moléculaire la plus élevée occupée HOMO et

l'orbitale moléculaire inoccupée la plus basse LUMO qui est de  $2,25 \pm 0,15$  V comme présenté dans la figure 1.10 [35].



**Figure.1.10.** Voltamétrie cyclique du TPP dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

#### 1.1.2.4. Méthode de synthèse des porphyrines

Plusieurs méthodes sont accessibles pour la synthèse de porphyrines et peuvent être classées en quatre catégories [36].

##### 1.1.2.4.1. Les porphyrines méso-substituées

Les premières synthèses de porphyrines ont été synthétisées par Rothemund. Dès 1935 par réaction de condensation entre le benzaldéhyde et le pyrrole dans le méthanol [37]. La méso-tétraméthyl- porphyrine a ainsi été obtenue avec de très faible rendement. Dans la plupart des cas les synthèses de ce type donnaient lieu à un second produit de structure très proche, ce produit sera identifié plus tard comme étant une chlorine [38]. La méthode développée par Rothemund et donc une réaction à haute concentration et à haute température en absence d'oxydant dans un réacteur scellé [39].

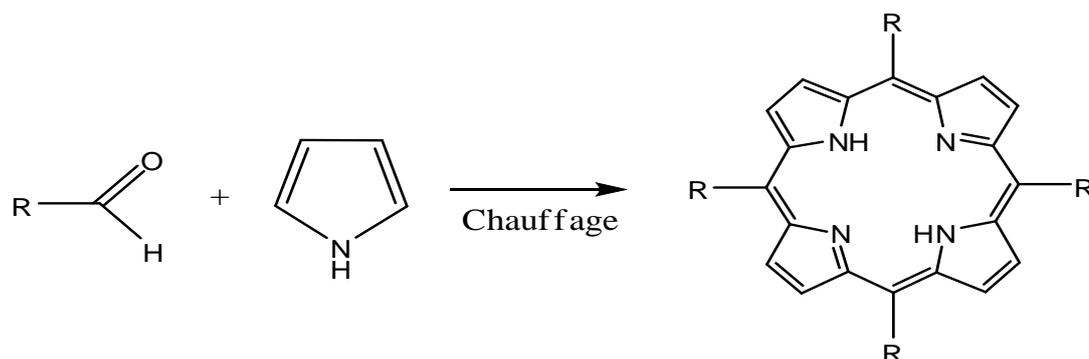


Figure.1.11.Méthode de Rothemund

Dans les années 60, Adler et Longo ont amélioré de manière significative la synthèse des porphyrines par condensation mélange équimolaire de pyrrole et de benzaldéhyde dans de l'acide propénoïque à chauffer à reflux (141°C) pendant une demi heure et sous atmosphère libre, permettant une oxydation de l'intermédiaire porphyrinogène par l'air [40].

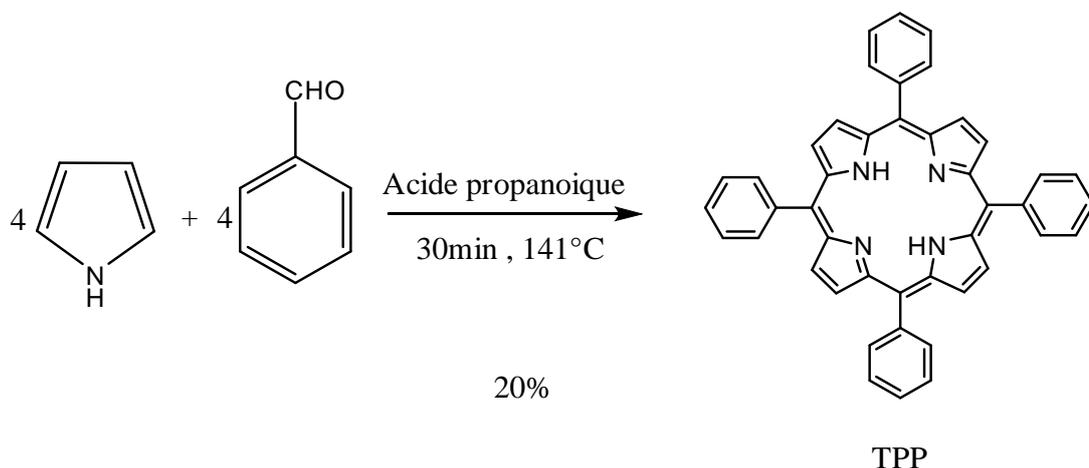


Figure.1.12.Méthode d'Adler et Longo

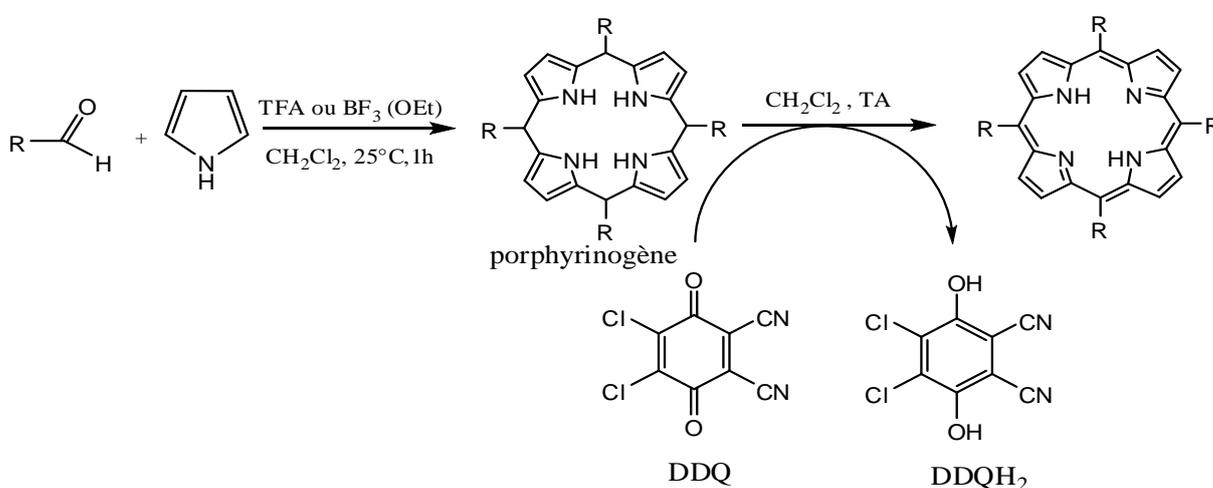
Ils ont ainsi formé la méso-tétraphényl porphyrine avec un rendement supérieur à 20%. Grâce à plusieurs études pour améliorer le rendement de cette méthode de synthèse, plusieurs paramètres importants ont été identifiés [41].

L'oxygène joue un rôle prépondérant puisque sous atmosphère d'azote les rendements changent fortement. La concentration idéale se situe aux alentours de 0.5M et le choix de l'acide (acétique, propénoïque ou butyrique) joue un rôle principal puisqu'il influe sur la vitesse de réaction et a pour rôle de catalyseur et doit permettre au produit final de cristalliser [42].

Au cours des années 80 Lindsey appliqué une méthode de synthèse des porphyrines dans des conditions douces. Cette méthode permet d'éviter les problèmes de purification et donne de bons rendements[43, 44].

Elle consiste à condenser du pyrrole et l'aldéhyde, ce sont généralement des composés très réactifs par catalyse acide, généralement de l'acide trifluoroacétique ou de l'éthérate de  $\text{BF}_3$ ,  $\text{BF}_3(\text{OEt}_2)$ , en absence d'oxygène, à température ambiante, en conditions inertes et diluées (à 10Nm dans le dichlorométhane). Il se forme d'abord du porphyrinogène est ensuite oxydé en porphyrine, par traitement avec un oxydant tel que le 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) ou le p-chloranile [43, 45].

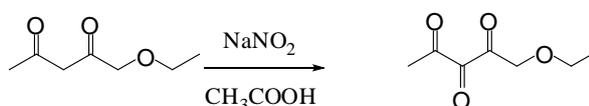
Les rendements de cette réaction entre 30 à 40%.



**Figure.1.13.**Méthode de Lindsey

Mac Donald et al, on décrit une voie de synthèse plus ciblée en trois temps [46], Figure 1.14. La première étape de synthèse est le dipyrrométhane qui résulte de la réaction d'un aldéhyde avec un excès de pyrrole. Il est également possible de mettre en jeu plusieurs aldéhydes et plusieurs dipyrrométhanes dans la même réaction dite de condensation [2+2] de Mac Donald[47].

Le principal inconvénient de ce type de condensation est la formation de mélanges statistiques d'isomères qui peuvent se révéler très difficiles à séparer et font forcément diminuer les rendements si un seul des isomères est désiré [48].



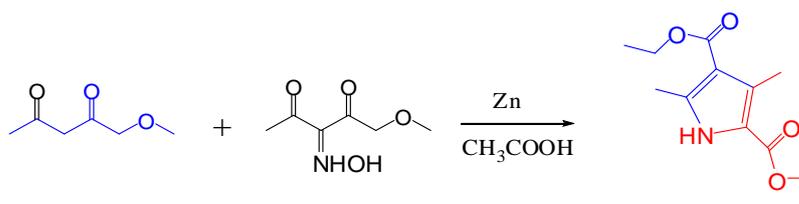
**Figure.1.14.**Méthode de MacDonal

### 1.1.2.4.2.Les porphyrines $\beta$ -substituées

L'introduction de groupements sur les positions  $\beta$ -pyrroliques d'une porphyrine implique de préparer des précurseurs pyrroliques déjà fonctionnalisés. Au niveau de ces précurseurs, il s'agit soit de pyrroles simples (dipyrrométhanones) ou d'assemblage plus complexes (exemple : a,c-diladiènes qui sont des oligomères de quatre pyrroles), Figure 1.17.

Par des fonctions différentes de manière contrôlées obtenues une porphyrine substituée, il convient de construire le macrocycle étape par étape en utilisant la méthode de synthèse de pyrroles qui ont été déjà largement étudiées dans la bibliographie.

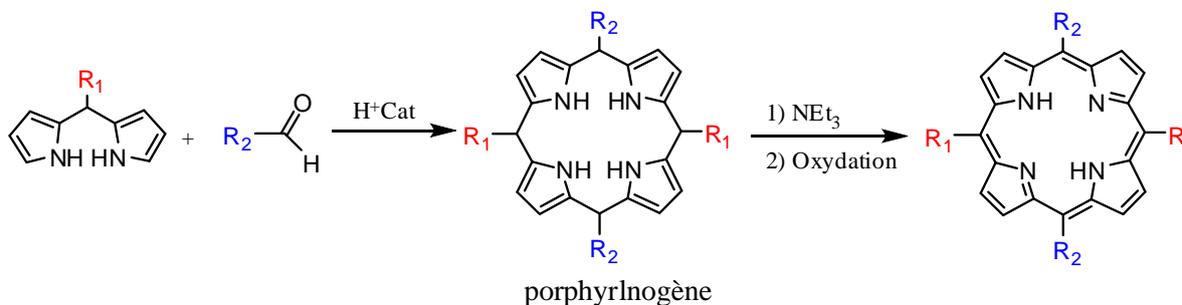
Comme exemple de ces méthodes de synthèse c'est la méthode de Knorr d'obtenir des pyrroles hautement fonctionnalisés à partir de substrats relativement simples[49], Figure 1.15. En 1884, la réaction décrite par Knorr est le mélange stœchiométrique d'acétoacétate d'éthyle et d'une oxime, qui préparée par un traitement au nitrite de sodium, et réduite par du zinc dans de l'acide acétique.



**Figure.1.15.**Synthèse d'un pyrrole tétrasubstitué selon la méthode de Knorr

Une autre méthode importante pour la synthèse de pyrrole et la méthode de Barton-Zard [50].

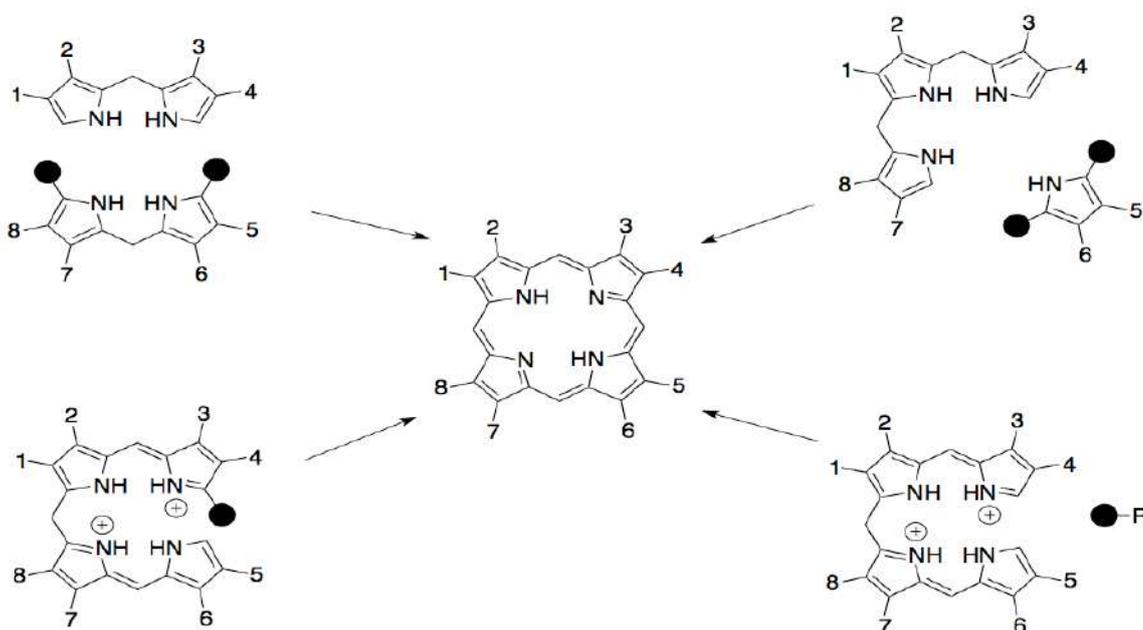
Ces méthodes de synthèse mettent en jeu un nitroacétate qui après départ du groupement acétate en présence de base va former un nitroalcane qui va réagir ensuite avec un dérivé isocynoacétate, en fin cyclisation et départ du groupement nitro  $\text{NO}_2$ , le pyrrole désiré.





**Figure.1.16.** Synthèse d'un pyrrole selon la méthode de Barton-Zard

Les différentes méthodes de synthèse donnent accès à de nombreux pyrrole substitués qui peuvent être utilisés pour former des précurseurs. Ces derniers, sont généralement des oligomères de pyrrole et peuvent appartenir à deux et à quatre entités pyrroliques qui pourront à leurs tour être cyclisés pour former des porphyrines [51].



**Figure.1.17.** Les différentes méthodes envisageables pour la synthèse d'une porphyrine à partir de précurseurs oligopyrroliques. D'après the Porphyrine Handbook

### 1.1.2.L'acide désoxyribonucléique (ADN)

L'étude de l'activité antimutagène donne des informations qui permettent de découvrir les possibilités de lutte contre le risque génotoxique des mutagènes. La génotoxicité comprend les lésions de l'ADN, la mutation des gènes, l'aberration chromosomique et la formation de micronoyaux [52].

La génotoxicité se produit couramment avec les médicaments anticancéreux qui provoquent un niveau élevé de dommages à l'ADN qui active les points de contrôle du cycle cellulaire conduisant à l'arrêt du cycle cellulaire ou à la mort des cellules [53].

Plusieurs études sur les composés organométalliques ont révélé des propriétés antimutagènes et antigénotoxiques principalement dues aux antioxydants qui captent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) [54].

### 1.1.2.1.Définition

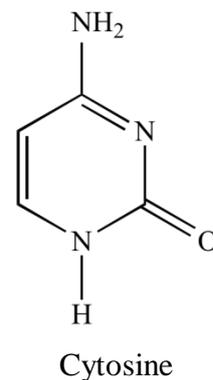
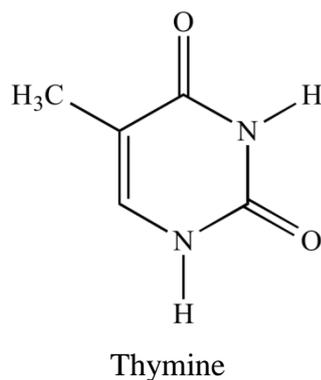
L'acide désoxyribonucléique (ADN) est le véritable architecte de la croissance de la vie sur terre. Il est une molécule trouvée dans les noyaux des cellules, les chloroplastes et les mitochondries que transporte l'ensemble génétique des informations d'un individu [55]. La base unité de génétique information est le gène, il est une partie de l'ADN qui peut être exprimée comme une macromolécule, "la protéine" [56].

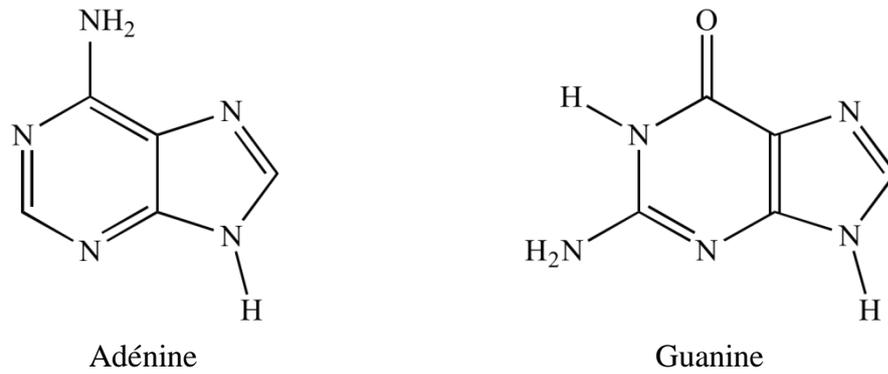
### 1.1.2.2.Structure

La structure de l'acide nucléique est présente des caractéristiques nouvelles qui présentent un intérêt biologique [57].

L'ADN est une molécule, dont la structure en "double hélice". Elle est formée par une succession de petites unités appelées nucléotides [58].

Un nucléotide est constitué de trois éléments : une molécule d'acide phosphorique, un sucre et une base organique (les bases portent l'information génétique). Dans le cas de l'ADN, le sucre est le désoxyribose d'où son nom : Acide (phosphorique) Desoxyribo (se) Nucléique. Les bases, quant à elles, sont au nombre de quatre : l'Adénine (A), la Thymine (T), la Cytosine (C), et la Guanine (G) [58].





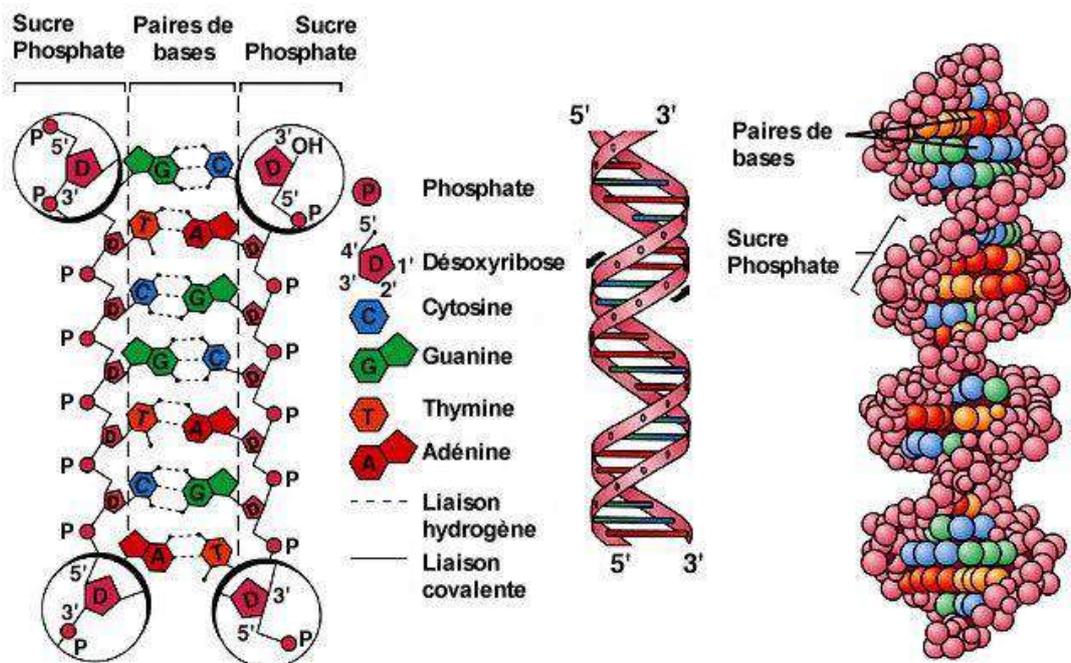
**Figure.1.18.** Structure et numérotation des bases azotées de l'ADN

L'ADN est constitué de deux chaînes (ou brins) enroulées l'une autour de l'autre en une double hélice. Chaque chaîne est composée d'une succession de nucléotides qui sont un assemblage de trois molécules : un groupement phosphate, un sucre (désoxyribose) et une base azotée [59].

Les bases azotées sont au nombre de quatre : adénine (notée A), thymine (T), guanine (G), cytosine (C). La complémentarité de ces bases, deux à deux, permet l'association des deux brins d'ADN : l'adénine est toujours appariée à une thymine et la guanine à une cytosine [60].

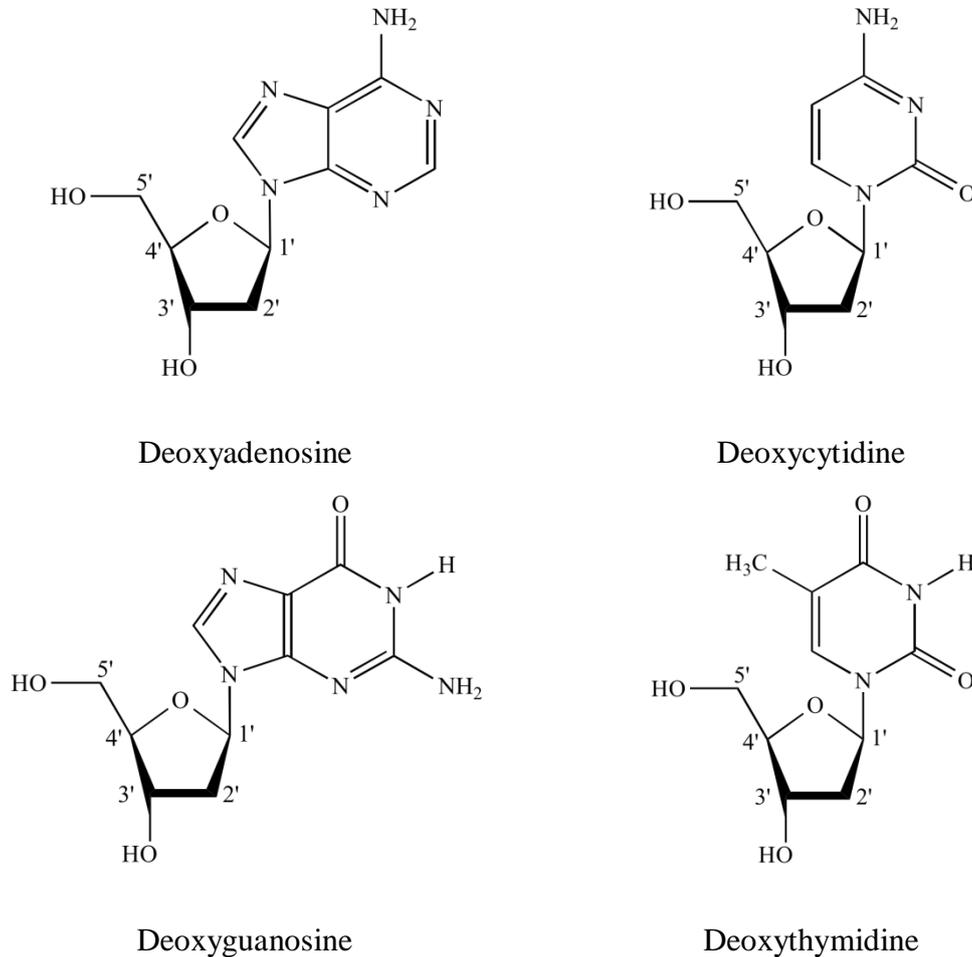
Les bases azotées ne peuvent s'associer que deux à deux par leurs liaisons hydrogènes

- Deux liaisons hydrogènes entre l'adénine et la thymine.
- Trois liaisons hydrogènes entre la guanine et la cytosine.



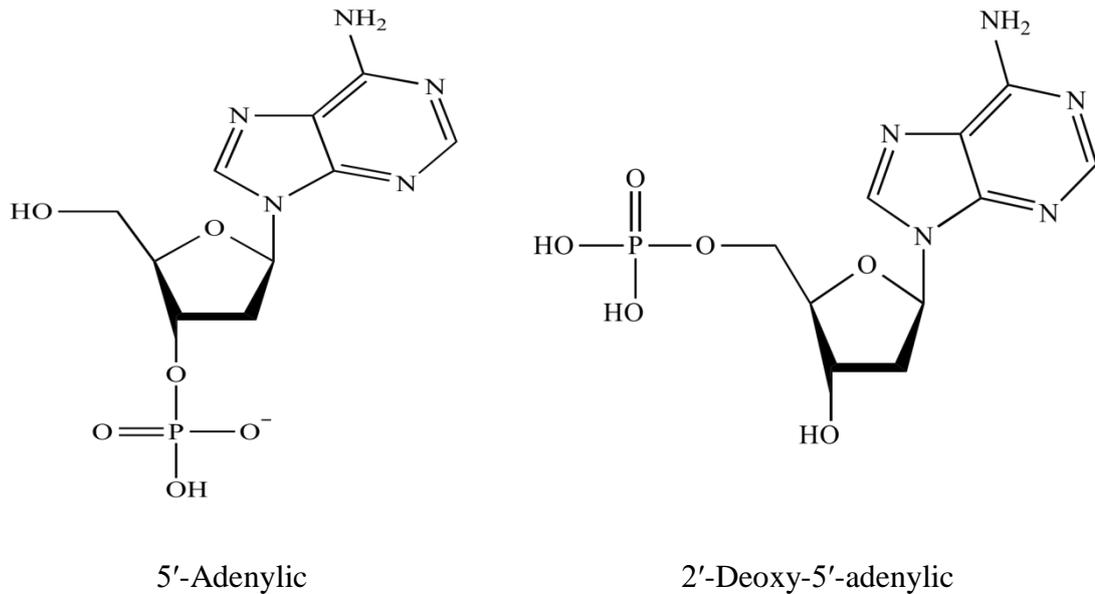
**Figure.1.19.** La structure moléculaire de l'ADN

Les nucléosides ont des structures très similaires aux nucléotides, mais ne sont constitués que de la base jointe à un sucre par la liaison N-glycosidique, également appelée  $\beta$ -glycosidic linkage, Figure 1.17.



**Figure.1.20.** Les quatre bases de l'ADN

Ainsi, un nucléotide peut également être appelé phosphate nucléosidique (IUPAC-IUB, 1970, 1983). En plus de leur état monomère, les nucléotides existent sous des formes polymères, appelées acides nucléiques, et il en existe deux types étroitement liés : l'acide ribonucléique (ARN) et l'acide désoxyribonucléique (ADN) [61]. Ces formes polymères ont une polarité directionnelle avec leur séquence, ce qui se produit parce que le 3'-OH d'un nucléotide est relié au 5'-phosphate du suivant par une liaison phosphodiester. Ainsi, une extrémité de la molécule a un 5'-phosphate et l'autre extrémité a un 3'-OH. Il est courant que les séquences soient écrites en commençant par le nucléotide contenant le 5'-phosphate à gauche [62].



**Figure.1. 21.** Structure nucléotide de l'ADN

### 1.1.2.3. Transmission de l'information génétique

Lors de la division cellulaire, la double hélice de l'ADN est répliquée à l'identique afin que chacune des deux cellules filles hérite de la même information génétique. La réplication est initiée par une hélicase qui sépare les brins de l'ADN [63]. Chacun des brins est alors recopié en utilisant la complémentarité des bases par une ADN polymérase pour donner deux doubles hélices. La réplication est dite semi-conservative car chaque hélice contient un brin provenant de l'ADN modèle et un brin néo-synthétisé. Ainsi, l'information génétique est fidèlement transmise aux cellules filles [64].

### 1.1.2.4. Fonction

L'ADN encode l'information par l'ordre, ou la séquence, des nucléotides le long de chaque brin. Chaque base (A, C, T ou G) peut être considérée comme une lettre d'un alphabet de quatre lettres qui énonce les messages biologiques dans la structure chimique de l'ADN. Les organismes différents les uns des autres parce que leurs molécules d'ADN respectives ont des séquences de nucléotides différentes et, par conséquent, portent des messages biologiques différents [65].

### 1.1.2.5. Mutation

Une mutation, qui peut survenir lors de la réplication ou de la recombinaison, est un changement permanent dans la séquence nucléotidique de l'ADN [66]. L'ADN endommagé peut être muté par substitution, délétion ou insertion de paires de bases. Les mutations, pour la plupart, sont inoffensives, sauf lorsqu'elles entraînent la mort des cellules ou la formation de tumeurs. En

raison du potentiel mortel des mutations de l'ADN, les cellules ont développé des mécanismes pour réparer l'ADN endommagé [67].

### 1.1.2.5.1.Type de mutations

Les types de mutations comprennent :

- Mutation de Missense : Ce type de mutation est un changement dans une paire de bases de l'ADN qui entraîne la substitution d'un acide aminé par un autre dans la protéine fabriquée par un gène.
- Mutation non-sens : Une mutation absurde est également un changement dans une paire de bases d'ADN. Cependant, au lieu de substituer un acide aminé à un autre, la séquence d'ADN modifiée signale prématurément à la cellule qu'elle doit cesser de construire une protéine. Ce type de mutation entraîne un raccourcissement de la protéine, qui peut fonctionner de manière incorrecte ou pas du tout.
- Insertion : il modifie le nombre de bases de l'ADN dans un gène en ajoutant un morceau d'ADN. Par conséquent, la protéine fabriquée par le gène peut ne pas fonctionner correctement.
- Délétion : elle modifie le nombre de bases d'ADN en retirant un morceau d'ADN. Les petites délétions peuvent supprimer une ou quelques paires de bases dans un gène, tandis que les délétions plus importantes peuvent supprimer un gène entier ou plusieurs gènes voisins. L'ADN supprimé peut modifier la fonction de la ou des protéines résultantes.
- Duplication : consiste en un morceau d'ADN qui est anormalement copié une ou plusieurs fois. Ce type de mutation peut altérer la fonction de la protéine résultante [68].

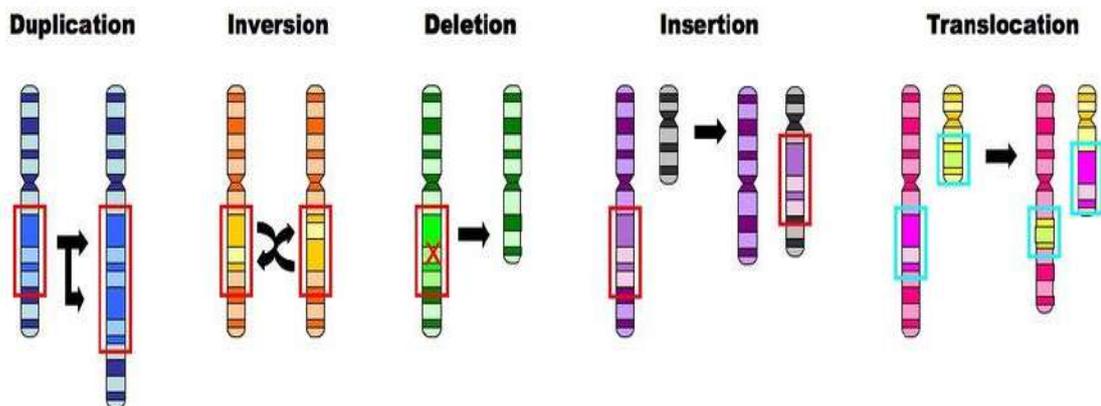


Figure.1.22.Des différents types de mutations

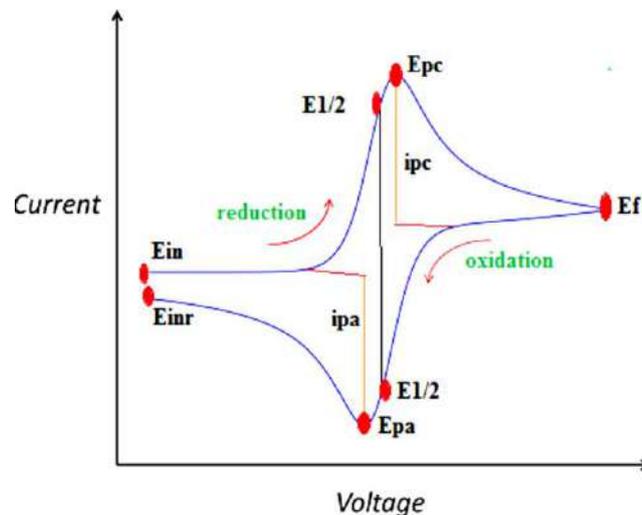
# **Chapitre 2**

## **Méthodologie expérimentale**

### 1.2.1.Voltamétrie cyclique (CV)

Ce n'est un secret pour personne que la nécessité de passer des sources d'énergie à base de pétrole et produisant du CO<sub>2</sub> à des alternatives, en particulier celles basées sur des principes électrochimiques, est de plus en plus pressante. Rien que pour cette raison, ce sujet est un objectif important de l'enseignement général de la chimie au niveau du premier cycle universitaire. L'une des méthodes expérimentales les plus importantes pour étudier les systèmes d'oxydoréduction à utiliser comme sources d'énergie rechargeables est la voltampérométrie cyclique (VC) [69].

Cette technique se distingue par ses avantages de simplicité, de sensibilité, de rapidité. La voltampérométrie cyclique (VC) est une technique électrochimique d'inversion contrôlée par le potentiel, largement utilisée dans l'étude de la réaction et le mécanisme [70]. La cellule CV se compose de trois électrodes, à savoir l'électrode de travail (EW), la contre-électrode (EC) et l'électrode de référence (ER) et la solution d'électrolyte en contact avec les électrodes [71].



**Figure.1.23.** Voltammogrammes cycliques

Les caractéristiques d'intérêt de la courbe  $i=f(E)$  incluent la hauteur des courants pics cathodique ( $ip_c$ ) et anodique ( $ip_a$ ) et leur ratio, les valeurs des potentiels ( $E_{p_c}$ ) et ( $E_{p_a}$ ) auxquels les pics de courant cathodique et anodique sont observés et l'écart.

$$\Delta E = E_{p_c} - E_{p_a} = \frac{0,565}{n} \quad (\text{V à } 25\text{C}^\circ) \quad (1.1)$$

Le principal intérêt du cyclique voltampèremètre dans un pur semi-infini diffusion régime est de permettre à partir d'une électro-espèce dans un électrolyte solution, l'étude du électrochimiques processus qui peut prendre lieu à partir de cette matière, tandis que le balayage aller-retour.

Pour les systèmes électrochimiques simples (rapides, quasi-rapides et totalement irréversibles[72].

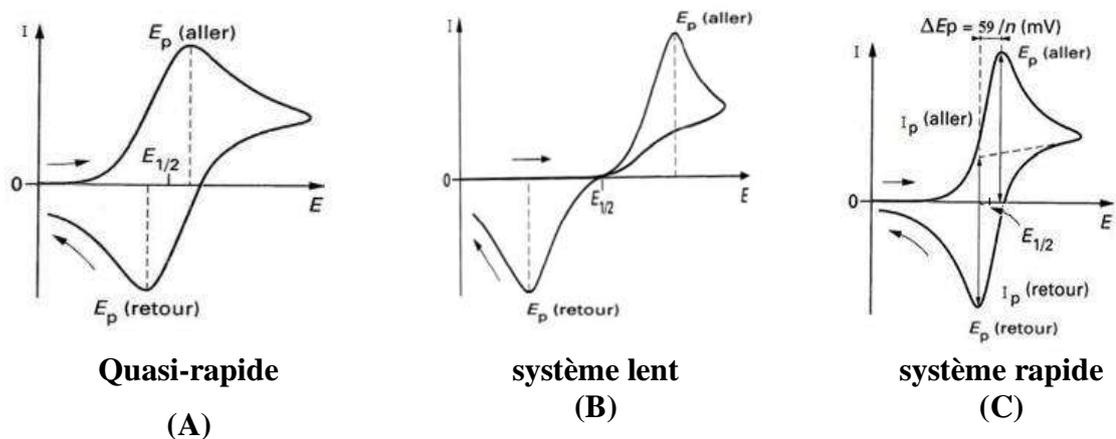


Figure.1.24. Voltammogrammes cycliques pour des systèmes :Quasi-rapide (A), système lent (B) et système rapide (C).

- **Cas d'un système réversible (rapide)**

L'équilibre électrochimique entre les deux espèces s'écrit :



Dans le cas d'un système rapide Ox/Red, la loi simplifiée de Nernst suffit à expliquer les différents phénomènes. Les grandeurs caractéristiques de ces voltammogramme sont sur une main le  $\frac{I_{pa}}{I_{pc}}$  de l'autre côté de potentiel.

La réaction réversible est donnée par la relation [73]:

$$i_p = 0,269 \cdot 10^5 \cdot A \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2} \cdot c \cdot v^{1/2} \quad (1.2)$$

Où :

**A** : surface de l'électrode en  $\text{cm}^2$

**n** : nombre total d'électrons transférés

**D** : coefficient de diffusion en  $\text{cm}^2/\text{s}$

**C** : les concentrations en  $\text{mol}/\text{cm}^3$

**v** : taux de balayage en  $\text{mV}/\text{s}$

- **Cas d'un système irréversible (lent) :**

$$E_P - E_{P/2} = \frac{1.857.RT}{\alpha.n.F} = \frac{47.7}{\alpha.n} \quad (\text{m V à } 25^\circ \text{ C}); \quad (1.3)$$

$\frac{I_P}{v^{1/2}}$  Constant lorsque  $v$  varie

- **Cas d'un système quasi-irréversible :**

$I_P$  augmente avec  $v^{1/2}$  mais ne lui est pas proportionnel

$$\left| \frac{I_{Pa}}{I_{Pc}} \right| = 1$$

En utilisant la voltampèremètre cyclique, nous avons étudié l'activité antioxydante en testant la superoxyde anion ( $O_2^-$ ).

Le corps humain possède un système complexe de défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques naturelles qui neutralisent les effets néfastes des radicaux libres et autres oxydants [74].

Les antioxydants peuvent être très utiles pour améliorer la qualité de vie en prévenant ou en retardant l'apparition de maladies dégénératives. En outre, ils peuvent permettre de réaliser des économies substantielles sur le coût de la prestation des soins de santé [75].

L'activité antioxydante ne doit pas être conclue sur la base d'un seul modèle de test antioxydant. Le chercheur doit vérifier de manière critique les méthodes d'analyse avant d'adopter celle-ci pour ses recherches. En général, les tests in vitro d'antioxydants utilisant des pièges à radicaux libres sont relativement simples à réaliser. Parmi les méthodes de piégeage des radicaux libres, la méthode DPPH est en outre rapide, simple (c'est-à-dire qu'elle ne nécessite pas beaucoup

d'étapes et de réactifs) et peu coûteuse par rapport à d'autres modèles de test. D'autre part, le test de décoloration ABTS est applicable aux antioxydants hydrophiles et lipophiles [76].

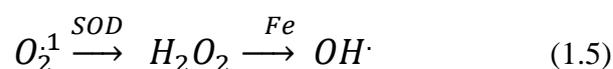
Le radical anionique superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) est généré par la réduction à quatre électrons de l'oxygène moléculaire dans l'eau. Ce radical s'est également formé dans les cellules aérobies en raison d'une fuite d'électrons de la chaîne de transport des électrons. Les radicaux superoxydes ( $O_2^{\cdot-}$ ) sont également formés par des phagocytes activés tels que les monocytes, les macrophages, les éosinophiles et les neutrophiles et la production d' $O_2^{\cdot-}$  est un facteur important dans la destruction des bactéries par les phagocytes. Dans les organismes vivants, l' $O_2^{\cdot-}$  est éliminé par des enzymes appelées superoxyde dismutases (SOD) [77, 78].



L'électron non apparié modifie la réactivité chimique de la molécule/atome, la rendant plus réactive que la forme non radicale correspondante. Les radicaux libres de l'oxygène comprennent le radical anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), l'oxygène singulet ( $O_2^1$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ) et le radical perhydroxyle ( $HO_2^{\cdot}$ ) et sont appelés collectivement les "espèces réactives de l'oxygène" (ROS). La voie habituelle du métabolisme de l' $O_2$  est sa réduction complète en  $H_2O$  par l'acceptation de quatre électrons. Cependant, avec une réduction d'un seul électron, plusieurs radicaux libres et du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) sont formés [79, 80].

In vivo, les ROS sont générés par des enzymes oxydantes, des cellules phagocytaires, des rayonnements ionisants, etc. On pense que l'anion superoxyde est le premier radical formé, principalement par la chaîne de transport des électrons lorsque l' $O_2$  capte un seul électron. Les radicaux tels que  $OH^{\cdot}$ ,  $HO_2^{\cdot}$  et  $H_2O_2$  sont formés à partir de  $O_2^{\cdot-}$ .

La réduction du  $H_2O_2$  en  $OH^{\cdot}$ , est facilement facilitée par les métaux de transition  $Fe^{2+}$  ou  $Cu^{1+}$  qui servent de donneurs d'électrons. Les cellules et les tissus sont équipés pour faire face au  $H_2O_2$  par des protéines qui lient le Fe et le Cu (par exemple la transferrine, la ferritine, la céruléoplasmine et la métallothionéine) et par les enzymes catalase et glutathion (GSH) peroxydase qui réduisent sans danger le  $H_2O_2$  en  $H_2O$ . Cependant, comme le montre la voie suivante,  $O_2^{\cdot-}$  peut conduire à la production d'autres ROS :

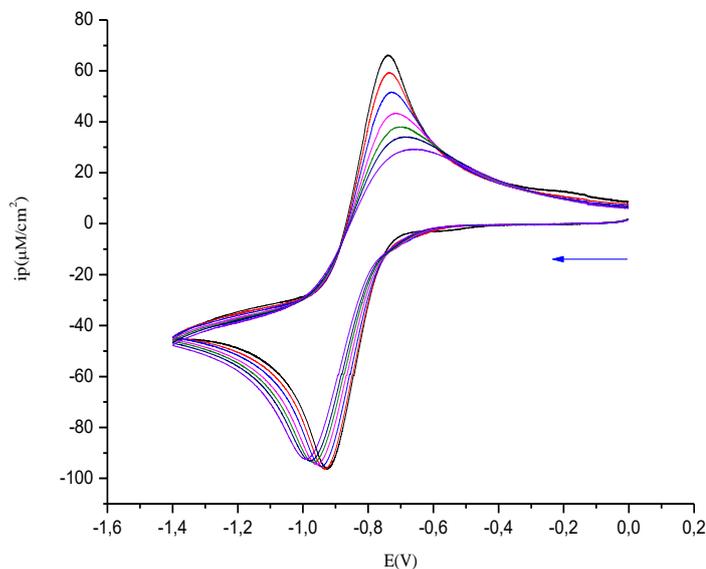


Les autres processus qui produisent des ROS comprennent : la peroxydation des lipides, le rayonnement, le métabolisme des quinones par recyclage redox et les réactions des enzymes

xanthine oxydase, amine oxydase, cytochrome P450 et prostaglandine synthase. Les cellules phagocytaires produisent  $O_2^-$  par la NADPH oxydase et l' $HOCl$  par la myéloperoxydase [81]. Le radical libre anion superoxyde ( $O_2^-$ ) reste une cible radiale de grand intérêt pour l'évaluation de l'activité antioxydante en tant que radical libre.  $O_2^-$  et il est l'un des tests les plus utilisés pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé antioxydant, d'un extrait ou d'un autre des solutions biologiques [82, 83].

Nous avons présenté les capacités de la voltampèremètre cyclique (CV) pour trouver des couples redox adaptés. Les systèmes choisis n'impliquent qu'un seul transfert d'électrons, mais présentent déjà des comportements complexes qui peuvent être délimités avec la CV comme étant réversibles, quasi-réversibles ou irréversibles, et les constantes de vitesse pour le transfert d'électrons peuvent être estimées par la théorie de Nicholson et Shain.

L'essai est basé sur la mesure de la diminution de la densité de courant anodique de pointe du couple redox ( $O_2 / O_2^-$ ) lors de l'ajout d'un composé antioxydant. La plupart des travaux publiés dans le domaine des radicaux libres.  $O_2^-$  sont généralement limités à l'évaluation de l'activité antioxydante de composés antioxydants potentiels [84]. Comme indiqué dans la figure 1.26.



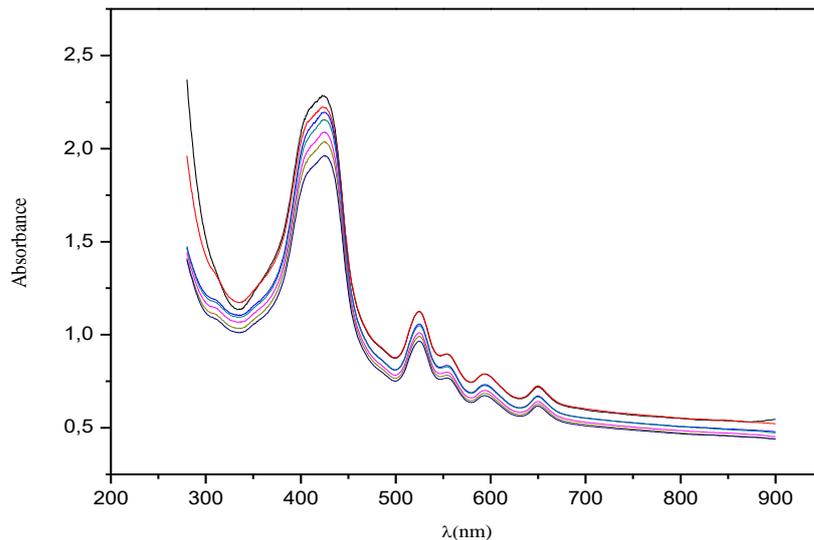
**Figure.1.25.** Voltammogrammes cycliques de l'oxygène saturé DMF/0.1

$Bu_4NBF_4$ , sur une électrode à disque GC en l'absence et présence de PdTAcPP, taux de balayage 100 mV/s,  $T=28^\circ C$  ( ma propre œuvre)

### 1.2.2.La spectrophotométrie UV-Visible

Le spectrophotomètre est un appareil permettant de mesurer l'absorbance d'une solution, pour différentes longueurs d'ondes. Pour cela, il fait passer un rayon d'une longueur d'onde choisie à travers une cuve contenant la solution à étudier. Les molécules de la solution absorbent plus ou moins le rayon lumineux, on définit alors l'absorbance pour cette longueur d'onde

La mesure des constantes de liaison et des énergies libres de liaison du PdTAcPP avec l'ADN a été réalisée en enregistrant le spectre électronique d'une solution de 1mM de PdTAcPP dans une solution aqueuse de phosphate tampon de 0,1 M en l'absence et en présence d'une concentration progressivement croissante de la solution d'ADN à un pH de 7,2. Les spectres électroniques sont présentés dans la figure 1.27, suivante, qui montre que l'absorbance du PdTAcPP diminue avec l'augmentation progressive de la concentration de l'ADN.



**Figure.1.26.**Le spectre d'absorption de 0,001 M de PdTAcPP / tampon (7,2) en concentration d'ADN croissante et le courbe de  $F(1/C)=A_0/(A-A_0)$  de PdTAcPP-DNA (ma propre œuvre)

Les constantes de liaison ont été obtenues à partir de la variation des valeurs d'absorbance en augmentant concentration de l'ADN à l'aide de l'équation suivante :

$$\frac{A_0}{A-A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G} \frac{1}{K[ADN]} \quad (1.6)$$

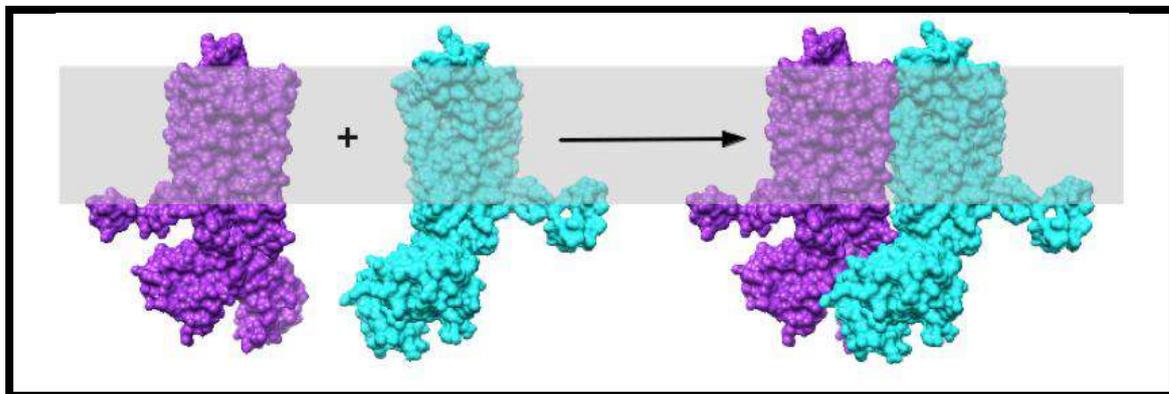
Ou  $[ADN]$  est la concentration d'ADN ( $\mu M$ ),  $K$  est la constante de liaison ( $M^{-1}$ ),  $A_0$  et  $A$  sont l'absorbance du ligand en l'absence et en présence d'ADN, respectivement, et  $\epsilon_G$  ( $M^{-1} cm^{-1}$ ) et  $\epsilon_{H-G}$  ( $M^{-1} cm^{-1}$ ) sont leurs coefficients d'extinction respectifs [85].

### 1.2.3.Docking moléculaire

Docking moléculaire est une méthode *in silico* structurale bien établie, largement utilisée dans la découverte de médicaments. La docking permet d'identifier de nouveaux composés d'intérêt thérapeutique, de prédire les interactions ligands-cibles au niveau moléculaire, ou de délimiter les relations structure-activité (SAR), sans connaître a priori la structure chimique d'autres modulateurs cibles [86].

L'amarrage moléculaire se compose principalement de deux étapes : un moteur pour l'échantillonnage des conformations/orientations et une fonction de notation, qui associe une note à chaque pose prévue [87-89].

Le docking moléculaire consiste à prédire la conformation optimale entre deux molécules afin de créer un complexe de molécules stable (figure 1.24). Le docking moléculaire permet soit de découvrir de nouvelles molécules (par assemblage de deux ou plusieurs molécules), soit de comprendre la nature d'un complexe de molécules par cristallographie.



**Figure.1.27.**Représentation schématique du docking de deux molécules. (Molécules de départ, Complexe molécules).

### 1.2.3.1.Modélisation du potentiel énergétique

Pour calculer l'énergie libre du complexe ligand-récepteur, Autodock utilise les termes d'un champ de force traditionnel auxquels sont ajoutés deux termes liés à l'entropie. L'énergie est donnée par la relation suivante :

$$\Delta G = \Delta G_{vdw} + \Delta G_{hbond} + \Delta G_{elec} + \Delta G_{tor} + \Delta G_{sol} \quad (1.7)$$

$\Delta G_{vdw}$  : représente l'énergie de dispersion / répulsion des atomes,

$\Delta G_{hbond}$  : représente l'énergie des liaisons hydrogène,

$\Delta G_{elec}$  : représente l'énergie des interactions électrostatiques,

$\Delta G_{tor}$  : est un terme qui exprime l'augmentation de l'énergie du système due à la restriction des rotors libres du ligand et à la restriction des rotations et des translations du ligand pendant la complexation avec le récepteur,

$\Delta G_{sol}$  : est un autre terme lié à l'entropie qui décrit les changements d'énergie du système pendant la désolvatation du ligand au moment de la complexation au récepteur.

Le passage par une relation empirique de type QSAR est nécessaire pour relier la structure des complexes et l'énergie libre de liaison. Le modèle empirique utilisé dans AUTODOCK est une régression linéaire multiple des différents termes de l'équation d'énergie libre [90].

Chaque terme est ainsi pondéré par un coefficient dérivé d'un jeu étendu de complexes récepteur-inhibiteur pour lesquels la constante d'inhibition  $K_i$  est connue. la relation entre la constante d'inhibition et l'énergie libre de liaison est donnée par l'équation suivante :

$$\Delta G = RT \ln K_i \quad (1.8)$$

Où R: constante des gaz parfaits (1.987 cal K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>)

T: température absolue (298.15 K) [91].

### 1.2.3.2.La modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire (MM) est l'un des domaines scientifiques qui connaît la croissance la plus rapide. Il peut aller de la construction et de la visualisation de molécules simples en trois dimensions (3D) à la réalisation de simulations informatiques complexes sur de grandes protéines et nanostructures.

Le MM est un ensemble de techniques informatiques permettant de piloter, de représenter et de manipuler les structures et les réactions des molécules, ainsi que les propriétés qui dépendent de ces structures 3D. La modélisation moléculaire (MM) est une autre approche qui fournit des

informations précieuses sur le mécanisme des interactions entre les ions et la surface des minéraux au niveau atomique. La dynamique moléculaire (MD), la méthode de Monte-Carlo et l'optimisation de la géométrie sont les techniques de simulation les plus couramment utilisées [92]. Dans ces méthodes, les structures d'équilibre des espèces sorbées et leurs énergies sont dérivées sur la base de calculs de l'énergie des interactions interatomiques selon les lois de la mécanique statistique [93].

Les énergies interatomiques sont calculées soit directement à l'aide de méthodes de mécanique quantique, soit au moyen de paramètres d'interaction empiriques qui sont à leur tour calibrés sur la base de calculs de mécanique quantique ou de données expérimentales pour des systèmes de modèles simplifiés. Les principales limites des simulations MM sont liées à la taille du système et à l'échelle de temps qui peuvent être prises en compte dans la modélisation [94].

### 1.2.3.3.Le Champ de Forces

Dans le domaine de la chimie théorique, le champ de forces représente l'énergie potentielle d'une molécule déformable ou d'un ensemble de molécules en interaction, sans faire intervenir directement la mécanique quantique. Il décrit l'énergie potentielle selon une expression mathématique, fonction des coordonnées de déformation des molécules et des distances intermoléculaires, et dépendante de paramètres caractéristiques des forces d'interaction entre atomes. Expression approchée de l'énergie potentielle d'un système moléculaire, un champ de forces est un subtil équilibre entre simplicité et représentativité physico-chimique [95].

L'énergie potentielle  $E_{tot}$  est calculée avec un modèle empirique ("champ de forces", voir plus bas le champ de force AMBER) où le système est constitué d'un ensemble de "boules" (atomes) et de "bâtonnets" (liaisons). Les interactions entre les atomes se décomposent en une composante intramoléculaire (énergies de déformation harmoniques des liaisons, des angles et dièdres) et une composante "intermoléculaire" décrivant les interactions entre atomes "non liés" (c'est à dire séparés par plus de deux liaisons) [96].

$$E_{Total} = E_{stretch} + E_{bend} + E_{tors} + E_{van\ der\ waals} + E_{électro} \quad (1.9)$$

### 1.2.3.4.La théorie de la densité fonctionnelle (DFT)

La théorie fonctionnelle de la densité (DFT) est une théorie (en principe exacte) de la structure électronique, basée sur la distribution de la densité électronique  $n(r)$ , au lieu de la fonction d'onde de plusieurs électrons  $\Psi(r_1, r_2, r_3, \dots)$ . Largement utilisée depuis plus de 30 ans par les

physiciens travaillant sur la structure électronique des solides, des surfaces, des défauts, etc., elle est aussi devenue plus récemment populaire auprès des théoriciens et des chimistes de l'informatique [97]. Le présent article s'adresse à la communauté chimique. Il vise à transmettre les concepts de base et l'étendue des applications : l'état actuel et les tendances des méthodes d'approximation (densité locale et approximations de gradient généralisées, méthodes hybrides) et la nouvelle lumière que la DFT a jetée sur des concepts importants comme l'électronégativité, la dureté et l'indice de réactivité chimique [98].

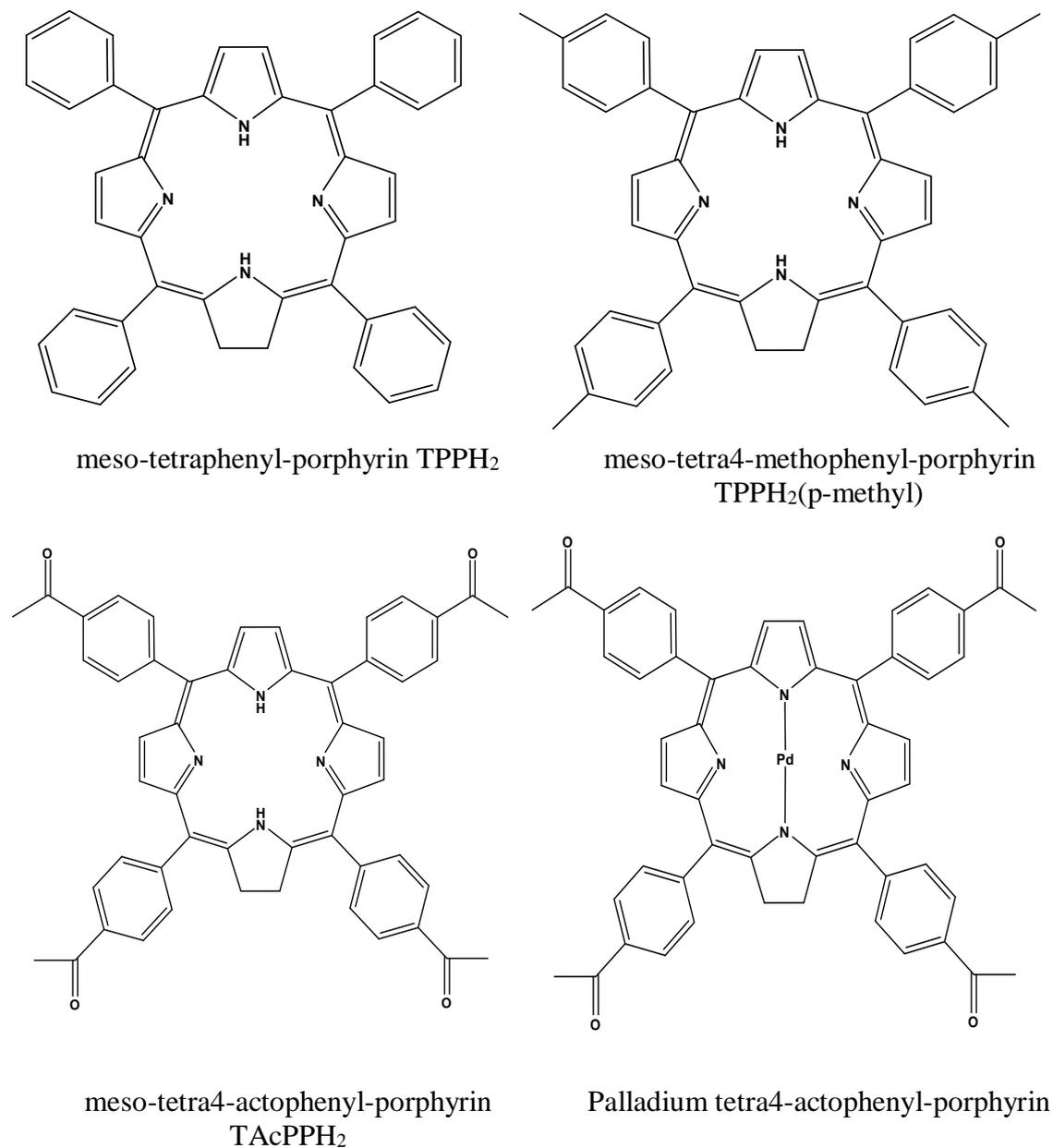
# **Partie 2**

**Résultats et discussions**

# **Chapitre 1**

**Activité antioxydante**

## 2.1. Produits chimiques



**Figure.2.28.** La formule chimique des dérivés de la porphyrine étudiés

Tous les dérivés de la porphyrine ont été synthétisés selon le travail de recherche effectué par Kadri Mohamed et son équipe scientifique [99].

## 2.2. Activité antioxydant

### 2.2.1. L'activité des radicaux anioniques superoxydes

Dans la présente étude, l'activité de piégeage des radicaux  $O_2^-$  a été utilisée pour mesurer l'activité antioxydante de TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-méthyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP.

La capacité de l'échantillon d'essai à éteindre  $O_2^-$  (% d'inhibition de  $O_2^-$ ) a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\% O_2^- = \text{radical scavenging activity} = \frac{i_0 - i_s}{i_0} \times 100 \quad (2.1)$$

Où  $i_0$  et  $i_s$  sont les densités de courant de pointe anodique du radical anion superoxyde en l'absence et en présence du composé [100-102]

Afin d'obtenir des courbes cinétiques et de calculer les valeurs de la IC<sub>50</sub>, l'activité de piégeage des radicaux  $O_2^-$  basée sur l'équation (2.1) a été tracée en fonction de différentes concentrations de composés. Toutes les mesures ont été effectuées et le graphique a été tracé avec les moyennes de trois observations. Les équations obtenues à partir de l'équation linéaire dans la gamme de concentration étudiée pour TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-méthyl), TAcPPH<sub>2</sub>, PdTAcPP et  $\alpha$ -tocophérol sont résumés dans le tableau 2.1, (où y représente la valeur du pic anodique densité de courant de  $O_2^-$ , et x la valeur de l'échantillon exprimées en mg/mL) [103].

Composé	Equation	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub>
TPPH <sub>2</sub>	y=6,234x+1,694	0,973	6,27
TPPH <sub>2</sub> (p-méthyl)	y=3,8945x+2,687	0,657	7,95
TAcPPH <sub>2</sub>	y = 5,716 x + 1,5036	0,985	8,48
PdTAcPP	y = 64,2187x + 2,7526	0,987	0,73
$\alpha$ -tocophérol	y = 15,990x + 1,3746	0,950	3,04

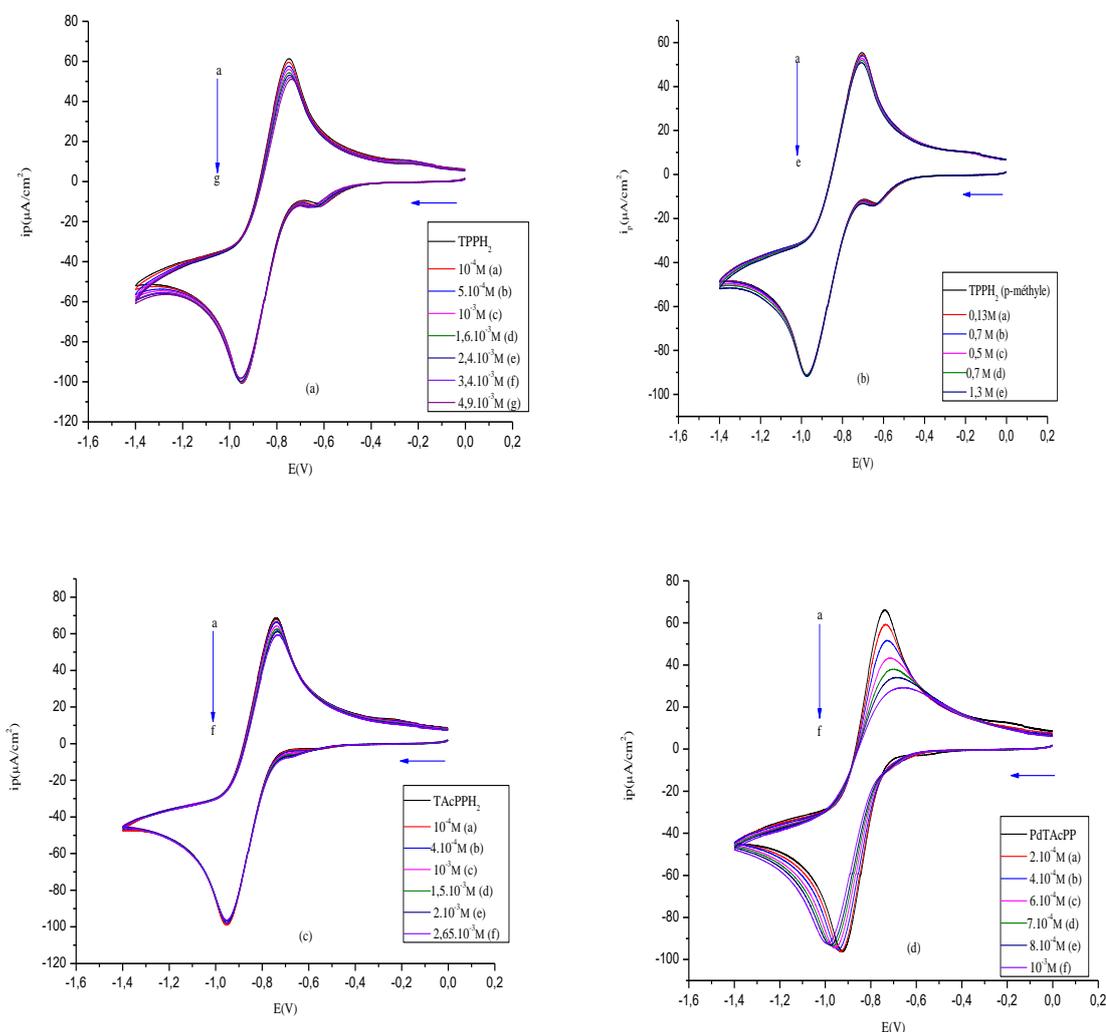
**Tableau.2.1.** Valeurs de la IC<sub>50</sub> obtenues en utilisant l'activité de piégeage des radicaux  $O_2^-$

Les résultats obtenus dans le tableau 2.1 indiquent que le PdTAcPP est plus élevé  $O_2^-$  plus élevée que celle de l'antioxydant standard  $\alpha$ -tocophérol, les résultats montrent également que l'activité antioxydante du composé PdTAcPP est presque 12 fois plus élevée que celle du TPPH<sub>2</sub>, TAcPPH<sub>2</sub> et du TPPH<sub>2</sub> (p-méthyle).

### 2.2.2. Etude électrochimique de l'interaction entre les ligands et le radical anion superoxyde

L'addition de différentes concentrations de TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-méthyle), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP a provoqué un léger déplacement du potentiel de pointe  $\Delta E^\circ$  dans le sens négatif, associé à une diminution remarquable de la densité de courant de pointe anodique, qui est due à l'activité de balayage des composés ajoutés [104].

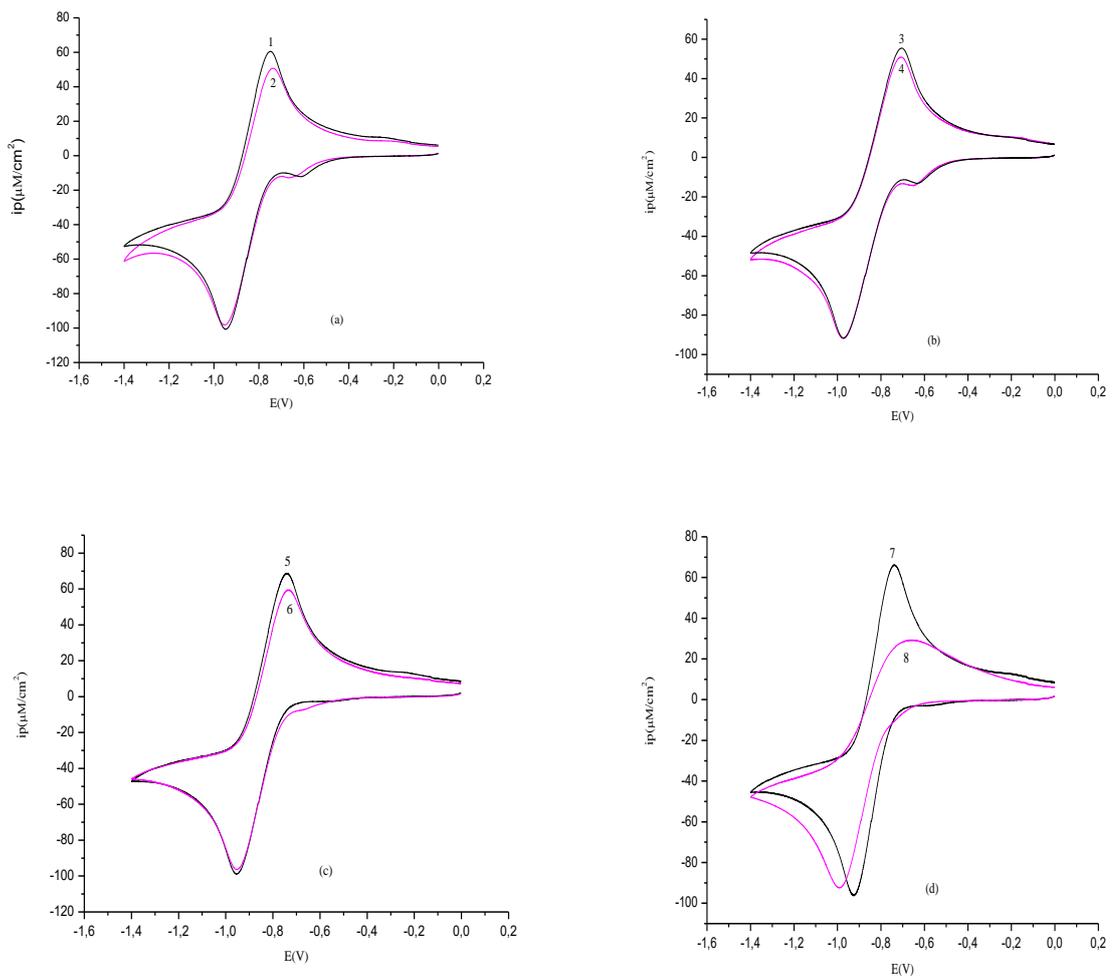
Dans lequel la baisse significative de la densité de courant de pointe anodique peut être attribuée à la diminution de la concentration en radicaux O<sub>2</sub><sup>-</sup> due à la formation d'adduits O<sub>2</sub><sup>-</sup>-TPPH<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>-TAcPPH<sub>2</sub> et O<sub>2</sub><sup>-</sup>-PdTAcPP [83, 105].



**Figure.2.29.** Voltammogrammes cycliques d'oxygène saturé DMF/0.1 Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub> sur une électrode GC en l'absence et en présence de concentrations différentes de TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub> (p-méthyle) (b), TAcPPH<sub>2</sub> (c) et de PdTAcPP (d) vitesse de balayage 100 mV/s, T = 28° C

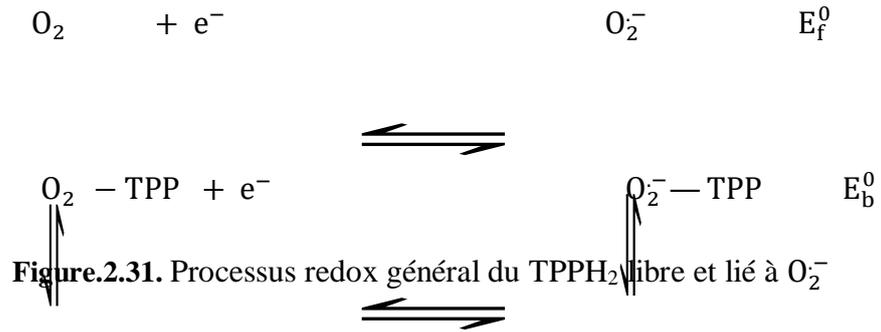
### 2.2.2.1. Le rapport des constantes de liaison ( $K_{ox}/K_{red}$ )

Le déplacement du potentiel maximal du couple redox ( $O_2/O_2^-$ ) dans le sens négatif en présence de TPPH<sub>2</sub> ou TAcPPH<sub>2</sub> ou TPPH<sub>2</sub> (p-methyl) ou de PdTAcPP indique que l'oxydation de  $O_2^-$  est plus facile en présence de TPPH<sub>2</sub> ou TAcPPH<sub>2</sub> ou TPPH<sub>2</sub> (p-methyl) ou de PdTAcPP parce que sa forme oxydée  $O_2$  est plus fortement liée à TPPH<sub>2</sub> ou TPPH<sub>2</sub> (p-methyl) ou TAcPPH<sub>2</sub> ou à PdTAcPP que sa forme réduite  $O_2^-$ .



**Figure.2.30.** Voltammogrammes cycliques de  $O_2^-$  sur une électrode GC polie en l'absence (1,3, 5 et 7) et en présence de  $4,9 \times 10^{-3} M$  (2),  $1,34 M$  (4),  $2,65 M$  (6),  $10^{-3} M$  (8), de TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH<sub>2</sub> (c) et de PdTAcPP (d) respectivement en solution de DMF avec un électrolyte de soutien  $0,1 M$  TBATFB à  $100 mV \cdot s^{-1}$

Pour un tel système, où les deux formes du couple redox ( $O_2/O_2^-$ ) interagissent avec le TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et le PdTAcPP, la figure 2.32, [104, 106].



L'application de la relation de Nernst au processus présenté dans le Figure 2.28, conduit à l'équation (2.2) [107]

$$\Delta E^0 = E_b^0 - E_f^0 = E^0(O_2^- - TPP) - E^0(O_2^-) = 0.059 \log \frac{K_{ox}}{K_{red}} \quad (2.2)$$

$E_f^0$  et  $E_b^0$  sont les potentiels formels du couple ( $O_2 / O_2^-$ ) sous les formes libres liées, respectivement. Le taux décroissant de la densité de courant de pointe anodique  $i_{pa}$  et le déplacement du potentiel de pointe  $\Delta E^0$  sont résumés dans le tableau 2.2.

Composé	$i_{pa}$ ( $\mu A$ )	$i_{pc}$ ( $\mu A$ )	$E_{pa}$	$E_{pc}$	$E_0$	$\Delta E$ (mV)	$k_{red}/K_{ox}$
$O_2^-$	60,34	-100,40	-0,75	-0,94	-0,84	/	/
$O_2^- - TPPH_2$	50,41	-98,20	-0,73	-0,95	-0,84	3,1	1,13
$O_2^-$	55,40	-0,973	-0,706	-0,973	-0,84	-	-
$O_2^- - TPPH_2$ (p-methyl)	50,60	-0,973	-0,706	-0,973	-0,84	2,5	1
$O_2^-$	68,35	-0,74	-0,95	-0,85	-0,84	/	/
$O_2^- - TAcPPH_2$	59,50	-95,96	-0,73	-0,95	-0,84	1,7	1,07
$O_2^-$	65,85	-95,96	-0,73	-0,93	-0,83	/	/
$O_2^- - PdTAcPP$	29,21	-92,05	-0,67	-0,99	-0,83	4,8	1,21

**Tableau.2.2.** Variations du potentiel de pointe et diminution du courant anodique de pointe des formes TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP liées à O<sub>2</sub><sup>-</sup>

Le rapport des constantes de liaison est calculé en remplaçant  $\Delta E^0$  du tableau 2.2 dans l'équation 2.2. Les rapports des constantes de liaison obtenus indiquent que l'interaction de la forme

réduite  $O_2^-$  avec le TAcPPH<sub>2</sub> est 1,07 fois plus importante que celle de sa forme oxydée  $O_2^-$  tandis que l'interaction de la forme réduite  $O_2^-$  avec le PdTAcPP est 1,21 fois plus importante que celle de la forme oxydée  $O_2^-$ .

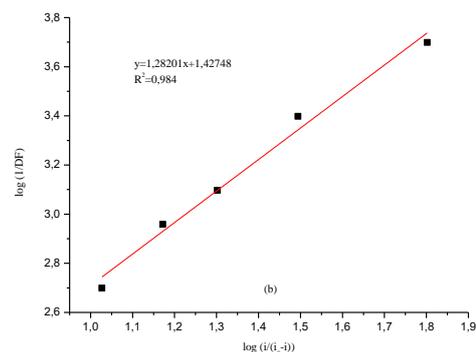
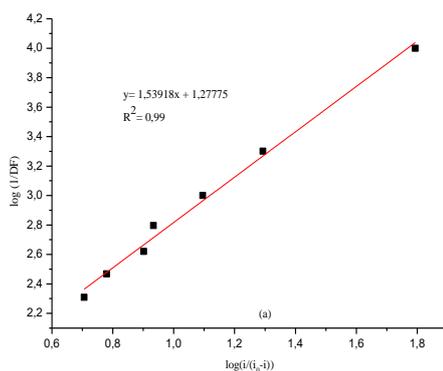
### 2.2.2.2. Constante de liaison

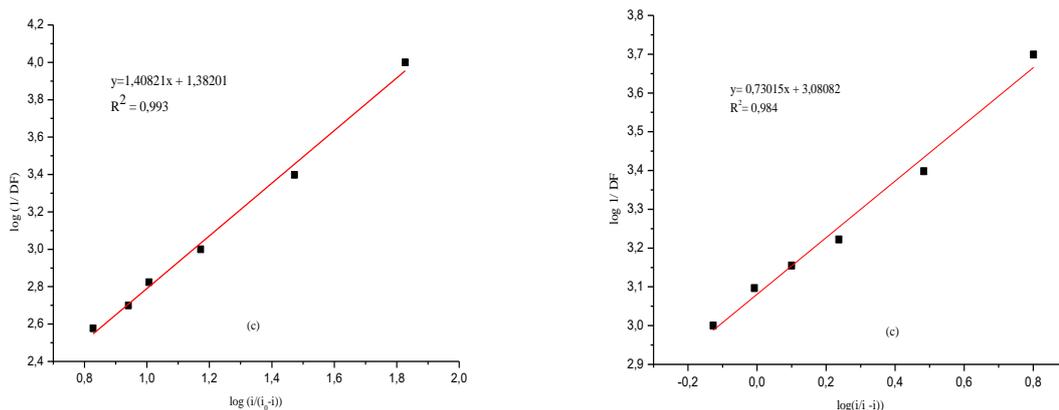
L'ajout de différentes concentrations de TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et de PdTAcPP dans le DMF à une solution de DMF saturée en oxygène commercial provoque une diminution remarquable de la densité de courant de pointe, figure 2.26. La diminution substantielle de la densité de courant de pointe anodique est due à la diminution de la concentration en  $O_2^-$  due à la formation de produits  $O_2^- - TPPH_2$ ,  $O_2^- - TPPH_2$  (p-methyl),  $O_2^- - TAcPPH_2$  et  $O_2^- - PdTAcPP$ .

La diminution progressive de la densité de courant de pointe du couple  $O_2 / O_2^-$  redox en augmentant les concentrations de TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP peut être exploitée pour calculer la constante de liaison en appliquant l'équation 2.3 [108].

$$\log \frac{1}{C} = \log K_b + \log \frac{i}{i_0 - i} \quad (2.3)$$

Où C représente la concentration de TPPH<sub>2</sub>, TAcPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl) et de PdTAcPP (mol.L<sup>-1</sup>), K<sub>b</sub> se rapporte à la constante de liaison (L.mol<sup>-1</sup>), i<sub>0</sub> et i sont les densités de courant de pointe anodiques en l'absence et en présence de TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et de PdTAcPP, respectivement. La figure (2.33) montre la courbe de  $\log \frac{1}{C}$  en fonction de  $\log \frac{i}{i_0 - i}$ .





**Figure.2.32.** Les diagrammes de  $\log (1/C)$  par rapport au  $\log i/(i_0 - i)$  pour l' $O_2^-$  avec une concentration variable de TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub> (p-methyl)(d), TAcPPH<sub>2</sub> (c) et de PdTAcP (d) dans le DMF/0,1 Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub>, utilisé pour calculer les constantes de liaison des produits  $O_2^- - TPPH_2$ ,  $O_2^- - TPPH_2$  (p - methyl),  $O_2^- - TAcPPH_2$  et  $O_2^- - PdTAcPP$ .

### 2.2.2.3.L'énergie libre

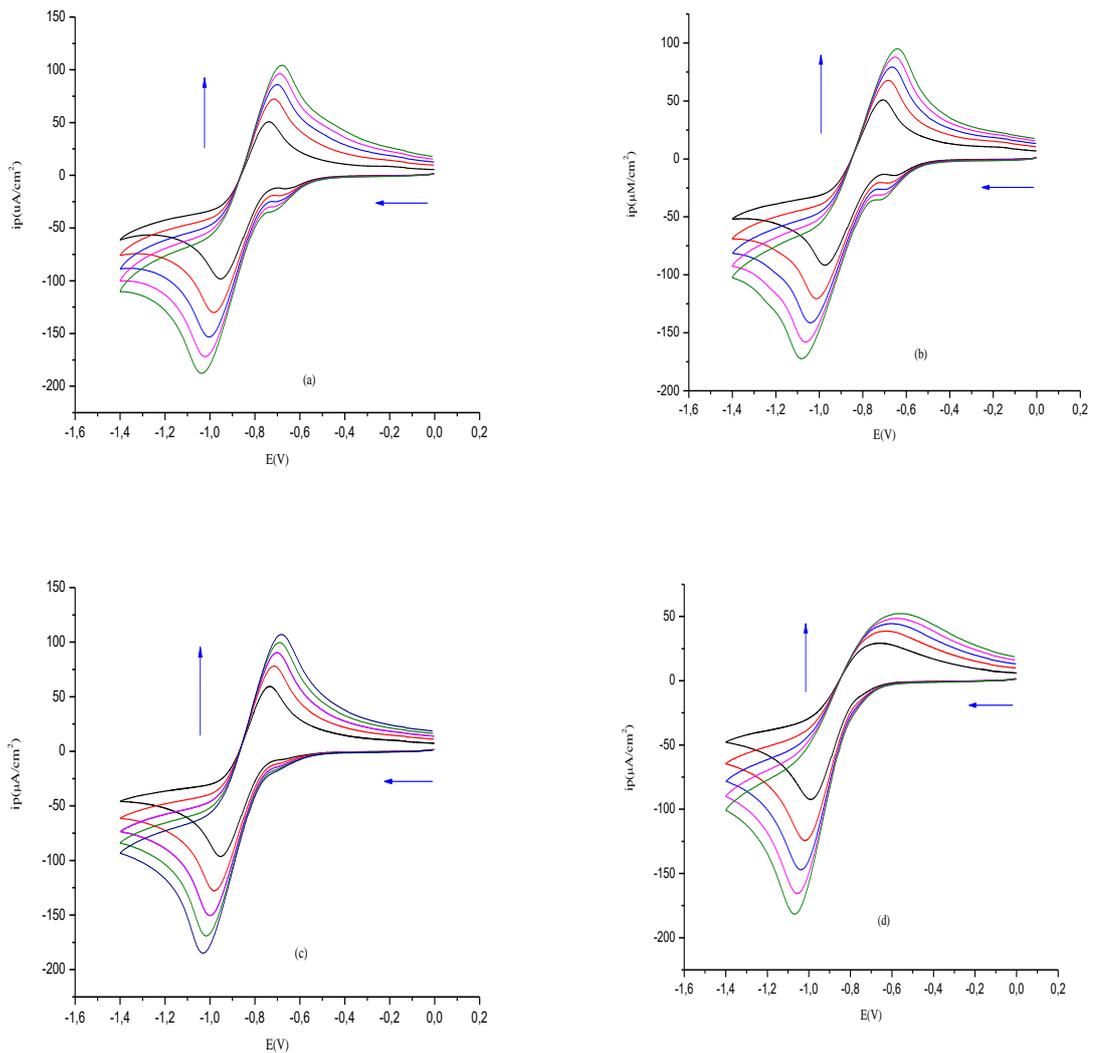
L'interception de l'ajustement linéaire du courbe  $\log (1/C)$  en fonction du  $\log i/(i_0 - i)$  a donné les constantes de liaison à partir desquelles l'énergie de liaison libre a été calculée (tableau 2.3) [109].

Composé	Equation	R <sup>2</sup>	K (L.MOL <sup>-1</sup> )	-ΔG ( KJ.mol <sup>-1</sup> )
$O_2^- - TPPH_2$	$y = 1,53918x + 1,2777$	0,99	18,956	7,295
$O_2^- - TPPH_2$ (p - methyl)	$y = 1,28201x + 1,42748$	0,98	26,760	8,149
$O_2^- - TAcPPH_2$	$y = 1,40821 x + 1,3820$	0,99	24,100	7,890
$O_2^- - PdTAcPP$	$y = 0,73015 x + 3,0808$	0,98	1204,537	17,588

**Tableau.2.3.** Constantes de liaison et valeurs des énergies libres de liaison des produits  $O_2^- - TPPH_2$ ,  $O_2^- - TPPH_2$  (p - methyl),  $O_2^- - TAcPPH_2$  et  $O_2^- - PdTAcPP$

## 2.2.2.4. Coefficients de diffusion

Pour calculer les coefficients de diffusion du radical libre  $O_2^-$  et de ses formes limitées  $O_2^- - TPPH_2$ ,  $O_2^- - TPPH_2$  (p - methyl),  $O_2^- - TAcPPH_2$  et  $O_2^- - PdTAcPP$ , des voltammogrammes ont été obtenus en faisant varier les vitesses de balayage potentielles, comme le montre la figure 2.34 dans laquelle tous les voltammogrammes présentent des pics d'oxydoréduction stables et bien définis qui peuvent être attribués au processus d'oxydoréduction du couple ( $O_2 / O_2^-$ ).



**Figure.2.33.** Succession de voltammogrammes cycliques à l'électrode GC  $O_2^- - TPPH_2$ ,  $O_2^- - TPPH_2$  (p - methyl),  $O_2^- - TAcPPH_2$  et  $O_2^- - PdTAcPP$  dans du DMF saturé en oxygène/ $0,1 Bu_4NBF_4$  à différentes vitesses de balayage (100-500 mV, incrément 100 mV)

T = 28° C.

Pour confirmer davantage l'interaction des radicaux  $O_2^{\cdot-}$  avec TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP, la relation  $i_{pa} = f(v)$  a été tracée avant et après l'addition de TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP, en utilisant l'équation 2.4 [85]

$$i = 2,69 \times 10^5 (\sqrt{n})^3 SC \sqrt{D} \sqrt{v} \quad (2.4)$$

$i$  ; est le courant de crête (A),  $S$  est la surface de l'électrode (cm<sup>2</sup>),  $C$  ; est la concentration en vrac (mol.cm<sup>-3</sup>) de l'espèce électroactive,  $D$  : est le coefficient de diffusion (cm<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>) et  $v$  est la vitesse de balayage du potentiel (V.s<sup>-1</sup>).

La dépendance linéaire de la densité de courant de pointe de  $O_2^{\cdot-}$  et des formes limitées  $O_2^{\cdot-}$  – TPPH<sub>2</sub>,  $O_2^{\cdot-}$  – TPPH<sub>2</sub> (p – methyl),  $O_2^{\cdot-}$  - TAcPPH<sub>2</sub> et  $O_2^{\cdot-}$ -PdTAcPP. Sur la racine carrée des taux de balayage potentiels suggère que le processus redox est contrôlé cinématiquement par l'étape de diffusion.

Les coefficients de diffusion des TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP libres et liés à  $O_2^{\cdot-}$  ont été déterminés à partir des pentes des parcelles de Randles-Sevcik, les valeurs étant résumées dans le tableau 2.4.

Composé	Equation	R <sup>2</sup>	D(cm <sup>2</sup> /s)
$O_2^{\cdot-}$ – TPPH <sub>2</sub>	y= 0,38243x+3,39929	0,998	1,663×10 <sup>-6</sup>
$O_2^{\cdot-}$ – TPPH <sub>2</sub> (p – methyl)	y=3,55983x+16,16603	0,994	1,441×10 <sup>-6</sup>
$O_2^{\cdot-}$ - TAcPPH <sub>2</sub>	y= 0,79566x+5,11095	0,999	7,199×10 <sup>-6</sup>
$O_2^{\cdot-}$ -PdTAcPP	y= 0,95704x+0,64668	0,999	10,41×10 <sup>-6</sup>

**Tableau.2.4.** Valeurs des coefficients de diffusion de TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP libres et liés à  $O_2^{\cdot-}$

Les coefficients de diffusion de  $O_2^{\cdot-}$  – TPPH<sub>2</sub>,  $O_2^{\cdot-}$  – TPPH<sub>2</sub> (p – methyl),  $O_2^{\cdot-}$  -TAcPPH<sub>2</sub> et  $O_2^{\cdot-}$  - PdTAcPP bornés sont faibles par rapport à ceux de  $O_2^{\cdot-}$  libre, ce qui laisse supposer la formation de produits  $O_2^{\cdot-}$  – TPPH<sub>2</sub>,  $O_2^{\cdot-}$  – TPPH<sub>2</sub> (p – methyl),  $O_2^{\cdot-}$ -TAcPPH<sub>2</sub> et  $O_2^{\cdot-}$ -PdTAcPP. La raison de la diminution du coefficient de diffusion de  $O_2^{\cdot-}$  en présence de TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et de PdTAcPP est due au poids moléculaire plus élevé des produits formés.



# **Chapitre 2**

**Activité antimutagène**

**2.2.L'activité antimutagène**

Le cancer est un groupe de maladies caractérisées par une croissance et une propagation de cellules anormales résultant de dommages de l'ADN causés par des facteurs internes et des facteurs environnementaux [110]. Ainsi, l'un des principaux sujets scientifiques est l'accès aux composés chimiques capables de s'intégrer à l'ADN pour éviter ces effets néfastes, la famille des dérivés de la porphyrine est l'une des familles de composés importants utilisés pour ce sujet[111].

**2.2.1.Interaction de l'ADN**

On observe une interaction directe entre la protéine fonctionnelle et l'acide nucléique, qu'elle soit spécifique ou non spécifique. L'interaction entre la protéine spécifique et la séquence d'ADN est observable dans des processus cellulaires importants comme la réplication et la transcription de l'ADN [112], au cours desquels les éléments de la séquence de la protéine sous une forme spécifique interagissent dans des sites significatifs avec les éléments des acides nucléiques. Contrairement à l'interaction spécifique de la protéine avec l'acide nucléique, l'interaction non spécifique entre ces deux groupes de molécules complexes est grande mais de peu d'importance considérable [113].

**2.2.2.Extraction l'ADN**

Dans ce travail, nous avons isolé l'ADN du sang de poulet en utilisant des techniques de salage [114-117]. L'avantage de cette technique est qu'elle évite l'utilisation de solvants organiques toxiques et corrosifs et n'utilise que des produits chimiques standards qui peuvent être obtenus auprès de n'importe quel fournisseur commercial, et qu'elle ne nécessite pas d'équipement spécialisé ou de connaissances biochimiques [118, 119].

Le protocole de purification de l'ADN est basé sur la précipitation de protéines à haute concentration en sel. Le protocole traditionnel implique une désintégration cellulaire initiale et une digestion avec du dodécylsulfate de sodium, suivie de l'ajout de sels à forte concentration, généralement du chlorure de sodium 6 M. Le mélange est ensuite centrifugé pour permettre aux protéines de précipiter au fond, le surnageant contenant de l'ADN étant ensuite transféré dans un nouveau flacon. L'ADN est ensuite précipité à l'aide d'éthanol froid [115]

- L'ADN est extrait du sang de poulet par des techniques de salage. Le sang de poulet diffère du sang humain en ce que les globules rouges sont également nucléés et contiennent beaucoup d'ADN par rapport au sang de mammifère non nucléé. Cela

permet d'obtenir un ADN de poulet de qualité et en quantité suffisante à partir d'échantillons de sang en utilisant des techniques d'extraction relativement simples. En conséquence, lorsqu'on purifie l'ADN du sang de poulet, il y a plus de matériel d'ADN que lorsqu'on travaille avec du sang humain

- Des échantillons de sang de poulet ont été prélevés dans des tubes de prélèvement sanguin contenant de l'EDTA comme anticoagulant et conservés à température ambiante dans des tubes de microfusion, puis extraits le même jour ouvrable.

### 2.2.2.1. Procédure d'extraction

5 ml d'échantillon de sang de poulet entier sont placés dans un tube à flacon de 20 ml, puis 10 ml de TLGR ont été ajoutés au sang et le mélange obtenu est refroidi sur un bain de glace pendant 20 minutes, puis il est centrifugé à 2500 pendant 15 minutes à température ambiante. Cette étape a été répétée 3 à 4 fois jusqu'à ce que la couleur rouge du sang ait disparu, puis on a laissé le tube à flacon s'égoutter pendant 5 minutes. Les globules blancs ont été éliminés par l'ajout de 2 ml de tampon TLGR et par l'action de vortex pendant 3 minutes. Ensuite, la lyse cellulaire a été entreprise en ajoutant un volume de 150 µl de solution de dodécylsulfate de sodium en centrifugeant à 172 pendant 90 minutes à 55 °C. Après centrifugation, 3 ml de solution de chlorure de sodium 6 M ont été ajoutés et le mélange résultant a d'abord été soumis à un vortex pendant 6 minutes, puis centrifugé à 1300 pendant 10 minutes, la phase liquide a été récupérée et 2 volumes d'éthanol absolu froid ont été ajoutés et enfin centrifugés à 1300 pendant 30 minutes à température ambiante. L'ADN est ensuite séparé de la couche d'éthanol, lavé plusieurs fois avec de l'éthanol et caractérisé par spectroscopie UV-Vis.

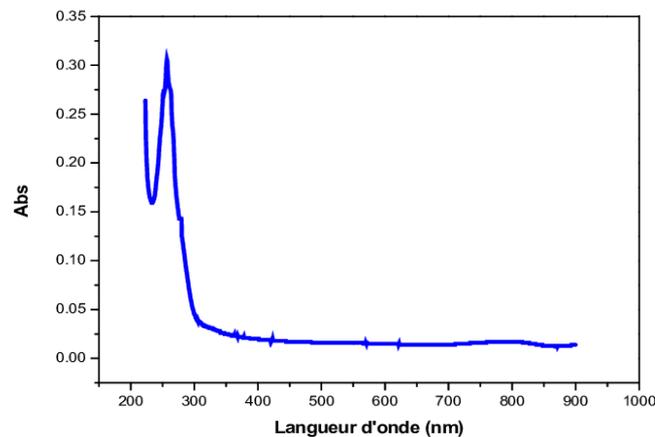


Figure.2.34. Spectres électroniques de l'ADN

### 2.2.2.2. Estimation de la pureté de l'ADN

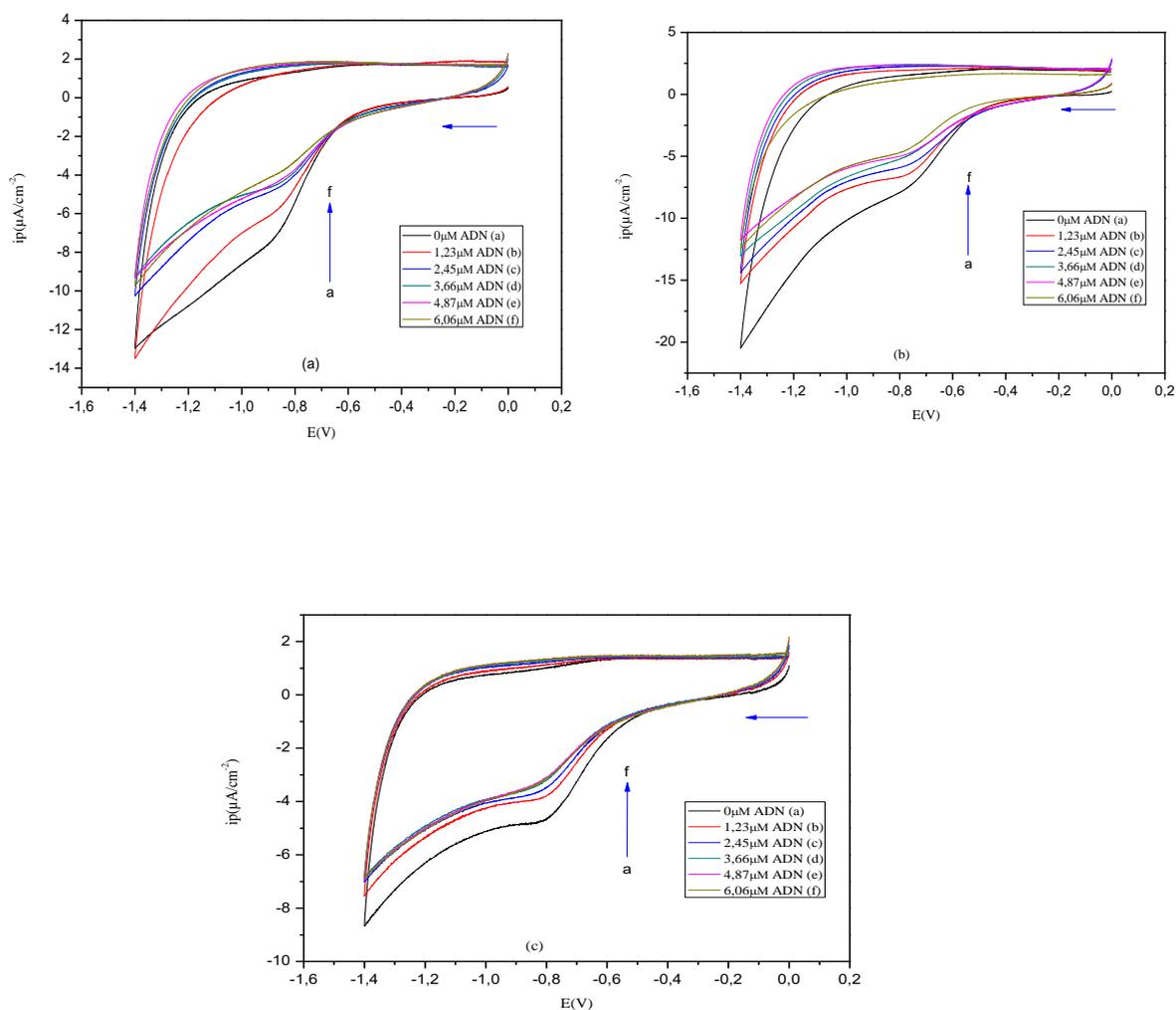
L'ADN a été considéré comme pur lorsque le rapport entre l'absorbance à 260 nm et l'absorbance à 280 nm ( $A_{260}/A_{280}$ ) est de 1,8 [120]. Cette définition de la pureté, cependant, est basée davantage sur une évaluation fonctionnelle (par exemple, la capacité de couper l'ADN avec des enzymes de restriction) que sur des critères analytiques plus conventionnels. La concentration et la pureté de l'ADN peuvent être déterminées en mesurant l'absorption de la lumière ultraviolette, l'ADN ayant une absorbance maximale et minimale à 260 nm et 280 nm, respectivement. De plus, le rapport ( $A_{260}/A_{280}$ ) permet de détecter la pureté des acides nucléiques en cas de contamination par des protéines. Les échantillons étudiés d'ADN hautement purifié ont un rapport 260/280 nm de (1,8).

### 2.2.2.3. Étude électrochimique d'interaction de l'ADN

#### 2.2.2.3.1. Constantes de liaison

Lorsqu'une concentration croissante d'ADN était ajoutée à une solution de TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-méthyl), TAcPPH<sub>2</sub>, TAcPPH<sub>2</sub> ou de PdTAcPP, la hauteur du pic de courant cathodique de TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-méthyl), TAcPPH<sub>2</sub> mais le complexe PdTAcPP n'y a pas d'interaction. De même, lors de l'ajout d'ADN, le pic de potentiel cathodique a montré un déplacement dans le sens positif, pour tous les composés, figure 2.32. Ces résultats indiquent que tous les dérivés du porphyrine étudiés interagissent avec l'ADN en mode électrostatique [121, 122] indique en outre qu'en l'absence d'ADN, les voltammogrammes de la meso-tetra-phenylporphyrin (TPPH<sub>2</sub>), de la meso-tetra-4-méthoxyphenyl-porphyrin (TPPH<sub>2</sub>(p-méthyl)), de la meso-tetra-4-actophenyl-porphyrin (TAcPPH<sub>2</sub>), présentent un pic de potentiel cathodique à -0,847, -0,745, -0,803 V respectivement. En présence de 1,23, 2,45, 3,66, 4,87 et 6,06 μM ADN, ces pics apparaissent à -0,833, -0,756, -0,812 V, ce qui indique qu'il existe une interaction entre tous les dérivés de TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-méthyl) et de TAcPPH<sub>2</sub> étudiés et l'ADN, et il n'y a pas d'interaction entre PdTAcPP et l'ADN. Les voltammogrammes montrent également une chute des densités de courant de pointe cathodique. Cette baisse peut être attribuée à la lente diffusion des adduits ADN- TPPH<sub>2</sub>, ADN- TPPH<sub>2</sub>(p-méthyl) et ADN- TAcPPH<sub>2</sub> formés.

Le déplacement du potentiel de pointe dans le comportement voltampérométrique cyclique de les complexes TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-méthyl) et TAcPPH<sub>2</sub> synthétisés par l'ajout d'ADN sont attribuables aux interactions électrostatiques entre les composés et l'ADN, un indicateur du comportement oxydable des composés en présence d'un environnement négatif de l'ADN.



**Figure.2.35.** Voltammogrammes cycliques de 1mM TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub>(p-methyl)(b) et TAcPPH<sub>2</sub> (c) enregistrés à une vitesse de balayage du potentiel de 0,1V s<sup>-1</sup> sur une électrode à disque GC à 298K en l'absence et en présence d'une concentration croissante d'ADN dans une solution d'éthanol/phosphate tampon de 0,1 M 90% à pH=7,2 (a, c) et pH=9 (b) avec un électrolyte de support de 0,1 M Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub>

En général, le déplacement négatif du potentiel formel causé par l'ajout d'un médicament potentiel à l'ADN est provoqué par l'interaction électrostatique du squelette ADN du médicament cationique [122, 123], de sorte que le déplacement positif évident du pic de potentiel (déplacement anodique) dans le comportement CV du TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) et du TAcPPH<sub>2</sub> par l'ajout d'ADN peut être attribué à l'interaction électrostatique (liaison H) entre les dérivés et l'ADN. Ce décalage positif du pic de potentiel indique en outre que le TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) et du TAcPPH<sub>2</sub> restants sont plus faciles à réduction en présence d'un environnement positif d'ADN. En effet, la forme réduction de TPPH<sub>2</sub><sup>-</sup>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl)<sup>-</sup> et du

TAcPPH<sub>2</sub><sup>-</sup> est faiblement liée à l'ADN par rapport à la forme réduite (neutre). Comme la capacité de liaison de l'hydrogène a diminué lors de la charge négative du composé dans le TPPH<sub>2</sub><sup>-</sup>, TPPH<sub>2</sub>(p-méthyl)<sup>-</sup> et du TAcPPH<sub>2</sub><sup>-</sup> l'état. L'ajout d'ADN diminue le pic de réduction qui soutient la participation du TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-méthyl) et du TAcPPH<sub>2</sub> dans la liaison de l'hydrogène avec l'ADN, et ne laisse pas les électrons sortir du système.

En se basant sur la diminution du courant de pointe des NFC par l'addition de différentes concentrations d'ADN, la constante de liaison a été calculée selon l'équation suivante [124, 125]:

$$\log \frac{1}{[ADN]} = \log K_b + \log \frac{i_p}{i_{p0} - i_p} \quad (2.5)$$

Où [ADN] est la concentration d'ADN (M) ;  $K_b$  représente la constante de liaison (M<sup>-1</sup>);  $i_{p0}$  et  $i_p$  désignent la densité de courant de pointe cathodique du composé libre et du composé lié à l'ADN, respectivement (μA.cm<sup>2</sup>).

Le tracé de  $\log \frac{1}{[ADN]}$  en fonction du  $\log \frac{1}{1 - (i/i_0)}$  a donné une ligne droite (figure 2.32) avec un point d'intersection "y" égal au logarithme de la constante de liaison  $K_b$ .

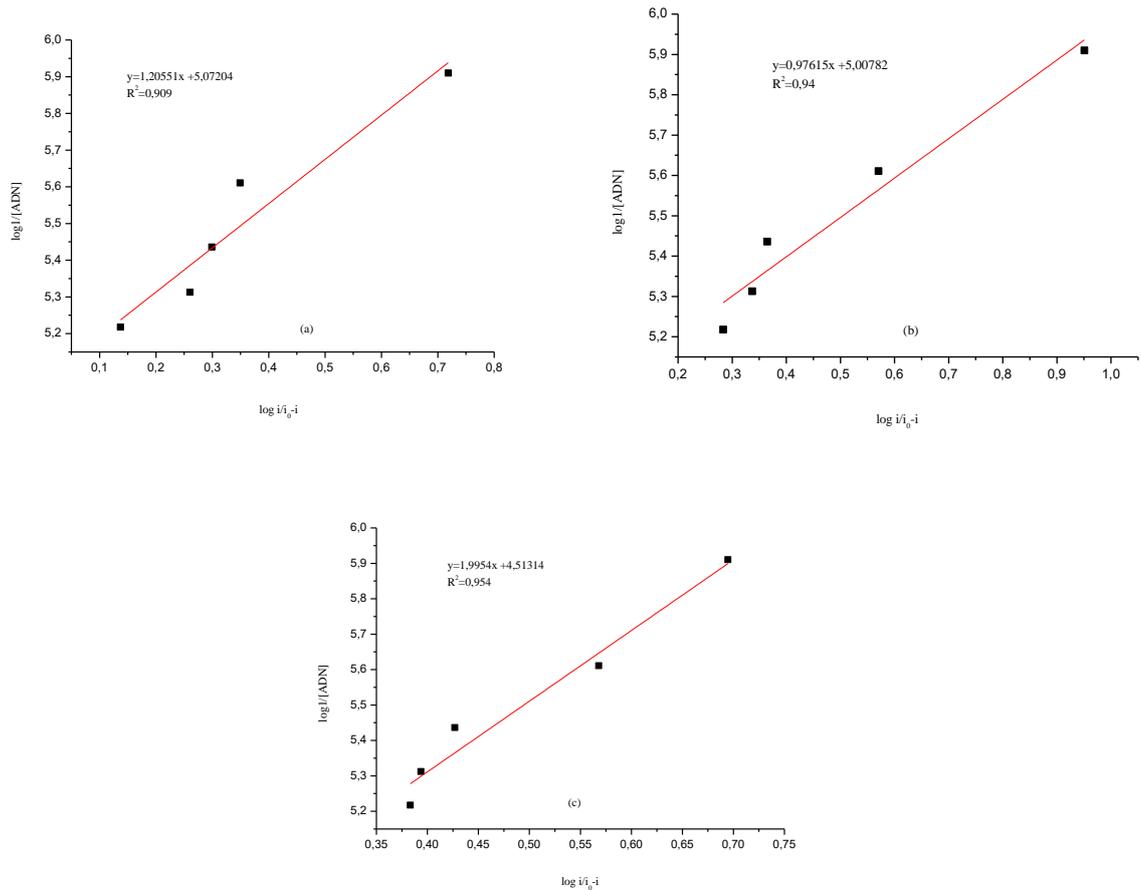
### 2.2.2.3.2.L'énergie libre

L'énergie de liaison libre est calculée à partir de l'équation 2.6 [126]

$$\Delta G = -RT \ln K_b \quad (2.6)$$

Où  $\Delta G$  est l'énergie libre de liaison en KJ. mol<sup>-1</sup>, R est la constante du gaz, 8,32 J. mol<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup> et T est la température absolue, 298K.

L'énergie de liaison libre a été calculée (tableau 2.1).



**Figure.2.36.** Graphiques de  $\log \frac{1}{1} - (i/i_0)$  par rapport à  $\log \frac{1}{[ADN]}$  utilisés pour calculer les constantes de liaison des composés TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) (b) et TAcPPH<sub>2</sub> (c) avec l'ADN à partir des données de CV à des pH = 7,2(a ,c) , pH=9 (b) et T= 298K

Composé	Equation	R <sup>2</sup>	K(M <sup>-1</sup> )	pH	-ΔG(KJ.mol <sup>-1</sup> )
TPPH <sub>2</sub> – ADN	y= 1,20551x+5,07204	0,909	1,18×10 <sup>5</sup>	7,2	28,96
TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) – ADN	y= 0,97615x+5,00782	0,941	1,02×10 <sup>5</sup>	9	28,59
TAcPPH <sub>2</sub> – ADN	y= 1,9954+4.51314	0,954	3,26×10 <sup>4</sup>	7,2	25,77

**Tableau.2.5.** Valeurs de la constante de liaison et de l'énergie libre de liaison pour des composés TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) et TAcPPH<sub>2</sub> avec l'ADN à partir des données de CV à des pH = 7,2 ; pH=9 et T= 298K

### 2.2.2.3.3. La taille du site

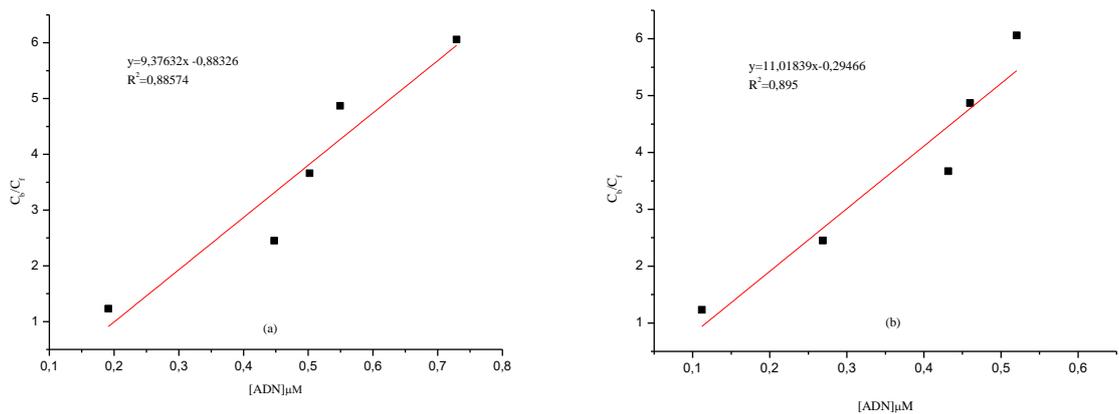
Pour la détermination de la taille du site de liaison, l'équation suivante a été utilisée Équation 2.7 [127].

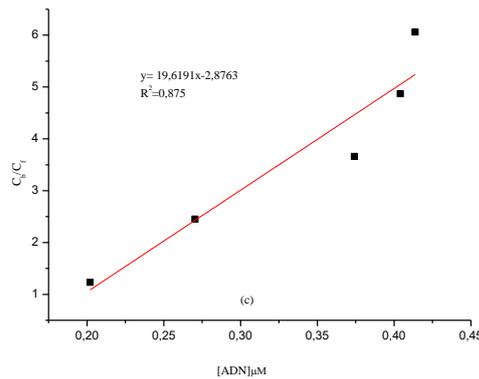
$$\frac{C_b}{C_f} = K_b \left\{ \frac{[\text{free base pairs}]}{s} \right\} \quad (2.7)$$

Où  $s$  représente la taille du site de liaison en termes de paire de bases,  $K_b$  est la constante de liaison,  $C_f$  est la concentration du composé libre et  $C_b$  représente la concentration du composé lié à l'ADN. En mesurant la concentration d'ADN en termes de [NP], la concentration des paires de bases peut être exprimée en  $[ADN/2]$ . Ainsi, l'équation 2.8 peut s'écrire comme suit :

$$\frac{C_b}{C_f} = K_b \left\{ \frac{[ADN]}{s} \right\} \quad (2.8)$$

Le rapport  $C_b / C_f$  est égal à  $i_0 / (i_0 - i)$  [128], qui sont les valeurs des densités de courant de pointe expérimentales. Les graphiques de  $C_b / C_f$  en fonction de [ADN] sont présentés sur la figure 2.34.





**Figure.2.37.** Graphique de  $C_b / C_f$  contre  $[ADN]$  pour le calcul de la taille du site de liaison de TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) (b) et TAcPPH<sub>2</sub> (c) sur l'ADN à partir des données de CV à des pH = 7,2 ; pH=9 et T= 298K

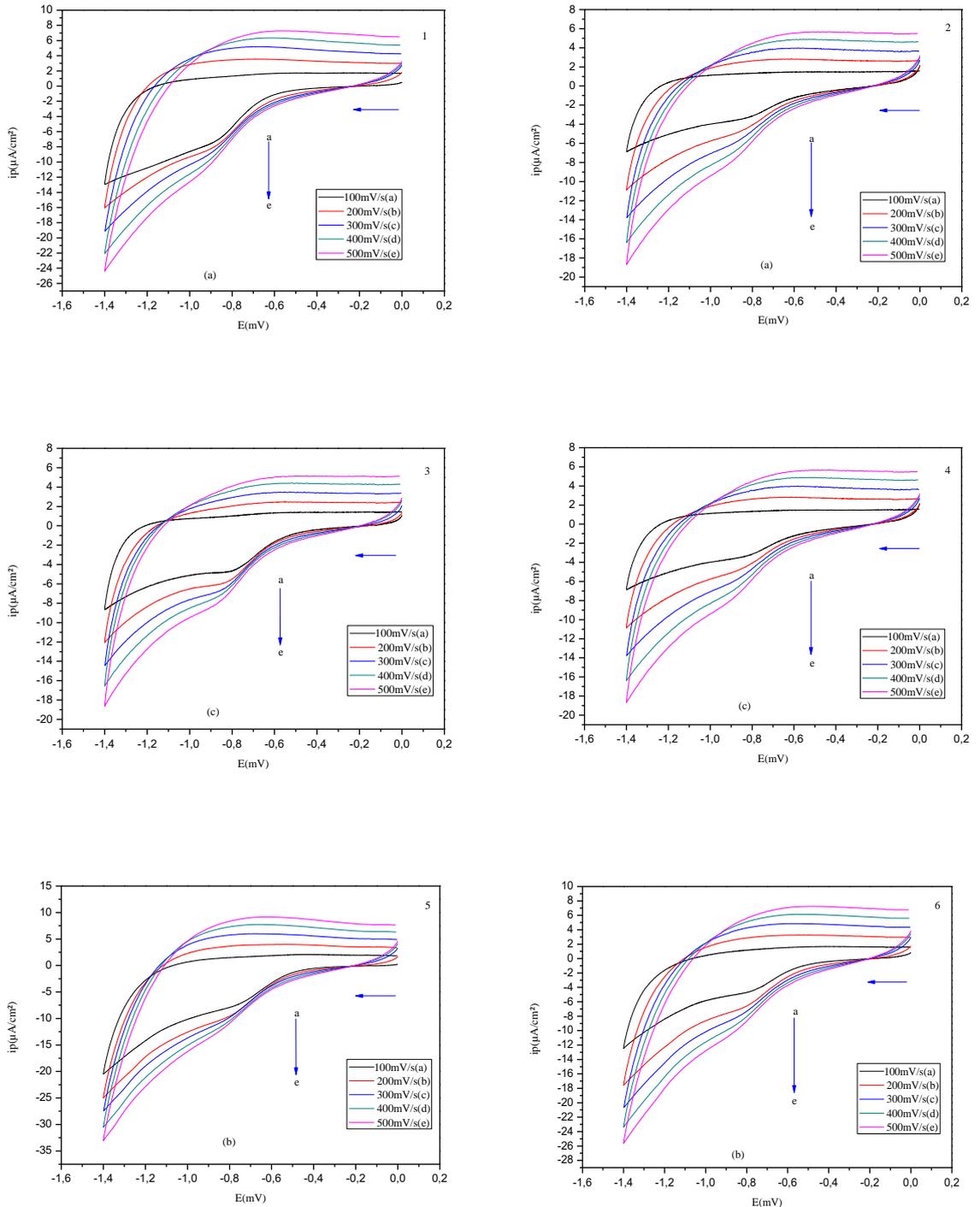
Les valeurs obtenues de la taille du site de liaison pour tous les dérivés étudiés sont résumées dans le tableau 2.6.

Composé	Equation	R <sup>2</sup>	pH	s
TPPH <sub>2</sub> – ADN	$y = 9,37632x - 0,88326$	0,886	7,2	0,00307
TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) – ADN	$y = 11,01839x - 0,29466$	0,895	9	0,00360
TAcPPH <sub>2</sub> – ADN	$y = 19,6191x - 2,8763$	0,875	7,2	0,00642

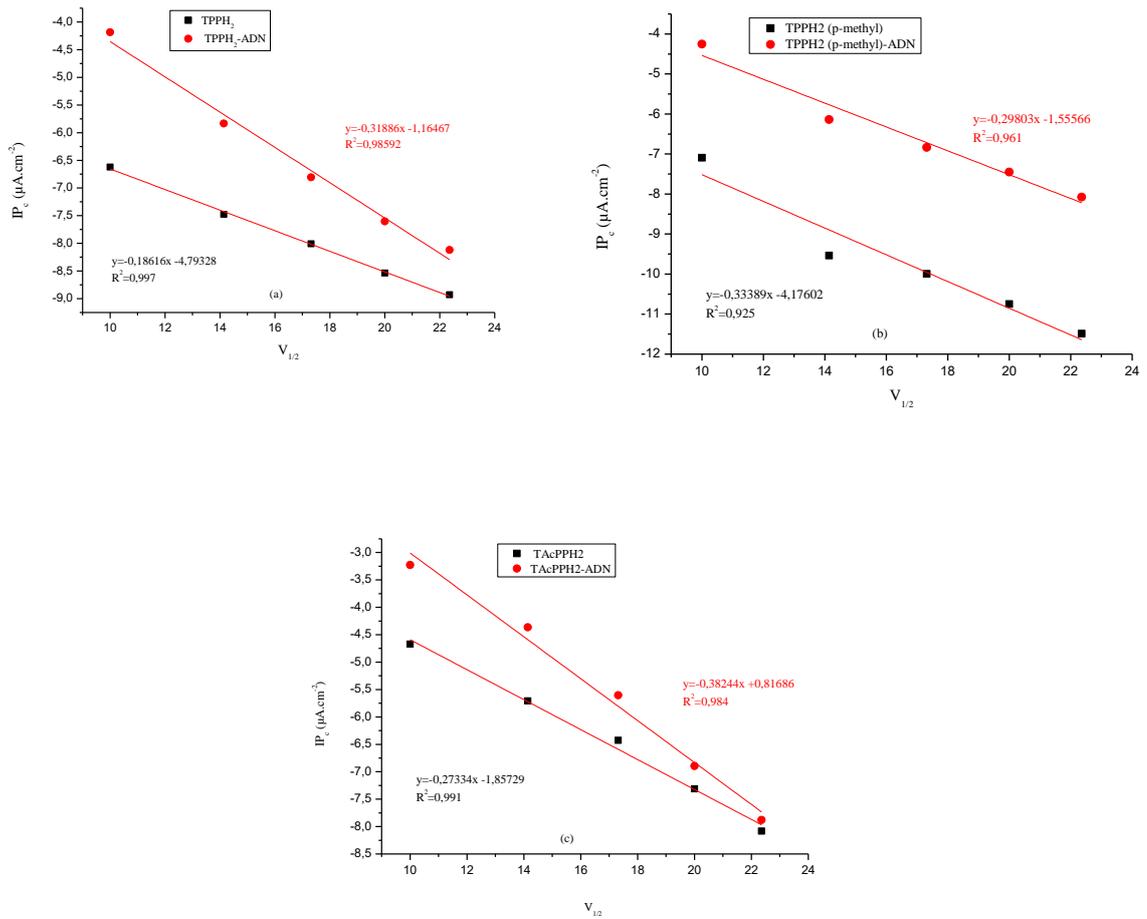
**Tableau.2.6.** Valeurs de la taille du site de liaison obtenues en utilisant le graphe de  $C_b / C_f$  en fonction de l'ADN à partir des données de CV à des pH = 7,2, pH=9 et T= 298K

#### 2.2.2.3.4. Coefficient diffusion

montre le comportement électrochimique des composés TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) et du TAcPPH<sub>2</sub> à différentes vitesses de balayage. Les voltammogrammes ont montré des pics cathodiques stables et nets. Les coefficients de diffusion de la forme libre et de la forme liée à l'ADN du TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) et du TAcPPH<sub>2</sub> ont été déterminés à l'aide de la méthode Randles-Sevcik ; avec les valeurs résumées dans le tableau 2.7.



**Figure.2.38.** Comportement voltampérométrique cyclique du TPPH<sub>2</sub> et du TAcPPH<sub>2</sub> sur l'électrode GC en l'absence (1, 3, 5) et en présence respectivement de 6.06 (2), 6.06 (4), 6.06 (6) μM ADN dans une solution d'éthanol/phosphate tampon 0,1 M à 90% à un pH = 7,2, pH=9 et à des taux de balayage de 0,5, 0,4, 0,3, 0,2 et 0,1 V.s<sup>-1</sup> avec un électrolyte de support de 0,1 M TBATFB. La flèche verticale indique une vitesse de balayage croissante



**Figure.2.39.** Graphiques de  $\sqrt{v}$  contre  $i_p$  utilisés pour calculer les coefficients de diffusion de l'ADN libre et de l'ADN lié aux dérivés de la porphyrine (TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) (b) TAcPPH<sub>2</sub> (c)) à partir des données de CV à des pH = 7,2 ; pH=9 et T= 298 K

Composé	Equation	R <sup>2</sup>	D(cm <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )
TPPH <sub>2</sub>	$y = -0,18616x - 4,79328$	0,997	$8,314 \times 10^{-9}$
TPPH <sub>2</sub> – ADN	$y = -0,31886 x - 1,16467$	0,986	$2,834 \times 10^{-9}$
TPPH <sub>2</sub> (p – methyl)	$y = -0,33389x - 4,17602$	0,926	$9,116 \times 10^{-9}$
TPPH <sub>2</sub> (p – methyl) – ADN	$y = -0,29803 x - 1,55566$	0,961	$7,263 \times 10^{-9}$
TAcPPH <sub>2</sub>	$y = -0,27334x - 1,85729$	0,991	$11,96 \times 10^{-9}$
TAcPPH <sub>2</sub> – ADN	$y = -0,38244x + 0,81686$	0,984	$6,10 \times 10^{-9}$

**Tableau.2.7.** Valeurs des constantes de diffusion des formes libres et liées à l'ADN du TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p – methyl) et du TAcPPH<sub>2</sub> à partir des données de CV à des pH = 7,2 ; pH=9 et T= 298 K

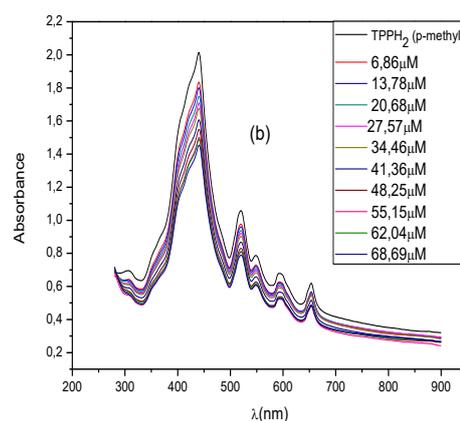
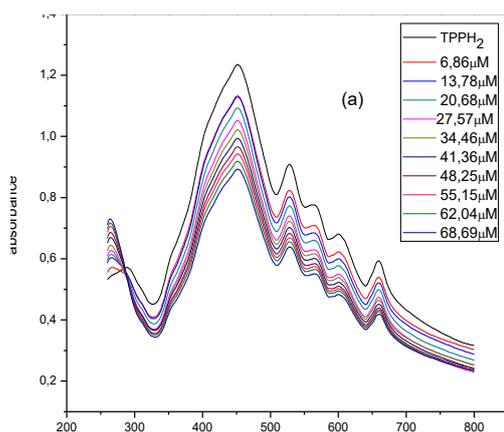
Les coefficients de diffusion des adduits TPPH<sub>2</sub> – ADN, TPPH<sub>2</sub>(p – methyl) – ADN et TAcPPH<sub>2</sub>-ADN sont inférieurs à ceux des TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) et TAcPPH<sub>2</sub> libres, ce qui indique la formation d'un complexe de haut poids moléculaire qui diffuse lentement vers l'électrode.

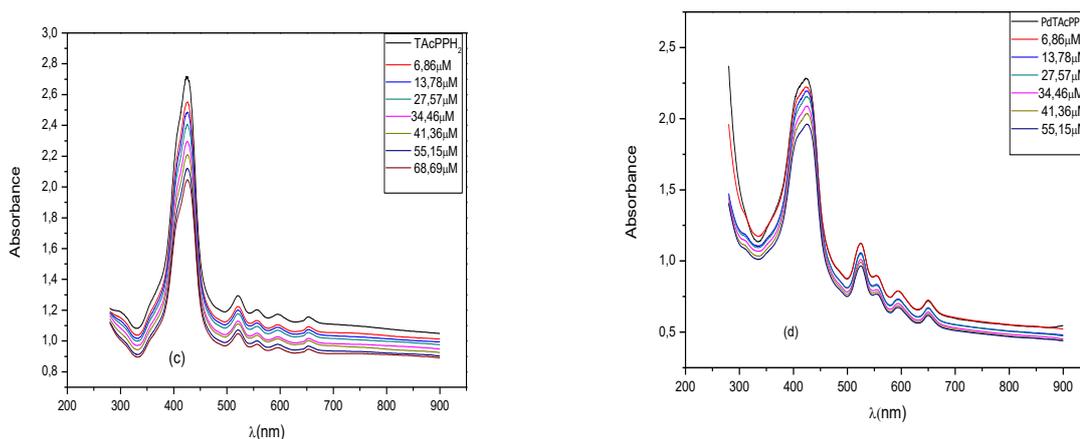
#### 2.2.2.4. Étude spectroscopique d'interaction de l'ADN

Les spectres d'absorption ont été réalisés sur un spectromètre UV-Vis (Shimadzu 1800, Japon). Le spectre électronique de 1 mM de MPDT et FPDT dans une solution d'éthanol/phosphate tampon à 0,1 M 90% (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) à un pH = 7,2, 6, 9. Réalisée pour étudier l'interaction du TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et du PdTAcPP avec l'ADN. Les spectres d'absorption d'une concentration fixe (0,1 M) de TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et du PdTAcPP en l'absence et en présence d'une concentration progressivement croissante de la solution mère d'ADN.

##### 2.2.2.4.1. L'interaction à pH=7,2

Dans la région visible, TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et le PdTAcPP présente des pics d'absorption (tableau 2.8). Lors de l'ajout d'ADN, une hypochromicité significative a été observée sans déplacement notable de la position du pic d'absorption maximale qui indiquait clairement la formation d'un adduct entre l'ADN et le TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> ou le PdTAcPP [129].





**Figure.2.40.** Spectres d'absorption UV-visible de 1 mM de TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) (b), TAcPPH<sub>2</sub>(c), PdTAcPP(d) en présence de concentrations croissantes d'ADN dans une solution d'éthanol/phosphate tampon 0,1M 90% (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) à pH = 7,2 et 298K

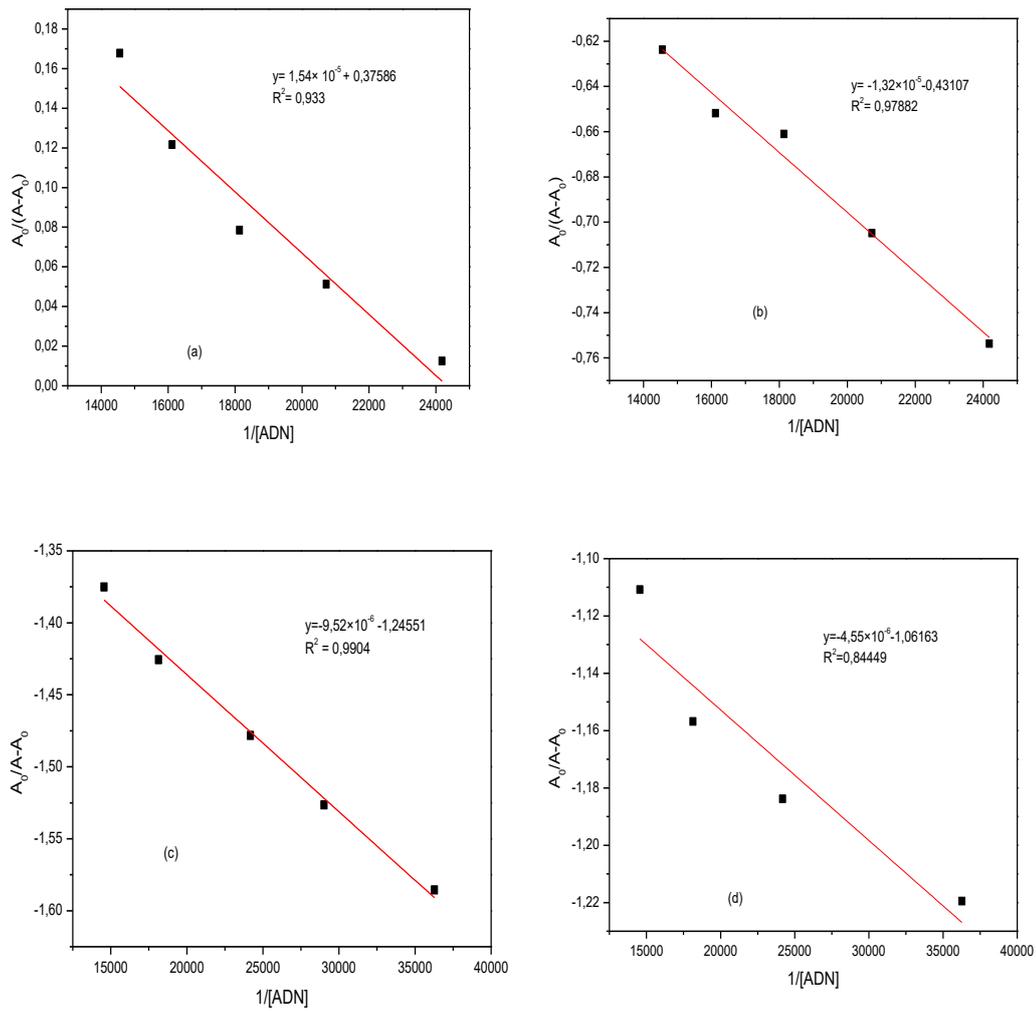
#### 2.2.2.4.1.1. Constantes de liaison

La modification des valeurs d'absorbance par l'augmentation de la concentration d'ADN a été utilisée pour évaluer la constante de liaison intrinsèque en utilisant les éléments suivants Equation 2.9 [125, 130]

$$\frac{A_0}{A-A_0} = \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G}-\epsilon_G} + \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G}-\epsilon_G} \frac{1}{K[ADN]} \quad (2.9)$$

Où [ADN] est la concentration d'ADN,  $K_b$  est la constante de liaison,  $A_0$  et  $A$  sont respectivement l'absorbance du ligand en l'absence et en présence d'ADN, et  $\epsilon_G$  et  $\epsilon_{H-G}$  sont respectivement leur coefficient d'extinction.

La constante  $K_b$  est obtenue à partir du rapport entre l'interception et la pente de la courbe de  $\frac{A_0}{A-A_0}$  par rapport à  $1/[ADN]$ , Figure 2.42.



**Figure.2.41.** Graphiques de  $\frac{A_0}{A-A_0}$  par rapport à  $1/[ADN]$  utilisés pour calculer les constantes de liaison des composés TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH<sub>2</sub> (c) PdTAcPP (d) avec l'ADN

#### 2.2.2.4.1.2. L'énergie libre

Le changement d'énergie libre contraignant a été calculé à l'aide de l'équation suivante [126].

$$\Delta G = -RT \ln K_b \quad (2.10)$$

Où  $\Delta G$  est l'énergie libre de liaison en  $\text{KJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ , R est la constante de gaz,

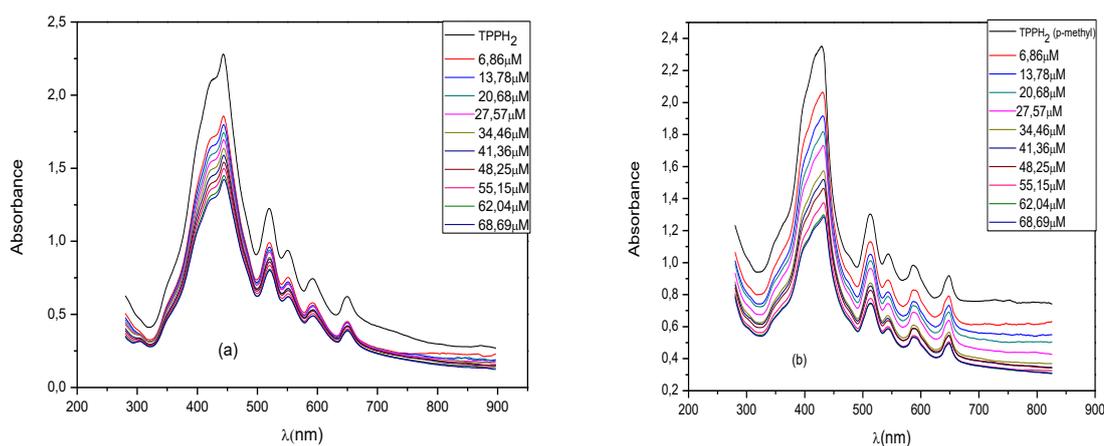
$8,32 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$  et T est la température absolue, 298K.

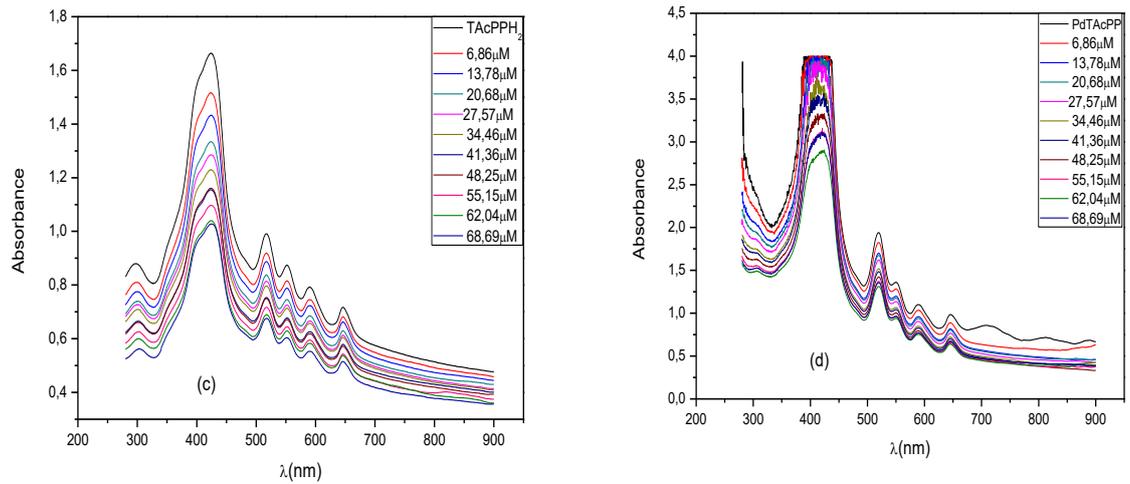
Composé	Equation	R <sup>2</sup>	λ(nm)	K (M <sup>-1</sup> )	-ΔG(KJ.mol <sup>-1</sup> )
TPPH <sub>2</sub> – ADN	Y= -1,54×10 <sup>-5</sup> x + 0,37586	0,933	452	2,44×10 <sup>4</sup>	25
TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) – ADN	Y= -1,32×10 <sup>-5</sup> – 0,43107	0,978	440	3,26×10 <sup>4</sup>	25,8
TAcPPH <sub>2</sub> – ADN	Y= -9,52×10 <sup>-6</sup> -1,24551	0,990	426	1,31×10 <sup>4</sup>	29,2
PdTAcPP – ADN	Y= -4,55×10 <sup>-6</sup> -1,06163	0.844	425	3,52×10 <sup>4</sup>	26

**Tableau.2.8.** Valeurs de la constante de liaison et de l'énergie libre de liaison pour des composés TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP avec l'ADN à partir des données de CV à des pH= 7,2 et T= 298K

#### 2.2.2.4.2.L'interaction à pH=6

Dans la région visible, TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et le PdTAcPP présente des pics d'absorption (tableau 1.9). Lors de l'ajout d'ADN, une hypochromicité significative a été observée sans déplacement notable de la position du pic d'absorption maximale qui indiquait clairement la formation d'un adduct entre l'ADN et le TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> ou le PdTAcPP.



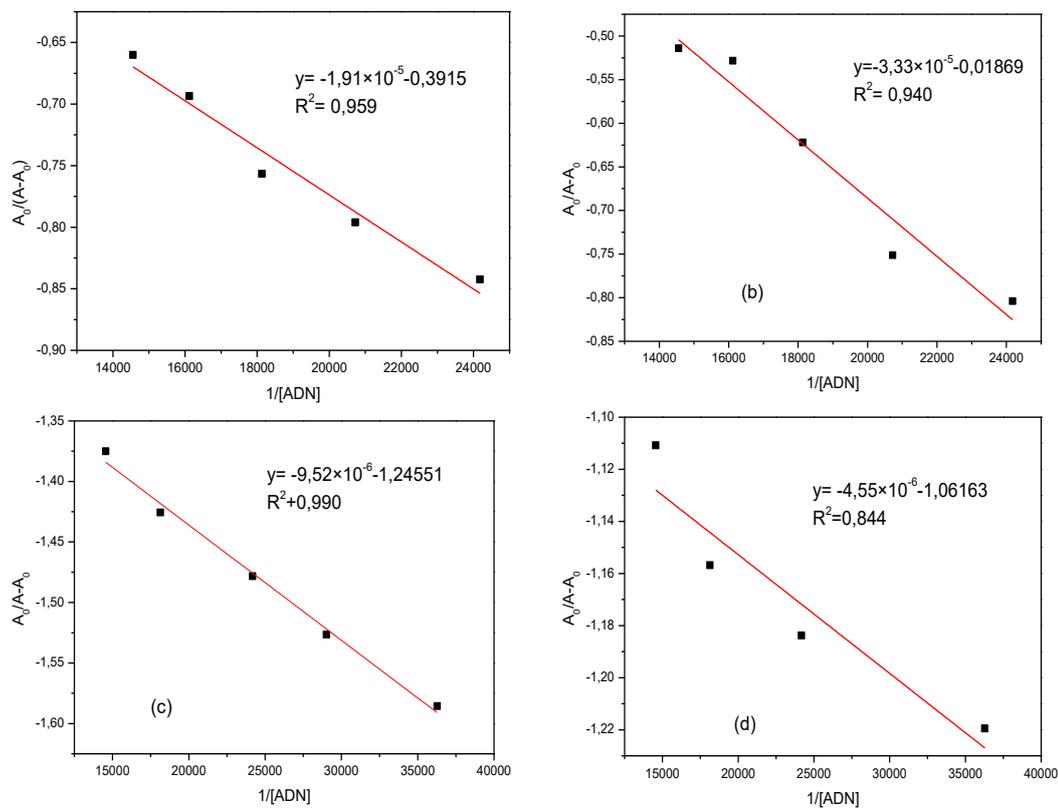


**Figure.2.42.** Spectres d'absorption UV-visible de 1 mM de TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) (b), TAcPPH<sub>2</sub>(c), PdTAcPP(d) en présence de concentrations croissantes d'ADN dans une solution d'éthanol/phosphate tampon 0,1M 90% (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) à pH = 6 et 298K

#### 2.2.2.4.2.1. Constantes de liaison

La modification des valeurs d'absorbance par l'augmentation de la concentration d'ADN a été utilisée pour évaluer la constante de liaison intrinsèque en utilisant les éléments suivants Equation 2.9

La constante  $K_b$  est obtenue à partir du rapport entre l'interception et la pente de la courbe de  $\frac{A_0}{A-A_0}$  par rapport à  $1/[ADN]$ , Figure 2.44.



**Figure.2.43.** Graphiques de  $\frac{A_0}{A-A_0}$  par rapport à  $1/[ADN]$  utilisés pour calculer les constantes de liaison des composés TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) (b), TAcPPH<sub>2</sub> (c) PdTAcPP (d) avec l'ADN à pH=6

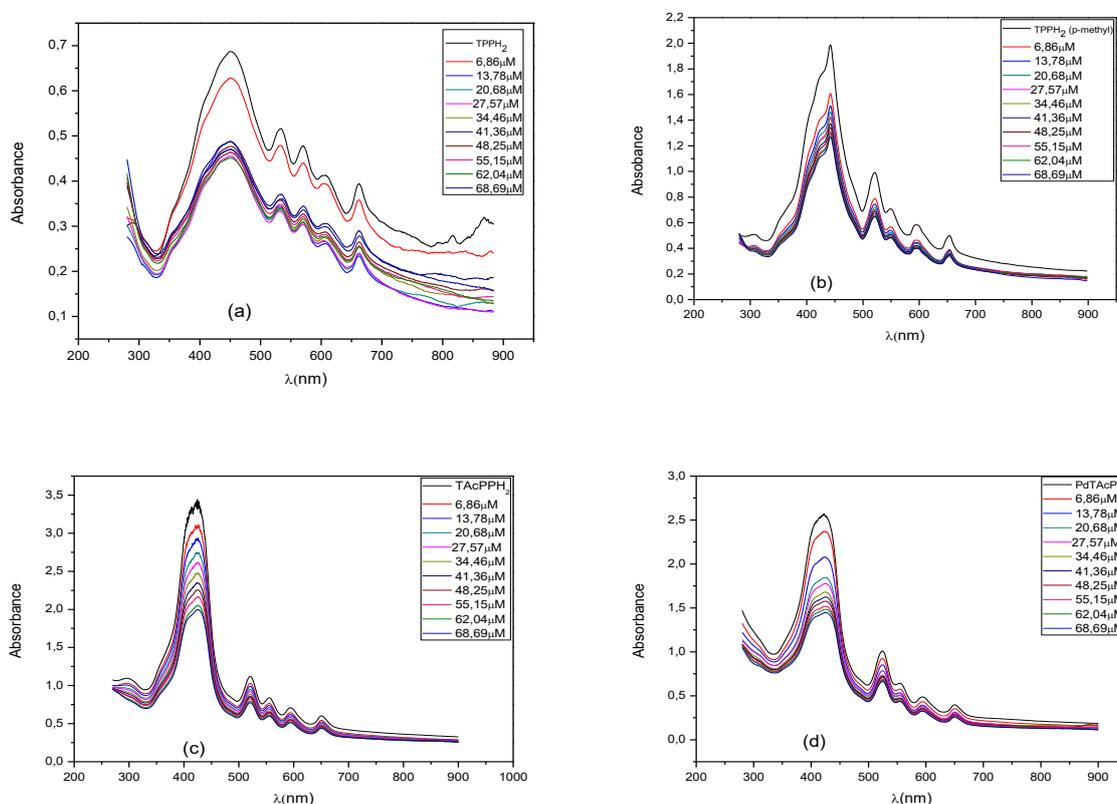
Le changement d'énergie libre contraignant a été calculé à l'aide de l'équation 2.10.

Composé	Equation	R <sup>2</sup>	λ(nm)	K(M <sup>-1</sup> )	ΔG(KJ.mol <sup>-1</sup> )
TPPH <sub>2</sub> – ADN	Y= $-1,91 \times 10^{-5}x + 0,3915$	0,959	444	$2,04 \times 10^4$	$-2,46 \times 10^1$
TPPH <sub>2</sub> (p-methyl) – ADN	Y= $-3,33 \times 10^{-5} - 0,01869$	0,978	428	$5,41 \times 10^3$	$-2,13 \times 10^1$
TAcPPH <sub>2</sub> – ADN	Y= $-9,52 \times 10^{-6} - 1,24551$	0,990	423	$1,31 \times 10^4$	$-2,92 \times 10^1$
PdTAcPP – ADN	Y= $-4,55 \times 10^{-6} - 1,06163$	0,844	413	$3,52 \times 10^4$	$-2,6 \times 10^1$

**Tableau.2.9.** Valeurs de la constante de liaison et de l'énergie libre de liaison pour des composés TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP avec l'ADN à partir des données de CV à des pH = 6 et T= 298K

### 2.2.2.4.3.L'interaction à pH=9

Dans la région visible, TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et le PdTAcPP présente des pics d'absorption (tableau 2.10). Lors de l'ajout d'ADN, une hypochromicité significative a été observée sans déplacement notable de la position du pic d'absorption maximale qui indiquait clairement la formation d'un adduct entre l'ADN et le TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub>(p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> ou le PdTAcPP.



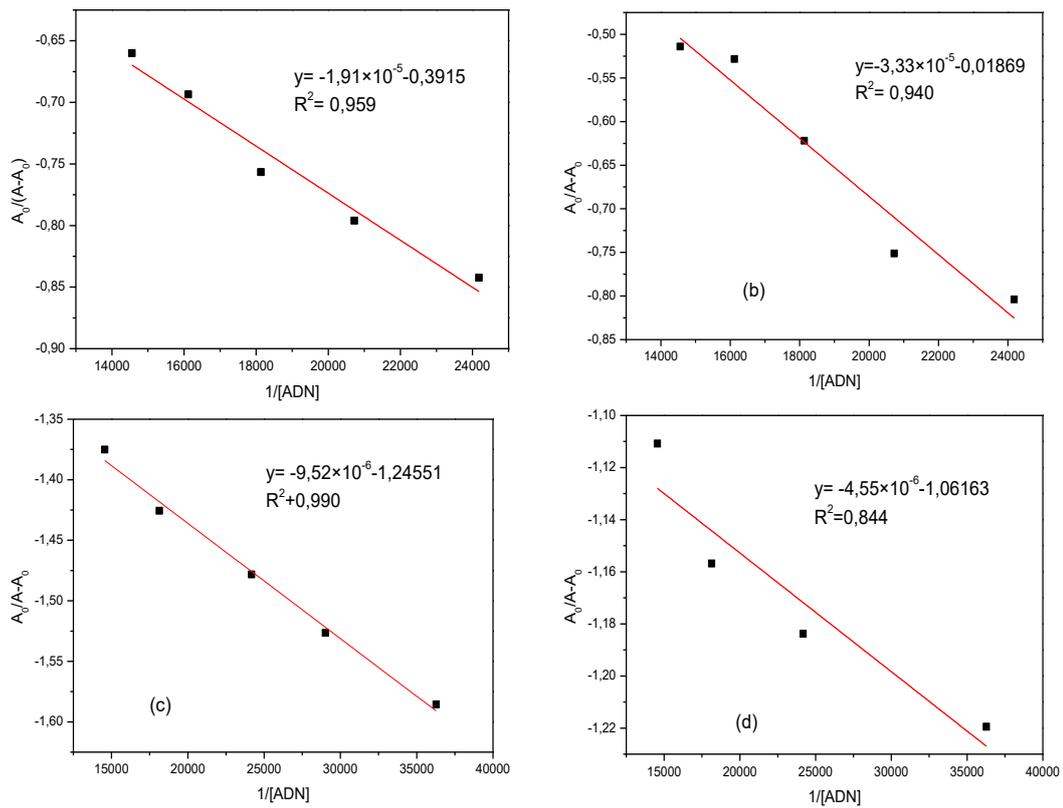
**Figure.2.44.** Spectres d'absorption UV-visible de 1 mM de TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) (b), TAcPPH<sub>2</sub> (c), PdTAcPP (d) en présence de concentrations croissantes d'ADN dans une solution d'éthanol/phosphate tampon 0,1 90% (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) à pH = 9 et 298K

#### 2.2.2.4.3.1.Constantes de liaison

La modification des valeurs d'absorbance par l'augmentation de la concentration d'ADN a été utilisée pour évaluer la constante de liaison intrinsèque en utilisant les éléments suivants Equation 2.9

La constante  $K_b$  est obtenue à partir du rapport entre l'interception et la pente de la courbe de

$\frac{A_0}{A-A_0}$  par rapport à  $1/[ADN]$ , Figure 2.46.



**Figure.2.45.** Graphiques de  $\frac{A_0}{A-A_0}$  par rapport à  $1/[ADN]$  utilisés pour calculer les constantes de liaison des composés TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) (b), TAcPPH<sub>2</sub> (c) PdTAcPP (d) avec l'ADN à pH=9

Le changement d'énergie libre contraignant a été calculé à l'aide de l'équation 2.10.

Composé	Equation	R <sup>2</sup>	λ(nm)	K(M <sup>-1</sup> )	-ΔG(KJ.mol <sup>-1</sup> )
---------	----------	----------------	-------	---------------------	----------------------------

<b>TPPH<sub>2</sub> – ADN</b>	$Y = -1,50 \times 10^{-5}x + 1,18465$	0,959	453	$1,06 \times 10^5$	28,7
<b>TPPH<sub>2</sub> (p-methyl) – ADN</b>	$Y = -1,28 \times 10^{-5}x - 0,22629$	0,984	442	$1,72 \times 10^4$	24,2
<b>TAcPPH<sub>2</sub> – ADN</b>	$Y = -2,88 \times 10^{-5}x - 1,27437$	0,935	422	$4,43 \times 10^4$	26,5
<b>PdTAcPP – ADN</b>	$Y = -2,32 \times 10^{-5}x - 0,4338$	0,987	421	$1,86 \times 10^4$	24,4

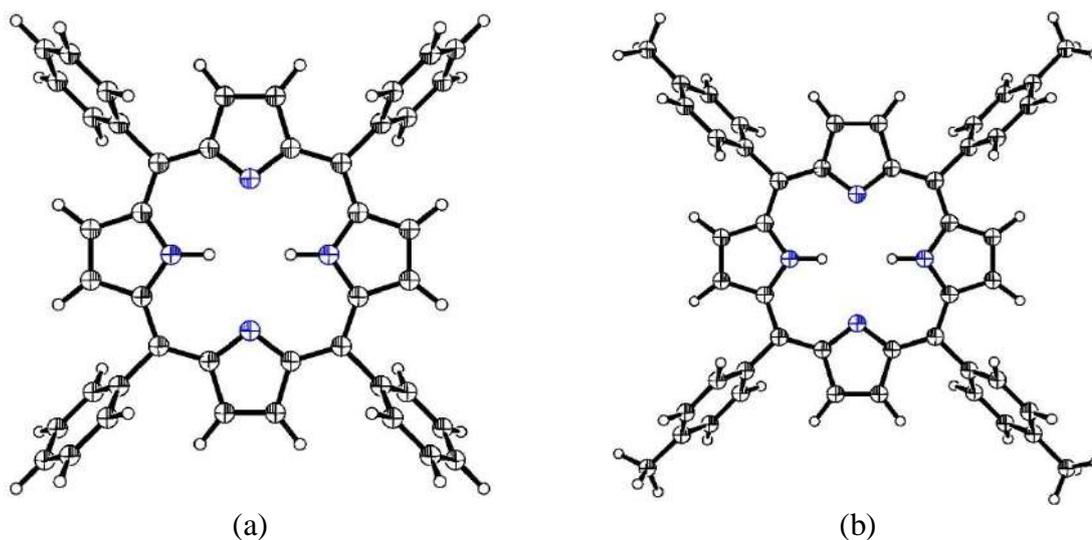
**Tableau.2.10.** Valeurs de la constante de liaison et de l'énergie libre de liaison pour des composés TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP avec l'ADN à partir des données de CV à des pH = 9 et T = 298K

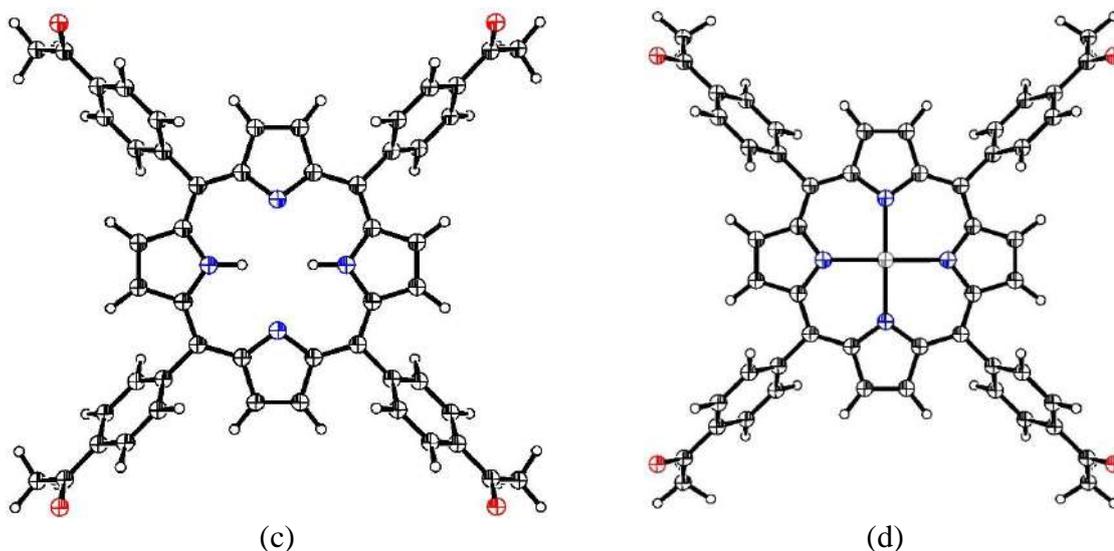
### 2.2.2.5. Étude moléculaire de l'interaction avec l'ADN

L'étude d'amarrage moléculaire des complexes synthétisés ont été amarré dans l'ADN afin de prédire le mode de liaison possible des composés avec l'ADN et de mieux visualiser les interactions. Les études de simulation moléculaire prédisent également le site de liaison sélectionné ainsi que la meilleure configuration des ligands étudiés à l'intérieur de l'ADN.

#### 2.2.2.5.1. Optimisation structurelle des ligands

Les structures chimiques des ligands (TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP) ont été optimisées à l'aide du logiciel Gaussian 09 en utilisant la fonction DFT / B3LYP / 6-311G++(d,p). La figure 2.47 montre les structures optimisées des ligands.





**Figure.2.46.** Représentation ORTEP de ligands TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH<sub>2</sub> (c) et PdTAcPP (d). Déplacement les ellipsoïdes sont dessinés au niveau de probabilité de 30% et les atomes H sont représentés comme petits sphères de rayons arbitraires. Les codes de couleur sont le carbone noir, l'hydrogène blanc, l'azote bleu, Oxygène rouge et palladium gris.

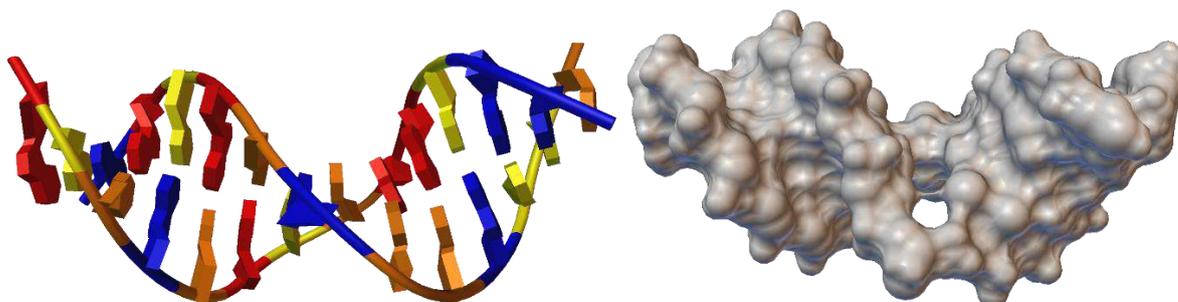
### 2.2.2.5.2. Amarrage moléculaire

Les études d'amarrage moléculaire des ligands TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP avec l'ADN ont été réalisées à l'aide du logiciel d'amarrage AutoDock 4.2. Les structures optimisées de chaque ligands et l'ADN ont été importée dans le logiciel d'amarrage moléculaire AutoDock. L'amarrage moléculaire a été réalisées sur un micro-ordinateur Pentium 2,20 GHz et RAM 4,00 Go avec un système d'exploitation Windows 10 [131].

La structure cristalline de l'ADN synthétique présenté dans figure 2.48 est :

**Chain D :** 5'-D(\*Gp\*Ap\*Cp\*Ap\*Tp\*Gp\*YRRp\*Tp\*Tp\*Gp\*Cp\*Cp\*T) -3'

**Chain E :** 5'-D(\*Gp\*Gp\*Cp\*Ap\*Ap\*Tp\*Cp\*Ap\*Tp\*Gp\*Tp\*Cp\*A) -3'



**Figure.2.47.** Structure cristalline d'Acide désoxyribonucléique (ADN) (PDB ID : 1BNK).

La structure de l'ADN (PDB ID : 1BNK) sélectionné de la banque de données des protéines (<http://www.rcsb.org./pdb>) a été choisi comme récepteur pour étudier la liaison des ligands. Afin de réaliser l'amarrage moléculaire, la structure d'ADN a été soumise à un prétraitement comme suit : tous les atomes d'hydrogène et les charges des atomes ont été additionnées à l'ADN ensuite pour l'analyse de simulation d'amarrage ; de plus, les atomes d'hydrogène non polaires ont été fusionnés. Pour les calculs d'amarrage, mes algorithmes génétiques lamarckiens ont été utilisés et la taille de la grille a été fixée à  $120 \times 70 \times 70 \text{ \AA}$  avec un point séparé par  $0.375 \text{ \AA}$ . Les centres de la grille ont été fixés à  $X = 0,036$ ,  $Y = 24,698$  et  $Z = 8,171$ . L'expérience d'amarrage a consisté en 100 essais d'amarrage avec 2 500 000 évaluations énergétiques. Les autres paramètres ont été laissés à leurs valeurs par défaut. La meilleure conformation a été sélectionnée avec une énergie d'amarrage inférieure. A la fin des essais d'amarrage, diverses énergies de liaison des ligands ont été obtenues avec leurs conformations respectives ; La conformation stable qui correspond à l'énergie de liaison la plus basse a été choisie comme meilleure pose et a été utilisée dans l'analyse d'amarrage. L'énergie de liaison des ligands TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP avec l'ADN était respectivement : L'énergie de liaison de la structure ancrée des ligands : TPPH<sub>2</sub>, TPPH<sub>2</sub> (p-methyl), TAcPPH<sub>2</sub> et PdTAcPP avec l'ADN s'est avérée être : -29.37, -30.62, -30.18 et -31.63 KJ/mol au 35, 54, 64 et 86 essais respectivement. Les valeurs de l'énergie de liaison calculée indiquent une affinité de liaison élevée entre l'ADN et les ligands étudiés (Tableau 2.11).

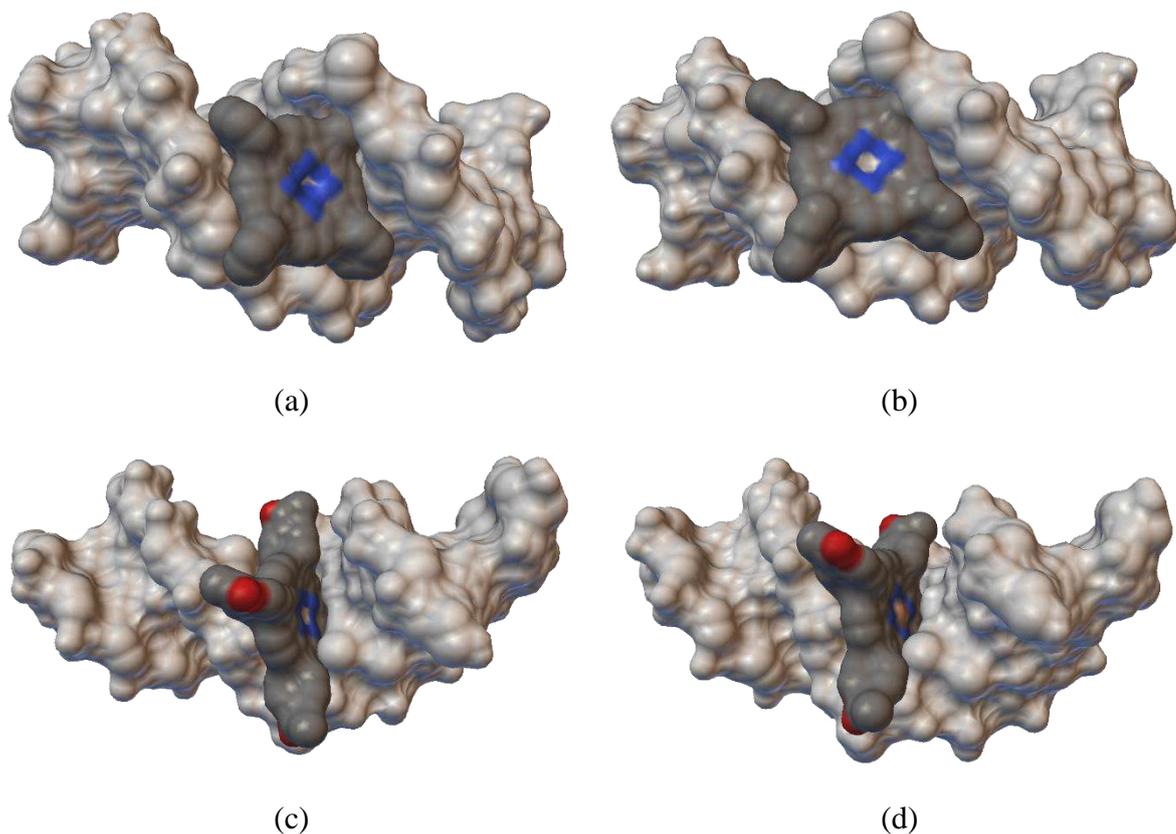
Composé	K (M <sup>-1</sup> )	-ΔG (KJ mol <sup>-1</sup> )
TPPH <sub>2</sub> – ADN	$1,39 \times 10^5$	29,37
TPPH <sub>2</sub> (p – methyl) – ADN	$2,31 \times 10^5$	30,62
TAcPPH <sub>2</sub> – ADN	$1,93 \times 10^5$	30,18
PdTAcPP – ADN	$3,47 \times 10^5$	31,63

**Tableau.2.11.** Valeurs d'énergie libre de liaison et les constants des liaisons obtenues pour les adduits TPPH<sub>2</sub> – ADN, TPPH<sub>2</sub>(p – methyl) – ADN, TAcPPH<sub>2</sub> – ADN et PdTAcPP – ADN par Docking moléculaire

La fraction porphyrine interagit avec le phosphate de l'ADN. L'oxygène du phosphate se connecte à la partie porphyrine par la force électrostatique de l'interaction. L'énergie de liaison calculée par Autodock pour ces complexes à l'aide d'une équation 2.10 qui est en accord étroit

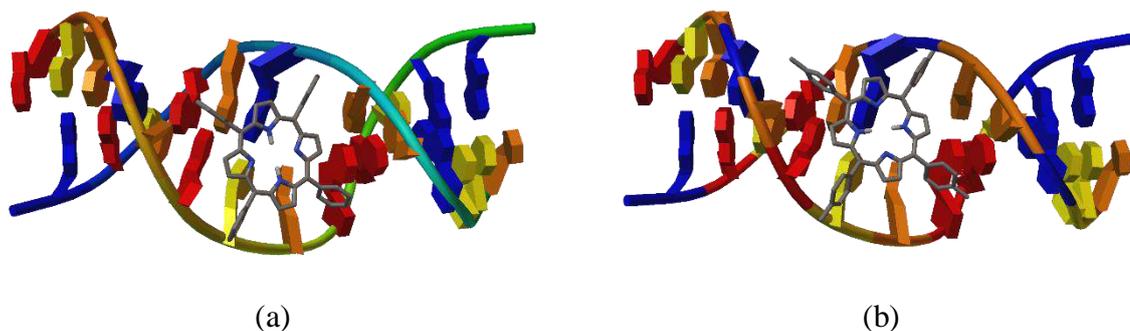
avec notre énergie de liaison expérimentale, calculée par voltampérométrie cyclique et spectroscopie d'adsorption.

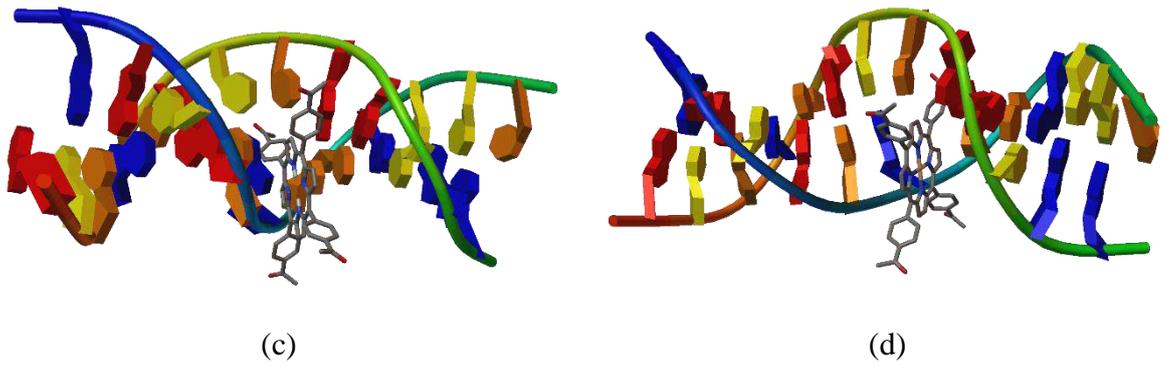
La vue de surface des conformations ancrées des ligands obtenues à partir de l'analyse d'amarrage des adduits a montré que tous les ligands étudiés sont placés dans le petit sillon de la structure de l'ADN. Figure 2.49.



**Figure.2.48.** Poses d'amarrage de TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub> (p-méthyl) (b), TAcPPH<sub>2</sub> (c) et PdTAcPP (d) l'emplacement des ligands au petit sillon

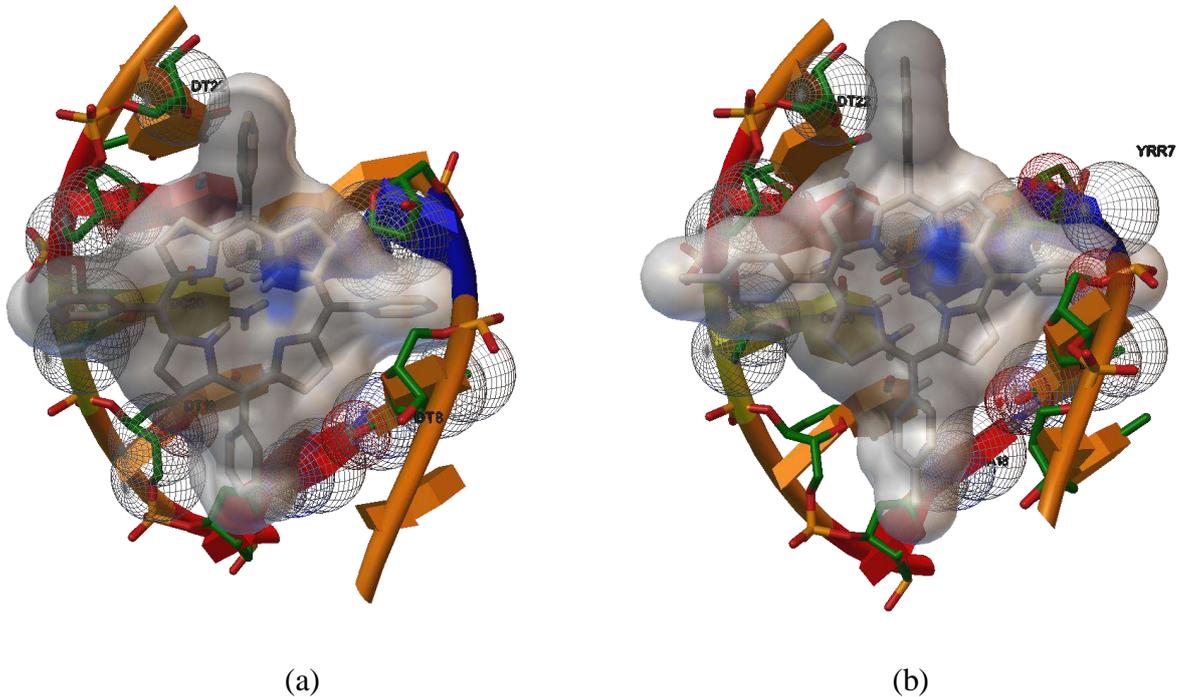
Les résultats obtenus par amarrage moléculaire indiquent que tous les ligands interagissent avec l'ADN électrostatiquement par la formation des liaisons électrostatiques. La figure 2.50 illustre les interactions entre l'ADN et les ligands examinés.

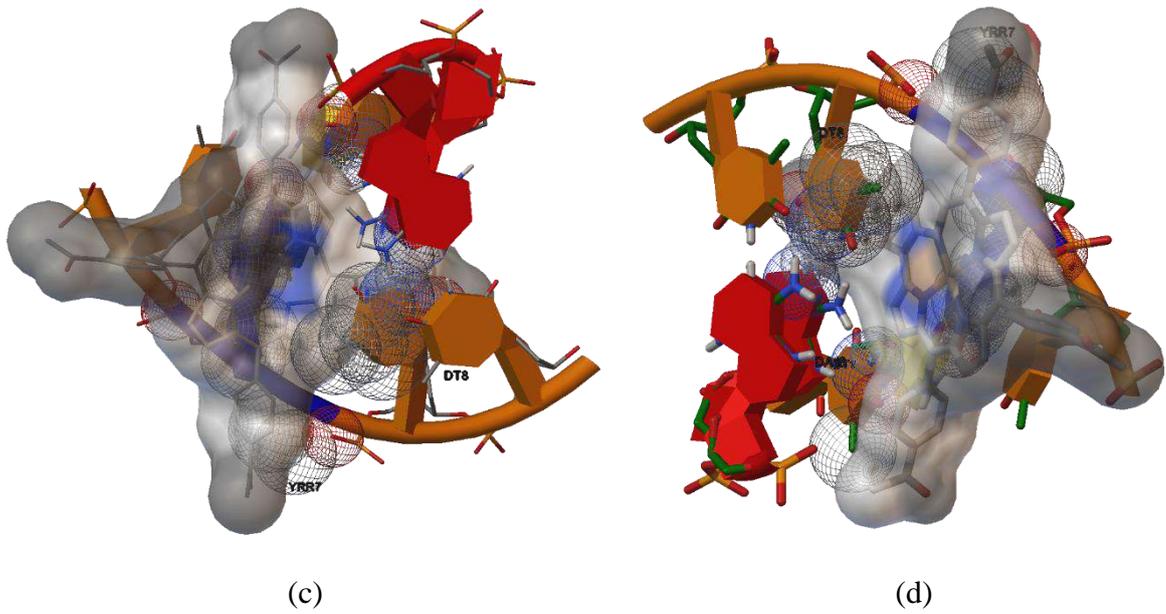




**Figure.2.49.** Poses d'amarrage du TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH<sub>2</sub> (c) et PdTAcPP (d) avec de l'ADN (PDB ID : 1BNK) illustrant les interactions entre l'ADN et les ligands examinés.

La figure 2.51 montre la vue rapprochée des atomes de nucléotides d'ADN interagissant avec la surface des TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH<sub>2</sub> (c) et PdTAcPP (d). La figure montre en outre l'interaction électrostatique entre différents atomes des ligands et l'atome de la paire de bases d'ADN.





**Figure.2.50.**Présentation tridimensionnelle des interactions de TPPH<sub>2</sub> (a), TPPH<sub>2</sub> (p-methyl) (b), TAcPPH<sub>2</sub> (c) et PdTAcPP (d) avec l'ADN. L'ADN est présenté par structure secondaire, par CPK et par des lignes colorées par type d'atomes (C : gris ; H : bleu ciel ; et O : rouge).

# **Partie 3**

## **Expérimentale**

## Partie 3:Expérimentale

### 3.1. Les produits chimiques

- ✓ Le diméthylformamide (DMF) (qualité analytique de PROLABO) a été utilisé comme solvant dans des essais électrochimiques.
- ✓ Le tétrafluoroborate de tétrabutylammonium ( $\text{Bu}_4\text{NBF}_4$ ) (qualité électrochimique 99% ; Sigma- Aldrich) a été utilisé comme électrolyte de support et sa concentration a été maintenue à 0,1 M.
- ✓ L'oxygène moléculaire a été fourni à partir d'une bouteille (qualité recherche (99,99%) ; Linde gaz Algérie)
- ✓  $\alpha$ -tocophérol ( $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$ , MW = 430,71) (97%), ont tous été achetés à Alfa Aesar et utilisés sans autre purification. Tous les autres réactifs utilisés étaient de qualité analytique.

### 3.2.Voltamètre cyclique

Des expériences de voltampérométrie cyclique ont été réalisées en utilisant un potentiostat PGZ301 (radiomètre analytique SAS) et une cellule voltampérométrique d'une capacité volumétrique de 25 ml contenant trois électrodes : une électrode de travail en carbone vitreux, ayant une surface égale à  $0,013 \text{ cm}^2$ , une contre-électrode en fil de Pt, et une électrode de référence en Hg/Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3,0 M KCl).

Pour étudier les interactions entre les superoxydes anions et les radicaux libres, les solutions ont été saturées avec de l'oxygène commercial de haute pureté pendant 15 minutes avant chaque expérience. Le voltampérogramme a ensuite été enregistré en l'absence et en présence d'une concentration progressivement croissante du dérivé de la porphyrine étudié.

Pour les expériences de caractérisation de la voltamétrie cyclique des dérivés de la porphyrine, les voltammogrammes de 0 mV à -1400 à différentes vitesses de balayage (100, 200, 300, 400 et 500).

Pour l'étude des interactions avec l'ADN, les voltammogrammes du dérivé 0,001 M ont été enregistrés dans une solution d'éthanol/phosphate tampon 0,1 M 50% ( $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) à pH =7.2 (TPPH<sub>2</sub>, TAcPPH<sub>2</sub>) et pH= 9 (TPPH<sub>2</sub>(p-methyl)) avec un électrolyte de support 0,1 M, le tétra-n-butylammoniumtétrafluoroborate, en l'absence d'ADN et après dégazage de la solution de l'oxygène par de l'azote gazeux bouillonnant pendant au moins 15 minutes. La manipulation a ensuite été répétée avec une concentration croissante d'ADN. L'électrode de travail a été polie après chaque essai électrochimique.

## **Partie 3:Expérimentale**

### **3.3.Uv-visible**

Les expériences UV-Vis ont été réalisées en utilisant un spectromètre UV-Vis (Shimadzu 1800) et une cellule voltampérométrique en quartz d'une capacité volumétrique de 5 ml. L'acquisition des données a été réalisée avec un micro-ordinateur Pentium IV (CPU 4,0 GHz et RAM 2 Gb) utilisant le logiciel de la sonde UV version 2.34 (Shimadzu). Le tracé des graphiques et le calcul ont été effectués à l'aide du logiciel OriginLab version 2.0 (Integral Software, France).

Pour les expériences de caractérisation UV-Vis des dérivés synthétisés de la porphyrine, le spectre d'une solution de 1 mM de chaque dérivé dans le DMF a été obtenu à température ambiante.

Pour l'étude des interactions avec l'ADN, les spectres d'une solution de 1 mM de chaque dérivé de la porphyrine ont été enregistrés dans une solution d'éthanol/phosphate tampon à 0,1 M 50% ( $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) à un pH (7.2, 9) en l'absence d'ADN, puis répétés avec une concentration croissante d'ADN.

### **3.4.Docking moléculaire de l'ADN**

Toutes les études d'amarrage ont été réalisées sur un Pentium 3,30 GHz et une mémoire de 4,00 Go de micro-ordinateur RAM avec le système d'exploitation Windows 7. Pour les calculs d'amarrage, le programme AutoDock 4.2 basé sur l'algorithme génétique lamarckien (LGA) avec recherche GA a été utilisé. La recherche a été effectuée dans une grille de 41 et 51 points par dimension avec des points séparés par 1.000 Å. Les centres et les dimensions de la grille ont été fixés pour chaque ligand, et un pas de 0,375 centré sur le site de liaison de l'ADN. La meilleure conformation a été sélectionnée avec la plus faible énergie d'accostage. À la fin des cycles d'amarrage, diverses énergies de liaison des ligands ont été obtenues avec leurs conformations respectives ; la meilleure pose amarrée énergétiquement favorable a été utilisée dans l'analyse d'amarrage.

# **Conclusion**

## Conclusion

Dans ce travail de recherche, les activités antimutagènes (ou anticancéreuses) et antioxydantes de quatre dérivés de porphyrine meso-tetra4-phenylporphyrin (TPPH<sub>2</sub>), meso-tetra4-methophenyl-porphyrin (TPPH<sub>2</sub>(p-methyl)), meso-tetra4-actophenyl-porphyrin (TAcPPH<sub>2</sub>), Palladium tetra4-actophenyl-porphyrin (PdTAcPP) fabriqués par Kadri Mohammed ont été étudiées.

L'activité antioxydante a été évaluée par l'interaction des dérivés de porphyrine étudiés avec superoxyde anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), et nous avons déterminé certains paramètres thermodynamiques et cinétiques par une méthode électrochimique utilisant la technique de voltampérométrie cyclique de superoxyde anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), et les valeurs de IC<sub>50</sub> du dérivé PdTAcPP étaient la convergence de la référence  $\alpha$ -Tocopherol standard des antioxydants. Quant à l'étude de l'interaction entre les dérivés des porphyrines et de superoxyde anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), le type d'interaction était automatique de nature électrostatique dans tous les cas. Il a été observé que la valeur du coefficient de diffusion à l'état libre est plus grande que dans le cas associé aux antioxydants de la porphyrine, car cette diminution du coefficient de diffusion s'explique dans le cas de la corrélation avec le poids partiel de l'antioxydant.

L'activité antimutagène a été évaluée en étudiant l'interaction entre les dérivés de la porphyrine et l'ADN à un pH de (7,2, 6, 9) en utilisant la méthode spectroscopique pour tous les dérivés de la porphyrine étudiés et à un pH de (7,2, 9) en utilisant la méthode électrochimique. Il y a une interaction avec l'ADN et (TPPH<sub>2</sub>, (TPPH<sub>2</sub>(p-methyl)) le type d'interaction est automatique et a une nature physique électrostatique. Quant au dérivé (PdTAcPP) il n'a pas d'interférence avec l'ADN. Les résultats de la corrélation constante et de l'énergie libre indiquent que les dérivés de la porphyrine (TPPH<sub>2</sub>, (TPPH<sub>2</sub>(p-methyl)) ont une efficacité contre la mutagenèse et la carcinogenèse.

# ***Bibliographie***

## Bibliographie

1. Heinze, K. and H. Lang, *Ferrocene · Beauty and Function*, 2013, ACS Publications.
2. Togni, A. and T. Hayashi, *Ferrocenes: Homogeneous Catalysis*. Organic Synthesis, Materials Science, 1995. 2: p. 685-721.
3. Munde, M., et al., *Design of DNA minor groove binding diamidines that recognize GC base pair sequences: a dimeric-hinge interaction motif*. Journal of the American Chemical Society, 2007. 129(44): p. 13732-13743.
4. Vaidyanathan, V.G. and B.U. Nair, *Photooxidation of DNA by a cobalt (II) tridentate complex*. Journal of Inorganic Biochemistry, 2003. 94(1-2): p. 121-126.
5. Loganathan, R., et al., *Mixed ligand copper (II) complexes of N, N-bis (benzimidazol-2-ylmethyl) amine (BBA) with diimine co-ligands: efficient chemical nuclease and protease activities and cytotoxicity*. Inorganic chemistry, 2012. 51(10): p. 5512-5532.
6. Wahnon, D., R.C. Hynes, and J. Chin, *Dramatic ligand effect in copper (II) complex promoted transesterification of a phosphate diester*. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications, 1994(12): p. 1441-1442.
7. Liao, Z., et al., *Synthesis, Crystal Structure and Spectral Properties of a Triply Bridged Diron (III) Complex, [Fe<sub>2</sub>(IDB)<sub>2</sub>(μ-O)(μ-OAc)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>·CH<sub>3</sub>OH*. Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry, 2000. 30(4): p. 683-693.
8. Biesaga, M., K. Pyrżyńska, and M. Trojanowicz, *Porphyryns in analytical chemistry. A review*. Talanta, 2000. 51(2): p. 209-224.
9. Rochford, J., et al., *Tetrachelate porphyrin chromophores for metal oxide semiconductor sensitization: effect of the spacer length and anchoring group position*. Journal of the American Chemical Society, 2007. 129(15): p. 4655-4665.
10. Zerner, M., M. Gouterman, and H. Kobayashi, *Porphyryns*. Theoretica chimica acta, 1966. 6(5): p. 363-400.
11. Atefi, F., et al., *meso-Porphyrinylphosphine Oxides: Mono-and bidentate ligands for supramolecular chemistry and the crystal structures of monomeric {[10, 20-diphenylporphyrinato-nickel (II)-5, 15-diyl]-bis-[P(O)Ph<sub>2</sub>]} and polymeric self-coordinated {[10, 20-diphenylporphyrinato-zinc (II)-5, 15-diyl]-bis-[P(O)Ph<sub>2</sub>]}*. Inorganic chemistry, 2006. 45(16): p. 6479-6489.
12. Auwärter, W., et al., *Porphyryns at interfaces*. Nature chemistry, 2015. 7(2): p. 105-120.
13. Dunbar, A., et al., *Detection of volatile organic compounds using porphyrin derivatives*. The Journal of Physical Chemistry B, 2010. 114(36): p. 11697-11702.
14. Sanders, J., et al., *The Porphyrin Handbook*. Inorganic, Organometallic and Coordination Chemistry, 2000. 3.
15. Senge, M.O., *Extroverted Confusion—Linus Pauling, Melvin Calvin, and Porphyrin Isomers*. Angewandte Chemie International Edition, 2011. 50(19): p. 4272-4277.
16. Moss, G.P., *Nomenclature of tetrapyrroles: Recommendations 1986*. European journal of biochemistry, 1988. 178(2): p. 277-328.
17. Sessler, J.L. and S.J. Weighorn, *Expanded, contracted & isomeric porphyrins*. 1997: Elsevier.
18. Fleischer, E.B., *Structure of porphyrins and metalloporphyrins*. Accounts of Chemical Research, 1970. 3(3): p. 105-112.
19. Stone, A. and E.B. Fleischer, *The molecular and crystal structure of porphyrin diacids*. Journal of the American Chemical Society, 1968. 90(11): p. 2735-2748.
20. Gouterman, M., *Spectra of porphyrins*. Journal of Molecular Spectroscopy, 1961. 6: p. 138-163.
21. Krausz, P. and C. Giannotti, *Etude spectroscopique UV-visible de la complexation de mono et bis-porphyrines de zinc en présence de ligands donneurs*. Journal de Chimie Physique, 1983. 80: p. 299-303.

## Bibliographie

22. Kobata, K., et al., *Synthesis and characterization of dendritic poly (l-lysine) containing porphyrin–fullerene moieties*. *Synthetic metals*, 2007. 157(6-7): p. 311-317.
23. KRAUSZ, P., et al., *Méthodologie de synthèse pour l'élaboration de photo-sensibilisateurs sélectifs à visée anti-cancéreuse*.
24. Iovine, P.M., et al., *Syntheses and 1H NMR Spectroscopy of Rigid, Cofacially Aligned, Porphyrin– Bridge– Quinone Systems in Which the Interplanar Separations between the Porphyrin, Aromatic Bridge, and Quinone Are Less than the Sum of Their Respective van der Waals Radii*. *Journal of the American Chemical Society*, 2000. 122(36): p. 8717-8727.
25. Goff, H. and E. Shimomura, *Solution characterization of " intermediate-spin" iron (III) porphyrins by NMR spectroscopy*. *Journal of the American Chemical Society*, 1980. 102(1): p. 31-37.
26. Zakavi, S., et al., *Substitution effects on the UV–vis and 1H NMR spectra of the dications of meso and/or  $\beta$  substituted porphyrins with trifluoroacetic acid: Electron-deficient porphyrins compared to the electron-rich ones*. *Inorganic Chemistry Communications*, 2011. 14(11): p. 1827-1832.
27. Craig, J., *The Porphyrins Handbook*, vol. KM Kadish, KM Smith, R. Guilard, 1999.
28. Abraham, R.J., et al., *The nuclear magnetic resonance spectra of porphyrins. Part X. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of some meso-tetraarylporphyrins and their metal chelates*. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, 1975(3): p. 204-211.
29. Lamarche, F., *Synthesis and biological evaluation of porphyrin-polyamine conjugates as potential agents in photodynamic therapy*. 2004.
30. Dodrell, D. and W.S. Caughey, *Carbon-13 Fourier transform nuclear magnetic resonance study of some porphyrins. Evidence for a preferred delocalization pathway*. *Journal of the American Chemical Society*, 1972. 94(7): p. 2510-2512.
31. Rusconi, F. and J. Schmitter, *Préparation des échantillons en vue d'une analyse par spectrométrie de masse MALDI-TOF: Matric Assisted Laser Desorption Ionisation (MALDI-TOF) mass spectrometry*. *Analisis (Imprimé)*, 1998. 26(10): p. M13-M17.
32. Kobayashi, H., T. Hara, and Y. Kaizu, *Cobalt (II) tetraphenylporphin*. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 1972. 45(7): p. 2148-2155.
33. Doppelt, P., J. Fischer, and R. Weiss, *Synthesis and structure of a cobalt (II) meso-tetraphenylporphyrin complex, [Co (TPP)] [K. cntnd. 222] 4Cl<sub>3</sub>. H<sub>2</sub>O*. *Inorganic chemistry*, 1984. 23(19): p. 2958-2962.
34. Giraudeau, A. and L.E. Kahef,  *$\beta$ -substitution de la méso-tétraphénylporphyrine de zinc par voie électrochimique*. *Canadian Journal of Chemistry*, 1991. 69(7): p. 1161-1165.
35. Cloutour, C., et al., *Etude comparative de l'alkylation des tétraphénylporphyrines de l'étain et de leurs formes réduites par les réactifs de grignard*. *Journal of organometallic chemistry*, 1984. 269(3): p. 239-247.
36. Paine III, J.B. and D. Dolphin, *Synthesis of covalently-linked dimeric porphyrins*. *Canadian Journal of Chemistry*, 1978. 56(12): p. 1710-1712.
37. Rothermund, P.J., *Am.chem.*, 2010.2011. p. 1935,57.
38. GACHARD-BOUTY, L., *UTILISATION DE LA MÉTATHÈSE DES ALCÈNES POUR LA SYNTHÈSE DE PORPHYRINES O-ET C-GLYCOSYLÉES ÉTHYLÉNIQUES*, 2003, Université de Matsuyama (Japon) MJ Christen PAST, Université de Limoges.
39. Rothermund, P.M., A.R.J, *Am.chem.soc.* p. 1941,63.
40. Adler, A.D., F.R. Longo, and W. Shergalis, *Mechanistic investigations of porphyrin syntheses. I. Preliminary studies on ms-tetraphenylporphin*. *Journal of the American Chemical Society*, 1964. 86(15): p. 3145-3149.
41. Adler, A.D.J.S., L;longu,F.R;Finarelli.J.D;Finarelli,M.G.J, *heterocycl.chem* 1968.
42. Adler, A.D.I., F.R;Fenarelli,J.D;AAssour,J;Korsakoff,L.J., *Org.Chem.* 1967. 32,476.
43. Lindsey, J.S., H.C. Hsu, and I.C. Schreiman, *Synthesis of tetraphenylporphyrins under very mild conditions*. *Tetrahedron letters*, 1986. 27(41): p. 4969-4970.

## Bibliographie

44. alindsey, J., I. Schreiman, and H. Hsu, *Kearn ey PC.; Margueretta z AM. J. Org. Chem*, 1987. 52: p. 827-836.
45. Lindsey, J.W., R.W, *54,828. The journal of organic chemistry* 1989.
46. Markonac, A., *Mac Donald, S.F.Can.J.Chem.* 1965: p. 43.
47. Lindsey, J.S., *Acc.Chem.Res.* 2010. 311.
48. Smith, K.M., *Porphyryns and metalloporphyryns*. Vol. 9. 1975: Elsevier Amsterdam.
49. Tamez Jr, V., *An efficient synthesis of heterocycles: An improved solvent effect in the Barton-Zard pyrrole synthesis and a one step synthesis of benzothiazole derivatives*. 2006: Texas A&M University-Kingsville.
50. Bacton.D.H.R.Zard, *S.Z.J.Cem.Soc,chem..Commom*, 1935. p. 1098.
51. Smith, K.M., *Academic Bemc Press:200*. Vol.1.p1.
52. Swift, L.H. and R.M. Golsteyn, *Genotoxic anti-cancer agents and their relationship to DNA damage, mitosis, and checkpoint adaptation in proliferating cancer cells*. International journal of molecular sciences, 2014. 15(3): p. 3403-3431.
53. Helleday, T., et al., *DNA repair pathways as targets for cancer therapy*. Nature Reviews Cancer, 2008. 8(3): p. 193-204.
54. Zani, F., et al., *Inhibition of mutagenicity in Salmonella typhimurium by glycyrrhiza glabra extract, glycyrrhizinic acid and 18 $\alpha$ -and 18 $\beta$ -glycyrrhetinic acids*. Planta Medica, 1993. 59(06): p. 502-507.
55. Ryter, A., et al., *Etude au microscope électronique de plasmas contenant de l'acide désoxyribonucléique: I. Les nucléoides des bactéries en croissance active*. Zeitschrift für Naturforschung B, 1958. 13(9): p. 597-605.
56. Sancar, A., *Structure and function of DNA photolyase*. Biochemistry, 1994. 33(1): p. 2-9.
57. Luzzati, V., A. Nicolaieff, and F. Masson, *Structure de l'acide désoxyribonucléique en solution: Étude par diffusion des rayons X aux petits angles*. Journal of Molecular Biology, 1961. 3(2): p. 185-201.
58. Pray, L., *Discovery of DNA structure and function: Watson and Crick*. Nature Education, 2008. 1(1).
59. Wortmann, R.L., et al., *Biochemical basis for differential deoxyadenosine toxicity to T and B lymphoblasts: role for 5'-nucleotidase*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1979. 76(5): p. 2434-2437.
60. Singleton, P., *Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies*. 2005.
61. Perakis, N. and F. Kern, *Sur le comportement magnétique de l'acide desoxyribonucléique (ADN) entre 80 et 300° K*. Physik der kondensierten Materie, 1964. 3(1): p. 29-39.
62. Bowater, R.P., *Nucleotides: Structure and properties*. e LS, 2001.
63. Voet, D. and J.G. Voet, *Biochimie*. 2016: De Boeck Supérieur.
64. Wenner, J.R., et al., *Salt dependence of the elasticity and overstretching transition of single DNA molecules*. Biophysical journal, 2002. 82(6): p. 3160-3169.
65. Saitou, N., *Introduction to evolutionary genomics*. 2013: Springer.
66. Dianzani, M.U., *Mutation in the enzymatic equipment of Escherichia coli and Proteus OX 19 directed by desoxyribonucleic acid isolated from bacteria of the same and of different species*. Experientia, 1950. 6(9): p. 332-334.
67. Koornneef, M., et al., *Genetic interactions among late-flowering mutants of Arabidopsis*. Genetics, 1998. 148(2): p. 885-892.
68. Ma, Y., et al., *The c-KIT mutation causing human mastocytosis is resistant to STI571 and other KIT kinase inhibitors; kinases with enzymatic site mutations show different inhibitor sensitivity profiles than wild-type kinases and those with regulatory-type mutations*. Blood, 2002. 99(5): p. 1741-1744.
69. Mabbott, G.A., *An introduction to cyclic voltammetry*. Journal of Chemical education, 1983. 60(9): p. 697.

## Bibliographie

70. Abdel-Hamid, R., et al., *Electrochemistry of the bis (1, 4, 7-triazacyclodecane) cobalt (III) complex and its role in the catalytic reduction of hydrogen*. Polyhedron, 1998. 17(25-26): p. 4535-4541.
71. Joseph, T.B., et al., *A cyclic voltammetry study of the electrochemical behavior of platinum in oxide-ion rich LiCl melts*. Electrochimica Acta, 2014. 139: p. 394-400.
72. Grosser, D., *Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanism*. 1993, New York: Wiley-VCH.
73. I.Schain, R.-S.s.R.N.e., *Anal:chem*. 1964.
74. Kinnula, V.L. and J.D. Crapo, *Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors*. Free Radical Biology and Medicine, 2004. 36(6): p. 718-744.
75. Dave, R., *In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview*. African Journal of Microbiology Research, 2009. 3(13): p. 981-996.
76. Manzocco, L., M. Anese, and M. Nicoli, *Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing*. LWT-Food Science and Technology, 1998. 31(7-8): p. 694-698.
77. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*. 2015: Oxford University Press, USA.
78. Luis, A., et al., *Metabolism of oxygen radicals in peroxisomes and cellular implications*. Free Radical Biology and Medicine, 1992. 13(5): p. 557-580.
79. Grisham, M.B., D.N. Granger, and D.J. Lefer, *Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease*. Free Radical Biology and Medicine, 1998. 25(4-5): p. 404-433.
80. Nappi, A.J. and E. Vass, *Hydroxyl radical formation via iron-mediated Fenton chemistry is inhibited by methylated catechols*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1998. 1425(1): p. 159-167.
81. Han, D., E. WILLIAMS, and E. CADENAS, *Mitochondrial respiratory chain-dependent generation of superoxide anion and its release into the intermembrane space*. Biochemical Journal, 2001. 353(2): p. 411-416.
82. Lanez, T., M. Henni, and H. Hemmami, *DEVELOPMENT OF CYCLIC VOLTAMMETRIC METHOD FOR THE STUDY OF THE INTERACTION OF ANTIOXIDANT STANDARDS WITH SUPEROXIDE ANION RADICALS CASE OF [alpha]-TOCOPHEROL*. Scientific Study & Research. Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry, 2015. 16(2): p. 161.
83. Lanez, T. and H. Hemmami, *Antioxidant Activities of N-ferrocenylmethyl-2-and-3-nitroaniline and Determination of their Binding Parameters with Superoxide Anion Radicals*. Current Pharmaceutical Analysis, 2017. 13(2): p. 110-116.
84. Ahmed, S. and F. Shakeel, *Antioxidant activity coefficient, mechanism, and kinetics of different derivatives of flavones and flavanones towards superoxide radical*. Czech Journal of Food Sciences, 2012. 30(2): p. 153-163.
85. Brett, C. and A.M. Oliveira Brett, *Electrochemistry: principles, methods, and applications*. 1993.
86. Halperin, I., et al., *Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions*. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 2002. 47(4): p. 409-443.
87. Abagyan, R. and M. Totrov, *High-throughput docking for lead generation*. Current opinion in chemical biology, 2001. 5(4): p. 375-382.
88. Kitchen, D.B., et al., *Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications*. Nature reviews Drug discovery, 2004. 3(11): p. 935-949.
89. Huang, S.-Y. and X. Zou, *Advances and challenges in protein-ligand docking*. International journal of molecular sciences, 2010. 11(8): p. 3016-3034.
90. Autodock, A., et al., *Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and an Empirical Binding Free Energy Function*. 1998.

## Bibliographie

91. Morris, G.M., et al., *Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function*. Journal of computational chemistry, 1998. 19(14): p. 1639-1662.
92. Swails, J.M., D.M. York, and A.E. Roitberg, *Constant pH replica exchange molecular dynamics in explicit solvent using discrete protonation states: implementation, testing, and validation*. Journal of chemical theory and computation, 2014. 10(3): p. 1341-1352.
93. Marrink, S.J., et al., *Computational modeling of realistic cell membranes*. Chemical reviews, 2019. 119(9): p. 6184-6226.
94. Fang, Q., et al., *Three-dimensional graphene enhances neural stem cell proliferation through metabolic regulation*. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2020. 7: p. 436.
95. Demachy, I. and J.-P. Piquemal, *La surface d'énergie potentielle vue par les champs de forces*. 2014.
96. Pacaud, F., *Étude des propriétés physicochimiques de verres borosilicatés et de borosilicates de lanthane par dynamique moléculaire à partir d'un champ de force polarisable*, 2016.
97. Kohn, W., A.D. Becke, and R.G. Parr, *Density functional theory of electronic structure*. The Journal of Physical Chemistry, 1996. 100(31): p. 12974-12980.
98. Cohen, A.J., P. Mori-Sánchez, and W. Yang, *Fractional spins and static correlation error in density functional theory*, 2008, American Institute of Physics.
99. Kadri, M., et al., *Palladium-Catalysed Cross-Coupling Reactions Controlled by Noncovalent Zn...N Interactions*. Chemistry—A European Journal, 2017. 23(21): p. 5033-5043.
100. Molyneux, P., *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. Songklanakarin J. sci. technol, 2004. 26(2): p. 211-219.
101. Antolovich, M., et al., *Methods for testing antioxidant activity*. Analyst, 2002. 127(1): p. 183-198.
102. Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier, and C. Berset, *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. LWT-Food Science and Technology, 1995. 28(1): p. 25-30.
103. Boutarfaia, A., et al., *Synthesis, Antioxidant Activity, and Determination of Binding Parameters of Meso-Tetra-4-Actophenyl-Porphyrin and its Palladium (II) Complex with Superoxide Anion Radicals*. Current Bioactive Compounds, 2020. 16(7): p. 1063-1071.
104. Pellegrini, N., et al., *Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays*. The Journal of nutrition, 2003. 133(9): p. 2812-2819.
105. Bechki, L., M. Kadri, and A. Boutarfaia, *ELECTROCHEMICAL BEHAVIOUR OF PORPHYRINS AND THEIR METAL COMPLEXES*.
106. Boutarfaia, A., et al., *MESO-TETRA-p-TOLYLPORPHYRIN: SYNTHESIS, CHARACTERISATION, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND DETERMINATION OF BINDING PARAMETERS OF WITH SUPEROXIDE ANION RADICAL*.
107. Miller, N.J., et al., *A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates*. Clinical science, 1993. 84(4): p. 407-412.
108. Ozsoz, M., et al., *Electrochemical biosensor for the detection of interaction between arsenic trioxide and DNA based on guanine signal*. Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis, 2003. 15(7): p. 613-619.
109. Paleček, E., *Past, present and future of nucleic acids electrochemistry*. Talanta, 2002. 56(5): p. 809-819.
110. Ancellin, R. and J. Gaillot-de Saintignon, *Bénéfices de l'activité physique pendant et après cancer: des connaissances scientifiques aux repères pratiques*. Oncologie, 2017. 19(3-4): p. 95-107.
111. Kwak, M.-K., et al., *Chemoprevention by 1, 2-dithiole-3-thiones through induction of NQO1 and other phase 2 enzymes*, in *Methods in enzymology*. 2004, Elsevier. p. 414-423.

## Bibliographie

112. Newburger, D.E. and M.L. Bulyk, *UniPROBE: an online database of protein binding microarray data on protein–DNA interactions*. *Nucleic acids research*, 2009. 37(suppl\_1): p. D77-D82.
113. Ganguly, A., et al., *Nonspecific interaction between DNA and protein allows for cooperativity: a case study with mycobacterium DNA binding protein*. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2012. 116(1): p. 621-632.
114. M Carpi, F., et al., *Human DNA extraction methods: patents and applications*. *Recent patents on DNA & gene sequences*, 2011. 5(1): p. 1-7.
115. M Wer, S., D. Dykes, and H. Polesky, *A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells*. *Nucleic acids res*, 1988. 16(3): p. 1215.
116. Grimberg, J., et al., *A simple and efficient non-organic procedure for the isolation of genomic DNA from blood*. *Nucleic acids research*, 1989. 17(20): p. 8390.
117. Chacon-Cortes, D. and L.R. Griffiths, *Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives*. *Journal of Biorepository Science for Applied Medicine*, 2014. 2014(2): p. 1-9.
118. Price, C.W., D.C. Leslie, and J.P. Landers, *Nucleic acid extraction techniques and application to the microchip*. *Lab on a Chip*, 2009. 9(17): p. 2484-2494.
119. Boom, R., et al., *Rapid and simple method for purification of nucleic acids*. *Journal of clinical microbiology*, 1990. 28(3): p. 495-503.
120. Kunkel, T.A., K. Bebenek, and J. McClary, *[6] Efficient site-directed mutagenesis using uracil-containing DNA*. *Methods in enzymology*, 1991. 204: p. 125-139.
121. Oleksi, A., et al., *Molecular recognition of a three-way DNA junction by a metallosupramolecular helicate*. *Angewandte Chemie*, 2006. 118(8): p. 1249-1253.
122. Shah, A., et al., *Voltammetric and spectroscopic investigations of 4-nitrophenylferrocene interacting with DNA*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2010. 75(3): p. 1082-1087.
123. Jamil, M., et al., *Naked Eye DNA detection: Synthesis, characterization and DNA binding studies of a novel azo-guanidine*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2013. 105: p. 165-170.
124. Zhao, G.-C., et al., *Voltammetric studies of the interaction of methylene blue with DNA by means of  $\beta$ -cyclodextrin*. *Analytica chimica acta*, 1999. 394(2-3): p. 337-344.
125. Lanez, E., L. Bechki, and T. Lanez, *Computational molecular docking, voltammetric and spectroscopic DNA interaction studies of 9N-(ferrocenylmethyl) adenine*. *Chemistry & Chemical Technology*, 1 (13), 2019, 2019(1): p. 11-17.
126. Atkins, P.W. and J. De Paula, *Fisicoquímica*, 1986, Fondo Educativo Interamericano.
127. Aslanoglu, M. and N. Öge, *Voltammetric, UV absorption and viscometric studies of the interaction of norepinephrine with DNA*. *Turkish Journal of Chemistry*, 2005. 29(5): p. 477-485.
128. Aslanoglu, M. and G. Ayne, *Voltammetric studies of the interaction of quinacrine with DNA*. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2004. 380(4): p. 658-663.
129. Feng, C., J.J. Commodore, and C.J. Cassady, *The use of chromium (III) to supercharge peptides by protonation at low basicity sites*. *Journal of The American Society for Mass Spectrometry*, 2014. 26(2): p. 347-358.
130. Isaac, C., et al., *Synthesis, structure and redox properties of ferrocenylmethyl nucleobases*. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, 1999(18): p. 3229-3234.
131. Khennoufa, A., et al., *Spectrophotometric, voltammetric and molecular docking studies of binding interaction of N-ferrocenylmethyl nitroanilines with bovine serum albumin*. *Journal of Molecular Structure*, 2020. 1224: p. 129052.

## Bibliographie

# **Les articles**

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/333190478>

Journal of Fundamental and Applied Sciences is licensed under a Creative Commons Attribution–NonCommercial 4.0 International License. Libraries Resource Directory. We are listed un...

Article · May 2019

DOI: 10.4314/jfas.v11i2.25

CITATIONS

0

READS

103

5 authors, including:



Lazhar Bechki  
University of Ouargla

25 PUBLICATIONS 51 CITATIONS

SEE PROFILE



Touhami Lanez  
El-Oued University

188 PUBLICATIONS 475 CITATIONS

SEE PROFILE



Elhafnaoui Lanez  
El-Oued University

19 PUBLICATIONS 19 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Drug discovery View project



Copper Corrosion Inhibition using Organic and Inorganic Inhibitors View project

**MESO-TETRA-p-TOLYLPORPHYRIN: SYNTHESIS, CHARACTERISATION,  
ANTIOXIDANT ACTIVITY AND DETERMINATION OF BINDING PARAMETERS  
OF WITH SUPEROXIDE ANION RADICAL**

A. Bouterfaia\*<sup>1,2</sup>, L. Bechki<sup>2</sup>, T. Lanez<sup>1</sup>, E. Lanez<sup>1</sup>, M. Kadri<sup>2</sup>

<sup>1</sup>VTRS Laboratory, University of El Oued, B.P.789, 39000, El Oued, Algeria

<sup>2</sup>Chemistry Department, University of Ouargla, PO Box 511, 30000, Ouargla, Algeria

Received: 18 January 2019 / Accepted: 21 April 2019 / Published online: 01 May 2019

**ABSTRACT**

In this paper we present the synthesis and the evaluation of the antioxidant activity of meso-tetra-p-tolylporphyrin (TPPH<sub>2</sub>(p-methyl)) using superoxide anion radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) in DMF as a solvent. The binding parameters of the interaction between the synthesised compound and the radical O<sub>2</sub><sup>-</sup> were also measured using cyclic voltammetry techniques. TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) shows lower antioxidant activity (30.7 ± 0.08 mg/mL) than that of α-tocopherol standard (3.04 ± 0.03 mg/mL). The value of the binding Gibbs energy of -8.15 KJ.mol<sup>-1</sup> calculated for TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) suggests an electrostatic interaction of O<sub>2</sub><sup>-</sup> with TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) which has been found to be the dominant interaction mode. The kinetics of the interaction reaction was also measured having second-order rate constant values equal to 0.2 M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>.

**Keywords:** Superoxide anion radical; antioxidant activity; cyclic voltammetry; porphyrin; binding parameters.

Author Correspondence, e-mail: [bouterfaia.amira@gmail.com](mailto:bouterfaia.amira@gmail.com)

doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v11i2.25>



## 1. INTRODUCTION

The stable superoxide anion free radical ( $O_2^-$ ) electrochemically generated by one-electron reduction of molecular oxygen in aprotic solvents is of great significance as a radical species implicated in diverse chemical and biological systems.

Superoxide anion free radical is used for the evaluation of the antioxidant activity as free radical  $O_2^-$  scavenging activity [1,2]. The assay is based on measuring the decrease in the anodic peak current density of the redox couple  $O_2/O_2^-$  upon addition of potentially antioxidant compounds. This decrease can also be used to determinate the binding parameters of the interaction of free radical  $O_2^-$  with potentially antioxidant compounds [3,4].

Meso-tetra-p-tolylporphyrin is a macrocyclic aromatic compound with  $18\pi$  electron structure, formed by four subunits of pyrrole linked together via methine bridges. Nitrogen atoms of meso-tetra-4-actophenyl-porphyrin can react with metal ions to produce very stable metalloporphyrins complexes, the most known metal ions complexes of meso-tetra-4-actophenyl-porphyrin are that of transition metal ions [5]. In the present study we report the determination of binding parameters of  $O_2^-$  free radical with the ligand TPPH<sub>2</sub>(p-methyl). The method is based on cyclic voltammetry measurements.

## 2. EXPERIMENTAL

### 2.1. Materials and methods

#### 2.1.1. Chemical

N,N-Dimethylformamide (DMF) (HPLC-grade from Sigma-Aldrich) was used as solvent in electrochemical assays, tetrabutylammonium tetrafluoroborate ( $Bu_4NBF_4$ ) (electrochemical grade (99%) Sigma-Aldrich) was used as supporting electrolyte and its concentration was kept 0.1 M, molecular oxygen is provided from a cylinder (research grade (99.99%) from Linde gaz Algérie),  $\alpha$ -tocopherol ( $C_{29}H_{50}O_2$ , MW = 430.71) (97 %), were all purchased from Alfa Aesar and used without further purification.

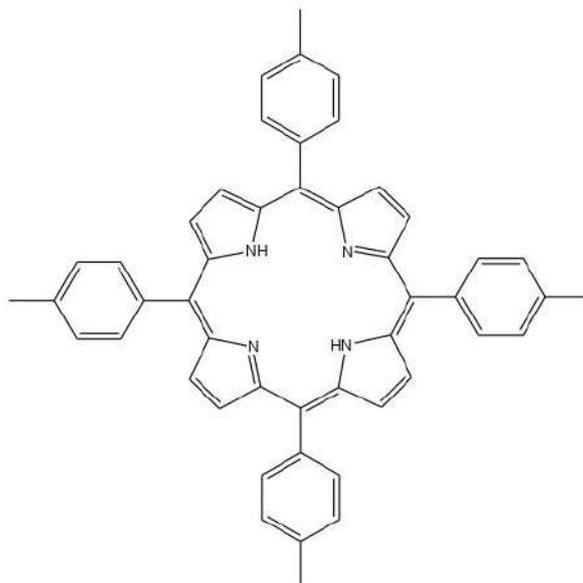
#### 2.1.2. Synthesis

The TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) was synthesized from the reaction of 4-methylbenzaldehyde and

pyrrole in propionic acid (figure 1). 4-methylbenzaldehyde (35.3 mL, 340 mmol) was added to a well stirred solution of propionic acid (500 mL) and the colorless mixture was stirred at room temperature until all the aldehyde was completely dissolved, and then it was heat at 50°C. A solution of distilled pyrrole (25 mL, 360 mmol) in propionic acid (30 mL) was then added dropwise in about 10 minutes and the reaction mixture was refluxed for 30 minutes. It was then allowed to cool to room temperature, the resulting dark suspension was filtered, washed with 50 mL methanol/water (1:1) and then with methanol until the filtrate became clear. The obtained purple solid was dried in vacuum to yield 10.6 g of meso-tetra4-methophenyl-porphyrin (8.2%).

max (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)/nm 417, 514 (log M 5.92 and 4.23).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K): δ = 8.88 (s, 8H, Hβ), 8.26 (s, 8H, H<sub>o</sub>), 7.79 (s, 12H, H<sub>m</sub>+H<sub>p</sub>), 9.1 (m, 12H) -2.70 (s, NH).



**Fig.1.** Structure of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl)

### 2.1.3. Instrumentation and software

Cyclic voltammetry experiments were performed using PGZ301 potentiostat (radiometer analytical SAS) and a voltammetric cell with a volumetric capacity of 25 mL containing three electrodes, a glassy carbon working electrode, having area equal to 0.013 cm<sup>2</sup> a Pt wire counter electrode, and an Hg/Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> reference electrode (3.0 M KCl). Solutions were

saturated with high purity commercial oxygen for 15 min prior to each experiment.  $^1\text{H}$  NMR spectra was collected on an Avance Bruker 400 spectrometer at 400.155 MHz spectrometer with deuterated chloroform at 7.26 ppm as an internal reference.

#### 2.1.4. Scavenging activity of superoxide anion radicals

The ability of the test sample to quench  $\text{O}_2^-$  radicals (% Inhibition of  $\text{O}_2^-$ ) was determined from the following equation (1) [6-8],

$$\% \text{O}_2^- \text{ radical scavenging activity} = \frac{i_0 - i}{i_0} \times 100 \quad (1)$$

Where  $i_0$  and  $i$  are the anodic peak current densities of the superoxide anion radical in the absence and in presence of test potentially antioxidant compound.

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1. Free radical scavenging activities study

In order to calculate the  $\text{IC}_{50}$  values,  $\text{O}_2^-$  radical scavenging activity was plotted against different compounds concentration (0.134, 0.268, 0.536, 0.737, and 1.34 mg/mL). The antioxidant capacity was expressed as  $\text{IC}_{50}$ . The equations obtained from the linear calibration graph in the studied concentration range for TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) and  $\alpha$ -tocopherol are summarized in table 1 (where y represents the value of the anodic peak current density of  $\text{O}_2^-$  and x, the value of samples concentration, expressed as mg/mL). The antioxidant activity of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) is lower than that of  $\alpha$ -tocopherol standard.

#### 3.2. Antioxidant activity coefficient

The antioxidant activity coefficient ( $K_{\text{aac}}$ ) can be defined as the ratio of the pick of the anodic current density values of  $\text{O}_2^-$  in the presence and absence of the studied compound. This coefficient also measures the relative superoxide scavenging activity [9,10] and is calculated using the following equation 2,

$$K_{\text{aac}} = \frac{\Delta i}{(i_0 - i_{\text{res}})} \frac{1}{\Delta C} \quad (2)$$

where  $\Delta i$  is the variation in anodic pick current density caused by the addition of the antioxidant compound,  $i_0$  is the anodic pick current density in the absence of the studied antioxidant compound,  $i_{res}$  is the residual current density of oxygen in the system and  $\Delta C$  is the variation of the concentration of the studied antioxidant compound in mol/L.

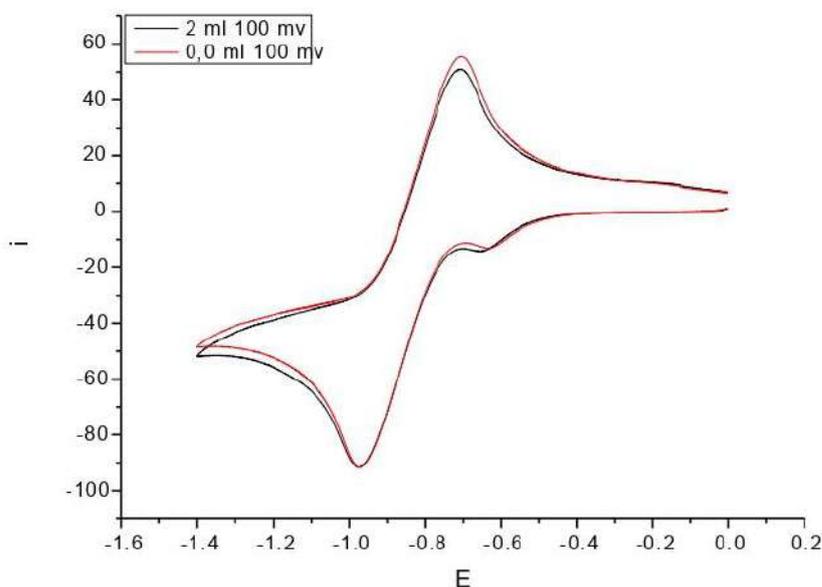
Equation 2 is only applied at low concentration of the studied antioxidant compound, i.e. for the linear change region. Obtained values of  $K_{aac}$  are shown below in table 1.

**Table 1.**  $IC_{50}$  values obtained using  $O_2^-$  radicals scavenging activity

Compound	Equation	$R^2$ values	$IC_{50}$ (mg/mL)	$K_{aac}$
TPPH <sub>2</sub> (p-methyl)	$y = 1.44411x + 5.6663$	0.947	$30.7 \pm 0.08$	$102.11 \pm 1.862$
$\alpha$ -tocopherol	$y = 15.990x + 1.3746$	0.950	$3.04 \pm 0.03$	$224.62 \pm 2.224$

### 3.3. Voltammetric studies of $O_2^-$ – TPPH<sub>2</sub> (p–methyl) interaction

The CV behavior of  $O_2^-$  in DMF/0.1M Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub> in the potential window of 0.0 to -1.4 V at a glassy carbon electrode in the absence and presence of a solution of 2 mM of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) in the same solvent is shown in figure 2. The free  $O_2/O_2^-$  redox couple exhibits one oxidation peak at 0.707 V and one reduction peak at 0.977 V. Figure 2 also shows the effect of the addition of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) to a solution of  $O_2^-$  in DMF/0.1M Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub> on the oxidation peak current density of  $O_2/O_2^-$  couple. The decrease in the anodic peak current density, caused by the addition of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl), can be explained by the reaction of  $O_2^-$  with TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) [11-13].

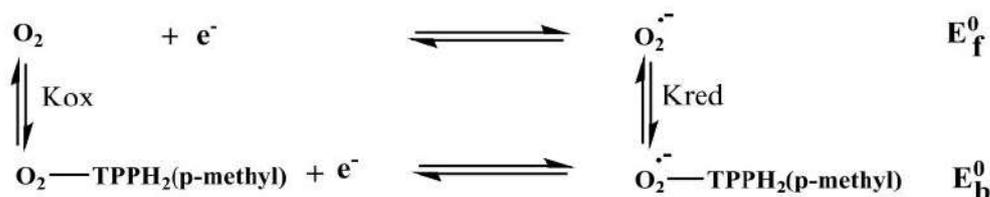


**Fig.2.** Cyclic voltammograms of oxygen-saturated DMF/0.1 Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub> on a GC electrode in the absence (black line) and in presence of (red line) 2 mM of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl), scan rate 100 mV.s<sup>-1</sup> at T = 28° C

The addition of an amount of 2 mM of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) has caused a small shift in peak potential  $\Delta E^0$  in the negative direction associated with a decrease in anodic peak current density. Table 2 summarizes the obtained results; the significant drop in anodic peak current density can be assigned to the decrease in O<sub>2</sub><sup>-</sup> radical concentration due to the formation of O<sub>2</sub><sup>-</sup> - TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) complex.

### 3.3.1. Ratio of binding constants ( $K_{ox}/K_{red}$ )

The peak potential shift of the O<sub>2</sub> / O<sub>2</sub><sup>-</sup> redox couple in the negative direction in the presence of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) indicates that the oxidation of O<sub>2</sub><sup>-</sup> is easier in presence of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) because its oxidized form O<sub>2</sub> is more strongly attached to TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) than its reduced form O<sub>2</sub><sup>-</sup>. For such a system, where both forms of the O<sub>2</sub> / O<sub>2</sub><sup>-</sup> redox couple interact with TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP, scheme 1 can be applied [14].



**Scheme 1.** Redox process of the free and TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) bound O<sub>2</sub><sup>•-</sup> redox couple

The application of the Nernst relation to the process presented in scheme 1 leads to equation (3) [15],

$$\Delta E^0 = E_b^0 - E_f^0 = E^0(\text{O}_2^{\cdot-} - \text{TPPH}_2) - E^0(\text{O}_2^{\cdot-}) = 0.059 \log \frac{K_{\text{ox}}}{K_{\text{red}}} \quad (3)$$

$E_f^0$  and  $E_b^0$  are the formal potentials of the O<sub>2</sub>/O<sub>2</sub><sup>•-</sup> couple in the free and bound forms respectively. The decreasing rate of the anodic peak current density  $\Delta i p_a \%$  and the peak potential shift  $\Delta E^0$  are summarized in table 2.

**Table 2.** Electrochemical data of free and O<sub>2</sub><sup>•-</sup> bound form of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) used to calculate ratio of binding constants

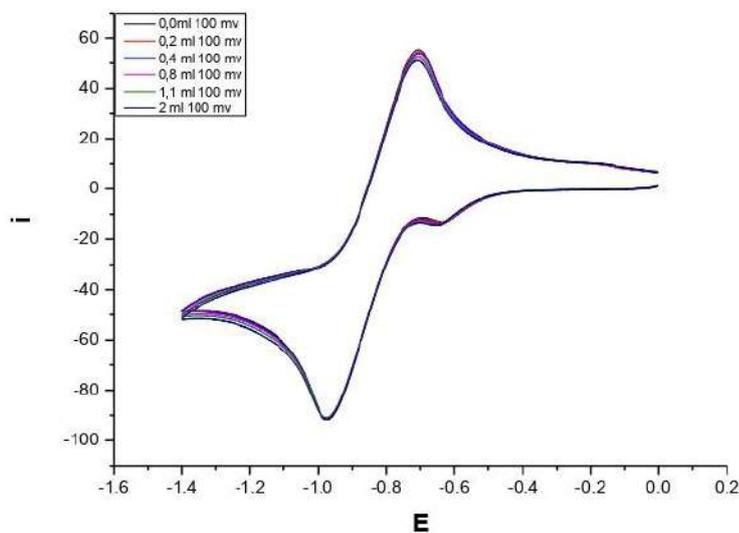
Compound	$E_{p_a}$ (V)	$E_{p_c}$ (V)	$E^0$ (V)	$\Delta E^0$ (mV)	$K_{\text{ox}} / K_{\text{red}}$
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	-0.706	-0.973	-0.84	-	-
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> - TPPH <sub>2</sub> (p-methyl)	-0.706	-0.973	-0.84	00	1

The Ratio of the binding constants is calculated by replacing  $\Delta E^0$  from table 2 in equation 3. The obtained ratios of the binding constants indicate that the interaction of the reduced form O<sub>2</sub><sup>•-</sup> with TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) is 1 times higher than its oxidized form O<sub>2</sub>.

### 3.3.2. Binding constant

The addition of increasing concentrations of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) in DMF to a solution of DMF saturated with commercial oxygen provokes remarkable decrease in the peak current density, (figure 3). The substantial decrease in anodic peak current density is due to the decrease in

$O_2^-$  concentration due to the formation of  $O_2^- - TPPH_2$  (p-methyl).

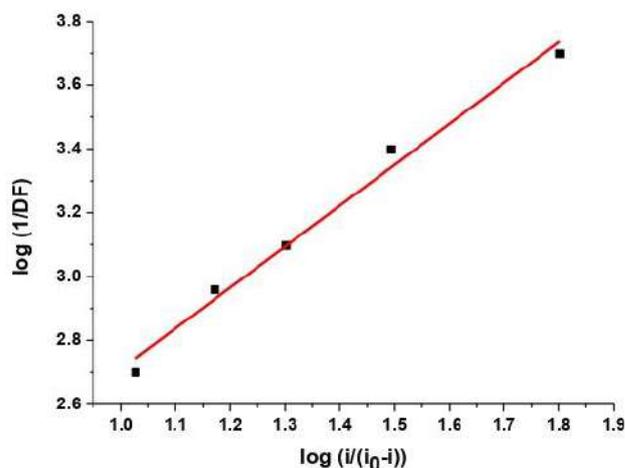


**Fig.3.** Cyclic voltammograms of oxygen-saturated DMF/0.1 Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub> on a GC electrode in the absence and presence of different concentrations of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl), scan rate 100 mV/s, at T = 28° C

The gradual decrease in peak current density of the  $O_2 / O_2^-$  redox couple by increasing TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) concentrations can be exploited to calculate the binding constant by applying the following equation (4) [15],

$$\log \left[ \frac{1}{[TPPH_2(p-methyl)]} \right] = \log K_b + \log \frac{i}{i_0 - i} \quad (4)$$

Figure 3 shows the plot of  $\log(1/C)$  versus  $\log i / (i_0 - i)$ .



**Fig.3.**  $\log(1/C)$  versus  $\log i/(i_0 - i)$  for  $O_2^-$  with varying concentration of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) in DMF/0.1 Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub>, used to calculate the binding constants of  $O_2^-$  – TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) product

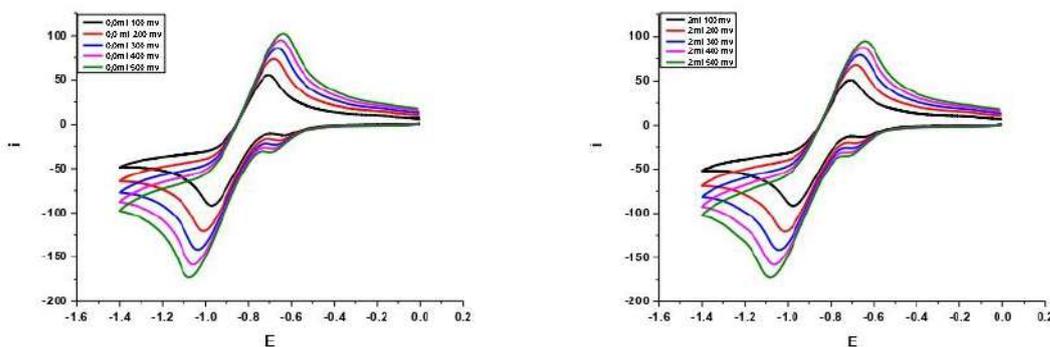
The intercept of the linear fitting of the plot  $\log(1/C)$  versus  $\log i/(i_0 - i)$  yielded the binding constants, from which the binding free energy was calculated, (table 3).

**Table 3.** Binding constants and binding free energies values of  $O_2^-$  – TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) product

Compound	Equation	R <sup>2</sup>	K <sub>b</sub> (L.mol <sup>-1</sup> )	-ΔG (KJ.mol <sup>-1</sup> )
$O_2^-$ – TPPH <sub>2</sub> (p-methyl)	$y = 1.28201x + 1.42748$	0.984	26.76	8.15
α-tocopherol	$y = 0.841x + 2.298$	0.986	198.6	13.11

### 3.3.3. Diffusion coefficients

The diffusion coefficients of the free radical  $O_2^-$  and its bounded form  $O_2^-$  – TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) were obtained by varying the potential scan rates (figure 4).

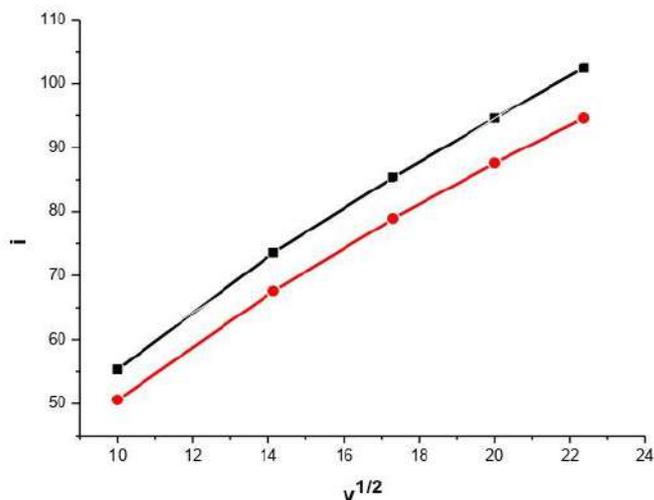


**Fig.4.** Succession of cyclic voltammograms at GC electrode of free radical  $O_2^-$  (a) and 2 mM of  $O_2^- - TPPH_2(p\text{-methyl})$  (b) in oxygen-saturated DMF/0.1  $Bu_4NBF_4$  at various scan rates (100-500 mV, increment 100 mV) at  $T = 28^\circ C$ . The vertical arrowhead indicates increasing scan rate

To further confirm the interaction of  $O_2^-$  radicals with  $TPPH_2(p\text{-methyl})$ , the relation  $i_{p_a} = f(\sqrt{v})$  was plotted before and after the addition of  $TPPH_2(p\text{-methyl})$ , using the following equation 5.

$$i = 2.69 \times 10^5 (\sqrt{n})^3 SC \sqrt{D} \sqrt{v} \quad (5)$$

The linear dependence of the peak currents density of both  $O_2^-$  and bounded forms  $O_2^- - TPPH_2(p\text{-methyl})$  on the square root of the potential scan rates suggests that the redox process is kinetically controlled by the diffusion step, (figure 5).



**Fig.5.**  $i_{p_a}$  vs.  $\sqrt{v}$  plots of oxygen-saturated DMF/0.1 Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub> (a) in the presence of 2 mM of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) (b), at different scan rates under the experimental conditions of figure 4

The diffusion coefficients of the free and O<sub>2</sub><sup>-</sup> bound TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) were determined from the slopes of Randles-Sevcik plots, values are summarized in table 4.

**Table 4.** Diffusion coefficients values of free and O<sub>2</sub><sup>-</sup> bound TPPH<sub>2</sub>(p-methyl)

Compound	Equation	R <sup>2</sup> values	D (cm <sup>2</sup> ·s <sup>-1</sup> )
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	y = 3.79515x+18.65192	0.995	1.64×10 <sup>-4</sup>
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> – TPPH <sub>2</sub> (p – methyl)	y = 3.55983x+16.16603	0.994	1.44×10 <sup>-4</sup>

The diffusion coefficient of bounded O<sub>2</sub><sup>-</sup> – TPPH<sub>2</sub> (p – methyl) is small when compared to free O<sub>2</sub><sup>-</sup> is suggestive of O<sub>2</sub><sup>-</sup> – TPPH<sub>2</sub> (p – methyl) product formation. The reason of the decrease in the diffusion coefficient of O<sub>2</sub><sup>-</sup> in presence of TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) is due to the higher molecular weight of the formed products.

#### 4. CONCLUSION

In the present work, we studied the interaction of superoxide anion radical with Meso-tetra-p-tolylporphyrin (TPPH<sub>2</sub>(p-methyl) using cyclic voltametry method. The decrease in anodic peak current density was used to evaluate the binding parameters of the interaction of O<sub>2</sub><sup>-</sup> with TPPH<sub>2</sub>(p-methyl. This study showed that the radical O<sub>2</sub><sup>-</sup> strongly interacts with TPPH<sub>2</sub>(p-methyl. Anodic peak current density of the O<sub>2</sub>/O<sub>2</sub><sup>-</sup> redox couple decreased as TPPH<sub>2</sub>(p-methyl ammount was gradually increased in solutions containing a fixed concentration of O<sub>2</sub><sup>-</sup> radicals. The IC<sub>50</sub> of the ligand TPPH<sub>2</sub>(p-methyl is higher than α-tocopherol. The low diffusion coefficient of the bounded O<sub>2</sub><sup>-</sup> – TPPH<sub>2</sub>(p – methyl compared to that of the free O<sub>2</sub><sup>-</sup> evidenced the formation of product which diffuses slowly than free O<sub>2</sub><sup>-</sup> radical.

#### 5. REFERENCES

- [1] T. Lanez, M. Henni, H. Hemmami, St. Cerc. St. CICBLA. 16 (2), 161 (2015)
- [2] T. Lanez, H. Hemmami. Curr. Pharm. Anal. (2017)  
<https://doi.org/10.2174/1573412912666160831145524>
- [3] S. Ahmed, F. Shakeel, Czech. J. Food Sci. (2012)  
<https://doi.org/10.17221/447/2010-CJFS>
- [4] S. Ahmed, F. Shakeel. Pak. J. Pharm. Sci., 25(3), 501 (2012)
- [5] S. J. Thompson, M. R. Brennan, S. Y. Lee, G. Dong, Chem. Soc. Rev. (2018)  
<https://doi.org/10.1039/C7CS00582B>
- [6] P. Molyneux, Songklanakarin J. Sci. Technol. 26, 211 (2004)
- [7] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, LWT - Food Sci. Tech. (1995)  
[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- [8] M. Antolovich, P.D. Prenzler, E. Patsalides, S. McDonald, K. Kevin Robards, Analyst (2002) <https://doi.org/10.1039/B009171P>
- [9] E.I. Korotkova, Y.A. Karbainov, O.A. Avramchik, Anal. Bioanal. Chem. (2003)

<https://doi.org/10.1007/s00216-002-1687-y>

[10] S. Ahmed, F. Shakeel, Cz. J. Food Sci. (2012) <https://doi.org/10.17221/447/2010-CJFS>

[11] A.M. Pisoschi, M.C. Cheregi, A.F. Danet, Molecules (2009)

<https://doi.org/10.3390/molecules14010480>

[12] P. Molyneux, J Sci Technol. 26 (2003) 211-219

[13] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, LWT - Food Sci. Tech. (1995)

[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

[14] N. Pellegrini, M. Serafini, B. Colombi, D. Del Rio, S. Salvatore, M. Bianchi, F. Brighenti. J. Nutr. (2003) <https://doi.org/10.1093/jn/133.9.2812>

[15] N.J. Miller, A.T. Diplock, C. Rice-Evans, M.J. Davies, V. Gopinathan, A. Milner, Clin. Sci. (1993) <https://doi.org/10.1042/cs0840407>

**How to cite this article:**

Boutarfaia A, Bechki L, Lanez T, Lanez E, Kadri M. Meso-tetra-p-tolylporphyrin: synthesis, characterisation, antioxidant activity and determination of binding parameters of with superoxide anion radical. J. Fundam. Appl. Sci., 2019, 11(2), 940-952.

## ARTICLE TYPE

# Synthesis, Antioxidant Activity, and Determination of Binding Parameters of Meso-Tetra-4-Acetophenyl-Porphyrin and its Palladium (II) Complex with Superoxide Anion Radicals.

Amira Boutarfaia<sup>a,b</sup>, Lazhar Bechki<sup>b</sup>, Touhami Lanez<sup>\*a</sup>, Elhafnaoui Lanez<sup>a</sup> and Mohamed Kadri<sup>b</sup>

<sup>a</sup>VTRS Laboratory, University of El Oued, B.P.789, 39000, El Oued, Algeria; <sup>b</sup>Chemistry Department, University of Ouargla, PO Box 511, 30000, Ouargla, Algeria

## ARTICLE HISTORY

Received:  
Revised:  
Accepted:

DOI:

**Abstract:** Meso-tetra-4-acetophenyl-porphyrin (TAcPPH2) was synthesized by reacting 4-acetyl-benzaldehyde with pyrrole in propionic acid, and used as a ligand for the synthesis of palladium (II) complex (PdTAcPP). The structure of the ligand and the complex were characterized by NMR and electronic spectroscopy. The antioxidant activity and the binding parameters of both the ligand and its complex with superoxide anion radical ( $O_2^-$ ) were measured using cyclic voltammetry based assay. The assays were based on the measurement of the anodic peak current density of  $O_2^-$  electrochemically generated by reduction of molecular oxygen in DMF. The complex PdTAcPP showed the highest antioxidant activity ( $0.73 \pm 0.01$  mg/mL) which is four times higher than that of the standard antioxidant  $\alpha$ -tocopherol ( $3.04 \pm 0.03$  mg/mL). Binding parameters like binding constants, the ratio of binding constants and binding free energies were also measured. The value of the binding free energy ranging from  $-7.89$  kJmol<sup>-1</sup> for TAcPPH2 to  $-17.59$  kJ.mol<sup>-1</sup> for PdTAcPP suggests an electrostatic interaction of  $O_2^-$  with TAcPPH2 and PdTAcPP which has been found to be the dominant interaction mode. The kinetics of the interaction reaction of the ligand and complex was quantified having second-order rate constant values equal to 0.2 and 1.3 M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> respectively.

**Keywords:** Porphyrin; Homogeneous rate constant; Cyclic voltammetry; Superoxide anion radical; Binding parameters; Antioxidant activity coefficient.

## 1. INTRODUCTION

The relatively stable superoxide anion free radical ( $O_2^-$ ) that can be formed by the one-electron reduction of molecular oxygen or by the one-electron oxidation of hydrogen peroxide is of great significance as a radical species implicated in diverse chemical and biological systems. Within biological systems, the superoxide anion free radical is produced during the normal metabolic process of the body when electrons exchange between reductants, usually derived from food, and oxidants, of which molecular oxygen is the primary example, resulting in an array of problems that have different impacts on cells, including aging, oxidative stress, cancer, and lipid peroxidation, etc. [1-3].

The superoxide anion free radical ( $O_2^-$ ) remains a radical target of great interest for the evaluation of the antioxidant activity as free radical  $O_2^-$  scavenging activity and it is

among the most used assay for evaluating the antioxidant activity of an antioxidant compound, an extract or other biological solutions [4,5]. The assay is based on measuring the decrease in the anodic peak current density of the redox couple  $O_2/O_2^-$  upon the addition of an antioxidant compound. Most published work in the field of free radical  $O_2^-$  scavenging activity is generally limited to the evaluation of the antioxidant activity of potential antioxidant compounds. The results are often expressed as the efficient concentration (IC<sub>50</sub>), defined as the quantity of antioxidant compound required to decrease the initial  $O_2^-$  concentration by 50%. Until now, only a few published research papers have dealt with the determination of the binding parameters of the interaction of free radical  $O_2^-$  with antioxidants compounds [6,7].

Meso-tetra-4-acetophenyl-porphyrin is a macrocyclic aromatic compound with an 18 $\pi$  electron structure, formed by four subunits of pyrrole linked together via methine bridges. Nitrogen atoms of meso-tetra-4-acetophenyl-porphyrin can react with metal ions to produce very stable

\*Address correspondence to this author at the VTRS Laboratory, University of El Oued, P.O. Box: 789, 39000, El Oued, Algeria; Tel: +213661655550; E-mails: [touhami-lanez@univ-eloued.dz](mailto:touhami-lanez@univ-eloued.dz)

metalloporphyrins complexes, and the best known metal ions complexes of meso-tetra-4-actophenyl-porphyrin are those of transition metal ions [8]. The good mobility of electrons in the ring confers on meso-tetra-4-actophenyl-porphyrin a wide range of applications such as electrochemistry and catalysis [9], photomedicine [10] and photosynthesis [11]. In the present study, we report an electrochemical method for the determination of binding parameters of  $O_2^-$  free radical with the ligand meso-tetra-4-actophenyl-porphyrin (TAcPPH<sub>2</sub>) and its palladium (II) complex (PdTAcPP). The method is based on cyclic voltammetry measurements. In addition, diffusion coefficients of the free and  $O_2^-$  bound forms of TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP were evaluated from the Randles-Sevcik equation [12].

## 2. EXPERIMENTAL

### 2.1. Materials and methods

#### 2.1.1. Chemical

Solvents were distilled prior to use: tetrahydrofuran from sodium/benzophenone and dichloromethane from calcium hydride (CaH<sub>2</sub>). N,N-Dimethylformamide (DMF) (HPLC-grade; Sigma-Aldrich) was used as solvent in electrochemical assays, tetrabutylammonium tetrafluoroborate (Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub>) (electrochemical grade 99%; Sigma-Aldrich) was used as supporting electrolyte and its concentration was kept at 0.1 M. Molecular oxygen was provided from a cylinder (research grade (99.99%); Linde gaz Algérie),  $\alpha$ -tocopherol (C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>, MW = 430.71) (97%), were all purchased from Alfa Aesar and used without further purification. All other reagents used were analytical grade.

#### 2.1.2. Synthesis

The ligand TAcPPH<sub>2</sub> was synthesized from the reaction of 4-acetyl-benzaldehyde and pyrrole in propionic acid (figure 1a). 4-acetyl-benzaldehyde (0.6 g, 4 mmol) was added to a well-stirred solution of propionic acid (5 mL), and the mixture was stirred at room temperature until all the aldehyde was completely dissolved. A solution of distilled pyrrole (0.24g, 3.6 mmol) in propionic acid (0.3 mL) was then added dropwise, and the reaction mixture was refluxed for 30 min. It was then allowed to cool to room temperature, when the resulting dark suspension was filtered, washed with 10 mL methanol/water (1:1) and then with methanol until the filtrate became clear. The obtained purple solid was dried in vacuum to yield 0.17 g of TAcPPH<sub>2</sub> (22%).

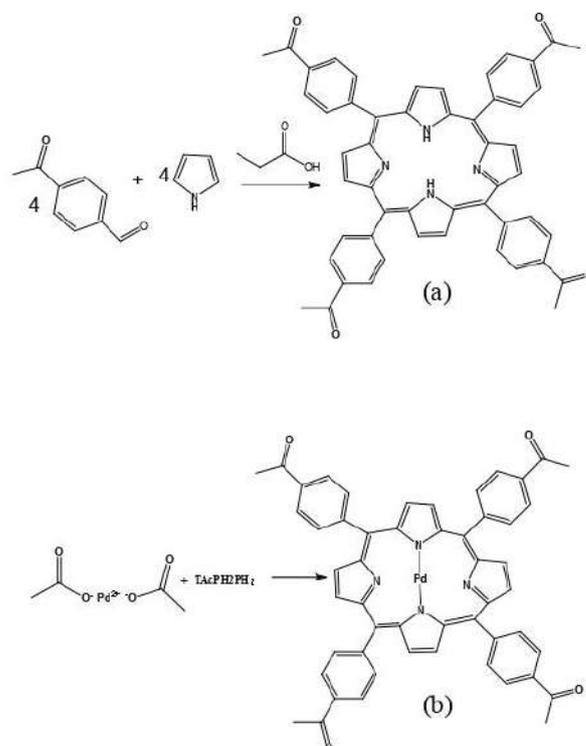
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K):  $\delta$ , (ppm): -0.10 (s, 2H, NH), 2.48 (s, 12H, CH<sub>3</sub>), 8.2 (d, 8H, *m*-benzene), 8.4 (d, 8H, *o*-benzene), 9.1 (d, 8H,  $\beta$ -pyrrole).

UV-Vis (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\lambda_{max}$  = 417 and 514 nm (logM 6.68 and 4.63).

The PdTAcPP (figure 1b) was prepared from the ligand TAcPPH<sub>2</sub> and methanolic palladium acetate solution in chloroform. To a saturated solution of palladium acetate (0.13 g, 0.6 mmol) in methanol was added a solution of TAcPPH<sub>2</sub> (0.39 g, 0.5 mmol) in chloroform (30 mL), and the resulting mixture was stirred for 1 h at room temperature. It was then poured into 100 ml distilled water and extracted with chloroform, and the extract was washed with water then with brine and dried over anhydrous magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was recrystallized from a mixture of

dichloromethane/methanol 1/1 to obtain a purple powder, PdTAcPP (0.41 g, yield 94%).

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$ , ppm: 2.8 (s, 12H, CH<sub>3</sub>), 11.1 (d, 8H, *m*-benzene), 11.3 (d, 8H, *o*-benzene), 11.7 (d, 8H,  $\beta$ -pyrrole).



**Figure 1.** Synthetic scheme of meso-tetra-4-actophenyl-porphyrin (a) and its palladium (II) complex (b)

The proton NMR spectra of TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP were compared to find the coordination sites that possibly participated in coordination with the PdTAcPP. In the ligand (Figure 1a), the two protons of the two amine group (NH) occurred at 8.86 ppm, while in its metal complex, this peak had disappeared, which indicates the participation of nitrogen atoms of the amine group in coordination with palladium ions.

#### 2.1.3. Instrumentation and software

Cyclic voltammetry experiments were performed using a PGZ301 potentiostat (radiometer analytical SAS) and a voltammetric cell with a volumetric capacity of 25 mL containing three electrodes: a glassy carbon working electrode, having an area equal to 0.013 cm<sup>2</sup>, a Pt wire counter electrode, and a Hg/Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> reference electrode (3.0 M KCl). The solutions were saturated with high purity commercial oxygen for 15 min prior to each experiment. 1H NMR spectra were collected on a Bruker Advance 400 spectrometer at 400.155 MHz, with deuterated chloroform at 7.26 ppm as an internal reference.

#### 2.1.4. Scavenging activity of superoxide anion radicals

The ability of the test sample to quench  $O_2^-$  radicals (% Inhibition of  $O_2^-$ ) was determined from equation (1) [13-15],

$$\% \text{ } \text{O}_2^- \text{ radical scavenging activity} = \frac{i_0 - i}{i_0} \times 100 \quad (1)$$

Where  $i_0$  and  $i$  are the anodic peak current densities of the superoxide anion radical in the absence and presence of the potential-antioxidant compound, respectively.

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1. Free radical scavenging activities study

In the present study, the  $\text{O}_2^-$  radicals scavenging activity was used to measure the antioxidant activity of TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP. In order to obtain kinetic curves and to calculate the IC<sub>50</sub> values,  $\text{O}_2^-$  radical scavenging activity was plotted against different compound concentrations (0.0782, 0.313, 0.782, 1.17, 1.56 and 2.07 mg/mL) for TAcPPH<sub>2</sub> and (0.177, 0.354, 0.620, 0.709 and 0.886 mg/mL) for PdTAcPP (data not presented). The antioxidant capacity of TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP has been expressed as IC<sub>50</sub>. The IC<sub>50</sub> value was defined as the concentration (mg/mL) of the potential antioxidant compound that inhibits the formation of  $\text{O}_2^-$  radicals by 50%. All the measurements were carried out in triplicate and the graph was plotted with the averages of three observations. The equations obtained from the linear calibration graph in the studied concentration range for TAcPPH<sub>2</sub>, PdTAcPP and  $\alpha$ -tocopherol are summarized in table 1 (where  $y$  represents the value of the anodic peak current density of  $\text{O}_2^-$ , and  $x$  the value of the sample concentrations, expressed as mg/mL).

Both the ligand TAcPPH<sub>2</sub> and its Pd(II) complex PdTAcPP show  $\text{O}_2^-$  radicals scavenging activities, the antioxidant activity of the ligand being almost half that of the standard antioxidant  $\alpha$ -tocopherol; in contrast, the antioxidant activity of the Pd(II) complex PdTAcPP is four times higher than that of the standard antioxidant  $\alpha$ -tocopherol. In other words,  $\text{O}_2^-$  radicals scavenging activities of the complex PdTAcPP is 10 times higher than that of the ligand TAcPPH<sub>2</sub>.

#### 3.2. Antioxidant activity coefficient

The antioxidant activity coefficient ( $K_{aac}$ ) can be defined as the ratio of the pick of the anodic current density values of  $\text{O}_2^-$  in the presence and absence of the studied antioxidant compounds. This coefficient also measures the relative superoxide scavenging activity [16] and is calculated using equation 2,

$$K_{aac} = \frac{\Delta i}{(i_0 - i_{res})} \frac{1}{\Delta C} \quad (2)$$

where  $\Delta i$  is the variation in anodic pick current density caused by the addition of the antioxidant compound,  $i_0$  is the anodic pick current density in the absence of the studied antioxidant compound,  $i_{res}$  is the residual current density of oxygen in the system and  $\Delta C$  is the variation of the concentration of the studied antioxidant compound in mol/L.

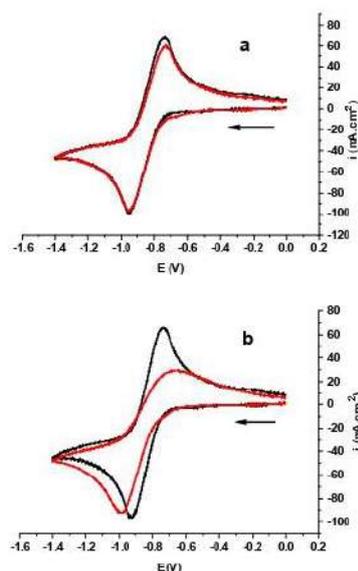
Equation 2 is only applied at low concentrations of the studied antioxidant compound, i.e., for the linear change region. Obtained values of  $K_{aac}$  are shown in Table1.

**Table 1.** IC<sub>50</sub> values obtained using  $\text{O}_2^-$  radicals scavenging activity.

Compound	Equation	R <sup>2</sup> values	IC <sub>50</sub> (mg/mL)	K <sub>aac</sub>
TAcPPH <sub>2</sub>	$y = 5.7161x + 1.5036$	0.985	$8.48 \pm 0.06$	$107.41 \pm 1.456$
PdTAcPP	$y = 64.2187x + 2.7526$	0.987	$0.73 \pm 0.01$	$1223.37 \pm 3.879$
$\alpha$ -Tocopherol	$y = 15.990x + 1.3746$	0.950	$3.04 \pm 0.03$	$224.62 \pm 2.224$

#### 3.3. Voltammetric studies of $\text{O}_2^-$ - TAcPPH<sub>2</sub> and $\text{O}_2^-$ - PdTAcPP interaction

Typical CV behavior of  $\text{O}_2^-$  in DMF/0.1M Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub> in the potential window of 0.0 to -1.4 V at a glassy carbon electrode in the absence and presence of a solution of 2.65 mM of TAcPPH<sub>2</sub> and 1 mM of PdTAcPP in the same solvent is shown in Figure 2. The free  $\text{O}_2/\text{O}_2^-$  redox couple exhibits one oxidation peak at 0.742 and one reduction peak at 0.956 V. Figure 2 also shows the effect of the addition of TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP to a solution of  $\text{O}_2^-$  in DMF/0.1M Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub> on the oxidation peak current density of the  $\text{O}_2/\text{O}_2^-$  couple. The decrease in the anodic peak current density, caused by the addition of TAcPPH<sub>2</sub> or PdTAcPP, can be explained by the reaction of  $\text{O}_2^-$  with TAcPPH<sub>2</sub> or PdTAcPP [17,13]. This decrease can be used for the calculation of the binding constant, whereas the shift in peak potential values can be exploited for the determination of the mode of interaction [18,19].



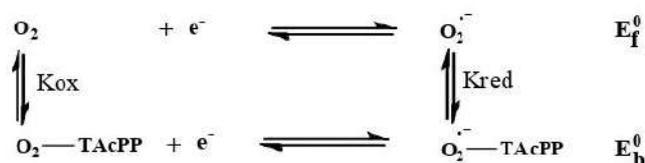
**Figure 2.** Cyclic voltammograms of oxygen-saturated DMF/0.1 Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub> on a GC electrode in the absence (black line) and in presence of (red line) 2.65 mM of TAcPPH<sub>2</sub> (a) and 1mM of PdTAcPP (b), Scan rate 100 mV.s<sup>-1</sup>, T = 28° C

The addition of 2.65 mM of TAcPPH<sub>2</sub> and 1 mM of PdTAcPP caused a slight shift in peak potential  $\Delta E^\circ$  in the negative direction associated with a remarkable decrease in

the anodic peak current density, which is due to the scavenging activity of the added compounds [20]. Table 2 summarizes the obtained results; in which the significant drop in anodic peak current density can be assigned to the decrease in  $O_2^-$  radical concentration due to the formation of  $O_2^-$ -TAcPPH<sub>2</sub> and  $O_2^-$ -PdTAcPP adducts.

### 3.3.1. The ratio of binding constants ( $K_{ox}/K_{red}$ )

The peak potential shift of the  $O_2/O_2^-$  redox couple in the negative direction in the presence of TAcPPH<sub>2</sub> or PdTAcPP indicates that the oxidation of  $O_2^-$  is easier in the presence of TAcPPH<sub>2</sub> or PdTAcPP because its oxidized form  $O_2$  is more strongly attached to TAcPPH<sub>2</sub> or PdTAcPP than its reduced form  $O_2^-$ . For such a system, where both forms of the  $O_2/O_2^-$  redox couple interact with TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP, scheme 1 can be applied [20].



**Scheme 1.** Redox process of the free and TAcPP bound  $O_2^-$  redox couple TAcPP represents TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP

The application of the Nernst relationship to the process presented in scheme 1 leads to equation (3) [21],

$$\Delta E^0 = E_b^0 - E_f^0 = E^0(O_2^- - TAcPP) - E^0(O_2^-) = 0.059 \log \frac{K_{ox}}{K_{red}} \quad (3)$$

$E_f^0$  and  $E_b^0$  are the formal potentials of the  $O_2/O_2^-$  couple in the free and bound forms, respectively. The decreasing rate of the anodic peak current density  $\Delta i_p\%$  and the peak potential shift  $\Delta E^0$  are summarized in Table 2.

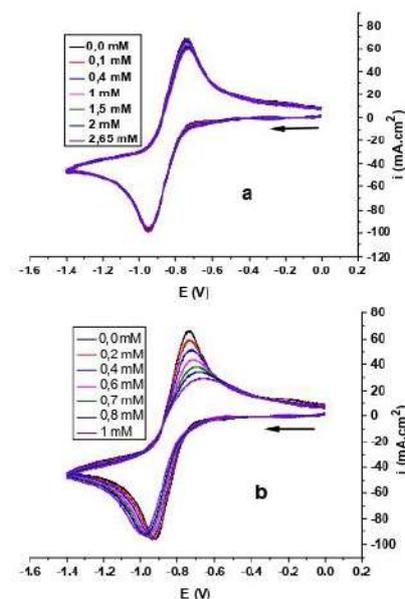
**Table 2.** Electrochemical data of the free and  $O_2^-$  bound forms of TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP used to calculate the ratio of the binding constants

Compound	$E_{p_a}$ (V)	$E_{p_c}$ (V)	$E^0$ (V)	$\Delta E^0$ (mV)	$K_{ox} / K_{red}$
$O_2^-$	-0.74	-0.95	-0.85	-	-
$O_2^- - TAcPPH_2$	-0.74	-0.95	-0.85	-1.7	1.07
$O_2^-$	-0.74	-0.93	-0.83	-	-
$O_2^- - PdTAcPP$	-0.67	-0.99	-0.83	-4.8	1.21

The ratio of the binding constants is calculated by replacing  $\Delta E^0$  from table 2 in equation 3. The obtained ratios of the binding constants indicate that the interaction of the reduced form  $O_2^-$  with TAcPPH<sub>2</sub> is 1.07 times higher than its oxidized form  $O_2$ , while the interaction of the reduced form  $O_2^-$  with PdTAcPP is 1.21 times stronger than the oxidized form  $O_2$ .

### 3.3.2. Binding constant

The addition of different concentrations of TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP in DMF to a solution of DMF saturated with commercial oxygen provokes a remarkable decrease in the peak current density, Figure 3. The substantial decrease in anodic peak current density is due to the decrease in  $O_2^-$  concentration due to the formation of  $O_2^-$ -TAcPPH<sub>2</sub> and  $O_2^-$ -PdTAcPP products.

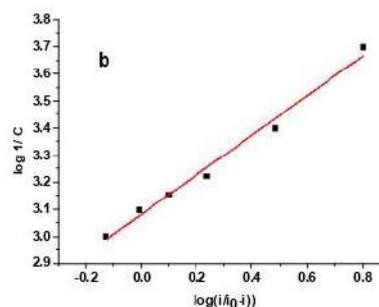


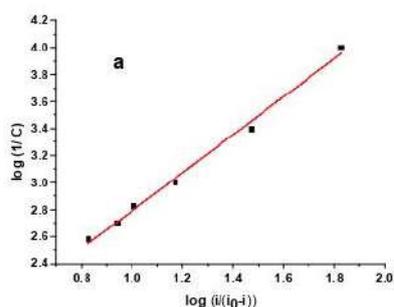
**Figure 3.** Cyclic voltammograms of oxygen-saturated DMF/0.1 Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub> on a GC electrode in the absence and the presence of different concentrations of TAcPPH<sub>2</sub> (a) and PdTAcPP (b), scan rate 100 mV/s, T = 28 °C

The gradual decrease in peak current density of the  $O_2/O_2^-$  redox couple by increasing TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP concentrations can be exploited to calculate the binding constant by applying equation (4) [21],

$$\log \frac{1}{C} = \log K_b + \log \frac{i}{i_0 - i} \quad (4)$$

where C represents the concentration of TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP (mol.L<sup>-1</sup>),  $K_b$  refers to the binding constant (L.mol<sup>-1</sup>),  $i_0$  and  $i$  are the anodic peak current densities in the absence and presence of TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP, respectively. Figure 3 shows the plot of  $\log(1/C)$  versus  $\log(i/(i_0 - i))$ .





**Figure 4.**  $\log(1/C)$  versus  $\log i/(i_0 - i)$  for  $O_2^-$  with varying concentration of TAcPPH<sub>2</sub> (a) and PdTAcPP (b) in DMF/0.1 Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub>, used to calculate the binding constants of  $O_2^-$ -TAcPPH<sub>2</sub> and  $O_2^-$ -PdTAcPP products

The intercept of the linear fitting of the plot  $\log(1/C)$  versus  $\log i/(i_0 - i)$  yielded the binding constants from which the binding free energy was calculated (Table 3).

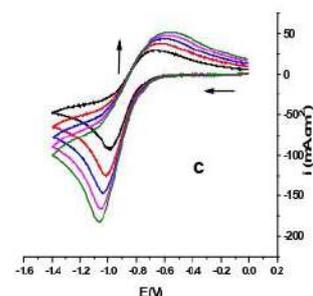
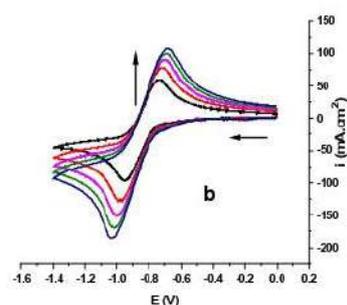
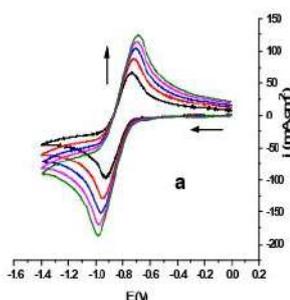
**Table 3.** Binding constants and binding free energies values of  $O_2^-$ -TAcPPH<sub>2</sub> and  $O_2^-$ -PdTAcPP products

Compound	Equation	R <sup>2</sup>	K <sub>b</sub> (L.mol <sup>-1</sup> )	-ΔG (kJ.mol <sup>-1</sup> )
$O_2^-$ -TAcPPH <sub>2</sub>	y =	0.993	24.1	7.89
	1.40821x + 1.38201			
$O_2^-$ -PdTAcPP	y =	0.984	1204.5	17.59
	0.73015x + 3.08082			
α-Tocopherol	y = 0.841x + 2.298	0.986	198.6	13.11

The negative values of ΔG indicate the spontaneity of the  $O_2^-$ -TAcPPH<sub>2</sub> and  $O_2^-$ -PdTAcPP interactions, whereas its magnitude indicates the weak binding between  $O_2^-$  and TAcPPH<sub>2</sub> or PdTAcPP [22].

### 3.3. Diffusion coefficients

To calculate the diffusion coefficients of the free radical  $O_2^-$  and its bounded forms  $O_2^-$ -TAcPPH<sub>2</sub> and  $O_2^-$ -PdTAcPP, voltammograms were obtained by varying the potential scan rates, as shown in figure 5, in which all the voltammograms present well-defined stable redox peaks that could be attributed to the redox process of the  $O_2/O_2^-$  couple.



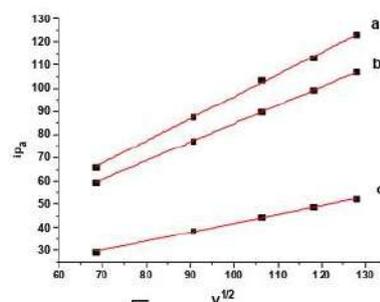
**Figure 5.** Succession of cyclic voltammograms at the GC electrode of free radical  $O_2^-$  (a), 2.65 mM of  $O_2^-$ -TAcPPH<sub>2</sub> (b) and 1 mM of  $O_2^-$ -PdTAcPP (c) in oxygen-saturated DMF/0.1 Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub> at various scan rates (100-500 mV, increment 100 mV) T = 28° C. The vertical arrows indicate increasing scan rate.

To further confirm the interaction of  $O_2^-$  radicals with TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP, the relationship  $i p_a = f(\sqrt{v})$  was plotted before and after the addition of TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP, using equation 5 [12].

$$i = 2.69 \times 10^5 (\sqrt{n})^3 S C \sqrt{D} \sqrt{v} \quad (5)$$

where  $i$  is the peak current (A),  $S$  is the surface area of the electrode (cm<sup>2</sup>),  $C$  is the bulk concentration (mol.cm<sup>-3</sup>) of the electroactive species,  $D$  is the diffusion coefficient (cm<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>) and  $v$  is the potential scan rate (V.s<sup>-1</sup>).

The linear dependence of the peak current density of both  $O_2^-$  and bounded forms  $O_2^-$ -TAcPPH<sub>2</sub> and  $O_2^-$ -PdTAcPP on the square root of the potential scan rates suggests that the redox process is kinetically controlled by the diffusion step, figure 6.



**Figure 6.**  $i p_a$  vs.  $\sqrt{v}$  plots of oxygen-saturated DMF/0.1 Bu<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub> (a) in the presence of 2.65 mM of TAcPPH<sub>2</sub> (b), 1 mM of PdTAcPP (c), at different scan rates under the experimental conditions of Figure.5.

The diffusion coefficients of the free and  $O_2^-$  bound TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP were determined from the slopes of Randles-Sevcik plots, with the values summarized in Table 4.

**Table 4.** Diffusion coefficients values of free and  $O_2^-$  bound TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP

Compound	Equation	R <sup>2</sup>	D (cm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )
$O_2^-$	$y = 0.38243x + 3.39929$	0.998	$1.663 \times 10^{-6}$
$O_2^- - TAcPPH_2$	$y = 0.79566x + 5.11095$	0.999	$7.199 \times 10^{-6}$
$O_2^- - PdTAcPP$	$y = 0.95704x + 0.64668$	0.999	$10.41 \times 10^{-6}$

The diffusion coefficients of bounded  $O_2^- - TAcPPH_2$  and  $O_2^- - PdTAcPP$  are small when compared to free  $O_2^-$  which is suggestive of  $O_2^- - TAcPPH_2$  and  $O_2^- - PdTAcPP$  product formation. The reason for the decrease in the diffusion coefficient of  $O_2^-$  in the presence of TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP is due to the higher molecular weight of the formed products.

#### 4. HOMOGENEOUS KINETICS

In order to calculate the second-order homogenous rate constant (K) of the kinetic of the free-radical scavenging, first, the pseudo-first-order rate constants  $K_f$  for the reaction of the studied antioxidant compounds and superoxide radical were calculated using the Nicholson–Shain equation (6) [23].

$$E_{pa} = E_0 - \frac{RT}{nF} \left[ \left( 0.78 - \ln \sqrt{\frac{nFK_f}{RT\nu}} \right) \right] \quad (6)$$

where  $E_0$  is the formal potential of the  $O_2/O_2^-$  redox couple in the free form,  $E_{pa}$  is the anodic peak potential after the addition of the limit concentration of the studied antioxidant compounds and  $\nu$  is the scan rate of the potential (mV/s). Secondly the values of the second-order homogenous rate constant (K) for the ligand TAcPPH<sub>2</sub> and the complex PdTAcPP were determined from the following equation 7 [24].

$$K = \frac{K_f}{C} \quad (7)$$

where C is the limit concentration of the studied antioxidant compounds that permit the obtaining of the pseudo-first-order condition.

From the K values, the Gibbs energy of activation ( $\Delta G^*$ ) (Table 5) was calculated using the following relationship [23, 24],

$$\Delta G^* = RT \ln \frac{kT}{hK} \quad (8)$$

where k represents the Boltzmann constant, R is the gas constant and h is Planck's constant.

**Table 5.** Homogeneous rate constant and energy of activation for TAcPPH<sub>2</sub>, PdTAcPP and  $\alpha$ -tocopherol

Entry	K (M <sup>-1</sup> S <sup>-1</sup> )	$\Delta G^*$ (kJ.mol <sup>-1</sup> )
TAcPPH <sub>2</sub>	0.2	77.73
PdTAcPP	1.3	73.02
$\alpha$ -Tocopherol	1.6	75.8

#### CONCLUSION

In the present work, we studied the interaction of an electrochemically generated superoxide anion radical with the ligand meso-tetra-4-actophenyl-porphyrin (PdTAcPP) and its palladium (II) complex (PdTAcPP) using cyclic voltammetry techniques. The decrease in anodic peak current density was exploited to evaluate the binding parameters of the interaction of  $O_2^-$  with TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP. This study showed that the radical  $O_2^-$  strongly interacts with both the ligand and its palladium complex. the anodic peak current density of the  $O_2/O_2^-$  redox couple systematically decreased as TAcPPH<sub>2</sub> and PdTAcPP concentration was gradually increased in solutions containing a fixed concentration of  $O_2^-$  radicals. This decrease in anodic current densities is ascribed to antiradical activity for the added ligand and its complex. IC<sub>50</sub>, as antioxidant activity coefficients and binding constant values all showed that the complex PdTAcPP has higher antiradical activity and binding strength. The negative values and the magnitude of the binding free energy indicated, respectively, the spontaneity and the electrostatic interaction of  $O_2^-$  with the ligand TAcPPH<sub>2</sub> and its complex PdTAcPP as the dominant mode. The diffusion coefficients of the free and  $O_2^-$  bound forms were evaluated by the application of the Randles-Sevcik equation. The low diffusion coefficient of the bounded  $O_2^- - TAcPPH_2$  and  $O_2^- - PdTAcPP$  compared to that of the free  $O_2^-$  evidenced the formation of a product which diffuses more slowly than the free  $O_2^-$  radical. The homogenous rate constants of  $O_2^- - TAcPPH_2$  and  $O_2^- - PdTAcPP$  interactions were equal to 0.2 and 1.3 M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>, respectively.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the Ministry of Higher Education and Scientific research for financial support of the project (B00L01UN390120110001). We also acknowledge the assistance of M. Ali Tliba from Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes (VTRS) staff.

#### REFERENCES

- [1] Ighodaro, O.M.; Akinloye, O.A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex, J Med*, **2017**, 54(4), 287-293.
- [2] Sen, S.; Chakraborty, R.; Sridhar, C.; Reddy, Y.S.R.; De, B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *Inter, J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **2010**, 3(1), 91-100.
- [3] Giustarini, D.; Dalle-Donne, I.; Tsikas, D.; Rossi, R. Oxidative stress and human diseases: Origin, link, measurement, mechanisms, and biomarkers *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **2009**, 46(5-6), 241-81.

- [4] Lanez, T.; Henni, M.; Hemmami, H. Development of cyclic voltammetric method for the study of the interaction of antioxidant standards with superoxide anion radicals case of  $\alpha$ -tocopherol. *St. Cerc. St. CICBLA*, **2015**, 16(2), 161-168.
- [5] Lanez, T.; Hemmami, H. Antioxidant Activities of N-ferrocenylmethyl-2- and -3-nitroaniline and Determination of their Binding Parameters with Superoxide Anion Radicals. *Curr. Pharm. Anal.*, **2017**, 13(00), 1-7.
- [6] Ahmed, S.; Shakeel, F. Antioxidant Activity Coefficient, Mechanism, and Kinetics of Different Derivatives of Flavones and Flavanones Towards Superoxide Radical. *Czech. J. Food Sci.*, **2012**, 30(2), 153-163.
- [7] Ahmed, S.; Shakeel, F. Voltammetric determination of antioxidant character in *Berberis lycium* Royel, *Zanthoxylum armatum* and *Morus nigra* Linn plants. *Pak. J. Pharm. Sci.*, **2012**, 25(3), 501-7.
- [8] Thompson, S. J.; Brennan, M. R.; Lee, S. Y.; Dong, G. Synthesis and applications of rhodium porphyrin complexes. *Chem. Soc. Rev.*, **2018**, 47, 929-981.
- [9] Kadri, M.; Hou, J.; Dorcet, V.; Roisnel, T.; Bechki, L.; Miloudi, A.; Bruneau, C.; Gramage-Doria, R. Palladium-Catalysed Cross-Coupling Reactions Controlled by Noncovalent Zn...N Interactions. *Chem. Eur. J.*, **2017**, 23, 5033-5043.
- [10] Huang, H.; Song, W.; Rieffel, J.; Lovell, J.F. Emerging applications of porphyrins in photomedicine. *Front. Phys.*, **2015**, 3, 1-15.
- [11] Alves, E.; Faustino, M.A.F.; Maria Neves, G.P.M.S.; Cunha, A.; Nadais, H.; Almeida, A. Potential applications of porphyrins in photodynamic inactivation beyond the medical scope. *J Photoch Photobio C*. **2015**, 22, 34-57.
- [12] Brett, C.M.A.; Brett, A.M.O. *Electrochemistry: Principles, Methods and Applications*, Oxford Science University Publications: Oxford, **1993**; pp. 427-435.
- [13] Molyneux, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, **2004**, 26, 211-219.
- [14] Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Tech.*, **1995**, 28(1), 25-30.
- [15] Antolovich, M.; Prenzler, P.D.; Patsalides, E.; McDonald, S.; Kevin Robards, K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, **2002**, 127, 183-198.
- [16] Korotkova, E.I.; Karbainov, Y.A.; Avramchik, O.A. Investigation of antioxidant and catalytic properties of some biologically active substances by voltammetry. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2003**, 375(3), 465-468.
- [17] Pisoschi, A.M. Cheregi, M.C.; Danet, A.F. Total Antioxidant Capacity of Some Commercial Fruit Juices: Electrochemical and Spectrophotometrical Approaches. *Molecules*, **2009**, 14(1), 480-493.
- [18] Milardovic, S.; Ivekovic, D.; Grabaric, B.S. A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, **2006**, 68(2), 175-180.
- [19] Milardovic, S.; Ivekovic, D.; Rumenjak, V.; Grabaric, B.S. Use of DPPH|DPPH Redox Couple for Biamperometric Determination of Antioxidant Activity. *Electroanalysis*, **2005**, 17(20), 1847-1853.
- [20] Pellegrini, N.; Serafini, M.; Colombi, B.; Del Rio, D.; Salvatore, S.; Bianchi, M.; Brighenti, F. Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. *J. Nutr.*, **2003**, 133(9), 2812-2819.
- [21] Miller, N.J.; Rice-Evans, C.; Davies, M.J.; Gopinathan, V.; Milner, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.*, **1993**, 84(4), 407-412.
- [22] Gil, M.I.; Tomás-Barberán, F. A.; Hess-Pierce, B.; Kader, A.A. Antioxidant Capacities, Phenolic Compounds, Carotenoids, and Vitamin C Contents of Nectarine, Peach, and Plum Cultivars from California. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50(17), 4976-4982.
- [23] Nicholson, R.S.; Shain, I. Theory of Stationary Electrode Polarography. Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems. *J. Anal. Chem.* **1964**, 36(4), 706-723.
- [24] Muhammad, H.; Hanif, M.; Tahiri, I.A.; Versiani, M.A.; Shah, F.; Khaliq, O. Electrochemical behavior of superoxide anion radical towards quinones: a mechanistic approach. *Res. Chem. Intermed.* **2018**, 44(10), 6387-6400.

## Conclusion générale

C'est ainsi que nous marquons la fin de notre modeste recherche qui s'est basée sur deux parties essentielles ;

Dans la première partie , nous avons tenté d'étudier l'interaction qui existe entre un radical anion superoxyde généré électrochimiquement et des dérivés porphyrines , en utilisant des techniques de voltamétrie cyclique.

D'abord la diminution de la densité de courant de pointe anodique a été exploitée pour évaluer les paramètres de liaison de cette interaction. Cette étude a montré que le radical  $O_2^-$  interagissait fortement avec les deux dérivés porphyrines. Ensuite, cette diminution de la densité de courant anodique a été attribuée à l'activité antiradicalaire du ligand ajouté et de son complexe. Enfin, La  $IC_{50}$ , les coefficients d'activité antioxydante et les valeurs des constantes de liaison de tous les dérivés étudiés ont montré une activité antioxydante plus élevée que celle de l'antioxydant standard  $\alpha$ -tocophérol.

Par ailleurs, les valeurs négatives et l'ampleur de l'énergie libre de liaison ont indiqué la spontanéité et l'interaction électrostatique de  $O_2^-$  avec les dérivés de la porphyrine. C'est ainsi que, les coefficients de diffusion des formes libres de  $O_2^-$  ont été évalués par l'application de l'équation de Randles-Sevcik.

Quant à la deuxième partie de notre travail de recherche , celle-ci , était consacrée à l'étude de l'interaction de l'ADN avec les dérivés des porphyrines ,en utilisant des techniques de voltamétrie cyclique et de spectroscopie électronique .C'est ainsi que les énergies libres de liaison des dérivés du porphyrine avec l'ADN ont été déterminées .

En effet , les valeurs de l'énergie libre de liaison obtenues par voltamétrie cyclique étaient très proches de celles obtenues par la spectroscopie électronique.

Les résultats expérimentaux obtenus ont été confirmés par une étude d'arrimage moléculaire par ordinateur à l'aide du logiciel d'arrimage moléculaire AutoDock.

Nous avons conclu que les études d'amarrage donnent une bonne approximation des données expérimentales et ont montré que tous les dérivés de la porphyrine étudiée sont placés dans la rainure mineure de l'ADN , en outre, le type d'interaction était automatique de nature électrostatique dans tous les cas.