



République algérienne démocratique et populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université frères mentouri constantine1

Faculté des sciences exactes

Département de chimie



N° d'ordre 48/ DS /2021

Série 04 /CH/2021

## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de

**Doctorat en Sciences**

Spécialité *Chimie Inorganique*

Présentée par

**Soumeya MAZA Ep. DEGHDEGH**

Intitulée

***Docking moléculaire et propriétés biologiques et optiques de nouveaux ligands à base de triazole***

**Soutenue le 19 / 06 / 2022**

Devant le jury composé de

• <b>Mr. Hocine MERAZIG</b> Pr. Université Frères Mentouri. Constantine 1	Président
• <b>Mme Aouatef CHEROUANA</b> Pr. Université Frères Mentouri. Constantine 1	Rapporteur
• <b>Mr. El-Eulmi BENDEIF</b> Pr. Université de Lorraine, Nancy. France	Examineur
• <b>Mme Chahrazed BEGHIDJA</b> Pr. Université Frères Mentouri. Constantine 1	Examinatrice
• <b>Mr. Abdellatif MESSAOUDI</b> Pr. Université Hadj Lakhdar Batna1	Examineur
• <b>Mr. Kaaboub Lakhemici</b> Pr. Université Ferhat-Abbes Setif 1	Examineur

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes chers parents, mes frères et sœurs*

*A mon époux Hichem, et mes deux enfants chéris Ines et Rostom*

*A toute ma famille et ma belle famille*

*A tout le personnel de l'unité de recherche « CHEMS »*

*A mes amies d'enfance*

## *Remerciements*

Ce travail de thèse a été réalisé dans le cadre d'une collaboration Franco-Algérienne entre l'Unité de Recherche de Chimie de l'Environnement et Moléculaire Structurale (CHEMS) de l'Université de Constantine 1 et le laboratoire de Cristallographie, Résonance Magnétique et Modélisations CRM2 de la Faculté des Sciences, Université de Lorraine, France.

Je tiens à remercier tout d'abord, et particulièrement ma directrice de thèse madame le professeur CHEROUANA Aouatef, qui m'a accueilli dans son équipe et ce, depuis mon magistère, qui a accepté d'encadrer mon travail, et a partagé toutes ses connaissances et tout son savoir, grâce à elle ce travail n'aurait jamais vu le jour, elle était la cause du commencement et en ai la même cause pour l'aboutissement de ce travail.

Je remercie Monsieur DOMINIQUE Schaniel, directeur du laboratoire CRM2, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire.

J'exprime ma profonde gratitude à Monsieur BENDIEF El-Eulmi de l'Université de Lorraine, pour m'avoir fait confiance, et d'avoir accepté de co-encadrer cette thèse, et pour m'avoir apporté toute son énergie et son dynamisme pour faire de la recherche. Son savoir dans des domaines scientifiques très diversifiés a fortement contribué à la réalisation de ce travail. Je le remercie également pour sa disponibilité et son écoute, pour ses encouragements, sa gentillesse, et pour toutes les discussions enrichissantes et ses conseils fructueux.

Un hommage à Monsieur DAHAOUI Slimane, maître de conférences à l'université de Lorraine, qui nous a quitté trop tôt, et a fait une perte pour le monde de la cristallographie et celui de la diffraction des rayons X sur monocristal, un homme aux qualités humaines et compétences professionnelles irréprochables, je n'ai pas eu la chance de bien le connaître mais il a laissé une empreinte particulière dans ma mémoire, sans lui cette collaboration n'aurait jamais existée. Reposez en paix Monsieur DAHAOUI.

Je remercie grandement Monsieur MERAZIG Hocine, professeur à l'université des frères Mentouri Constantine 1, pour avoir accepté de présider mon jury, et juger ce travail. C'est grâce à lui que mon amour pour la cristallographie est né, il était l'enseignant exemple pendant mes années d'études en DES, il a su nous transmettre son amour et sa passion pour la

diffraction des rayons X et l'univers des cristaux, et ce avec beaucoup d'aisance et de maîtrise.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent également à Madame BEGHIDJA Chahrazed professeur à l'université des frères Mentouri Constantine1, Monsieur Abdellatif MESSAOUDI Professeur à l'université Hadj Lakhdar Batna1, et Monsieur KAABOUB Lakhmici Professeur à l'université Ferhat-Abbes, Setif 1, pour avoir accepté de juger ce travail, et apporter leurs remarques et critiques constructives qui ne feront qu'améliorer la qualité de ce manuscrit.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude à tout le personnel du laboratoire CRM2 qui m'a apporté son aide tout au long de mon séjour en France. Monsieur Benoit GUILLOT, pour son aide précieuse et ses discussions enrichissantes ainsi que sa gentillesse. Messieurs Abdelatif DOUDOUH, Emmanuel WENGER, Pierrick Durand ; je ne vous remercierai jamais assez pour l'assistance technique que vous m'avez apporté.

Je n'oublierai pas Mr Djamil ROUAG, Professeur à l'université de Constantine 1, pour m'avoir ouvert les portes de son laboratoire, afin que je puisse travailler en toute tranquillité, un grand merci.

Mes remerciements s'adressent également à l'équipe du centre de recherche en biotechnologie CRBT de Constantine, pour leur aide et sympathie et à leur tête Mr Chaouki BENSOUCI.

Je remercie profondément, mon ami de toujours et frère Monsieur Hamza ALLAL, Docteur à l'université de Skikda, pour son aide précieuse, et ses encouragements.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent également à mon collègue et ami le Dr Hamza HADJEDJ pour son aide, sa gentillesse, ses qualités humaines et sa disponibilité.

Un grand merci à monsieur May Abdelghani, enseignant à l'université de Constantine 1, pour son aide précieuse.

Je remercie chaleureusement ma famille, mes frères et sœurs et en particulier mes parents pour leur sacrifice, leur soutien tout au long de mes études supérieures et leurs encouragements ainsi que leur prières et douaas.

Je tiens à remercier mon époux pour son support, ses encouragements, ses sacrifices et son dévouement.

Pour finir, un grand merci à toutes mes amies, et à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, et je m'excuse auprès de toutes celles que j'ai oublié, sans votre aide ce travail n'aurait jamais vu le jour.

## *Abréviations*

BS Base de Schiff

DRX Diffraction des rayons X

IR Infra-rouge

UV Ultra-violet

RMN Résonance magnétique nucléaire

ONL Optique non linéaire

SHG Seconde harmonic generation

THG Third harmonic generation

SARM *Staphylococcus aureus* résistants à la Méthicilline

SARV *Staphylococcus aureus* résistants à la Vancomycine

CFU/ml colony forming units /ml

PDA Potatos-Dextrose-Agar

ADN Acide DésoxyriboNucléique

DMSO diméthylsulfoxyde

IC50 Concentration d'inhibiteur pour laquelle la vitesse initiale de formation de produit diminue jusqu'à la moitié de sa valeur mesurée en absence d'inhibiteur

Ser Serine

Glu Glutamine

His Histidine

Gly Glycine

Ala Alanine

Trp Tryptophane

Phe Phénylalanine

Cys Cystéine

Leu Leucine

Ile Isoleucine

Tyr Tyrosine

Met Methionine

RMSD Root mean square deviation

K<sub>i</sub> Constante d'inhibition

nRotB Nombre de liaisons rotatives

Nov novobiocine.

$E_{inter}$  Energie d'interaction protéine-ligand.

VDW Van-der-Waals

$E_{intra}$  Energie interne du ligand

AD AutoDock

$E_{désolv}$  Energie de désolvatation

Nov Novobiocine

ADME(T) Absorption, Distribution, Metabolisme, Excretion, (Toxicité).

## Liste de figures

Figure 1: Exemple d'une liaison hydrogène .....	41
Figure 2: Interaction entre deux molécules de charges différentes. ....	42
Figure 3: Patch hydrophobe. ....	43
Figure 4: Spectres IR (L1) rouge, (L2) bleu, et (L3) cyan, (L4) noir, (L5) vert dans la région de vibration 3600-2600 cm <sup>-1</sup> (en haut) et 1700-1400 cm <sup>-1</sup> (en bas). ....	62
Figure 5: Spectres UV-Vis des cinq composés : (L1)/(L2) bleu, (L3) cyan, (L4) noir, (L5) vert .....	63
<b>Figure 6: Diffractogrammes expérimentaux des trois composés (L1), (L2) et (L3).</b> .....	64
<b>Figure 7: Diffractogramme expérimental et simulé pour (L1)</b> .....	65
Figure 8: Diffractogramme expérimental et simulé pour (L2) .....	66
Figure 9: Diffractogramme expérimental et simulé pour (L3) .....	67
Figure 10: Diffractogramme expérimental et simulé pour (L5) .....	68
Figure 11: ORTEP de l'unité asymétrique des composés obtenus ; Les ellipsoïdes d'agitation thermiques sont tracés au niveau de probabilité 50% .....	72
Figure 12: Liaisons hydrogène N-H...N dans les composés (a) :(L2) et (b) : (L3) .....	76
Figure 13: Liaisons hydrogène N-H...N et C-H...N présentes dans le composé (L1) .....	77
Figure 14: Liaisons Hydrogène C-H...N et N-H...N dans le composé (L5).....	77
Figure 15: Les deux liaisons hydrogène C-H...N dans le composé (L4).....	78
Figure 16 : liaison hydrogène intramoléculaire C-H...N présente dans (L1).....	78
Figure 17 : (a) : Liaison C-H...Cl intramoléculaire. (b) : Dimère issu de C-H...Cl intermoléculaire par l'effet du centre d'inversion. (i) : 1-x, -y, 3-z dans (L4).....	79
Figure 18: Cavités losanges issues de C-H...Cl et C-H...N dans (L4) .....	80
Figure 19 : Motif du cycle de la cavité dans (L4) .....	80
Figure 20 : Liaison C-H...N intramoléculaire présente dans (L5) .....	81
Figure 21 : Liaison hydrogène intermoléculaire dans (L5) .....	81
Figure 22 : Motif du cycle formé par les liaisons hydrogène C6-H6...N3 et N2-H2A...N4 dans (L5).....	82
Figure 23 : interaction Br...Br dans (L1) .....	82
Figure 24 : Interaction Cl...Cl dans (L4).....	83
Figure 25: Interactions de type X... $\pi$ (a) :(L2), (b): (L3). ....	83
Figure 26: Occupation des cavités par les dimères et interactions Cl...Cl, $\pi$ ... $\pi$ et Cl... $\pi$ dans le composé (L4).....	84
Figure 27: Interactions type $\pi$ ... $\pi$ entre deux phényles/ triazole (a) : (L4) et (b) : (L5) .....	85
Figure 28: Interactions Cl... $\pi$ dans (L4) .....	85
Figure 29: Les surfaces d'Hirshfeld (dnorm) des cinq composés. L'échelle de couleurs correspond à des valeurs de dnorm allant de -0,3 (rouge) à +0,6 (bleu) : (a) (L1), (b) (L2), (c) (L3), (d) (L4) et (e) (L5). ....	87
Figure 30: Surfaces d'Hirshfeld (dnorm) dans les bases de Schiff (L1), (L2), (L3), (L4) et (L5) illustrant les liaisons hydrogène N-H...N et C-H...N .....	88
Figure 31: Empreintes 2D(FPs) des cinq composés (L1), (L2), (L3), (L4), (L5).....	90
Figure 32: Interactions $\pi$ ... $\pi$ dans (L4) et (L5) illustrées par Shape index .....	91
Figure 33: Différence entre Optique Linéaire et ONL .....	97
Figure 34: Conversion du rayonnement invisible (infrarouge) en rayonnement visible à l'aide d'un matériau NLO actif (Dédoublé de fréquence SHG).....	98
Figure 35: Conversion du rayonnement invisible (infrarouge) en rayonnement visible à l'aide d'un matériau NLO actif (THG) .....	99
Figure 36: Représentation schématique de la déformation du nuage électronique d'une molécule soumise à un champ électrique oscillant. r : déplacement.....	101

Figure 37: Émission visible (à gauche) des composés (L1), (L2), (L3) (de haut en bas) ainsi que LiNbO3:Mg (LN) lors d'une irradiation par pulsions fs .Spectres normalisés de l'émission (au centre) et rapports harmoniques f_R (à droite). ....	104
Figure 38: Poudre broyée avant pressage (gauche). Signaux non linéaires pour les ondes SH et TH en fonction du temps, mis à l'échelle de l'émission TH maximale de L1 (centre). Photographies de la surface de l'échantillon après irradiation (à droite).....	106
Figure 39: Exemple d'une courbe de croissance .....	110
Figure 40: Histogramme montrant le diamètre de la zone d'inhibition des différents ligands face aux bactéries .....	117
Figure 41: Histogramme montrant le pourcentage d'inhibition des ligands (L1, L2, L3, L5) face au phytopathogène .....	120
Figure 42: Histogramme de pourcentage de mortalité en fonction de la concentration.....	124
Figure 43: Interface du logiciel AutoDockTools4.....	132
Figure 44: Structure tridimensionnelle 3D du récepteur 4URO (Staph GyraseB 24kDa) avec quatre chaînes (A, B, C et D) en complexe avec la novobiocine. ....	134
Figure 45: Modèle simplifiée de la structure tridimensionnelle 3D du récepteur 4URO. ....	135
Figure 46: Structure tridimensionnelle 3D de la chaîne A du récepteur 4URO et détection de la cavité en présence de la novobiocine comme ligand co-cristallisé .....	135
Figure 47: Insertion du ligand (L1) dans le site actif de la protéine 4URO.....	142
Figure 48 : Les acides aminés impliqués dans les différentes iInteractions avec (L1) a)-diagramme 2D, b)- représentation 3D .....	143
Figure 49: Insertion du ligand (L2) dans le site actif de la protéine 4URO.....	144
Figure 50: (L2) : Les acides aminés impliqués dans les différentes interactions avec (L2): a)-diagramme 2D, b)- représentation 3D.....	145
Figure 51: Insertion du ligand (L3) dans le site actif de la protéine 4URO.....	146
Figure 52: (L3) : Les acides aminés impliqués dans les différentes interactions : a)-diagramme 2D, b)- représentation 3D .....	148
Figure 53: Insertion du ligand (L4) dans le site actif de la protéine 4URO.....	149
Figure 54: (L4) : Les acides aminés impliqués dans les différentes interactions : a)-diagramme 2D, b)- représentation 3D .....	150
Figure 55: Insertion du ligand (L5) dans le site actif de la protéine 4URO.....	151
Figure 56: (L5) : Les acides aminés impliqués dans les différentes interactions : a)-diagramme 2D, b)- représentation 3D. ....	152
Figure 57: Les acides aminés impliqués dans les différentes interactions avec la novobiocine : a)- diagramme 2D, b)- représentation 3D .....	154

## Liste Schémas

Schéma 1: Schéma réactionnel de la base de Schiff (L1) .....	56
Schéma 2: Schéma réactionnel de la base de Schiff (L3) .....	57
Schéma 3: Schéma réactionnel de la base de Schiff (L4) .....	57
Schéma 4: Schéma réactionnel de la base de Schiff (L5) .....	58

## Liste de tableaux

Tableau 1 Avantages et inconvénients des différentes fonctions de score .....	39
Tableau 2: Bandes d'absorption UV des cinq composés élaborés.....	63
Tableau 3: Données cristallographique .....	70
Tableau 4: Liaisons hydrogène dans les cinq composés .....	74
Tableau 5: Détermination des zones d'inhibitions, des CMI et des CMB des composés testés sur les bactéries pathogènes .....	115
Tableau 6: zone d'inhibition et pourcentage inhibiteur des bases de Schiff : .....	119
Tableau 7: Conditions d'éclosion pour l'obtention de nauplii .....	123
Tableau 8: Nombre de larves mortes dans chaque essai .....	124
Tableau 9: Pourcentage de mortalité pour chaque base de Schiff .....	124
Tableau 10: Valeurs obtenues RMSD pour les cinq complexes Ligands/4URO .....	137
Tableau 11: L'estimation de l'affinité.....	137
Tableau 12: Les paramètres calculés du docking des cinq composés ainsi que la référence avec la protéine 4URO.....	138
Tableau 13: Acides aminés impliqués dans les interactions entre les ligands et la NOV avec la protéine 4URO. ....	140
Tableau 14: Les propriétés pharmacocinétiques des bases de Schiff .....	155

# Table des matières

Introduction Générale .....	1
Références bibliographiques .....	5
Première Partie .....	7
Partie Théorique.....	7
Chapitre I: Généralités sur les bases de Schiff et leurs applications .....	8
I- Introduction .....	9
II- Les bases de Schiff contenant un triazole .....	9
III- Application des bases de Schiff .....	10
III-1. En chimie .....	11
III-2. En biologie .....	12
III-3. En optique non linéaire .....	13
IV-Références .....	15
Chapitre II: Le Docking Moléculaire.....	22
I-Introduction .....	23
II- Principes du Docking moléculaire .....	24
II- 1- L'étape d'échantillonnage.....	24
II- 1-1- Le docking rigide .....	25
II-1-2- Le docking semi-flexible.....	25
II-1-3- Le docking flexible.....	25
II-1-3-1- Traitement de la flexibilité du ligand.....	25
II-1-3-2- Traitement de la flexibilité de la protéine .....	28
II-2- Etape de prédiction et évaluation.....	29
II-2-1- Algorithme de docking.....	29
II-2-2- Principes physico-chimiques de la reconnaissance protéine-ligand .....	30
II-2-3- Les fonctions de score .....	32
III- Interactions protéine-ligand.....	40
III-2- Interaction ionique.....	41
III-3- Les interactions de Van der Waals.....	42
III-4- Les interactions hydrophobes.....	42
IV- Programmes de simulation par docking moléculaire utilisés .....	43
IV-1- AutoDockTools 4 (AD4).....	44
IV-2- AutoDock Vina (ADV) .....	45
V- Références .....	46

Deuxième Partie Partie Expérimentale .....	50
Matériels et Instruments.....	51
1- Analyse par spectroscopie infrarouge.....	52
2- Spectroscopie UV-visible .....	52
3- Diffraction des rayons X sur poudre.....	52
4- Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	53
5- Diffraction des rayons X sur monocristal enregistrement et collecte des données cristallographiques .....	53
6-Analyse élémentaire .....	53
Chapitre III: Synthèse, caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d’Hirshfeld .....	54
I-Introduction .....	55
II- Synthèses .....	55
II-1- Solvants et réactifs utilisés.....	55
II-2- modes opératoires .....	55
II-2-1- Synthèse du <i>N</i> -[( <i>E</i> )-(4-bromo)méthylidène]-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-amine (L1) et <i>N</i> -[( <i>E</i> )-(4- bromo)méthylidène]-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-amine (L2) .....	56
II.2.2. Synthèse du <i>N</i> -[( <i>E</i> )-(4-chloro)méthylidène]-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-amine (L3) .....	56
II-2-3- Synthèse du <i>N</i> -[( <i>E</i> )-(2,4-dichloro) méthylène] -4 <i>H</i> -1-2-4 triazol-4-amine (L4).....	57
II-2-4- Synthèse du <i>N</i> -[( <i>E</i> )-(4-methoxy) méthylidène] -1 <i>H</i> -1-2-4 triazol-3-amine (L5) :.....	57
III- Etude préliminaire.....	58
III-1- RMN proton .....	58
III-2- Analyse par spectroscopie infrarouge .....	59
III-3- Spectroscopie UV-visible.....	62
III-4- Diffraction des rayons X sur poudre .....	63
IV- Etude structurale par diffraction des rayons X sur monocristal .....	68
IV-1- Résolution et affinement des structures .....	68
IV-2- Description des structures.....	71
IV.3. Étude des interactions intermoléculaires .....	74
IV.3.1. Etude des liaisons hydrogène .....	74
IV-3-2- Les différentes interactions halogènes, $\pi \dots \pi$ et halogène... $\pi$ .....	82
V- Analyse des Surfaces Hirshfeld .....	85
V-1- Propriétés des surfaces de, di et dnorm.....	86
V-2- Empreinte 2D des surfaces d’Hirshfeld.....	88
VI- Conclusion.....	91
VII- Références .....	93

Chapitre IV: Propriétés optiques non linéaires (ONL) .....	96
I-Introduction .....	97
I-1- Ondes électromagnétiques.....	99
I-2- Absorption de la lumière .....	100
I-3- Interactions matière-lumière.....	101
I-4. Introduction à la figure (facteur) de mérite.....	102
II- Mesures des propriétés optiques non linéaires.....	103
III- Préparation des échantillons.....	103
IV- Résultats des mesures ONL.....	104
V-Conclusion.....	107
VI- Références .....	108
Chapitre V: Evaluation de l'activité biologique .....	109
I-Introduction .....	110
II- Évaluation de l'activité antibactérienne .....	111
II-1-Staphylococcus aureus (ATCC 25923).....	111
II-2- Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853) .....	111
II-3- <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) .....	112
II-4-Salmonella Typhimurium (ATCC 14028) .....	112
III-Étude de l'activité antibactérienne <i>in vitro</i> .....	113
III-1- Principe de la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des puits) .....	113
III-2- Mode opératoire.....	113
III-3- Détermination de la concentration minimale d'inhibition (CMI) .....	114
III-4- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	114
III-5- Résultats de l'activité antibactérienne .....	115
IV. Étude de l'activité antifongique <i>in vitro</i> .....	118
IV.1- Mode opératoire.....	118
V- La Cytotoxicité.....	120
V-1. Les facteurs influençant les tests de cytotoxicité .....	121
V-2. Type des tests de cytotoxicité.....	121
V-3. Évaluation de la cytotoxicité .....	121
V-3-1. Préparation des dilutions.....	122
V-3-2.Étude de la toxicité sur les larves d' <i>Artemia salina</i> 'Brine Shrimp' .....	122
V-3-3. Protocole utilisé.....	122
V-4-Résultats et discussion.....	123
VI- Conclusion.....	126
VII-Références .....	127

Chapitre VI: Simulation par Docking Moléculaire, Résultats et discussion .....	131
I-Programme utilisé dans le docking moléculaire .....	132
II-2.Exploitation des résultats obtenus.....	136
II-2.1. Ecart quadratique moyen (RMSD) .....	136
II-2.2. Fonction de score .....	137
II-3. Affinité des bases de Schiff avec la protéine 4URO .....	137
II-4. Les différentes interactions protéine/ligands .....	139
III-Application de la règle de Lipinski.....	154
IV-Conclusion.....	155
VI-Références .....	157
Conclusion Générale.....	158
Annexes .....	162
Résumé.....	183

# **Introduction Générale**

L'objectif du travail entrepris dans cette thèse est l'élaboration de quelques ligands organiques halogénés de type base de Schiff, leurs applications physiques et biologiques, ainsi que le docking moléculaire.

Plusieurs bases de schiff ont été élaborées au sein de notre équipe, avec différents substituants. Tout d'abord, nous avons commencé par synthétiser une série de bases de Schiff avec deux cycles benzéniques liés entre eux par un pont azométhine, et portant comme substituant un sulfonamide, un groupement nitro, et des hydroxyles [1,2], Ces composés présentent une excellente activité antibactérienne [2].

Voulant complexer ces bases de Schiff, et par manque de site de coordination, la réaction de complexation n'a pas eu lieu.

Par la suite, nous avons modifié le squelette des bases de Schiff, en remplaçant un des cycles benzénique par un triazole, qui possède plusieurs sites de coordination d'une part, et portant des groupements hydroxyle comme substituants d'autre part, afin d'allier les deux propriétés de complexation et activité biologique. Dans ce travail, notre équipe a pu obtenir de nouvelles bases qui ont été ensuite complexés avec de l'argent (Ag). L'étude des propriétés de ces composés a mis en exergue la synergie entre la base et le métal. En effet les bases de Schiff qui étaient pratiquement inactives sur une certaine famille de bactéries sont devenues très actives après fixation du métal Ag [3].

Dans le but d'étudier l'effet de la substitution sur l'activité biologique, et voir cet effet sur l'étude structure-activité, notre choix s'est porté sur les halogènes comme substituants, de par leurs interactions non covalentes, d'une part, et leur classe importante dans l'ingénierie biologique, le développement pharmaceutique et la chimie médicinale, d'autre part. [4]

Les halogènes ont été classiquement incorporés dans le développement des produits pharmaceutiques pour augmenter la perméabilité des membranes et diminuer la dégradation métabolique [5-7]. On comprend mieux aujourd'hui, que les halogènes jouent un rôle direct dans l'efficacité de certains médicaments par le biais d'une interaction moléculaire définie comme les interactions halogènes ou les liaisons X [8].

Yunxiang Lu et al [5], ont fait une étude systématique sur les interactions non liantes des composés organiques halogénés dans les systèmes biologiques, et leur implication dans la conception biomoléculaire et la découverte des médicaments. Leurs résultats sont d'une

grande utilité pour la conception rationnelle de ligands halogénés en tant qu'inhibiteurs et médicaments, ainsi que pour le développement biologique.

Le travail décrit dans ce manuscrit, est présenté en deux grandes parties distinctes. La première partie est une synthèse bibliographique qui comporte deux chapitres. La deuxième partie est consacrée à la partie expérimentale et qui comporte quatre chapitres.

Dans le premier chapitre de la première partie, nous avons effectué une recherche bibliographique qui représente un aperçu général sur les bases de Schiff contenant un triazole, ainsi que leurs applications en chimie, en biologie, puis en optique non linéaire (NLO). Cette famille de composés a été découverte pour la première fois par le chimiste allemand Hugo Schiff en 1864 [9]. Depuis, de nombreux chercheurs dans différents domaines se sont intéressés à cette famille, vue leurs diverses applications dont la chimie de coordination, la biologie, la médecine, l'optique non linéaire, la catalyse et la chimie industrielle [10-20].

Plusieurs travaux sur cette famille de composés ont été consacrés à l'étude de leurs propriétés biologiques. On peut citer à titre d'exemple les travaux de Sachin et al (2021), Lei Shi et al (2007), Hacer Bayrak et al (2009), Thakar et al (2013) [21-24]. De ce fait, nous nous sommes intéressés aux propriétés biologiques de ces composés, et essayer de corréler l'aspect expérimental étudié dans un premier volet par une simulation théorique qu'est le docking moléculaire.

Le deuxième chapitre de la première partie, concerne une étude théorique plus approfondie sur le docking moléculaire, l'aspect pratique et ses principales approches.

La recherche en biologie ne peut, actuellement, se passer des outils informatiques pour traiter le flot des données produites et optimiser ses avancées. L'un de ces outils, est la modélisation moléculaire ou "docking moléculaire", ce dernier, rentre dans le cadre « des interactions protéines-ligands » qui reste un axe de recherche à part entière.

Le docking moléculaire est l'un des premiers outils le plus couramment utilisés dans la conception des médicaments. Il consiste à faire interagir un ligand avec un récepteur, généralement de nature protéique.

Le rôle principal du docking moléculaire est, de prédire et reproduire le mode d'interaction des complexes formés protéine-ligand [25,26], et étudier par la suite ces interactions, afin de sélectionner la ou les molécules bioactives.

## *Introduction générale*

---

Le second volet de ce travail, a été consacré à la partie expérimentale, où nous nous sommes basés dans un premier temps, sur la synthèse des bases de Schiff, leur caractérisation par diffraction des rayons X, ainsi que leur étude structurale détaillée. Le deuxième chapitre de cette partie, porte sur les propriétés optiques entreprises sur les trois premiers ligands élaborés.

Dans le troisième chapitre de la partie pratique, nous avons évalués nos bases de Schiff, par des tests biologiques *in vitro*, qui englobe l'activité antibactérienne, antifongique et cytotoxicité.

Et en dernier lieu, nous avons essayé d'optimiser et modéliser les ligands obtenus, par des méthodes théoriques utilisant la bioinformatique, en essayant d'étudier, du point de vue énergétique, les différentes interactions et élucider leur mécanisme (récepteur -ligand), en vue d'inhiber les protéines impliquées dans les microorganismes.

En se basant sur le docking moléculaire, nous avons essayé d'expliquer et déterminer le mode d'interaction des complexes formés par la fixation du ligand dans le site actif du récepteur (protéine).

C'est dans ce contexte, que nous nous sommes intéressés à l'application de cette alternative prometteuse utilisant la technique de modélisation moléculaire, pour la prédiction et l'étude des modes d'interactions possibles, ainsi que l'affinité entre la protéine et les différents ligands synthétisés, afin de corréliser entre l'approche théorique *in silico* et l'approche expérimentale élaborée par l'activité biologique *in vitro*.

## Références bibliographiques

- [1] Benarous, N., Cherouana, A., Aubert, E., Durand, P., Dahaoui, S., *J. Mol. Struct.* 1105, 186-193, (2016).
- [2] Moussa Slimane, N., Bouhidel, Z., Cherouana, A., *Acta Crystallogr.* E74, (2018)
- [3] Bouhidel, Z., Cherouana, A., Durand, P., Doudouh, A., Morini, F., Guillot, B., Dahaoui, S., *Inorg. Chim. Acta.* 482, 34-47, (2018).
- [4] Yunxiang, L., Yong, W., Weiliang, Z., *Physical Chemistry Chemical Physics*, 12, 4543–4551, (2010).
- [5] Lu, Y., Wang, Y., Zhu, W., *Phys. Chem. Chem. Phys.* 12 (18), 4543-4551, (2010).
- [6] Ford, M. C., and Ho, P. S., *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(5), 1655-1670, (2016).
- [7] Gerebtzoff, G., Li-Blatter, X., Fischer, H., Frentzel, A., Seelig, A., *ChemBioChem*, 5 (5), 676–684, (2004).
- [8] Desiraju, G.R., Ho, P.S., Kloo, L., Legon, A.C., Marquardt, R., Metrangolo, P., Politzer, P., Resnati, G., Rissanen, K., *Pure Appl. Chem.* 85(8), 1711-1713, (2013),
- [9] Worku, D., Negussie, M., Raju, V.J.T., Theodros, S., et al. *Soc. Ethiop.* 29, (2002)
- [10] Wang, Y., Ding, B., Cheng, P., Liao, D. Z., & Yan, S. P., *Inorganic chemistry*, 46(6), 2002-2010, (2007).
- [11] Yang, X. B., Wang, Q., Huang, Y., Fu, P. H., Zhang, J. S., & Zeng, R. Q., *Inorganic Chemistry Communications*, 25, 55-59, (2012).
- [12] Paryzek, R., Markiewicz, P., Kubicki, M., *Inorg. Chim. Acta*, 360, 488–496, (2007)
- [13] Kumar, S., Dhar, D., Saxena, N., *Sci. Ind. Res.*, 68, 181–187, (2009)
- [14] Kalaivani, S., Priya, N. P., Arunachalam, S., *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 3, 219–223, (2012).
- [15] Da Silva, C. M., da Silva, D. L., Modolo, L. V., Alves, R. B., de Resende, M. A., Martins, C. V., and de Fátima, Â., *Journal of Advanced research*, 2(1), 1-8, (2011).
- [16] Krzysztof. D., Zbigniew. C., *Crystal Growth & Design*, 9, 8, (2009).
- [17] Utthra, P. P., and Raman, N., *International journal of biological macromolecules*, 116, 194-207, (2018).
- [18] Tanaka, K., Shimoura, R., Caira, M. R., *Tetrahedron Lett.*, 51, 449–452, (2010).
- [19] Wajda-Hermanowicz., K., Pieniączak, D., Zatajska, A., Wróbel, R., Drabent K., and Ciunik., Z., *Molecules.* 20, 17109-17131, (2015).
- [20] Safin, D.A., Robeyns, K. and Garcia, Y., *CrystEngComm.* 18, 7284-7296, (2016).

- [21] Deodware, S.A., Barache, U.B., Chanshetti, U.B., Sathe, D.J., Ashok, U.P., Gaikwad, S.H. and Kollur, S.P., Chemical synthesis, structure and biological investigations. *Results in Chemistry*, 3, 100162, (2021).
- [22] Shi, L., Ge, H.M., Tan, S.H., Li, H.Q., Song, Y.C., Zhu, H.L. and Tan, R.X., *European journal of medicinal chemistry*, 42(4), 558-564, (2007).
- [23] Bayrak, H., Demirbas, A., Karaoglu, S.A. and Demirbas, N., *European journal of medicinal chemistry*, 44(3), 1057-1066, (2009).
- [24] Thakar, A., Friedrich, H., Joshi, K.T., *Asian J. Research Chem.*, 6, 540-545, (2013).
- [25] Levinthal C, Wodak SJ, Kahn P, Dadivanian AK. Hemoglobin interaction in sickle cell fibers. Theoretical approaches to the molecular contacts. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*, 72, 1330–34, (1975).
- Levinthal, C., Wodak, S.J., Kahn, P. and Dadivanian, A.K., *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(4), 1330-1334, (1975).
- [26] Kuntz, ID., Blaney, J.M., Oatley, S.J., Langridge, R., Ferrin, T.E., *Journal of Molecular Biology*, 161, 269–88, (1982).

**Première Partie**  
**Partie Théorique**

**Chapitre I:  
Généralités sur les bases  
de Schiff et leurs  
applications**

## **I- Introduction**

Les bases de Schiff (BS) sont des composés organiques contenant un groupement imine (azométhine), obtenues par réaction de condensation entre un composé carbonyle et une amine primaire [1,2]. Elles ont été rapportées pour la première fois par le chimiste Allemand Hugo Schiff [1,3] en 1864. De nombreux chercheurs dans différents domaines se sont intéressés à cette famille de par leurs multiples propriétés dont la chimie de coordination, la biologie, la médecine, l'optique, l'optique non linéaire, la catalyse et la chimie industrielle [4-14]. Les bases de Schiff sont des composés de formule générale  $R_1R_2C=NR_3$  où l'atome d'azote est lié à un groupe aryle ou alkyle. Cette famille de composés est classée selon la nature des radicaux aliphatiques ou aromatiques. Plusieurs travaux sur cette famille de composés ont été consacrés à l'étude de leurs propriétés biologiques. On peut citer à titre d'exemple les travaux de Sajjad H et al (2021), Lei Shi et al (2007), Hacer Bayrak et al (2009), Thakar et al (2013) [15-18].

## **II- Les bases de Schiff contenant un triazole**

Les composés organiques à base de triazole ont suscité l'attention de beaucoup de chercheurs pour leurs intérêts thérapeutiques potentiels. Ces composés, riches en azote, peuvent s'engager dans des liaisons non-covalentes avec des récepteurs spécifiques d'un système biologique [19]. Plusieurs travaux sur ces composés ont été consacrés à l'étude de leurs propriétés biologiques. On peut citer à ce propos les travaux de Neslihan Demirbas et al. (2004) [20], Hipparagi et al. (2007) [21], Mogilaiah et al. (2009) [22] et S. Nanjunda Swamy et al (2006) [23]. Les travaux de K. S. Munawar et al (2015) [24] présentent une étude structurale et biologique sur de nouvelles bases de Schiff de triazole.

Les résultats de ces travaux ont montré une bonne activité antimicrobienne et antidiabétique mais, malheureusement, ces composés possédant des tests hémolytiques positifs ne peuvent pas être utilisés, en médecine, comme médicaments [25]. Ces composés ont largement prouvé leur intérêt en tant qu'antimicrobiens [26-28], antiviraux [29], antidépresseurs [30], anti-convulsants [31], anti-inflammatoires [32,33] et antalgiques [34].

En plus des structures cristallographiques retrouvées dans la totalité des publications, d'autres travaux supplémentaires relatifs à des études théoriques et à des propriétés biologiques ou optiques ont été rapportés. Katarzyna Wajda-Hermanowicz et al (2015) [35] se sont intéressés à l'étude de la réaction de condensation des dérivées du 1,2,4 amino-triazole avec ceux du benzaldéhyde, en mettant en exergue la relation entre la température et le rendement final de la réaction. Une étude des propriétés biologiques des composés obtenus

a aussi été réalisée. I. Khan et ses collaborateurs (2016) [36] présentent, quant à eux, pour le même type de composés, une analyse qualitative et quantitative des interactions intermoléculaires en utilisant le programme PIXEL [37] pour calculer l'énergie d'interaction et le programme CrystalExplorer [38] pour déterminer les surfaces d'Hirshfeld, afin de visualiser le potentiel électrostatique [39]. R.Y. Jin et al (2014) [40] présentent une étude comparative entre les résultats expérimentaux issus de la DRX et ceux issus des calculs théoriques (HF, DFT). Cette étude porte aussi sur le calcul de l'énergie du gap HOMO/LUMO pour la prédiction de la réactivité moléculaire. Z. Ciunik et al (2002) [41], présentent, quant à eux et pour la même famille de composés, une analyse conformationnelle des résultats issus des calculs théoriques effectués par la méthode DFT, mettant ainsi, en évidence le rôle des interactions intermoléculaires dans le processus de cristallisation. D'autres travaux, présentant les propriétés optiques de cette famille de composés, font ressortir la corrélation structures/propriétés optiques. On peut à ce propos citer les travaux de Safin et al (2016) [42] et François Robert et al (2010) [43].

### **III- Application des bases de Schiff**

En raison de leur facilité de synthèse et de leurs rendements élevés, les bases de Schiff ont été largement utilisées comme ligands [44,45].

Lorsque les ligands des bases de Schiff possèdent des atomes donneurs supplémentaires tels que l'oxygène O et l'azote N, ils peuvent former un cycle chélate formant des complexes métalliques stables. Les propriétés polyvalentes de ces composés les ont amenés à être utilisés dans plusieurs domaines de recherche dont la chimie, la catalyse, la biologie, le magnétisme moléculaire [46-57], la luminescence [58-61], la corrosion [62], l'optique [63], la médecine [64], la pharmacie [65],

l'électronique [66], les colorants [67], la catalyse [68], ainsi comme des agents antimicrobiens très intéressants [69].

Dans cette partie nous détaillerons un peu plus leurs utilisations dans la chimie, la biologie et l'optique non linéaire.

### **III-1. En chimie**

Les bases de Schiff ont une place importante dans la chimie organique, on cite ci-après quelques exemples

- L'acylation des BS [70] par les anhydrides d'acides, les chlorures d'acides et l'acétyl cyanidrides qui est initiée par l'attaque sur l'atome d'azote qui conduit à une addition de l'agent d'acylation sur la double liaison C=N. Ce type de réaction a été utilisé dans la synthèse des produits naturels.
- La condensation catalysée par une base, des chlorures d'acétyl (contenant un groupement attracteur d'électron et au moins un atome d'hydrogène en position alpha) avec N-aryladimines se produit par une acylation initiale sur l'atome d'azote et conduit à des  $\beta$ -lactames qui ont un grand intérêt dans la chimie des pénicillines.
- L'hydrolyse de l'imine est également une étape clé dans la synthèse des aldéhydes.
- Les réactions de cyclisation et de polymérisation pour la préparation des produits macrocycliques [71-75].
- En catalyse, le rôle des BS est très important, car ils peuvent fixer les ions métalliques ou les nanoparticules métalliques catalytiquement actifs pour fournir une possibilité de réutilisation efficace. Grâce à leurs procédures de préparation relativement simple et la flexibilité qui permet de synthétiser de nouveaux produits avec différentes tailles et formes, les BS sont devenues le support efficace dans la catalyse hétérogène. Dans la littérature, les BS seraient les supports de nombreux catalyseurs, notamment avec les ions métalliques, les nanoparticules métalliques et les enzymes [76-79] pour des réactions de couplage C-C [80-84], d'oxydation [85-88], de réduction [89-94] et de cyclisation [95].

## **III-2. En biologie**

La fonctionnalisation des BS a suscité un intérêt considérable dans la mesure où elle implique la formation du fameux groupement imine.

Ce dernier trouve diverses applications en tant qu'agent pharmaceutique et un intermédiaire clé pour les réactions biochimiques [96, 97].

Les bases de Schiff ont été surtout étudiées comme agents antibactériens ainsi qu'agents antifongiques. Leurs activités antimicrobiennes sont illustrées sous différentes formes physiques telles que solides [98,99], gels [100, 101], films / membranes [102,103] et fibres / tissus [104].

Bien qu'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, soient souvent choisis pour l'étude antibactérienne des bases de Schiff, la liste des souches fongiques choisies pour leurs études en tant qu'agents antifongiques est longue dans la littérature. De manière significative, les BS rapportées jusqu'à présent montrent une meilleure propriété antimicrobienne que leurs produits de départ [105, 106].

Il a été prouvé dans la littérature que dans certains cas, l'action antimicrobienne des bases de Schiff est améliorée en les complexant avec des ions ou des nanoparticules métalliques. Elshaarawy et al [107] ont obtenus des bases de Schiff en utilisant du salicylaldéhyde dans différents liquides ioniques. Ils ont rapporté que les complexes de Co(II) et de Pd(II) de ces bases de Schiff chargées de liquide ionique présentent une très bonne efficacité antimicrobienne contre les souches bactériennes (*E. coli* et *S. aureus*) et les espèces fongiques (*A. flavus* et *C. albicans*) par rapport aux BS mères. Plusieurs autres groupes de recherche ont également observé une amélioration de l'efficacité antimicrobienne des BS après leur complexation [108-110].

Beaucoup de recherches s'intéressent également à de nouveaux agents anticancéreux prometteurs en raison des effets secondaires du cis-platine, et, par conséquent, les activités anticancéreuses des bases de Schiff et leurs dérivés ont été étudiés [111].

En ce qui concerne l'activité antioxydante des bases de Schiff, plusieurs travaux ont été rapportés. Guo et al. [112] ont synthétisé six bases de Schiff différentes avec des salicylaldéhydes substitués. Leurs travaux dévoilent une bonne activité antioxydante contre les radicaux superoxydes et hydroxydes.

Par ailleurs, plusieurs autres études [113-115] telle que celle présentée par Gull et al. [116] révèlent que les certains complexes métalliques présentent une activité biologique accrue par rapport au ligand libre. D'après leurs résultats expérimentaux, l'activité antioxydante amplifiée est observée pour les complexes métalliques Co(II), Ni(II) et Cu(II) avec le ligand BS hydrazone formé via le 1,4-dicarbonyl-phenyl-dihydrazide et l'ethyl 3-oxobutanoate. Cette étude a été décrite pour apporter plus de lumière sur la structure et les propriétés biologiques de cette nouvelle série de complexes métalliques macrocycliques.

### **III-3. En optique non linéaire**

Les caractéristiques structurales des bases de Schiff en termes de possession des groupes donneurs et des groupes accepteurs reliés par une chaîne conjuguée  $\pi$ , leur confèrent un potentiel optique non linéaire (NLO) ou électro-optique.

Les molécules organiques qui possèdent des propriétés optiques non linéaires (NLO) sont devenues des blocs de construction intéressants pour une nouvelle génération d'applications photoniques, en raison de leurs grandes hyperpolarisations de deuxième et troisième ordre, qui sont dans de nombreux cas comparables ou supérieures à celles des matériaux inorganiques [117]. Dans le domaine de l'ingénierie moléculaire, il est bien établi que les molécules "push-pull" molécules formées par un système -conjugué substitué par un groupe donneur d'électrons à une extrémité du système -conjugué, et par un groupe accepteur d'électrons à l'autre extrémité, présentent des réponses optiques non linéaires de deuxième et troisième ordre très intéressantes [118-121]. Un grand nombre de composés bases de Schiff connus aussi sous le nom N-benzylidèneaniline ( $\text{Ar-CH=N-Ar}$ ), sont des matériaux non linéaires, qui sont apparus comme étant des blocs de construction intéressants pour une nouvelle génération d'applications photoniques, en raison de leurs grandes hyperpolarizabilités de deuxième et troisième ordre, qui sont dans de nombreux cas comparables ou supérieures à celles des matériaux inorganiques [122]. On peut citer à ce propos, les travaux de M. Rodriguez et al (2011), où ils ont rapporté dans leurs travaux la synthèse d'une nouvelle base de Schiff "push-pull" bi substituée (3,5-nitro) qui favorise l'encombrement chiral à l'état solide ; cette propriété a été exploitée pour faire croître des cristaux organiques non linéaires présentant une efficacité de génération de seconde harmonique (SHG) 6 fois plus grande que celle de l'urée et 39 fois plus

grande que celle du potassium dihydrogénophosphate (KDP) à la longueur d'onde IR de 1907 nm. De plus, la génération du troisième ordre de cette base de Schiff a également été démontrée à une longueur d'onde visible (633 nm) par des expériences d'holographie dynamique [123].

## **IV-Références**

- [1] Schiff, H., Justus Liebigs Annalen der Chemie. 140(1), 92-137, (1866).
- [2] Guarìn, S.A.P., Bourgeaux, M., Dufresne, S., Skene, W. G., The Journal of Organic Chemistry. 72 (7), 2631-2643, (2007).
- [3] Schiff, H., Justus Liebigs Annalen der Chemie. 131(1), 118-119, (1864).
- [4] Souza, P., Garcia-Vazquez J. A., Masaguer J. R., Transition Met. Chem. 10, 410, (1985).
- [5] Yang, X., Wang, Q., Huang, Y., Zhang, J., Zeng R., et al. Inorg Chem Com25. 55-59, (2012).
- [6] Paryzek, R., Markiewicz, P., Kubicki, M., Inorg. Chim. Acta. 360, 488-496, (2007).
- [7] Kumar, S., Dhar, D., Saxena, N., Sci. Ind. Res. 68, 181-187, (2009).
- [8] Kalaivani, S., Priya, N. P., Arunachalam, S., IJABPT. 3, 219-223, (2012).
- [9] Silva da, C., Silva da, D., Modolo, L., Alves, R.J., Ad. Res. 2, 1-8, (2011).
- [10] Pandeya, S., Sriram, D., Nath, G., De Clercq, E., Indian J Pharm. Sci. 61, 358-361, (1999).
- [11] Jarrahpour, A., Khalili, D., De Clercq, E., Salmi, C. and Brunel, J.M., Molecules, 12(8), 1720-1730, (2007).
- [12] Tanaka, K., Shimoura, R., Caira. M. R., Tetrahedron Lett. 51, 449-452, (2010).
- [13] Pistolis, G., Gegiou, D., Hadjoudis. E., J. Photochem and Photobiol. A Chem, 93, 179-184, (1996).
- [14] Safin, D.A., Robeyns, K. and Garcia,Y., CrystEngComm. 18, 7284-7296, (2016).
- [15] Sajjad Hussain Sumrra, et al. Journal of Molecular Structure. 1238, 130382, (2021).
- [16] Shi, L., Ge, H-M., Tan, S-H., Li, H-Q., et al. European Journal of Medicinal Chemistry. 42, 558-564, (2007).
- [17] Bayrak, H., Demirbas, A., Karaoglu, S., Demirbas, N., European Journal of Medicinal Chemistry. 44, 1057-1066, (2009).
- [18] Thakar, A., Friedrich, H., Joshi. K.T., Asian J. Research Chem. 6, 540-545, (2013).
- [19] Martin, A., Martin, R., Int J LifeSci Pharm Res. 3, 321-329, (2014).
- [20] Demirbas, Neslihan, Alpaya Karaoğlu, Şengüllif et al. Arkivoc (i). 75-91, (2005).

- [21] Hipparagi, M., Majunder, K., Nargund, G., Vinaykumar, L., Indian Journal of Heterocyclic Chemistry. 16, 401-402, (2007).
- [22] Mogilaiah, K., Shiva Prasad, R., Kumara Swamy, J., Indian Journal of Chemistry. 49, 335-339, (2010).
- [23] Swamy, S. N., Basappa, Priya, B. S., Prabhuswamy, B., et al. European Journal of Medicinal Chemistry. 41, 531–538, (2006).
- [24] Munawara, K., Alia, S., Tahirb, M., Khalidc, N., et al. Russian Journal of General Chemistry. 85, 2183-2197, (2015).
- [25] Hussain, S., Bukhari, I., Ali, S., Shahzadi, S., et al. J. Coord. Chem, 68, 662, (2015).
- [26] Shams ElDDine, Sh.A., Hazzaa, A.A.B., Pharmazie, 29, 761-768, (1974).
- [27] Misato, T., Honma, K., Konno, Y., Taniyama. K., journal of Chem. Abstr. 87, 147054a. 9, (1977)
- [28] Cans, Z., Servi, A., Kopar, S., Alt.intas, M., et al. J. Chem. Soc. Pak. 23, 237-239, (2001).
- [29] Jones, D., Slack, R., Squires, S., Wooldridge, K., J Med Chem. 8, 676-680, (1965).
- [30] Kane, J., Dudley, M., Sorensen, M., Miller, S., J Med Chem. 31, 1253-1258, (1988).
- [31] Stillings, M., Welbourn, A.P., Walter. D.S., J Med Chem. 29, 2280-2284, (1986).
- [32] Unangst, P., Shurum, G., Connor, D., Dyer, R., et al. J Med Chem. 35, 3691-3698, (1992).
- [33] Mullican, M., Wilson, M., Connor, D., Kostlan, T., et al. J Med Chem. 36, 1090-1099, (1993).
- [34] Sughen, K. J., Yoloye, T., Pharm. Acta Helv. 58, 64-68, (1978).
- [35] Wajda-Hermanowicz, K., Pienińczak, D., Zatajska, A., Wróbel, R. et al. J. Molecules. 20, 17109-17131, (2015).
- [36] Imtiaz, K., Panini, P., Khan, S., Rana, U., et al. Cryst Growth Des. 16, 1371-1386, (2016).
- [37] Gavezzotti, A., Mol. Phys. 106, 1473-1485, (2008).
- [38] Wolff, K., Grimwood, D., McKinnon, J., Turner, M., et al. Crystal Explorer 3.1 University of Western Australia, (2013).
- [39] Khan, I., Panini, P., Khan, S., Chopra, D., et al. Cryst. Growth Des. 16, 1371-1386, (2016).

- [40] Jin, R., Sun, X., Liu, Y., Long, W., et al. *J Molecular Structure*. 1062, 13-20, (2014).
- [41] Ciunik, Z., Drabent, K., Szterenber, L., *J Molecular Structure*. 641, 175-182, (2002).
- [42] Safin, D., Robeyns, A.K., Garcia, Y., *CrystEngComm*. 18, 7284-7296, (2016).
- [43] Robert, F., Naik, D., Hidara, F., Tinant, B., et al. *Eur J Org Chem*. 621-637, (2010).
- [44] Tümer, M., Köksal, H., Sener, M. K., & Serin, S., *Transition Metal Chemistry*, 24(4), 414-420, (1999).
- [45] Tümer, M., Çelik, C., Köksal, H., Serin, S., *Trans Met Chem*. 24,525, (1999).
- [46] Alexandropoulos, D. I., Nguyen, T. N., Cunha-Silva, L., Zafiroopoulos, T. F., Escuer, A., Christou, G., Stamatatos, T. C., *Inorganic Chemistry*. 52 (3), 1179-1181, (2013).
- [47] Choubey, S., Roy, S., Bhar, K., Mitra, P., Ribas, J., Ghosh, B. K., *Polyhedron*. 74 134-143, (2014).
- [48] Cimpoesu, F., Dahan, F., Ladeira, S., Ferbinteanu, M., Costes, J.-P., *Inorganic Chemistry*. 51(21), 11279-11293, (2012).
- [49] Ferbinteanu, M., Stroppa, A., Scarrozza, M., Humelnicu, I., Maftei, D., Frecus, B., Cimpoesu, F., *Inorganic Chemistry*. 56(16), 9474-9485, (2017).
- [50] Hazra, S., Titiš, J., Valigura, D., Boča, R., Mohanta, S., *Dalton Transactions*. 45(17), 7510-7520, (2016).
- [51] Liu, X.-Y., Duan, L.-Q., Wei, Q., Chen, S.-P., *Inorganica Chimica Acta*. 423, Part A 462-468, (2014).
- [52] Okamoto, Y., Nidaira, K., Akitsu, T., *International Journal of Molecular Sciences*. 12 (10), (2011).
- [53] Seminara, A., Giuffrida, S., Musumeci, A., Fragalá, I., *Inorganica Chimica Acta*. 95(4), 201-205, (1984).
- [54] Shan, P.-Y., Li, H.-F., Chen, P., Tian, Y.-M., Sun, W.-B., Yan, P.-F., *Zeitschrift für anorganische and allgemeine Chemie*. 641 (6), 1119-1124, (2015).
- [55] Sun, W.-B., Yan, P.-F., Jiang, S.-D., Wang, B.-W., Zhang, Y.-Q., Li, H.-F., Chen, P., Wang, Z.-M., Gao, S., *Chemical Science*. 7(1), 684-691, (2016).
- [56] Vigato, P.A., Tamburini, S., Bertolo, L., *Coordination Chemistry Reviews*. 251(11), 1311-1492, (2007).

- [57] Zhou, H., Wang, Y., Shen, X., Liu, Y., Yuan, A., *Inorganica Chimica Acta*. 423, Part A 115-122, (2014).
- [58] Maeda, M., Hino, S., Yamashita, K., Kataoka, Y., Nakano, M., Yamamura, T., Kajiwara, T., *Dalton Transactions*. 41(44), 13640-13648, (2012).
- [59] Jiang, D., Yang, X., Chen, H., Wang, F., Wang, S., Zhu, T., Zhang, L., Huang, S., *Dalton Transactions*. 48(6), 2206-2212, (2019).
- [60] Chen, H., Yang, X., Jiang, D., Shi, D., Zhang, L., *Dalton Transactions*, 47(39), 13880-13886, (2018).
- [61] Chen, H., Yang, X., Jiang, D., Schipper, D., Jones, R.A., *Inorganic Chemistry Frontiers*. 6(2), 550-555, (2019).
- [62] Verma, C., Quraishi, M.A., *Coordination Chemistry Reviews*. 446, 214105, (2021).
- [63] Rodríguez, M., et al., *Spectrochimica Acta Part A*. 79, 1757-1761, (2011).
- [64] Hameed, A., al-Rashida, M., Uroos, M., Ali, S.A., Khan, K.M., *Expert Opin Ther Pat* 27 63, (2017).
- [65] Radecka-Paryzek, W., Pospieszna-Markiewicz, I., Kubicki, M., *Inorg Chim Acta* 360-488, (2007).
- [66] Jia, J.H., Tao, X.M., Li, Y.J., Sheng, W.J., *Chem Phys Lett*. 514, 114, (2011).
- [67] Tanaka, K., Shimoura, R., Caira, M.R., *Tetrahedron Lett*. 51, 449, (2010).
- [68] Ceyhan, G., Kose, M., McKee, V., Urus, S., Golcü, A., Tümer, M., *Spectrochim Acta Part A*. 95, 382, (2012).
- [69] Jaworska, M., Welniak, M., Zieciak, J., Kozakiewicz, A., Wojtczak, A., *Arkivoc* ix 189, (2011).
- [70] Tsuge, O., Kanemasa, S., Yamada, T., Matsuda, K., *Chemischer Informationsdienst*, 1(14), (1986).
- [71] Vigato, P. A., Tamburini, S., Bertolo, L., *Coordination Chemistry Reviews*. 251(11), 1311-1492, (2007).
- [72] Nelson, S.M., *Pure and Applied Chemistry*. Vol 52, 2461, (1980).
- [73] Kedy, S., Almhna, N., Kandil, F., *Arabian Journal of Chemistry*, 8(1), 93-99, (2015).
- [74] Bordbar, M., Tavoosi, F., Yeganeh-Faal, A., Zebarjadian, M.H., *Journal of Molecular Structure*. 1152, 128-136, (2018).

- [75] Rezaeivala, M., Keypour, H., *Coordination Chemistry Reviews*. 280, 203-253, (2014).
- [76] Trofymchuk, O. S., Gutsulyak, D. V., Quintero, C., Parvez, M., Daniliuc, C. G., Piers, W. E., Rojas, R. S., *Organometallics*. 32(24), 7323-7333, (2013).
- [77] Thilagavathi, N., Manimaran, A., Padma Priya, N., Sathya, N., Jayabalakrishnan, C., *Applied Organometallic Chemistry*. 24(4), 301-307, (2010).
- [78] Huang, W.-S., Chen, L., Zheng, Z.-J., Yang, K.-F., Xu, Z., Cui, Y.-M., Xu, L.-W., *Organic & Biomolecular Chemistry*. 14(33), 7927-7932, (2016).
- [79] Gogoi, N., Begum, T., Dutta, S., Bora, U., Gogoi, P. K., *RSC Advances*. 5(115), 95344-95352, (2015).
- [80] Gur'eva, Y. A., Slepukhin, P. A., Kuchin, A. V., *Inorganica Chimica Acta*. 486, 602-607, (2019).
- [81] Baran, T., Açıksöz, E., Menteş, A., *Carbohydrate Polymers*. 142, 189-198, (2016).
- [82] Baran, T., Menteş, A., *Journal of Macromolecular Science Part A*. 53(11), 687-690, (2016).
- [83] Baran, T., Açıksöz, E., Menteş, A., *Journal of Molecular Catalysis A Chemical*. 407, 47-52, (2015).
- [84] Baran, T., *International Journal of Biological Macromolecules*. 127, 232-239, (2019).
- [85] Lagerspets, E., Lagerblom, K., Heliövaara, E., Hiltunen, O.-M., Moslova, K., Nieger, M., Repo, T., *Molecular Catalysis*. 468, 75-79, (2019).
- [86] Anbarasu, G., Malathy, M., Karthikeyan, P., Rajavel, R., *Journal of Solid State Chemistry*. 253, 305-312, (2017).
- [87] Tang, J., Yao, P., Huang, F., Luo, M., Wei, Y., Bian, H., *Stereoselective sulfoxidation catalyzed by achiral Schiff base complexes in the presence of serum albumin in aqueous media*. Vol 28, (2017).
- [88] Alshaheri, A. A., Tahir, M. I. M., Rahman, M. B. A., Ravooof, T. B. S. A., Saleh, T. A., *Chemical Engineering Journal*. 327, 423-430, (2017).
- [89] Cheng, F., *Chen J Chemical Society Reviews*. 41(6), 2172-2192, (2012).
- [90] Du, J., Cheng, F., Wang, S., Zhang, T., Chen, J., *Scientific Reports*. 4, 4386, (2014).
- [91] Kramm, U. I., Lefèvre, M., Larouche, N., Schmeisser, D., Dodelet, J.-P., *Journal of the American Chemical Society*. 136(3), 978-985, (2014).

- [92] Liang, H.-W., Wei, W., Wu, Z.-S., Feng, X., Müllen, K., *Journal of the American Chemical Society*. 135(43), 16002-16005, (2013).
- [93] Wu, G., Zelenay, P., *Accounts of Chemical Research*. 46(8), 1878-1889, (2013).
- [94] Novozhilova, M.V., Smirnova, E.A., Karushev, M.P., Timonov, A.M., Malev, V.V., Levin, O.V., *Russian Journal of Electrochemistry*. 52(12), 1183-1190, (2016).
- [95] Li, Z., Zheng, Z., Wan, B., Chen, H., *Journal of Molecular Catalysis A Chemical*. 165(1), 67-71, (2001).
- [96] Anand, T., Kumar, A. S. K., Sahoo, S. K., *Photochemical & Photobiological Sciences*. 17(4), 414-422, (2018).
- [97] Ren, S., Wang, R., Komatsu, K., Bonaz-Krause, P., Zyrianov, Y., McKenna, C. E., Csipke, C., Tokes, Z. A., Lien, E. J., *Journal of Medicinal Chemistry*. 45(2), 410-419, (2002).
- [98] Lal, S., Arora, S., Sharma, C., *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 124(2), 909-916, (2016).
- [99] Salama, H. E., Saad, G. R., Sabaa, M. W., *International Journal of Biological Macromolecules*. 79, 996-1003, (2015).
- [100] Lei, L., He, Z., Chen, H., McClements, D. J., Li, B., Li, Y., *RSC Advances*. 5(121), 100114-100122, (2015).
- [101] Guan, Y., Chen, J., Qi, X., Chen, G., Peng, F., Sun, R., *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 54(30), 7393-7400, (2015).
- [102] Bansal, M., Chauhan, G. S., Kaushik, A., Sharma, A., *International Journal of Biological Macromolecules*. 91, 887-894, (2016).
- [103] Chen, H., Hu, X., Chen, E., Wu, S., McClements, D.J., Liu, S., Li, B., Li, Y., *Food Hydrocolloids*. 61, 662-671, (2016).
- [104] Nada, A.A., James, R., Shelke, N.B., Harmon, M.D., Awad, H.M., Nagarale, R.K., Kumbar, S.G., *Polymers for Advanced Technologies*. 25(5), 507-515, (2014).
- [105] Antony, R., Arun, T., Manickam, S.T.D., *International Journal of Biological Macromolecules*. 129, 615-633, (2019).
- [106] Vieira, R.P., Beraldo, H., *Design of Schiff Base-derived Ligands Applications in Therapeutics and Medical Diagnosis*. (2014).
- [107] Elshaarawy, R.F.M., Refaee, A.A., El-Sawi, E.A., *Carbohydrate Polymers*. 146, 376-387, (2016).
- [108] Galini, M., Salehi, M., Kubicki, M., Amiri, A., Khaleghian, A., *Inorganica Chimica Acta*. 461, 167-173, (2017).

- [109] Parsaee, Z., Mohammadi, K., Journal of Molecular Structure. 1137, 512-523, (2017).
- [110] Zhou, T., Jia, X., Zhao, X., Li, J., Liu, P., Journal of Materials Chemistry B. 5(15), 2840-2848, (2017).
- [111] Wang, R.-M., He, N.-P., Song, P.-F., He, Y.-F., Ding, L., Lei, Z.-Q., Polymers for Advanced Technologies. 20(12), 959-964, (2009).
- [112] Guo, Z., Xing, R., Liu, S., Yu, H., Wang, P., Li, C., Li, P., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 15(20), 4600-4603, (2005).
- [113] Gull, P., Dar, O.A., Malik, M.A., Hashmi, A.A., Microbial Pathogenesis. 100, 237-243, (2016).
- [114] Gull, P., Malik, M.A., Dar, O.A., Hashmi, A. A., Journal of Molecular Structure. 1134, 734-741, (2017).
- [115] Rathi, P., Singh, D.P., Surain, P., Comptes Rendus Chimie. 18(4), 430-437, (2015).
- [116] Gull, P., Malik, M.A., Dar, O.A., Hashmi, A.A., Microbial Pathogenesis. 104, 212-216, (2017).
- [117] S.R. Forrest, M.E., Thompson, Chem. Rev. 107, 923–925, (2007).
- [118] Nalwa, H.S., Miyata, S., Nonlinear Optics of Organic Molecules and Polymers. CRC Press, Boca Raton, FL, (1997).
- [119] Gunter, P., Nonlinear Optical Effects and Materials. vol 72, Springer-Verlag, New York. (2000).
- [120] Baldo, M., Nat Photonics. 3, 458, (2009).
- [121] Marder, S.R., J Mater Chem. 19, 7392- 3793, (2009).
- [122] Forrest, S.R., Thompson, M.E., Chem. Rev. 107, 923–925, (2007).
- [123] Rodríguez, M., Ramos-Ortíz, G., Maldonado, J. L., Herrera-Ambriz, V.M., Domínguez, O., Santillan, R., & Nakatani, K., Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 79(5), 1757-1761, (2011).

# **Chapitre II: Le Docking Moléculaire**

## **I-Introduction**

Depuis les quarante dernières années, le processus de recherche et développement au sein de l'industrie pharmaceutique a subi des changements majeurs. Plus particulièrement, en 1984, le « Waxman-Hatch act » a encouragé l'innovation dans le domaine du médicament tout en facilitant l'entrée des génériques. Les industries sont confrontées à une nouvelle ère dans laquelle les produits ont un cycle de vie limité. Dans ce contexte, l'augmentation de la quantité de molécules innovantes est indispensable pour satisfaire les besoins thérapeutiques. Actuellement, d'un point de vue externe, il semblerait que la recherche et développement de nouveaux composés soit en perte de vitesse. Ceci est dû à la fois à des contraintes plus drastiques ainsi que des coûts de développement beaucoup plus élevés.

L'aspect « innovation » est un point essentiel sur lequel nous devrions se fixer. En effet, un projet thérapeutique est une succession d'étapes bien complexes qui doivent être optimisées puis validées. Amener un nouveau produit sur le marché implique que chacune de ces étapes soit novatrice, de la première étape d'initiation du projet jusqu'aux tests cliniques. Un renouveau doit être apporté en termes de structure chimique, de formulation mais également du côté pharmacologique. Dans ce sens l'orientation vers les nouvelles sciences et technologies performantes est primordiale et considérable sur la découverte de nouvelles molécules à visée thérapeutique. De manière plus pragmatique, la conception rationnelle par les technologies informatiques occupe une position essentielle dans le processus de découverte.

Le docking moléculaire ou « arrimage moléculaire » pour les francophones, est l'une des méthodes de modélisation les plus couramment utilisées dans la conception des médicaments. Cette technique utilise les mêmes principes que les autres méthodes de modélisation avec la particularité de combiner deux molécules ou plus au même temps.

Le docking moléculaire consiste à déterminer la conformation et l'affinité d'un ligand « petite molécule » (activateur ou inhibiteur) dans le site actif d'une macromolécule (généralement de nature protéique), ainsi la prédiction et l'optimisation de nouveaux agents inhibiteurs et les différentes interactions probables entre la protéine et le ligand. Le docking se divise en deux étapes :

- La première consiste à placer le ligand dans le site actif de la protéine.

- La seconde a pour objet l'évaluation et la prédiction des interactions énergétiques potentielles entre le ligand et la protéine. Ces deux étapes diffèrent selon le programme de docking utilisé [1].

Dans le domaine de la modélisation moléculaire, le docking est une approche qui calcule la meilleure orientation d'un ligand vers une seconde molécule lorsqu'ils sont liés pour former un complexe stable [2].

## **II- Principes du Docking moléculaire**

La diffraction aux rayons X (X-ray) et la résonance magnétique nucléaire (RMN) sont deux techniques majeures permettant de décrire à un niveau de résolution atomique comment deux molécules interagissent. Ces méthodes expérimentales ont toutefois chacune leurs limitations et restent difficiles et coûteuses à mettre en place. Le docking moléculaire, est une approche informatique représentant une alternative complémentaire à ces méthodes expérimentales. Le docking est globalement utilisé pour générer des modèles permettant de prédire le mode d'interaction entre deux molécules à partir de leurs coordonnées atomiques. Les structures tridimensionnelles des molécules d'intérêt sont donc nécessaires ; elles peuvent provenir des approches expérimentales (X-ray ou RMN) ou bien, en leur absence, de modèles construits par homologie. Le docking peut se décliner en deux étapes successives (bien qu'elles soient souvent corrélées) premièrement, l'échantillonnage des positions, orientations et conformations (ou plus simplement poses) d'un ligand à la surface d'un récepteur ; ensuite, le tri de ces poses grâce à une fonction de score qui leur associe une énergie d'interaction estimée. Idéalement, l'algorithme d'échantillonnage doit pouvoir générer au moins une pose reproduisant le mode d'interaction expérimental; la fonction de score doit être capable de lui associer une énergie d'interaction (scoring) permettant de la discriminer parmi l'ensemble des poses générées.

### **II- 1- L'étape d'échantillonnage**

A pour fonction de générer un ensemble de poses d'un ligand à la surface d'une protéine. Trois catégories de docking peuvent être établies selon la manière dont la flexibilité des molécules est traitée au cours de l'échantillonnage

### **II- 1-1- Le docking rigide**

La protéine et le ligand sont tous deux traités comme entièrement rigides. Ainsi, seuls les degrés de liberté translationnels et rotationnels du ligand relativement au récepteur sont explorés. Cette simplification s'apparente à considérer un modèle de liaison de type "serrure-clé" où ni le ligand ni le récepteur ne subissent de réarrangements conformationnels suite à leur interaction. Le docking rigide est généralement employé pour l'amarrage entre deux macromolécules (docking protéine-protéine ou protéine/acide nucléique structuré) pour lesquelles les degrés de liberté sont trop importants pour réaliser un échantillonnage conformationnel efficace dans des temps de calculs raisonnables.

### **II-1-2- Le docking semi-flexible**

Dans le docking semi-flexible, seule la flexibilité du ligand est traitée, le récepteur étant rigide. Ainsi, l'échantillonnage des degrés de liberté du ligand s'ajoutent aux explorations translationnelles et rotationnelles. Ce type de docking repose sur l'hypothèse sommaire que la conformation du récepteur utilisée est apte à reconnaître le ligand.

### **II-1-3- Le docking flexible**

Considère à la fois la flexibilité du ligand et du récepteur. Les degrés de liberté conformationnels de ce dernier peuvent être limités à certaines chaînes latérales ou bien considérés également des mouvements plus larges impliquant par exemple les différents arrangements possibles entre domaines d'une protéine. Ce type de docking représente une approche plus réaliste en considérant des modèles de liaison du ligand au récepteur de type "ajustement induit" et/ou "sélection conformationnelle". En revanche, l'exploration de l'ensemble des degrés de liberté du ligand et du récepteur implique des difficultés importantes liées au temps de calculs nécessaires pour exploiter le docking flexible efficacement. Les approches de docking semi-flexible ou flexible sont plus généralement appliquées à la modélisation d'interaction entre protéines et petites molécules. Les paragraphes qui suivent décrivent d'une manière non-exhaustive des stratégies généralement utilisées pour traiter la flexibilité du ligand et de la protéine.

#### **II-1-3-1- Traitement de la flexibilité du ligand**

Les algorithmes d'échantillonnage peuvent être classés en différents groupes selon la méthodologie utilisée pour explorer la flexibilité du ligand les algorithmes de recherche systématique, stochastique et les approches de simulation.

### **a- Recherche systématique**

Les algorithmes de recherche systématique explorent l'ensemble des degrés de liberté d'un ligand. Certaines approches systématiques sont dites exhaustives dans la mesure où elles visent à explorer l'ensemble des conformations possibles d'un ligand. Pour cela, chaque angle dièdre du ligand est incrémenté de façon discrète, et toutes les combinaisons d'angles autorisées sont échantillonnées. Si cette approche a le mérite d'évaluer l'ensemble des conformères possibles, leur quantité croît rapidement lorsque le nombre de degrés de liberté d'un ligand augmente. Par exemple, un échantillonnage des angles par intervalles de 30° conduit à 12 possibilités pour chaque 39 angle dièdre. Ainsi, le nombre de conformères à parcourir est de  $12n$  pour une molécule à  $n$  degrés de liberté. Pour rendre la recherche exhaustive plus pratique, certains programmes de docking comme Glide [3] génèrent en amont une bibliothèque de conformères d'un ligand donné permettant de traiter implicitement sa flexibilité. Ces conformères sont ensuite filtrés selon des contraintes géométriques/chimiques avant d'être positionnés et orientés aléatoirement dans un site pré-défini de la protéine. Un autre type de recherche systématique concerne les approches par construction incrémentale du ligand. Plusieurs stratégies existent, toutes reposant initialement sur la décomposition d'un ligand d'intérêt en un ou plusieurs fragments. Le premier algorithme de construction incrémentale, décrit et intégré dans le programme DOCK en 1986 [4], peut se définir comme une approche de type "anchor and link". Dans cette implémentation, un ligand est d'abord décomposé en ses fragments les plus rigides, ou ancres, les autres parties plus flexibles du ligand étant ignorées. Après un docking indépendant de chacune des ancres, les paires de fragments pouvant être connectées sont identifiées par des contraintes de distance. Dans une approche légèrement différente correspondant à un procédé de type "anchor and grow", Leach et Kuntz [5] ne docke qu'un seul fragment. La partie flexible du ligand est greffée a posteriori à l'ancre en échantillonnant l'ensemble de ses angles dièdres par un nombre néanmoins réduits d'intervalles de manière à prévenir une explosion combinatoire. Enfin, Hammerhead [6], utilise une approche de type "anchor and merge". Un premier fragment rigide correspondant généralement à une extrémité du ligand et appelé « head » est d'abord défini et docké à l'intérieur d'un site de liaison. Les autres parties du ligand sont également fragmentées de manière à ce que toutes possèdent des portions communes. Un premier fragment est alors joint à l'ancre au niveau de leur chevauchement

puis la molécule résultante est optimisée par minimisation. Le processus est répété séquentiellement pour les autres fragments.

### **b- Recherche stochastique**

L'approche stochastique consiste à effectuer des changements aléatoires dans la structure tridimensionnelle du ligand. Habituellement il s'agit de modifier à chaque fois un degré de liberté. L'un des inconvénients de cette méthode est l'incertitude de convergence. Pour y remédier, il faut multiplier les calculs, indépendamment les uns des autres. Un des principaux algorithmes stochastiques est la méthode de Monte Carlo [7].

Pour la méthode de Monte Carlo, le ligand est considéré dans son ensemble et les changements s'effectuent aussi bien sur les translations, les rotations que sur les torsions. A chaque mouvement, la molécule est minimisée et son énergie est calculée. La conformation obtenue par cette transformation est testée avec un critère de sélection basé sur l'énergie. Si ce critère est validé, il sera sauvegardé et le programme générera ensuite la prochaine conformation. Les itérations se poursuivront jusqu'à ce que toutes les conformations prédéfinies soient collectées. Le principal avantage de la méthode de Monte Carlo est que le changement peut être assez important pour permettre au ligand de franchir les barrières énergétiques sur la surface d'énergie potentielle. Un point qui n'est pas facilement atteint par les méthodes de simulation basées sur la dynamique moléculaire [8].

### **c- Approche de simulation ou déterministe**

La minimisation énergétique ainsi que la dynamique moléculaire sont deux approches de simulation. La minimisation est principalement utilisée pour optimiser la géométrie d'un système en l'amenant dans un minimum énergétique local. Cette stratégie ne permettant pas de franchir de grandes barrières énergétiques, elle est souvent utilisée dans des approches de docking en combinaison avec d'autres méthodes de recherche qui autorisent une exploration plus large de l'espace possible des poses. La dynamique moléculaire permet de simuler l'évolution d'un système au cours du temps dans des conditions thermodynamiques (température, pression et volume) prédéfinies. Cette approche autorise donc une modélisation plus réaliste, d'autant plus qu'elle offre la possibilité de traiter explicitement les molécules d'eau ainsi que l'ensemble des degrés de liberté du système, aussi bien ceux du ligand, de la protéine et du solvant. Les temps de calculs sont en contrepartie évidemment plus long que les autres approches présentées plus haut, rendant son utilisation rapidement prohibitive pour une étude efficace de systèmes complexes comme peuvent l'être les molécules biologiques. Ainsi,

les simulations de dynamiques ne peuvent être, par défaut, réalisées sur une durée suffisamment longue pour franchir des barrières énergétiques très élevées, réduisant l'exploration de l'espace possible des poses. La dynamique moléculaire est en conséquence, comme la minimisation, le plus souvent utilisée en conjonction avec d'autres approches de docking, notamment pour évaluer la stabilité de poses candidats [9] et/ou les affiner [10].

### II-1-3-2- Traitement de la flexibilité de la protéine

De nombreuses données structurales (X-ray et RMN) mettent en évidence des différences conformationnelle entre la forme d'une protéine liée (holo-) à un ligand et sa forme libre, non-liée (apo-). Beaucoup d'approches de docking à grande échelle sont toutefois menées à partir d'une unique structure rigide de la protéine en raison de l'augmentation des temps de calculs associés à la prise en compte de ses degrés de liberté. Plusieurs stratégies sont néanmoins développées pour considérer leur flexibilité et ainsi rendre compte de modèles plus réalistes. Elles peuvent se diviser en deux classes : celles reposant sur une seule structure protéique, et celles exploitant plusieurs conformations d'une même protéine.

#### a- Approches à conformation protéique unique

De subtils changements de positions des résidus de la protéine peuvent avoir une grande influence sur les résultats de docking. Le réarrangement d'une seule chaîne latérale peut par exemple modifier la topologie du site de liaison et décroître la précision dans la prédiction de modes d'interaction. Différentes approches de docking ont donc été développées afin de considérer ces réarrangements locaux, s'approchant ainsi d'un modèle de liaison de type ajustement induit. Elles reposent sur l'utilisation d'une unique conformation protéique comme point de départ, son squelette étant considéré rigide. Elle traite donc la flexibilité d'une manière implicite. Cette approche présente l'avantage d'être simple à mettre en place mais peut conduire à l'obtention de poses irréalistes [11].

Une autre stratégie consiste à explorer explicitement les conformations des chaînes latérales. Leur échantillonnage repose généralement sur des bibliothèques de rotamères [12], dont l'utilisation peut être associée à une étape d'optimisation de la complémentarité stérique entre le ligand et la protéine [13].

#### b- Approches à multiples conformations protéiques

Les approches de docking n'utilisant qu'une seule conformation protéique permettent uniquement de traiter des mouvements locaux. L'exploitation de plusieurs conformations protéiques offre le potentiel de considérer de plus amples réarrangements conformationnels.

Ces conformations peuvent provenir de structures résolues expérimentalement ou, en leur absence, de simulations de dynamique moléculaire, de Monte-Carlo ou encore par l'analyse de modes normaux. Plusieurs stratégies ont été envisagées pour intégrer dans le docking l'usage de plusieurs conformations protéiques. On peut distinguer parmi celles-ci les approches reposant sur l'utilisation de grilles pondérées, celles générant des protéines chimères moyennes, et celles utilisant séquentiellement un ensemble de conformations.

Certains programmes de docking calculent préalablement des grilles cartographiant l'ensemble des interactions possibles. Les énergies d'interaction entre chaque atome d'un ligand donné et les atomes d'un récepteur sont pré-calculées et stockées dans une grille. Cette méthode présente l'avantage de réduire les temps de calculs puisque les énergies d'interaction n'ont plus à être calculées à chaque étape du docking. Certaines approches exploitent l'utilisation de grilles pour considérer un ensemble de conformations d'un récepteur protéique. Une grille moyenne peut par exemple être calculée à partir de l'ensemble des structures disponibles. La pondération peut être basée sur l'énergie d'interaction ou sur la position des atomes du récepteur [14].

### II-2- Etape de prédiction et évaluation

Une fois les paramètres du docking moléculaire sont établis, le programme passe à l'étape de prédiction et d'évaluation. Celle-ci permet la mise au point des modes d'interactions potentiels. Cette étape est réalisée en prenant en considération les Algorithmes de docking et les fonctions de score.

#### II-2-1- Algorithme de docking

Un algorithme de docking est capable de générer les modes de liaison attendus pour des ligands. Pour cela, il est nécessaire que l'algorithme d'une recherche conformationnelle puisse explorer l'espace conformationnel possible, de façon efficace et exhaustive.

L'aptitude d'un algorithme à trouver l'emplacement correct du ligand par rapport à son récepteur est habituellement déterminée par la déviation quadratique moyenne ou RMSD (Root-Mean-Square Deviation) du modèle conçu par le logiciel avec les coordonnées cartésiennes ( $x_{pose}$ ,  $y_{pose}$ ,  $z_{pose}$ ) par rapport aux coordonnées cartésiennes de la structure du cristal ( $x_{cristal}$ ,  $y_{cristal}$ ,  $z_{cristal}$ ). Plus la valeur de RMSD se rapproche de 0, plus la molécule organique docké se superpose avec la référence co-cristallisée.

La valeur admise est une différence maximale de deux angströms au-delà de cette valeur la prédiction est considérée comme non adéquate [15,16]. En général, les erreurs de Docking sont dues à un échantillonnage insuffisant ou à une fonction de score inadéquate.

### **II-2-2- Principes physico-chimiques de la reconnaissance protéine-ligand**

De manière générale, les fonctions de score utilisées pour le docking donnent une estimation de l'affinité de liaison entre un ligand (L) et son récepteur (R). L'affinité peut être mesurée expérimentalement en déterminant la constante d'association à l'équilibre ( $K_{eq}$ ) qui représente le rapport des concentrations entre le complexe récepteur-ligand (RL) et les formes libres de R et L lorsque la réaction a atteint l'équilibre. Par ailleurs, la constante  $K_{eq}$  est directement reliée à la variation d'énergie libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) qui peut aussi être décrite par les variations des contributions enthalpique ( $\Delta H$ ) et entropique ( $\Delta S$ )

$$\Delta G = -RT \ln K_{eq} = \Delta H - T \Delta S \dots \dots \text{(eq 2)}$$

Où R est la constante universelle des gaz parfaits et T la température.

Dans des conditions de température et de pression constantes et lorsque le système a atteint l'équilibre, une variation négative de  $\Delta G$  correspond à un processus spontané d'association. L'équation précédente montre que la magnitude de  $\Delta G$  est déterminée par la constante  $K_{eq}$ . On peut donc considérer que la valeur de  $\Delta G$  reflète l'affinité de liaison entre un récepteur et un ligand, ou encore la stabilité du complexe RL. L'équation 2 montre également que  $\Delta G$  résulte des contributions enthalpique et entropique intervenant dans le processus de liaison. Dans des conditions où la pression est constante et la variation de volume du système ne varie pas, la variation d'enthalpie peut être définie comme la variation de l'énergie totale du système faisant suite à l'association d'un ligand à son récepteur. Elle découle d'une balance énergétique résultant de la formation et de la rupture d'un ensemble d'interactions. Une liaison enthalpiquement favorable peut ainsi mettre enjeu une perte de liaisons hydrogènes et d'interactions de van der Waals/électrostatiques entre chacun des solutés et le solvant, perte qui doit être compensée par la formation de nouvelles interactions non covalentes établies entre la protéine et le ligand. L'énergie interne des solutés intervient également dans la contribution enthalpique puisque les conformations de la protéine et du ligand peuvent être davantage contraintes dans l'état du complexe RL et donc énergétiquement moins favorables qu'elles ne peuvent l'être dans leurs formes libres respectives. L'équation citée au-dessus ;

montre qu'un  $\Delta H$  négatif conduira à un processus d'association spontané uniquement si cette variation n'est pas compensée par une variation d'entropie défavorable.

L'entropie représente une mesure du désordre qui, dans le contexte d'un système simple composé d'une protéine et d'un ligand baignant dans un milieu aqueux, peut être interprété par le nombre d'états que peut adopter chacune des entités moléculaires du système. Les états possibles d'une molécule intègrent par exemple l'ensemble de ses conformations potentielles, ses possibilités de translations et rotations, ou encore les fréquences de vibrations de ses atomes. Lorsqu'un ligand se fixe à un récepteur, le nombre de ses états possibles réduit drastiquement, ce qui entraîne une forte pénalité entropique. Un phénomène important permet cependant de contre balancer cette dernière l'effet hydrophobe. Pour saisir son action, considérons une molécule hydrophobe (ou non polaire). Ses propriétés physico-chimiques ne lui permettent pas d'établir de liaisons hydrogènes (ou d'interactions électrostatiques "fortes") avec des molécules d'eau. Son introduction dans un milieu aqueux tend à rompre une partie du réseau dynamique de liaisons hydrogènes que forment les molécules d'eau entre elles. Les molécules d'eau au voisinage direct d'une surface hydrophobe ont toutefois tendance à s'orienter de manière à maximiser leur potentiel à établir des liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau environnantes. Cet agencement tend à réduire leur mobilité [17] et entraîne donc une augmentation de l'ordre qui est entropiquement pénalisante.

Par ailleurs, plusieurs études suggèrent que les molécules d'eau entourant un composé non polaire entraînent la diminution de formation de liaisons hydrogènes [18], conférant également une pénalité enthalpique à son énergie de solvation. L'effet hydrophobe désigne le processus amenant des composés non polaires à spontanément s'associer en milieu aqueux. Le caractère spontané de cette réaction résulte, notamment, d'une diminution de la surface nette hydrophobe solvatée suite à l'association, cette dernière s'accompagnant d'une libération des molécules d'eau bénéfique sur le plan entropique. Ces dernières peuvent alors à nouveau participer au réseau de liaisons hydrogènes formé par les molécules d'eau environnantes apportant ainsi une contribution enthalpique favorable. La complémentarité stérique entre les régions non polaires contribue également à leur agrégation en favorisant des interactions de van der Waals.

L'effet hydrophobe représente un facteur majeur de stabilité des assemblages biologiques. Il est en effet essentiel au repliement des protéines et des acides nucléiques, à la formation des membranes lipidiques, et évidemment aux interactions intermoléculaires. Plusieurs travaux

ont par exemple montré que l'affinité d'un ligand envers son récepteur peut être augmentée par l'ajout de groupements hydrophobes [19].

Les fonctions de score représentent des modèles mathématiques utilisés pour estimer une énergie d'interaction entre un récepteur et un ligand. Dans une approche de docking réalisée pour prédire leur mode d'interaction, les fonctions de score doivent pouvoir permettre de distinguer, parmi un ensemble varié de poses, celles qui sont pertinentes. Par ailleurs, dans les approches de criblage virtuelle où une bibliothèque de ligands diverses est dockée sur une protéine, elles doivent aussi être capables d'identifier quels sont ceux qui peuvent réellement s'y lier et même pouvoir les classer selon leur affinité respective. Le nombre de poses à évaluer au cours de calculs de docking peut varier de plusieurs milliers à plusieurs millions selon la stratégie d'échantillonnage adoptée. Par conséquent, les fonctions de score doivent aussi être rapides. L'efficacité de leurs temps de calculs ne peut cependant être obtenue sans approximations ou simplifications du modèle décrivant le processus de liaison, et s'atteint donc au détriment de la précision dans l'évaluation de l'énergie d'interaction.

De nombreuses fonctions de score ont été développées dans le but de répondre à ces contraintes d'efficacité et de précisions. Elles peuvent se classer en quatre grandes catégories les fonctions de score basées sur champ de force, les fonctions empiriques, les fonctions reposant sur des potentiels statistiques et les fonctions basées sur des techniques d'apprentissage automatique.

### **II-2-3- Les fonctions de score**

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant [20]

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}} \dots \dots (1)$$

Concrètement, le score est une estimation de l'affinité entre la macromolécule et la petite molécule organique. Un score ne prédit donc en rien une activité mais bien une affinité. Il n'est donc pas réaliste de corrélérer une activité mesurée avec la valeur d'un score. Il est plus judicieux d'établir une corrélation des constantes d'inhibition  $K_i$  avec les scores in silico. Une mauvaise corrélation entre les affinités expérimentales et les scores ne signifie pas pour autant

que la fonction de scoring est mauvaise. En effet, les molécules dont on connaît les affinités mesurées expérimentalement ne couvrent qu'un très faible intervalle de score comparé au large intervalle proposé par une fonction de scoring [21].

Les fonctions de scoring permettent de déterminer la conformation « première pose » qui représentera au mieux le ligand concerné d'une part, et de pouvoir classer les meilleures poses d'autre part, afin d'établir un classement final des molécules les plus prometteuses.

Malgré tout, il subsiste encore beaucoup d'inconnues dans le mécanisme de reconnaissance lors de la formation du complexe tel que la formation de liaisons hydrogène, les termes entropiques ainsi que le rôle à jouer des molécules d'eau dans le processus de solvation-désolvatation. Le docking est accompagné d'une multitude d'approximations, et il en va de même pour les fonctions de scoring pour lesquelles il est impossible d'évaluer toutes les interactions intra et interatomiques.

#### **a- Fonctions de score basées sur champ de force**

En mécanique moléculaire (MM), un champ de force correspond à un ensemble de paramètres et de fonctions permettant de définir un système et de décrire son ensemble d'énergie potentielle. Les paramètres incluent automatiquement la masse des atomes, leur charge, leur rayon de van der Waals ainsi que différentes valeurs de référence correspondant à des longueurs de liaisons interatomiques et d'angles plans et dièdres. Ces paramètres sont généralement dérivés d'expériences ou de simulations quantiques habituellement réalisées sur de petites molécules organiques. Les fonctions d'un champ de force correspondent à des formalismes mathématiques qui intègrent ces paramètres et qui sont utilisés pour calculer plusieurs types d'énergie potentielle. AMBER [22] et CHARMM [23] sont deux exemples de champs de force très utilisés pour la modélisation de biomolécules comme les protéines ou les acides nucléiques.

La fonction de score du programme de docking DOCK [24] est un exemple typique de fonction basée sur champ de force. Cette fonction de score, dont les paramètres sont dérivés d'AMBER, estime une énergie de liaison ( $E_{\text{liaison}}$ ) approximée par la somme d'énergies non-liées entre paires d'atomes du ligand et de la protéine : une énergie de van der Waals ( $E_{\text{vdw}}$ ) et une énergie électrostatique ( $E_{\text{elec}}$ )

$$\Delta G = E_{\text{vdw}} + E_{\text{elec}} \dots \dots \dots \text{(eq3)}$$

Avec

$$E_{vdw} = \sum_{i=1}^{ligand} \sum_{j=1}^{protéine} \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6}$$

Et

$$E_{elec} = \sum_{i=1}^{ligand} \sum_{j=1}^{protéine} \frac{q_i q_j}{\epsilon(r_{ij}) r_{ij}}$$

Où  $r_{ij}$  représente la distance séparant un atome  $i$  de la protéine d'un atome  $j$  du ligand,  $A_{ij}$  et  $B_{ij}$  sont les rayons de van der Waals des atomes,  $q_i$  et  $q_j$  leur charge respective, et  $\epsilon(r_{ij})$  une constante diélectrique dépendante de la distance.

Certaines fonctions de score, intègrent également des termes liés correspondant à une énergie interne. Les protocoles de docking classiques n'utilisant le plus souvent qu'une seule conformation protéique maintenue rigide, l'évaluation de l'énergie intramoléculaire est généralement restreinte au ligand. Cette énergie interne permet de considérer les contraintes induites sur la conformation du ligand faisant suite à sa liaison au récepteur.

Les liaisons hydrogène, importantes pour la reconnaissance spécifique entre molécules, ne sont qu'implicitement prises en compte par les termes coulombique et de van der Waals dans les fonctions de score suivant un formalisme similaire à celui de DOCK [24].

Certaines fonctions de score comme celles des programmes de docking Gold [25] ou Autodock [26], incluent des termes permettant de considérer explicitement les liaisons hydrogène. Les différents termes incluent par la fonction de score de Gold [25] dépendent de la nature des atomes mis en jeu et de la géométrie de l'interaction.

La fonction de score d'AutoDock [26] représente quant à elle les liaisons hydrogène par un potentiel de Lennard-Jones [27,28] couplé à une composante directionnelle.

Ces fonctions de score au formalisme très simple présentent l'avantage d'être relativement rapide en temps de calculs. Elles restent cependant très approximatives puisqu'elles n'estiment qu'une contribution enthalpique à l'énergie de liaison. Des facteurs importants intervenant dans l'affinité de liaison ont été négligés, comme l'effet du solvant ou les composantes entropiques. En effet, les principales limitations des fonctions de score basées sur des champs de forces proviennent du fait qu'elles ont été écrites pour des modèles en phase gazeuse et ne contiennent donc pas d'effet de solvation ni de terme d'entropie. Cependant, des extensions

incluant un terme d'entropie pour le ligand (dans G-Score) et les liaisons hydrogène protéine-ligand (dans Gold [25] et AutoDock [26]) ont été ajoutées [29].

L'effet du solvant joue un rôle essentiel, notamment en ayant un effet écran réduisant les forces d'interactions entre atomes chargés. Une mauvaise estimation de l'effet du solvant peut ainsi conduire à surestimer ce type d'interaction. Dans les approches classiques de docking, les molécules d'eau sont généralement retirées du système pour simplifier les calculs. L'effet du solvant est alors le plus souvent traité de manière implicite en intégrant dans le terme coulombique une constante diélectrique dépendante de la distance, comme le fait par exemple la fonction de score du programme DOCK [24] (Eq. 3).

Ce traitement reste cependant une approximation très simpliste et peu réaliste. Des modèles plus rigoureux de solvant implicite ont été développés en considérant le solvant comme un milieu diélectrique continu. Les modèles de Poisson-Boltzmann (PB) et Generalized Born (GB) [30] en sont deux exemples typiques, le second étant une approximation du premier et donc plus rapide. Pour une estimation se rapprochant d'une énergie libre de liaison (Eq. 2), les modèles PB/GB [30] sont généralement combinés aux termes classiques de mécanique moléculaire (*e.g.* Eq. 3) ainsi qu'un calcul de la variation d'accessibilité au solvant (SA) qui peut être perçu comme une estimation d'un facteur entropique lié à l'effet hydrophobe. Les modèles MM-PB(/GB)SA offrent un compromis intéressant entre temps de calculs et précision, mais sont néanmoins encore relativement coûteux pour être utilisés en routine dans les approches de docking. Ils sont le plus souvent employés dans une étape de posttraitement pour la réévaluation de l'énergie d'interaction des poses [31].

Globalement, les fonctions de score basées sur champ de force reposent sur des modèles physiques théoriques. Cette caractéristique implique qu'elles sont indépendantes d'un apprentissage à partir de données d'affinités de liaison. Elles tendent en conséquence à bénéficier d'une transférabilité à divers systèmes plus importants par rapport aux autres classes de fonctions de score. Les formalismes les plus simples de fonctions de score basées sur champ de force (*e.g.* Eq. 3) sont suffisamment rapides pour être appliquées à grande échelle.

Cette rapidité découle de fortes simplifications pouvant entraîner des approximations pénalisantes dans l'estimation de l'énergie de liaison. Ces fonctions de score reposant sur des modèles physiques, elles peuvent bénéficier de représentations beaucoup plus précises (modèles de solvant, modèles quantiques) mais au prix de temps de calculs inappropriés pour des simulations de docking à grande échelle.

### b- Fonctions de score empiriques

Les fonctions de score empiriques estiment l'affinité de liaison  $\Delta G$  entre un couple récepteur-ligand sur la base d'un ensemble de descripteurs énergétiques  $\Delta G_i$ , chacun étant pondérés par un coefficient  $W_i$

$$\Delta G = \sum W_i \times \Delta G_i \dots \dots \dots (\text{eq 4})$$

Les descripteurs peuvent inclure différents termes énergétiques empruntés à la mécanique moléculaire [32] (énergies de van de Waals, électrostatiques) mais aussi d'autres composantes idéalement non corrélées considérant par exemple l'hydrophobicité et/ou la polarité d'un site de liaison, l'accessibilité au solvant, l'entropie d'un ligand ou encore d'autres propriétés.

Les coefficients associés à chacun des termes énergétiques sont déterminés par des analyses de régressions linéaires de manière à optimiser la corrélation entre des énergies d'association estimées par la fonction de score et des affinités de liaison connues pour des complexes protéine-ligand dont la structure est résolue expérimentalement.

Les fonctions de score empiriques estiment donc une affinité de liaison à partir d'un formalisme souvent bien plus simple que les fonctions de score basées sur champ de force incluant des modèles de solvant implicite (e.g. MM-PB/GBSA). Elles présentent ainsi l'avantage d'être plus rapides en raison de la faible complexité des termes à évaluer pouvant capturer implicitement des informations équivalentes.

En revanche, l'apprentissage se faisant sur des jeux de données souvent réduits à une centaine de complexes tout au plus, la transférabilité de leur performance à des complexes différents du jeu d'entraînement reste problématique.

L'augmentation croissante du nombre de structures de complexes et de leurs données d'affinité de liaison devrait néanmoins théoriquement permettre d'améliorer les fonctions de score empiriques en les rendant plus "universelles". LUDI [33], ChemScore [34], ou GlideScore [35] sont des exemples de fonctions de score empiriques. Elles diffèrent par leur nombre et types de descripteurs, le modèle de régression linéaire utilisé et les diversités et qualité des données d'affinité employées dans le processus de calibration.

### c- Fonctions de score à potentiels statistiques

Les fonctions de score à potentiels statistiques sont basées sur une idée de la mécanique statistique permettant de dériver des potentiels de forces moyennes à partir de distributions de mesures observées entre paires d'atomes. Leur formulation générale est comme suit

$$\Delta G = \sum_{i=1} \sum_j A_{ij}(r) \dots \dots \dots (\text{eq5})$$

Où  $\Delta G$  correspond à la somme des forces potentielles  $A$  entre les paires d'atomes  $i$  et  $j$  du ligand et de la protéine, respectivement. La force potentielle entre paire d'atomes  $i$  et  $j$  se calcule comme suit

$$A_{ij} = -kT \ln \left( \frac{\rho_{ij}}{\rho_{ij}^{ref}} \right) \dots \dots \text{(eq 6)}$$

Avec  $k$  la constante de Boltzmann,  $T$  la température,  $\rho_{ij}$  la densité de distribution des distances  $r$  séparant les atomes  $i$  et  $j$ , et  $\rho_{ij}^{ref}$  une densité des distributions des distances  $r$  séparant la même paire d'atomes dans un état de référence où l'énergie d'interaction de la paire est supposée être nulle.

Les distributions de distances entre différentes paires d'atomes sont obtenues à partir de structures de complexes résolus expérimentalement. D'après l'équation (eq6), on peut voir que si des contacts entre une paire d'atomes donnée apparaît plus souvent que dans un état de référence, alors ces contacts auront une énergie d'interaction favorable. Les fonctions de score à potentiel statistique partagent avec les fonctions empiriques le fait d'essayer de capturer implicitement des facteurs intervenant dans le processus de liaison qui sont difficiles à modéliser explicitement. Elles sont également rapides en termes de temps de calculs au regard de la simplicité de leur formalisme.

Contrairement aux fonctions empiriques, les fonctions à potentiels statistiques ne nécessitent pas d'informations de données d'affinité de liaison et peuvent donc profiter de données d'entraînement bien plus importantes les rendant potentiellement plus robustes face à des complexes diversifiés [36].

Leur précision est néanmoins dépendante de la définition d'une distribution de référence dont l'établissement constitue une difficulté importante puisque difficilement accessible pour des systèmes aussi complexes que des protéines [37]. DrugScore [38], PMF [39-41] et ITScore [42] sont des exemples de fonctions de score à potentiels statistiques différant, notamment, dans leur stratégie utilisée pour définir une distribution de référence.

#### **d- Fonctions de score par méthodes d'apprentissage (Knowledge-based)**

Les fonctions de score discutées jusqu'ici reposent toutes sur un formalisme linéaire et prédéfini qui se traduit par la somme de leurs différents termes. Ce principe d'additivité ne représente cependant qu'une approximation de la manière dont les différentes composantes énergétiques se manifestent au cours du phénomène d'association d'un ligand à son récepteur et ne peut rendre compte, par exemple, d'évènements coopératifs [43].

Les fonctions de score basées sur un apprentissage automatique se distinguent de toutes ces fonctions conventionnelles puisqu'elles dérivent à partir d'un jeu d'entraînement une relation mathématique entre un large ensemble de descripteurs dont la forme n'est plus définie a priori et qui ne suit donc plus nécessairement un modèle additif et linéaire. Plusieurs études comparatives ont montré la supériorité des modèles non-linéaires dans leur capacité à prédire l'affinité de liaison [44-46].

Cela a été particulièrement mis en évidence par deux études distinctes qui ont exploité les mêmes descripteurs que ceux utilisés par une fonction de score empirique pour reconstruire une nouvelle fonction cette fois-ci apprise à partir de forêts d'arbres décisionnels [47,48].

Ces fonctions ont toutes démontré une amélioration significative dans la prédiction d'affinités de liaison par rapport au modèle linéaire des fonctions empiriques de référence. Cependant, une autre étude a montré qu'une bonne capacité à prédire l'affinité de liaison ne garantit pas de bons résultats dans la discrimination d'une pose reproduisant un mode de liaison expérimental parmi un ensemble varié d'autres poses [49].

Cette même étude souligne par ailleurs que les fonctions de score basées sur un apprentissage automatique présentent le désavantage conséquent d'agir comme des boîtes noires rendant la contribution des différentes variables ainsi que leurs relations difficilement interprétables.

Comme pour les fonctions de score empiriques, le jeu d'entraînement consiste généralement en un ensemble de complexes protéine-ligand dont la structure est accessible et pour lesquelles des données d'affinité de liaison sont disponibles.

Les descripteurs peuvent inclure des informations sur les interactions entre paires d'atomes, des analyses d'empreintes d'interactions [50], et prendre en compte des éléments de spécificité de reconnaissance (interactions électrostatiques, liaisons hydrogènes, stacking de résidus aromatiques), des propriétés physico-chimiques d'un site de liaison (polarité, hydrophobicité, accessibilité au solvant), sa géométrie ou encore divers termes relatifs au ligand (poids moléculaire, nombre de degrés de liberté, etc ...).

Les forêts d'arbres décisionnels, les machines à vecteurs de support, ou encore les réseaux de neurones artificiels sont des algorithmes couramment employés pour concevoir les fonctions basées sur apprentissage automatique.

### **e- Fonctions de score consensus**

De nombreuses fonctions de score ont été développées, mais aucune n'est universellement applicable. Certaines auront en effet de bonnes performances sur un ensemble de protéines apparentées à celles faisant partie du jeu d'entraînement utilisé pour calibrer leurs paramètres

mais seront moins adaptées pour des protéines présentant des propriétés physico-chimiques différentes. De plus, chaque fonction de score possède ses propres avantages et inconvénients au regard du modèle formule pour décrire le processus d'association d'un ligand à son récepteur. Ces caractéristiques suggèrent néanmoins que plusieurs fonctions de score doivent capturer des informations différentes. C'est sur la base de cette idée que l'application d'un scoring consensus a été introduite en combinant les prédictions de multiples fonctions de score [51]. Cette fonction a été décrite en 1999 par Charifson et al.[52], et permet de combiner les avantages de fonctions différemment optimisées et élaborées. [53]

Plusieurs stratégies variant dans leur manière de combiner chaque score ont été entreprises et ont montré une amélioration dans la prédiction du mode de liaison, de l'affinité ou encore dans l'identification de ligands pouvant effectivement liés un récepteur lors de criblages virtuels [54-57].

MultiScore [58] et XCScore [59] sont deux exemples de fonctions de score consensus.

Le tableau suivant récapitule les avantages et les désavantage des différentes fonctions de score.

**Tableau 1 Avantages et inconvénients des différentes fonctions de score**

Fonction de score	Avantages	Inconvénients
Basé sur les champs de force	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les termes des FFs sont bien étudiés et ont une base physique.</li> <li>- Transférable, rapides quand elles sont utilisées sur une grille pré-calculée.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ne tient compte que d'une partie de l'énergie potentielle.</li> <li>- Elles sont parfois augmentées par des termes de solvation et d'entropie.</li> <li>- L'électrostatique est souvent surestimée.</li> </ul>
Empirique	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Estimation rapide et directe de l'énergie de liaison.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Il existe peu de complexes avec à la fois des structures et des énergies de liaison connues précisément.</li> <li>- Forte dépendance sur l'orientation des atomes d'hydrogène.</li> <li>- Pas de véritables pénalités pour les mauvaises structures.</li> </ul>
Knowledge-based	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Similaire aux méthodes empiriques, mais plus générales. Existence de données d'inter-distances plus que d'énergies de liaison expérimentales.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les PMF sont "pairwise", alors que la probabilité de trouver les atomes A et B à une distance <math>r</math> n'est pas "pairwise" et dépend aussi des autres atomes.</li> </ul>

### **III- Interactions protéine-ligand**

Le fonctionnement des systèmes biologiques est basé sur de remarquables mécanismes d'assemblage et de reconnaissance impliquant des interactions moléculaires non-covalentes de faible énergie. Les messages biologiques qui sont intégrés dans leur structure ne peuvent s'exprimer que par l'intermédiaire d'interactions spécifiques qui s'établissent, de façon souvent réversible, avec d'autres partenaires de choix.

Le problème qui se pose pendant l'ancrage du ligand au sein de la protéine (docking) est la prédiction de la conformation et l'orientation du ligand relative au site actif de la protéine cible par rapport à la conformation initiale. Pour chaque protéine cible de structure connue, le docking peut être la clé dans la conception de nouveaux médicaments [60-62]. De nombreux type d'interaction non covalente, ont été mis en évidence dans les complexes protéine- ligand. Parmi les interactions qui peuvent exister entre le ligand, qui est considéré comme une petite molécule organique, et la protéine, les interactions de type polaire (liaisons hydrogène, liaisons ioniques) et celles de type hydrophobe (résultant d'un contact entre des groupements hydrophobe).

#### **III-1- Interaction hydrogène**

La liaison hydrogène est une liaison chimique non covalente de type dipôle-dipôle entre deux molécules ou entre deux groupements d'une molécule. Elle consiste essentiellement dans l'interaction entre deux molécules dont l'une possède un atome donneur d'électrons (O, N, F) et l'autre possède un atome H accepteur d'électrons (OH, NH<sub>2</sub>). Ce type de liaison résulte d'un transfert partiel d'un électron célibataire sur le groupement H. Les liaisons hydrogène peuvent être intramoléculaires ou intermoléculaires [63]. Cette liaison est illustrée ci-dessous (Figure 1) par des exemples.

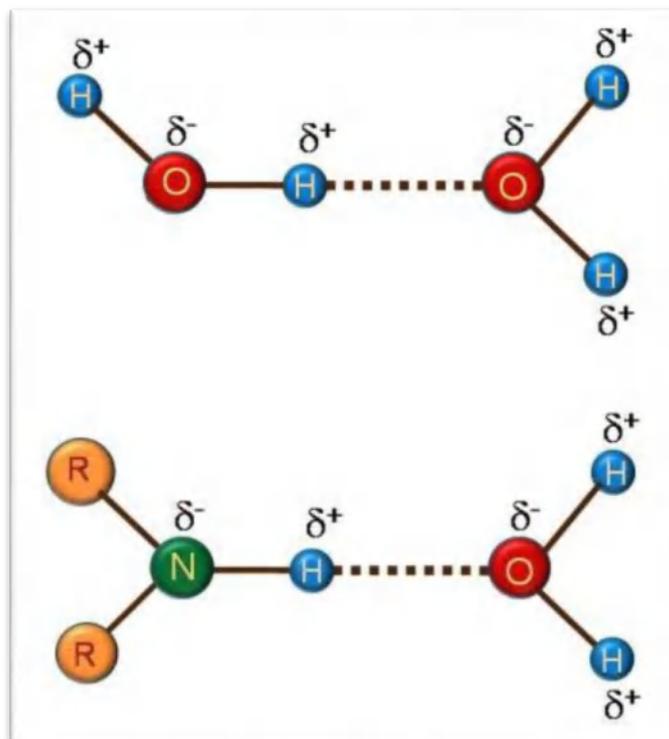


Figure 1: Exemple d'une liaison hydrogène

Les liaisons hydrogène jouent un rôle très important en chimie et en biochimie. Ce sont des liaisons qui donnent à l'eau ses propriétés particulières, en lui conférant la capacité à s'associer aux grandes structures. En outre, elles jouent le rôle de stabilisateur de la structure secondaire des macromolécules biologiques. Les liaisons hydrogènes existent dans les protéines (structure tertiaire et quaternaire), les acides nucléiques (double hélice stabilisée par des liaisons H), les interactions moléculaires (reconnaissance de petites molécules par des récepteurs ...).

Les liaisons hydrogènes sont plus fortes que les liaisons de Van der Waals; leurs énergies sont estimées entre 3 et 9 kcal/mol.

### III-2- Interaction ionique

Les interactions entre molécules portant des charges électriques sont régies par la loi de Coulomb. L'énergie potentielle d'interaction de deux charges électriques  $Q_1$  et  $Q_2$  séparées par une distance  $d$  est obtenue en calculant le travail nécessaire à la séparation de ces deux charges à une distance infinie (figure.2). L'énergie potentielle ( $V$ ) de deux molécules de charges différentes est exprimée par l'équation suivante

$$V = \frac{Q_1 Q_2}{4\pi\epsilon\epsilon_0 d}$$

Avec  $\epsilon_0$  permittivité du vide.

$\epsilon$  permittivité du milieu dans lequel évoluent les charges.

$d$  distance entre les deux charges.

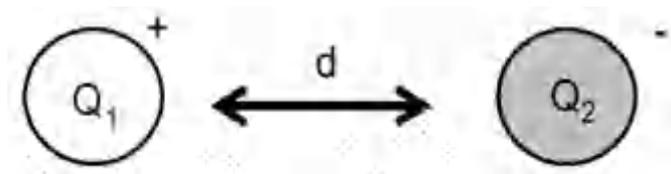


Figure 2: Interaction entre deux molécules de charges différentes.

### III-3- Les interactions de Van der Waals

Ces interactions ont été étudiées par J.D. van der Waals, physicien hollandais, prix Nobel de physique 1910. Elles reposent sur les interactions entre les dipôles constitués par les molécules. On distingue trois types de ces interactions

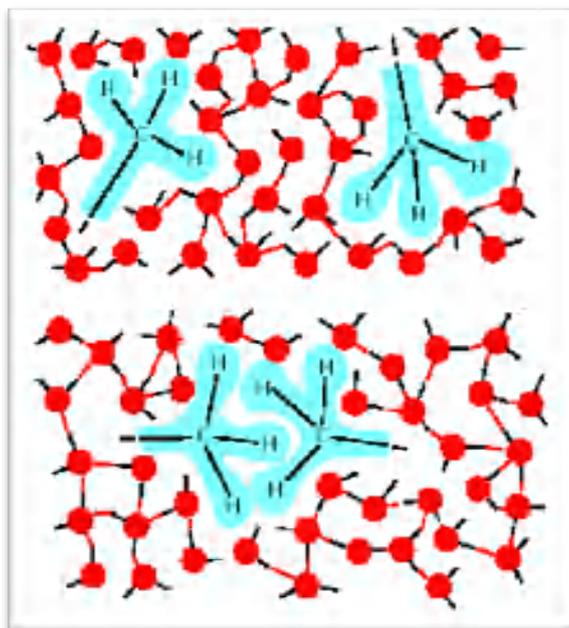
- Interaction dipôle permanent – dipôle permanent ou effet d'orientation de Keesom Ce type d'interaction se développe entre deux molécules polaires.
- Interaction dipôle permanent – dipôle instantané ou effet d'induction de Debye Ce type d'interaction se développe entre une molécule polaire et une molécule quelconque (polaire ou apolaire).
- Interaction dipôle instantané – dipôle instantané ou dispersion de London. Ce type d'interaction se développe entre deux molécules quelconques (polaires ou apolaires).

Ces interactions sont très faibles mais dans le cas des macromolécules, leur nombre élevé va produire au totale une force importante [64].

### III-4- Les interactions hydrophobes

Les molécules non polaires et peu polarisables ont tendance à interagir, ce qui crée une force de liaison hydrophobe. Il s'agit d'interactions entre molécules ou groupements possédant très peu d'affinité pour le solvant dans lequel elles sont dissoutes (eau). Les groupements vont se lier du côté de la surface la plus faible de contact avec l'eau. Les groupements vont donc s'attirer mutuellement par des forces de type dispersion (London).

Plusieurs acides aminés hydrophobes se trouvent en contact à l'interface par complémentarité hydrophobe. Ces derniers entraînent une interaction stabilisante pour beaucoup de complexes. Les acides aminés non polaires tendent à créer entre elles des liaisons de type interactions "patch" hydrophobe [65] (Figure 3).



**Figure 3: Patch hydrophobe.**

Il existe divers types d'interactions hydrophobiques. Parmi lesquelles, celles qui se forment entre le centre de deux cycles aromatiques, d'un amide ou des groupements méthyle.

La géométrie de ce type d'interaction est légèrement moins restrictive, ce qui la sépare des interactions purement hydrophobiques, et généralement les plus fréquentes.

Un autre type d'interactions hydrophobe qui se forme lors des contacts hydrophobiques non spécifiques entre les atomes de carbone aliphatique ou aromatique, sont de nature sphérique avec un rayon de 4Å, et couvrent la plus grande partie du ligand [66,67].

Pour le placement du ligand dans le site actif de la protéine, les interactions hydrogène sont utilisées en premier, ensuite celles hydrophobes.

#### **IV- Programmes de simulation par docking moléculaire utilisés**

Plus d'une centaine de logiciels référencés dans la littérature proposent aux utilisateurs plus ou moins aguerris les outils nécessaires pour réaliser des simulations de docking moléculaire

[68]. Ces logiciels se différencient par les algorithmes implémentés pour la recherche et l'optimisation des orientations du ligand, la fonction de score, la performance, l'analyse des résultats et le coût de la licence car l'accès à ces logiciels n'est pas toujours offert gratuitement au public.

Ils sont produits par des laboratoires académiques ou des entreprises, se présentent sous forme de plugings, de serveurs web ou encore sont intégrés à une suite de logiciels de modélisation moléculaire (souvent payante) proposant d'autres fonctionnalités. Pour nos calculs de docking, nous avons utilisés des logiciels dont l'utilisation est gratuite, tel que AutoDock 4 [26], AutoDock Vina [69].

#### IV-1- AutoDockTools 4 (AD4)

La première version d'AutoDock est initialement développée en 1990 par l'institut de recherche Scripps à San Diego, il fera l'objet d'un certain nombre de mises à jour jusqu'à la version la plus récente sortie en 2007 qu'est AutoDock 4 (AD4) [26]. Les outils AutoDock (AD) sont des logiciels de docking « structure-based » construits autour d'un algorithme de recherche conformationnelle du ligand et d'une fonction dévaluation de l'énergie d'interaction entre le ligand et sa cible. AD4 fourni une interface graphique permettant de visualiser les structures des molécules et les résultats tout en mettant en évidence les interactions intermoléculaires grâce à l'outil AutoDock Tools (ADT) [26]. Les logiciels AD4 proposent la combinaison de deux algorithmes de recherche, algorithme Monte-Carlo (MC) et Algorithme Génétique (AG) selon la version. La dernière version AD4 utilise un algorithme génétique Lamarckien (AGL), permet la recherche conformationnelle du ligand. C'est une amélioration majeure, car elle permet aux conformations du ligand de passer les barrières énergétiques et de ne pas rester « coincées » dans des puits de potentiel et ainsi permet une recherche plus exhaustive. Cet aspect est surmonté grâce à un algorithme de recuit simulé qui permet une meilleure exploration de l'espace de recherche [70]. La version AD4 propose donc un ensemble de 3 algorithmes pour la recherche conformationnelle MC, AGL et SA. Pour calculer l'énergie libre de liaison du complexe protéine/ligand  $\Delta G_{binding}$ , AD4 utilise les termes d'un champ de force selon la fonction de score

Équation 23 Fonction de score implémentée dans AutoDock 4 (AD4) (23)

$$\Delta G_{binding} = \Delta G_{vdW} + \Delta G_{hbond} + \Delta G_{elec} + \Delta G_{tor} + \Delta G_{sol}$$

Les trois premiers termes  $\Delta G_{vdW}$ ,  $\Delta G_{hbond}$  et  $\Delta G_{elec}$  modélisent respectivement les énergies d'attraction/répulsion des atomes, de liaisons hydrogène et des interactions électrostatiques. Le terme  $\Delta G_{tor}$  traduit l'augmentation d'énergie du système liée à la restriction des rotations libres du ligand, c'est-à-dire l'énergie à apporter pour déformer le ligand.  $\Delta G_{sol}$  décrit la quantité d'énergie nécessaire pour modifier les interfaces protéine/solvant et ligand/solvant au moment de la complexation protéine/ligand. Elle correspond donc à l'énergie de désolvatation, c'est une modélisation partielle de l'effet hydrophobe.

## **IV-2- AutoDock Vina (ADV)**

AutoDock Vina (ADV) [69] introduit en 2010 est la seconde génération du logiciel AutoDock (AD4) publié en 2007 par le même institut de recherche que son prédécesseur. La nature de l'algorithme de recherche et la fonction de score qui sont implémentés dans ADV sont totalement différents. Il s'agit en effet des algorithmes d'exploration conformationnelle recuit simulé et d'optimisation locale Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno (BFGS), rendant le logiciel ADV plus efficace dans ses prédictions que son prédécesseur. Contrairement à AD4, ce logiciel est développé pour le calcul parallèle, ce qui le rend beaucoup plus efficace, et adapté pour le criblage virtuel haut débit [70].

La fonction de score empirique implémentée dans ADV a été déterminée selon la même méthode que la fonction d'AD4, c'est-à-dire en établissant un modèle de régression linéaire multiple mais en se basant sur un jeu de données beaucoup plus important environ 1 300 complexes protéine/ligand (contre 188 pour AD4) issus de la PDBind.

Le modèle et les pondérations des descripteurs de la fonction de score d'ADV sont différentes de celles d'AD4. L'équation représentant la fonction de score implémentée dans AutoDock Vina est la suivante

$$\Delta G_{binding} = \Delta G_{gauss} + \Delta G_{repulsion} + \Delta G_{hbond} + \Delta G_{hydrophobic} + \Delta G_{tors}$$

Avec  $\Delta G_{gauss}$  le terme d'attraction représenté par deux fonctions gaussiennes et  $\Delta G_{repulsion}$  le terme de répulsion.

## **V- Références**

- [1] Martiny, V.Y., Martz, F., Selwa, E. and Iorga, B.I., *Journal of chemical information and modeling*. 56(6), 996-1003, (2016).
- [2] Lengauer, T., Rarey, M., *Current opinion in structural biology*. 6(3), 402-406, (1996).
- [3] Friesner, R.A., et al. *J. Med. Chem.* 47, 7, 1750–1759, (2004).
- [4] DesJarlais, R.L., Kuntz, I.D., Sheridan, R.P., Venkataraghavan, R., & Dixon, J.S., *J. Med. Chem.* 29, 11, 2149–2153, (1986)
- [5] Leach, A.R., & Kuntz, I.D., *computational chemistry*. 13, 6, 730-748, (1992).
- [6] Welch, W., Ruppert, J., & Jain, A.N., *chemistry & biology*. 3,6, 449-462, (1996)
- [7] Holland, J.H., *Adaptation in Natural and Artificial Systems*, Thèse de doctorat, University of Michigan Press. Ann Arbor, MI (1975).
- [8] Xuan, Y.M., Hong, X.Z., Mihaly, M., Meng, C., *Current computer-aided drug design*. 7(2), 146–157, (2011).
- [9] Li, Y.H., et al *Nucleic Acids Research*, 46, D1, 4, P.D1121–D1127, (2018)
- [10] Rastelli, G et al. *Journal of computational chemistry*, 31, 4, 797-810, (2010).
- [11] Vieth, M., Hirst, J.D., Kolinski, A. and Brooks III, C.L., *Journal of Computational Chemistry*, 19(14), 1612-1622, (1998).
- [12] Dunbrack Jr, R.L. and Karplus, M., *Journal of molecular biology*, 230(2), 543-574, (1993).
- [13] Källblad, P., & Dean, P.M., *Journal of Molecular Biology*. 326(5), 1651-1665, (2003).
- [14] Knegt, R.M.A., Kuntz, I.D., & Oshiro, C.M., *Journal of Molecular Biology*. 266 (2), 424-440, (1997).
- [15] Vieth, M., Hirst, J.D., Kolinski, A., Brooks, C.L., *Journal of Computational Chemistry*. 19, 1612-1622, (1998).
- [16] Gabb, J., Jackson, R.M., Sternberg, M.J., *Journal of Molecular Biology*. 272(50), 106–120, (1997).
- [17] Southall, N.T., Dill, K.A., & Haymet, A.D.J., *J. Phys. Chem. B*. 105, 10, 2082–2083, (2001).
- [18] Ji, N., Ostroverkhov, V., Tian, C.S., & Shen, Y.R., *Physical review letters*. 100(9), 096102, (2008)
- [19] Houk, K.N., Leach, A.G., Kim, S.P., & Zhang, X., *Angewandte Chemie*. 115(40), 5020-5046, (2003).

- [20] Kollman, P.A., Massova, I., Reyes, C., Kuhn, B., Huo S., Chong, L., Lee, M., Lee, T., Duan, Y., Wang, W., Domini, O., Cieplak, P., Srinivasan, J., Case, D.A., Cheatham, T.E, Acc. Chem. Res. 33, 889-897, (2000).
- [21] Seifert, M.H.J., J. Chem. Inf. Model. 46, 1456-1465, (2006).
- [22] Weiner, S.J., Kollman, P.A., Nguyen, D.T., & Case, D.A., Journal of computational chemistry. 7(2), 230-252, (1986).
- [23] Brooks, B.R., Bruccoleri, R.E., Olafson, B.D., States, D.J., Swaminathan, S.A., & Karplus, M., Journal of computational chemistry. 4(2), 187-217, (1983).
- [24] Kuntz, I.D., Blaney, J.M., Oatley, S.J., Langridge, R., & Ferrin, T.E., Journal of molecular biology. 161(2), 269-288, (1982).
- [25] Verdonk, M.L., Cole, J.C., Hartshorn, M.J., Murray, C.W., & Taylor, R.D., Proteins Structure Function and Bioinformatics. 52(4), 609-623, (2003).
- [26] Morris, G.M., et al. J Comput Chem. 30(16), 2785-91, (2009).
- [27] Lennard-Jones, J. E., Proc. Phys. Soc. 43(5), 461-482, (1931).
- [28] Kuntz, I.D., Blaney, J. M., Oatley, S. J., Langridge, R., et Ferrin, T. E., J. Mol. Biol. 161(2), 269-288, (1982).
- [29] Verdonk, M.L., Cole, J.C., Hartshorn, M.J., Murray, C.W., Structure Function and Bioinformatics. 52(4), 609-623, (2003).
- [30] Baker, A., Mind. 114(454), 223-238, (2005).
- [31] Haider, M.K., Hugues-Olivier, B., and Roderick, E.H. Journal of chemical information and modeling 51(5), 1092-1105, (2011).
- [32] Holloway M.K., Journal of Medicinal Chemistry. 38, 305-317, (2011).
- [33] Böhm, G., Muhr, R., & Jaenicke, R., Protein Engineering, Design and Selection. 5(3), 191-195, (1992).
- [34] Eldridge, M. D., Murray, C. W., Auton, T. R., Paolini, G. V., & Mee, R. P., Journal of computer-aided molecular design. 11(5), 425-445, (1997).
- [35] Friesner, Richard A., et al. Journal of medicinal chemistry. 47.7, 1739-1749, (2004).
- [36] Muegge, I., & Martin, Y. C., Journal of medicinal chemistry. 42(5), 791-804, (1999).
- [37] Thomas, P. D., & Dill, K. A., Journal of molecular biology. 257(2), 457-469, (1996).
- [38] Velec, H. F., Gohlke, H., & Klebe, G., Journal of medicinal chemistry. 48(20), 6296-6303, (2005).
- [39] Muegge, I., & Martin, Y. C., Journal of medicinal chemistry. 42(5), 791-804, (1999).
- [40] Muegge, I., Journal of medicinal chemistry. 49(20), 5895-5902, (2006).

- [41] Muegge I., *Journal of Computational Chemistry*. 22, 418-425, (2001).
- [42] Huang, S. Y., & Zou, X., *Proteins Structure, Function, and Bioinformatics*, 72(2), 557-579, (2008).
- [43] Sotriffer, C., & Matter, H., virtual screening principles, challenges, and practical guidelines. 177-221, (2011).
- [44] Ashtawy, H. M., & Mahapatra, N. R., *IEEE/ACM Transactions on computational biology and bioinformatics*. 9(5), 1301-1313, (2012).
- [45] Wang, C., Zhang, C., Liu, L., Xi, A., Chen, B., Li, Y., & Du, J., *Molecular Therapy*. 25(1), 192-204, (2017).
- [46] Wójcikowski, M., Ballester, P. J., & Siedlecki, P., *Scientific Reports*, 7(1), 1-10, (2017).
- [47] Li, H., Leung, K. S., Wong, M. H., & Ballester, P. J., *Molecules*, 20(6), 10947-10962, (2015).
- [48] Zilian, D., & Sotriffer, C. A., *Journal of chemical information and modeling*, 53(8), 1923-1933, (2013).
- [49] Gabel, J., Desaphy, J., & Rognan, D., *Journal of chemical information and modeling*, 54(10), 2807-2815, (2014).
- [50] Deng, Z., Chuaqui, C., & Singh, J., *Journal of medicinal chemistry*, 47(2), 337-344, (2004).
- [51] Charifson, P. S., Corkery, J. J., Murcko, M. A., & Walters, W. P., *Journal of medicinal chemistry*, 42(25), 5100-5109, (1999).
- [52] Charifson, P.S., Corkery, J.J., Murcko, M.A., Walters, W.P., *J. Med. Chem.* 42, 5100-5109, (1999).
- [53] Wang, R., Wang, S., *J Chem Inf Comput Sci*. 41, 1422-1426, (2001).
- [54] Bissantz, C., Folkers, G., & Rognan, D., *Journal of medicinal chemistry*. 43(25), 4759-4767, (2000).
- [55] Chaput, L., & Mouawad, L., *Journal of cheminformatics*. 9(1), 1-18, (2017).
- [56] Ericksen, S. S., Wu, H., Zhang, H., Michael, L. A., Newton, M. A., Hoffmann, F. M., & Wildman, S. A., *Journal of chemical information and modeling*. 57(7), 1579-1590, (2017).
- [57] Kaserer, T., Beck, K.R., Akram, M., Odermatt, A. and Schuster, D., *Molecules*. 20(12), 22799-22832, (2015).
- [58] Terp, G. E., Johansen, B. N., Christensen, I. T., & Jørgensen, F. S., *Journal of medicinal chemistry*. 44(14), 2333-2343, (2001).

- [59] Wang, R., Lai, L., & Wang, S., *Journal of computer-aided molecular design*. 16(1), 11-26, (2002).
- [60] Leach, A.R., Kuntz, I.D., *Journal of Computational Chemistry*. 13, 730-748, (1992).
- [61] Böhm, H.J., *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 6(6), 593-606, (1992).
- [62] Böhm, H.J., *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 8(3), 243-256, (1994).
- [63] Atkins, M. P. W., *Chimie Physique 6ème édition*. (1997).
- [64] Gerschel, A., *Liaisons intermoléculaires Les forces en jeu dans la matière condensée*. Paris, EDP Sciences. 2e édition. 288, (2012).
- [65] Israelachvili, J.N., *Intermolecular and surface forces*. Academic Press, 2e édition, Londres, (1997).
- [66] Rarey, M., Kramer, B., Lengauer, T., Klebe, G., *Journal of Molecular Biology*. 26, 470-489, (1996).
- [67] Rarey, M., Kramer, B., Lengauer, T., *Bioinformatics*. 15(3), 243-250, (1999).
- [68] Pagadala, N.S., Syed, K., and Tuszynski, J., *Biophys Rev*. 9(2),91-102, (2017).
- [69] Trott, O., and Olson, A.J., *J Comput Chem*. 31(2), p. 455-61, (2010).
- [70] Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K., & Olson, A. J., *Journal of computational chemistry*. 19(14), 1639-1662, (1998).

**Deuxième Partie**  
**Partie Expérimentale**

# **Matériels et Instruments**

Toutes les mesures spectroscopiques et analyses préliminaires ainsi que la diffraction des rayons X sur monocristal et poudre ont été faites au sein du laboratoire « Cristallographie Résonance Magnétique » CRM2 à l'université de Lorraine, Nancy-France.

## **1- Analyse par spectroscopie infrarouge**

La spectroscopie infrarouge représente un outil utile et complémentaire pour le suivi de la formation des bases de Schiff ainsi que le bon déroulement de la réaction [29-31, 42-46]. Les cristaux des composés ont été caractérisés par la spectroscopie infrarouge, et leurs spectres ont été enregistrés dans un domaine de fréquences allant de 4000 à 360  $\text{cm}^{-1}$ , sur un spectrophotomètre Nicolet FT-IR 5700 Thermo Scientifique. Les spectres ont été enregistrés à partir d'une pastille de bromure de potassium (KBr), dans laquelle est dispersé le produit.

## **2- Spectroscopie UV-visible**

Les spectres UV-Visible des produits synthétisés ont été enregistrés à température ambiante dans l'intervalle de 200-900 nm sur un spectrophotomètre UV/VIS Cary 4000 Varian équipé d'une sphère d'intégration pour les mesures de réflectance à diffusion. La réflexion diffuse a été transformée en absorbance à l'aide de l'équation de Kubelka-Munk.

Un mélange équimoléculaire d'eau et d'acétonitrile ont été utilisés comme solvant.

## **3- Diffraction des rayons X sur poudre**

La diffraction des rayons X sur poudre (PXRD) des cinq échantillons a été effectuée à l'aide d'un diffractomètre PANalytical X'PertPRO muni d'un rayonnement  $K_{\alpha 1}$  du Cuivre, d'un monochromateur à faisceau incident Ge (111) ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ), 0.02 rad Soller slits, programmable divergence and anti-scatter slits (la zone irradiée a été fixée à 10 mm  $\times$  10 mm). Le détecteur X'Celerator a été utilisé en mode "scanning line detector (1D)" avec l'angle  $2\theta = 2.122^\circ$ . La collecte des données a été effectuée dans une limite des angles de diffusion entre  $2-60^\circ$  avec un pas de  $0.0167^\circ$  pendant 18 h, Le temps de pose/pas (T/pas) était de 19sec.

Les poudres mesurées ont été obtenues à partir du broyage des monocristaux des produits synthétisés.

#### **4- Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)**

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  ont été enregistrés à température ambiante sur un spectroscope Bruker BioSpin GmbH à transformée de Fourier 300MHz.

#### **5- Diffraction des rayons X sur monocristal enregistrement et collecte des données cristallographiques**

Les analyses par diffraction des rayons X sur monocristal ont été réalisées à 100 K sur un diffractomètre SuperNova à microfoyer à double longueur d'onde, équipé d'un détecteur CCD Atlas, en utilisant le rayonnement  $\text{K}\alpha\text{Mo}$  ( $\lambda = 0,71093 \text{ \AA}$ ), pour la collecte des données des composés (**L1**), (**L2**), (**L3**), (**L5**), et Bruker AXS D8 en utilisant la même radiation pour (**L4**). La collecte des données, la réduction et les corrections d'absorption analytique ont été effectuées avec le logiciel CrysAlis [30].

#### **6-Analyse élémentaire**

L'analyse élémentaire (C, H, N) a été mesurée avec un appareil PerkinElmer 2400 elemental analyzer.

**Chapitre III:  
Synthèse, caractérisation des  
cinq bases de Schiff obtenues  
et analyse des surfaces  
d'Hirshfeld**

## **I-Introduction**

Dans le but d'étudier l'effet de la substitution sur les propriétés biologiques de nouvelles bases de Schiff, et d'élargir leur domaine d'application, nous avons choisi, dans cette thèse d'utiliser des benzaldéhydes portant des halogènes comme substituants tels que : le 4-bromobenzaldéhyde, 4-chlorobenzaldéhyde, et le 2,4-dichlorobenzaldéhyde d'une part, et la 3-amino-1-H, 1,2,4 triazole et la 4-amino-4H-1,2,4 triazole d'autre part. Nous avons substitué ensuite ces halogènes par un groupement méthoxy en position para. Des cristaux incolores appropriés pour la diffraction des rayons X ont été obtenus par évaporation lente des solutions concentrées.

## **II- Synthèses**

### **II-1- Solvants et réactifs utilisés**

Tous les réactifs utilisés dans l'élaboration de nos produits à savoir le 4-bromobenzaldéhyde, le 4-chlorobenzaldéhyde, le 4-méthoxybenzaldéhyde, le 2,4-dichlorobenzaldéhyde, le 3 et le 4-amino-1,2,4-triazole ainsi que les solvants proviennent de chez sigma-Aldrich et n'ont subi aucune purification.

### **II-2- modes opératoires**

Les cinq bases de Schiff présentées dans ce chapitre, à savoir la *N*-[(*E*)-(4-bromo)methylidene](1*H*-1,2,4-triazol-3-amine (L1), la *N*-[(*E*)-(4-bromo)methylidene]-4*H*-1,2,4-triazol-3-amine (L2), la *N*-[(*E*)-(4-chloro)methylidene]-4*H*-1,2,4-triazol-3-amine (L3), et *N*-[(*E*)-(2,4-dichloro)methylidene]-4*H*-1,2,4-triazol-4-amine (L4) ainsi que la *N*-[(*E*)-(4-methoxy)methylidene]-1*H*-1,2,4-triazol-3-amine (L5) ont été synthétisées par la réaction de condensation des différents benzaldéhydes halogénés 4-bromobenzaldéhyde, 4-chlorobenzaldéhyde ou 4-méthoxybenzaldéhyde avec la 3-amino-1,2,4-triazole, et le 2,4-dichlorobenzaldéhyde avec la 4-amino-1,2,4-triazole en présence d'un catalyseur acide, selon la procédure décrite par E. V. Brown [1] et C. Li [2] et leurs collaborateurs.

### II-2-1- Synthèse du *N*-[(*E*)-(4-bromo)méthylidène]-1*H*-1,2,4-triazol-3-amine (**L1**) et *N*-[(*E*)-(4-bromo)méthylidène]-4*H*-1,2,4-triazol-3-amine (**L2**)

La synthèse des deux ligands (**L1**) (Schéma 1) et (**L2**) a été réalisée en mélangeant le 4-bromobenzaldéhyde (0.555 g, 3 mmol), à une solution éthanoïque (10 mL) de 3-amino 1*H*-1,2,4-triazole (0.252 g, 3 mmol), contenant quelques gouttes d'acide acétique. Le mélange réactionnel obtenu, est maintenu à reflux à 90°C sous agitation pendant 4 h. Après refroidissement de la solution finale dans un bain de glace, les cristaux de (**L1**) ont été obtenus à partir de la poudre cristalline formée pendant la réaction, et ceux de (**L2**) à partir du filtrat. En effet, la poudre cristalline obtenue a été filtrée, lavée plusieurs fois à l'éthanol et séchée sous vide, et les cristaux incolores purs de (**L1**) ont été obtenus après recristallisation dans un mélange acétonitrile/eau (1:1). Alors que, des cristaux purs incolores de (**L2**) ont été obtenus après quelques jours par évaporation lente du filtrat à température ambiante.

(**L1**): C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>BrN<sub>4</sub> (250.90 g/mole): *calc*: C 43.04, H 2.79, N 22.32, Br 31.84; *obtenu*: C 42.97, H 2.50, N 22.30, Br 32.01.

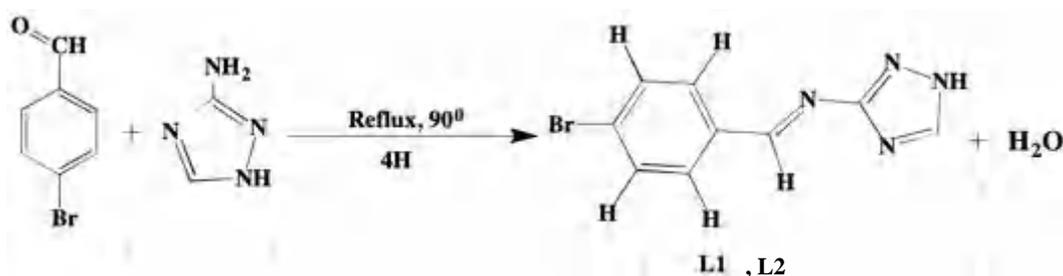


Schéma 1: Schéma réactionnel de la base de Schiff (**L1**)

(**L2**): C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>BrN<sub>4</sub> (250.90 g/mol): *calc*: C 43.04, H 2.79, N 22.32, Br 31.84; *obtenu*: C 41.93, H 3.59, N 21.90, Br 31.89.

### II.2.2. Synthèse du *N*-[(*E*)-(4-chloro)méthylidène]-4*H*-1,2,4-triazol-3-amine (**L3**)

La synthèse de cette base (**L3**) (Schéma 2) a été réalisée en suivant le même protocole décrit auparavant pour (**L1**), en utilisant le 4-chlorobenzaldéhyde (1mmol, 0.1406g) au lieu du 4-bromobenzaldéhyde et (1mmol, 0.084g) de 3-amino, 1,2,4-triazole. Les cristaux de (**L3**) ont été obtenus après évaporation lente de la solution à température ambiante.

(**L3**): C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>ClN<sub>4</sub> (206.45 g/mole) : *calc* : C 52.31, H 3.39, N 27.12, Cl 17.17; *obtenu* : C 50.97, H 3.88, N 26.69, Cl 18.01.

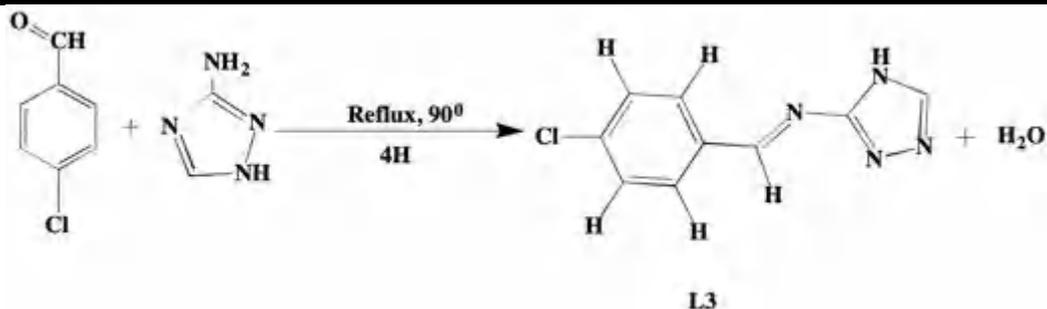


Schéma 2: Schéma réactionnel de la base de Schiff (L3)

### II-2-3- Synthèse du *N*-[(*E*)-(2,4-dichloro) méthylène] -4H-1-2-4 triazol-4-amine (L4)

Le composé *N*-[(*E*)-(2,4-dichloro) méthylène]-4H-1-2-4 triazol-4-amine (**L4**) a été obtenu par réaction de condensation du 2,4-dichlorobenzaldéhyde (0.350g, 2mmol), et du 4-amino-4H-1,2,4-triazole (0.161g, 2mmol) en quantité équimolaire, les deux dissous dans de l'éthanol (15ml) et en présence de quelques gouttes d'acide acétique, (Schéma 3 ci-dessous). Le mélange réactionnel est maintenu sous reflux à 80° pendant 2H. A la fin de la réaction, la solution obtenue a été mise dans un bain de glace. Les cristaux ont été obtenus après 15 jours d'évaporation de la solution à température ambiante.

(**L4**) : C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub> (206.45 g/mole) : *cal* : C 52.31, H 2.90, N 27.12, Cl 34.39; *obtenu* : C 50.97, H 3.38, N 26.96, Cl 36.01.

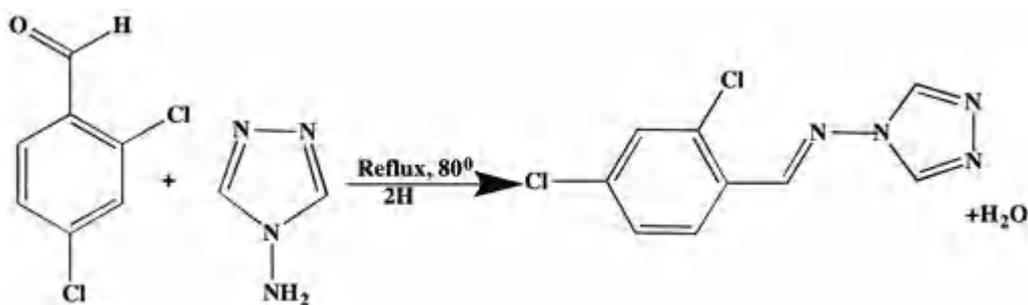


Schéma 3: Schéma réactionnel de la base de Schiff (L4)

### II-2-4- Synthèse du *N*-[(*E*)-(4-méthoxy) méthylène] -1H-1-2-4 triazol-3-amine (L5) :

Le composé *N*-[(*E*)-(4-méthoxy)méthylène]-1H-1-2-4 triazol-3-amine (**L5**) a été obtenu en suivant le même protocole décrit précédemment pour (**L1**) et (**L3**) par réaction de condensation en quantité équimolaire du 4-méthoxybenzaldéhyde (1mmole, 0.136g) et du 3-amino-1,2,4-triazole (1mmole, 0.084g) les deux dissous dans de l'éthanol (10ml) (Schéma 4).

### Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld

A la fin de la réaction, la solution a été refroidie dans un bain de glace. Les cristaux ont été obtenus après une semaine d'évaporation lente de la solution à température ambiante.

(L5) : C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O (222.22g/mole) : *Cal* : C 54.00, H 4.50, N 25.20, O 7.20; *obtenu* : C 53.50, H 4.52, N 26.32, O 7.88.

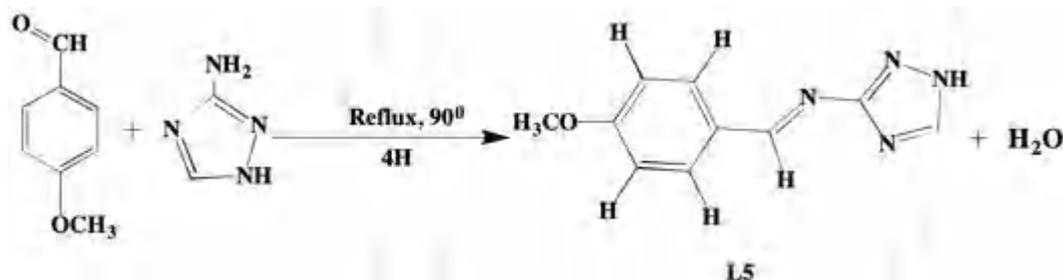


Schéma 4: Schéma réactionnel de la base de Schiff (L5)

## III- Etude préliminaire

Les bases de Schiff obtenues ont été caractérisées en premier lieu par RMN proton, diffraction des rayons X sur poudre, et par spectroscopie FT-IR et UV-Visible. Les structures cristallines de ces dernières ont été déterminées par diffraction des rayons X sur monocristal.

### III-1- RMN proton

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO [D<sub>6</sub>], 300 K).

Dans les spectres <sup>1</sup>H RMN des bases de Schiff (voir Annexes), le signal indiquant le proton de la fonction azométhine (CH=N), est désigné par un singulet. Dans le cas des composés monosubstitués, ce pic apparaît pratiquement à la même région pour les trois premiers produits halogénés: à 9.95ppm pour (L1), 9.91ppm pour (L2) et (L3), 9.87ppm pour (L5) avec le méthyle comme substituant. Le déplacement chimique du proton (CH=N) du ligand di-substitué (L4) se trouve à 8.98ppm. Les CH aromatiques sont observés par des multiplets dans les régions entre 7.40ppm et 7.90ppm pour les cinq composés.

Le proton de l'atome de carbone du cycle triazole (CH<sub>triazole</sub>) apparaît à 8.10ppm, 7.89ppm, 7.99ppm, 8.67ppm, et 9.15ppm pour (L1), (L2), (L3), (L4) et (L5) respectivement.

On retrouve également les protons du substituant méthoxyle (CH<sub>3</sub>métoxy) dans (L5), à 3.85ppm.

Ces valeurs sont comparables à celles trouvées dans la littérature pour des composés similaires [3, 11].

### *Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld*

Pour les NH triazole, ils sont généralement plus déblindés, et apparaissent au-delà de 13ppm.

**(L1):**  $\delta = 7.48\text{ppm}$  (d,  $J = 6.7$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$  méta par rapport au groupe alkenyl),  $7.71\text{ppm}$  (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$  ortho par rapport au groupe alkenyl),  $8.10$  ppm (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{triazole}}$ ),  $9.95\text{ppm}$  (s, 1H,  $\text{CH}=\text{N}$ ).

**(L2):**  $\delta = 7.76$  (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$  méta par rapport au groupe alkenyl),  $7.81$  (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$  ortho par rapport au groupe alkenyl),  $7.89$  ppm (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{triazole}}$ ),  $9.91\text{ppm}$  (s, 1H,  $\text{CH}=\text{N}$ ).

**(L3):**  $\delta = 7.64\text{ppm}$  (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$  méta par rapport au groupe alkenyl),  $7.90$  (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$  ortho par rapport au groupe alkenyl),  $7.99\text{ppm}$  (d,  $J = 6.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{triazole}}$ ),  $9.91\text{ppm}$  (s, 1H,  $\text{CH}=\text{N}$ ).

**(L4) :**  $\delta = 7.57\text{ppm}$  (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ),  $7.53$  (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ),  $8.67$  ppm (d,  $J = 6.6$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{triazole}}$ ),  $8.98\text{ppm}$  (s, 1H,  $\text{CH}=\text{N}$ )

**(L5):**  $\delta = 7.10\text{ppm}$  (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ),  $7.96\text{ppm}$  (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ),  $9.15$  ppm (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{triazole}}$ ),  $9.15\text{ppm}$  (s, 1H,  $\text{CH}=\text{N}$ ),  $3.85\text{ppm}$  (s, 1H,  $\text{CH}_3$ ).

### **III-2- Analyse par spectroscopie infrarouge**

Les résultats de l'analyse préliminaire, par spectroscopie IR, des cinq composés sont en accord avec ceux obtenus pour les mêmes types de composés [12-14].

Dans ce spectre, on s'intéresse essentiellement à la bande caractéristique de la double liaison «  $-\text{C}=\text{N}$  » de l'azométhine, observée généralement autour de  $1600\text{ cm}^{-1}$ , ceci indique le bon déroulement de la réaction et la formation de la base [15-18]. Dans notre cas, (Figure 4), cette bande apparaît à  $1616\text{ cm}^{-1}$  pour (L1) et (L2), et  $1603$  et  $1600\text{ cm}^{-1}$  pour (L3) et (L5) respectivement. Pour le composé (L4), di-substitué par deux groupements chlorures, la présence de l'azométhine ( $-\text{C}=\text{N}$ ) est confirmée par l'apparition de la bande d'absorption à  $1587\text{ cm}^{-1}$ , cette valeur est relativement décalée par rapport aux valeurs observées dans les composés monosubstitués (L1, L2, L3, L5) (Figure 4).

Aucune bande significative à  $1685\text{ cm}^{-1}$  ou à  $3345\text{ cm}^{-1}$  n'a été observée attribuée généralement au groupement aldéhyde ou amine ceci implique systématiquement l'obtention des bons produits.

Nous observons également les bandes vibrationnelles dans l'intervalle entre  $1500\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$  attribuées aux vibrations d'élongation  $\nu$  (N-N) du cycle triazole.

### *Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld*

D'après Beata Kołodziej et al. [19], où la spectroscopie IR du composé (**L1**) a également été étudié, les bandes dont la fréquence de vibration se situe dans l'intervalle de 3500-2700  $\text{cm}^{-1}$  et 1700-1450  $\text{cm}^{-1}$  sont particulièrement intéressantes pour évaluer les bases de Schiff synthétisées. La Figure 4 montre donc les spectres infrarouges des cinq composés pour les gammes de fréquence dans l'intervalle 3600-2600  $\text{cm}^{-1}$  et 1700-1400  $\text{cm}^{-1}$ .

Dans la région de 3600-2600  $\text{cm}^{-1}$ , nous observons des bandes vibrationnelles plutôt étroites à 2781, 2920, 2962 et 3030  $\text{cm}^{-1}$  dans les cinq composés. Elles correspondent aux vibrations d'élongation des C-H dans les cycles triazole et phényle [20]. En outre, nous observons une large bande à 3150  $\text{cm}^{-1}$  et une autre caractéristique assez large autour de 3415  $\text{cm}^{-1}$ , qui est plus prononcée en (**L3**) et (**L4**). Ces bandes correspondent aux vibrations d'élongation C-H et N-H du cycle triazole. Selon Aziz et al. [21], la bande observée à 3150  $\text{cm}^{-1}$  correspond à l'étirement N-H. Billes et al [22] ont observé des bandes à 3119 et 3146  $\text{cm}^{-1}$  pour le 1H-1,2,4-triazole et le 4H-1,2,4-triazole, respectivement, qu'ils attribuent à la vibration d'étirement C-H, et des bandes à 3446 et 3490  $\text{cm}^{-1}$ , qu'ils attribuent à la vibration d'étirement N-H.

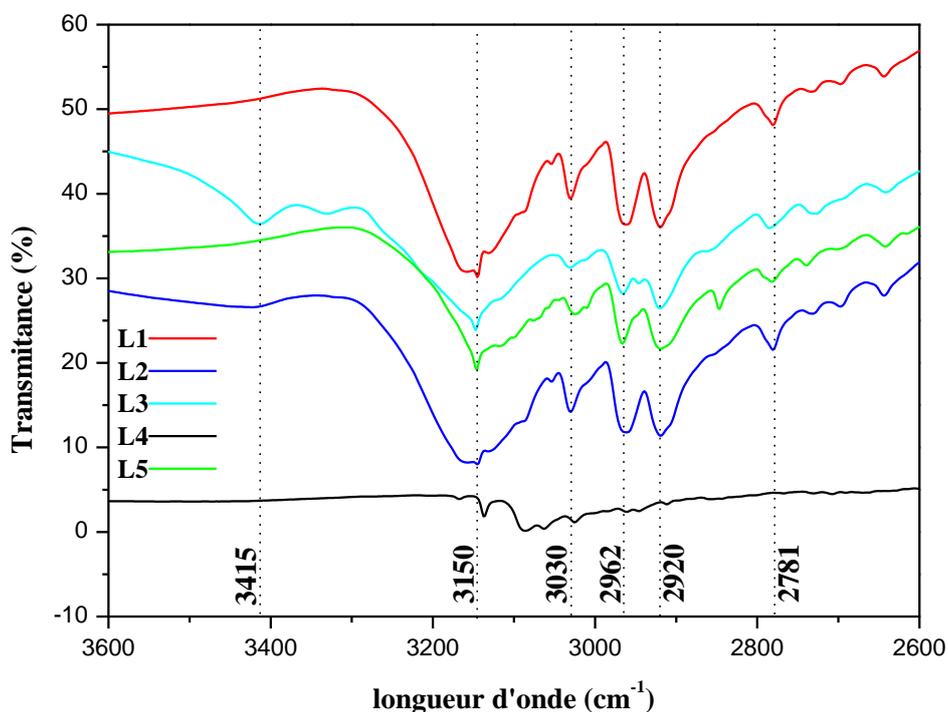
Pokharia et al. [23] ont attribué la vibration d'étirement N-H à 3233  $\text{cm}^{-1}$  dans la (E)-N3-(2-chlorobenzylidène) -H-1,2,4-triazole-3,5-diamine.

Dans la région entre 1700-1400  $\text{cm}^{-1}$ , nous observons des bandes à 1424, 1475, 1489, 1524, 1566  $\text{cm}^{-1}$  dans les cinq composés. La bande observée à 1443  $\text{cm}^{-1}$  dans (**L1**) et (**L2**) est déplacée à 1445  $\text{cm}^{-1}$  dans (**L5**), et 1437  $\text{cm}^{-1}$  et 1433  $\text{cm}^{-1}$  dans (**L3**) et (**L4**) respectivement. Dans (**L1**) et (**L2**), nous observons deux bandes à 1616 et 1587  $\text{cm}^{-1}$ . Dans (**L5**) ces bandes se trouvent à 1598  $\text{cm}^{-1}$  avec deux épaulements à 1610  $\text{cm}^{-1}$  et 1575  $\text{cm}^{-1}$ . Tandis que dans (**L3**) et (**L4**), nous observons une bande à 1603  $\text{cm}^{-1}$  dans les deux composés avec un épaulement à 1587  $\text{cm}^{-1}$  pour (**L3**) et une autre bande à 1582  $\text{cm}^{-1}$  pour (**L4**). Selon Billes et al. [22], certains modes de vibration dans le plan  $\beta(\text{CH})$  des cycles triazole se situent dans la région de 1480-1560  $\text{cm}^{-1}$ . Pokharia et al. [23] mentionnent la vibration d'élongation C=N de l'azométhine à 1651  $\text{cm}^{-1}$  alors que celle du cycle triazole se situe à 1472  $\text{cm}^{-1}$ . Ils mentionnent également la vibration C=C du cycle benzène à 1566  $\text{cm}^{-1}$  ainsi que les vibrations de rotation C-H et N-H des cycles benzène et triazole à 1442  $\text{cm}^{-1}$  et 1395  $\text{cm}^{-1}$ , respectivement.

Enfin, dans la région 542 et 498  $\text{cm}^{-1}$  pour entre 850-400  $\text{cm}^{-1}$ , nous observons des bandes assez fortes à 822, 633, (**L1**) et (**L2**). Pour (**L3**) et (**L4**), ces bandes se situent à 803, 827, 626, 621, 547, 526, 527  $\text{cm}^{-1}$  ainsi qu'une bande nettement plus faible à 508  $\text{cm}^{-1}$  et une autre

### Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld

bande à 475, 466  $\text{cm}^{-1}$  respectivement. Dans cette région, on s'attend notamment à des vibrations d'élongation C-Br et C-Cl. Asiri et al. [24] rapportent les vibrations de  $\nu(\text{C-Br})$  à 548  $\text{cm}^{-1}$  pour un complexe 4-bromophényle, ainsi que les vibrations de  $\nu(\text{C-Br})$  aux bandes à 508 et 645  $\text{cm}^{-1}$  (faibles). Mary et ses collègues [25] observent des vibrations d'élongation du C-Br dans la région de  $635 \pm 85 \text{ cm}^{-1}$  avec une indication à 702  $\text{cm}^{-1}$ . Pokharia et al [23] indiquent des vibrations d'élongation du C-Cl à 681  $\text{cm}^{-1}$ . Shojaee et al. [26] mentionnent des vibrations C-Cl dans un complexe 4-chlorophényle à 543, 739 et 828  $\text{cm}^{-1}$ .



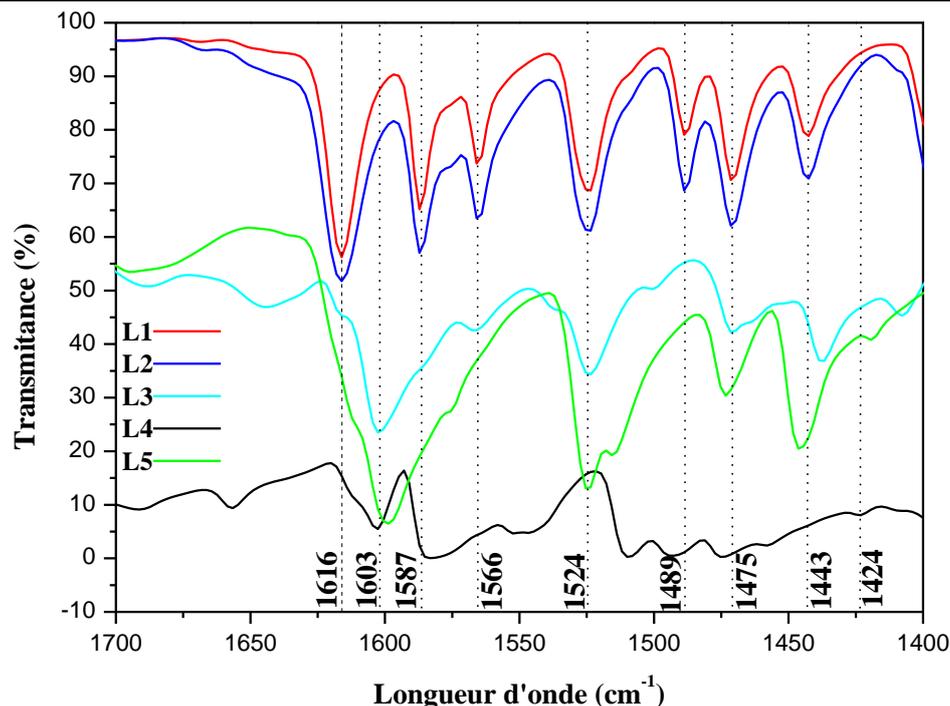


Figure 4: Spectres IR (L1) rouge, (L2) bleu, et (L3) cyan, (L4) noir, (L5) vert dans la région de vibration 3600-2600 cm<sup>-1</sup> (en haut) et 1700-1400 cm<sup>-1</sup> (en bas).

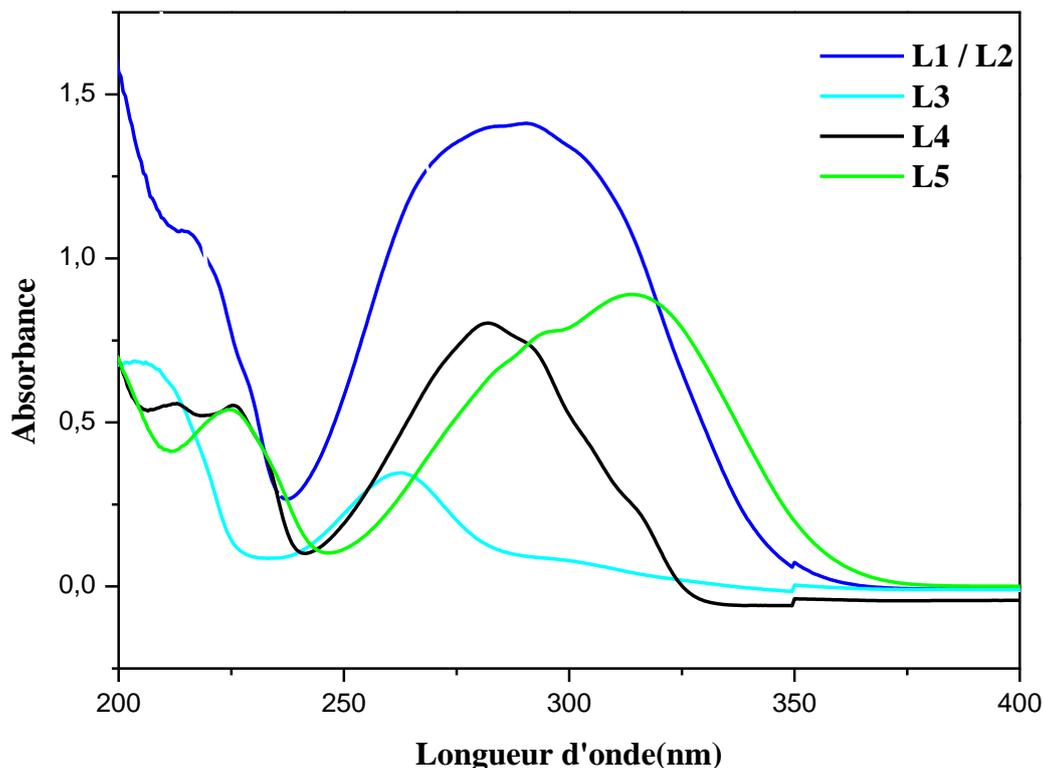
### III-3- Spectroscopie UV-visible

La Figure 5 illustre les spectres UV-Visible dans la gamme allant de 200-400 nm pour nos cinq composés. Pour (L1) et (L2), on observe une large bande autour de 290 nm due à un chevauchement de deux bandes, et correspondant aux énergies de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  de l'azométhine, et une bande à 217 nm (en forme d'épaule) correspond à l'énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  du cycle aromatique. Tandis que pour (L3), on observe deux bandes à 262 nm et 209 nm correspondant à l'énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  du cycle aromatique et une faible bande autour de 300 nm correspond à l'énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  de l'azométhine.

Pour (L4) le pic correspondant à la transition  $\pi-\pi^*$  de l'azométhine apparaît vers 285 nm, le pic à 225 nm correspond à la transition  $\pi-\pi^*$  du cycle aromatique. Les bandes d'énergie basses correspondent aux transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  des cycles aromatiques et de l'azométhine [27,28], mais cette région spectrale est en général caractérisée par des combinaisons des transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  et  $n \rightarrow \pi^*$  [19, 29]. En utilisant différents solvants, Pokharia et al. [23] ont trouvé pour (E)-N3-(2-chlorobenzylidène) -H-1,2,4-triazole-3,5-diamine, deux transitions dans la région 252-269 nm et 320-340 nm, qu'ils ont attribuées à l'énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  du système

conjugué et aux transitions  $n \rightarrow \pi^*$  impliquant les orbitales moléculaires du chromophore azométhine et la liaison conjuguée  $\pi$  du système aromatique, respectivement.

Sur le spectre UV-vis du (**L5**), le pic correspondant à la transition  $\pi-\pi^*$  de l'azométhine apparaît sous forme d'une large bande à 314 nm avec d'épaulement à 295 nm. Le pic à 224 nm correspond à la transition  $\pi-\pi^*$  du cycle aromatique.



**Figure 5: Spectres UV-Vis des cinq composés : (L1)/(L2) bleu, (L3) cyan, (L4) noir, (L5) vert**

Le Tableau 2 suivant résume les transitions essentielles attribuées aux bandes correspondantes

**Tableau 2: Bandes d'absorption UV des cinq composés élaborés.**

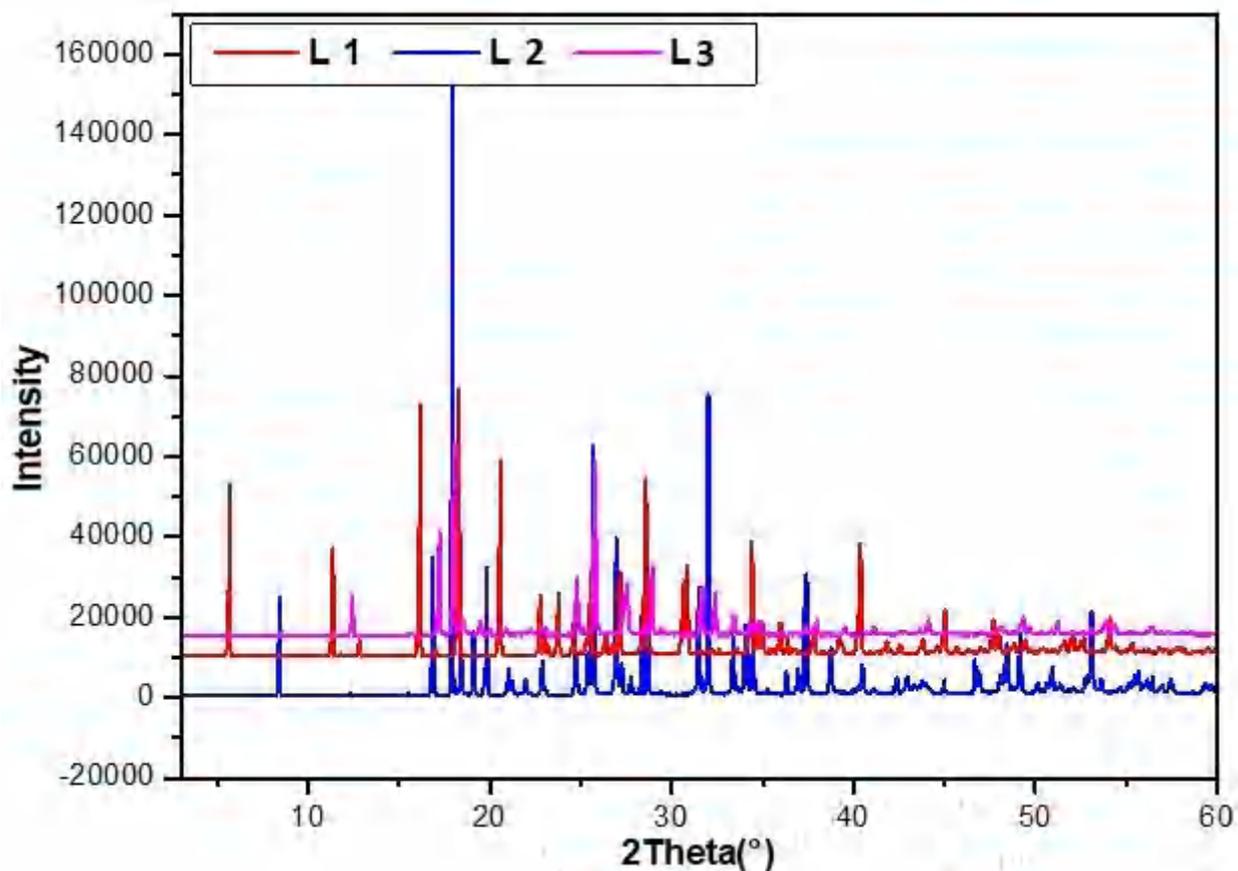
Composés	(L1) / (L2)	(L3)	(L4)	(L5)	Transitions
$\lambda_{\max}$ (nm)	217	209	225	227	$\pi \rightarrow \pi^*$ (cycles aromatiques)
Absorbance	290	262	282	295-314	$\pi \rightarrow \pi^*$ (azométhine)

### III-4- Diffraction des rayons X sur poudre

Les diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre des quatre bases de Schiff à savoir (**L1**), (**L2**) (**L3**) et (**L5**) ont été enregistrés puis comparés aux diffractogrammes simulés à

*Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld*

partir des données des rayons X sur monocristal, et ce afin de vérifier la pureté de phase de nos composés et leur bonne qualité cristalline. Les diffractogrammes mesurés sont en parfait accord avec ceux simulés. (Erreur ! Source du renvoi introuvable., Figure 7, Figure 8, Figure 9, Figure 10).



**Figure 6: Diffractogrammes expérimentaux des trois composés (L1), (L2) et (L3).**

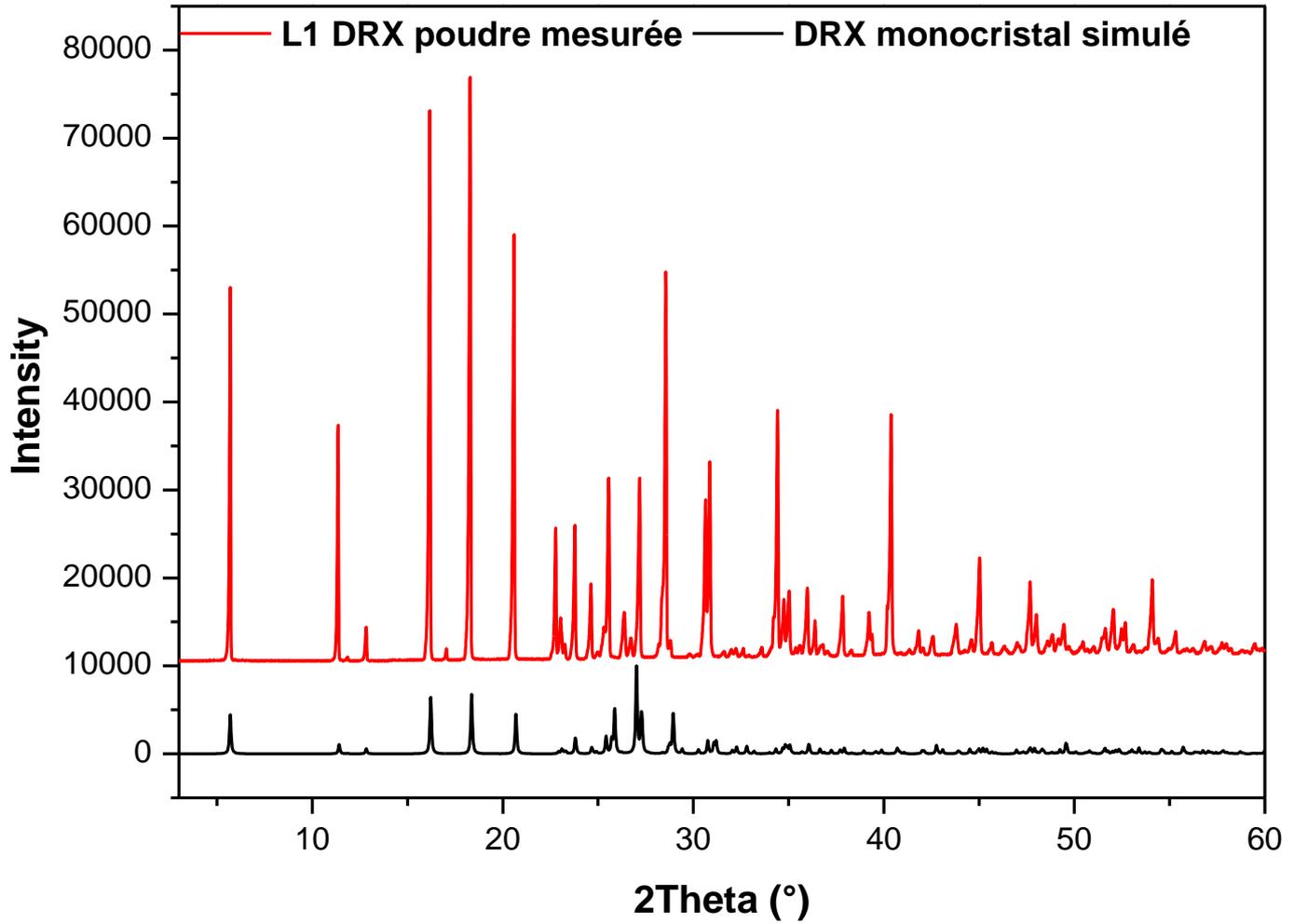


Figure 7: Diffractogramme expérimental et simulé pour (L1)

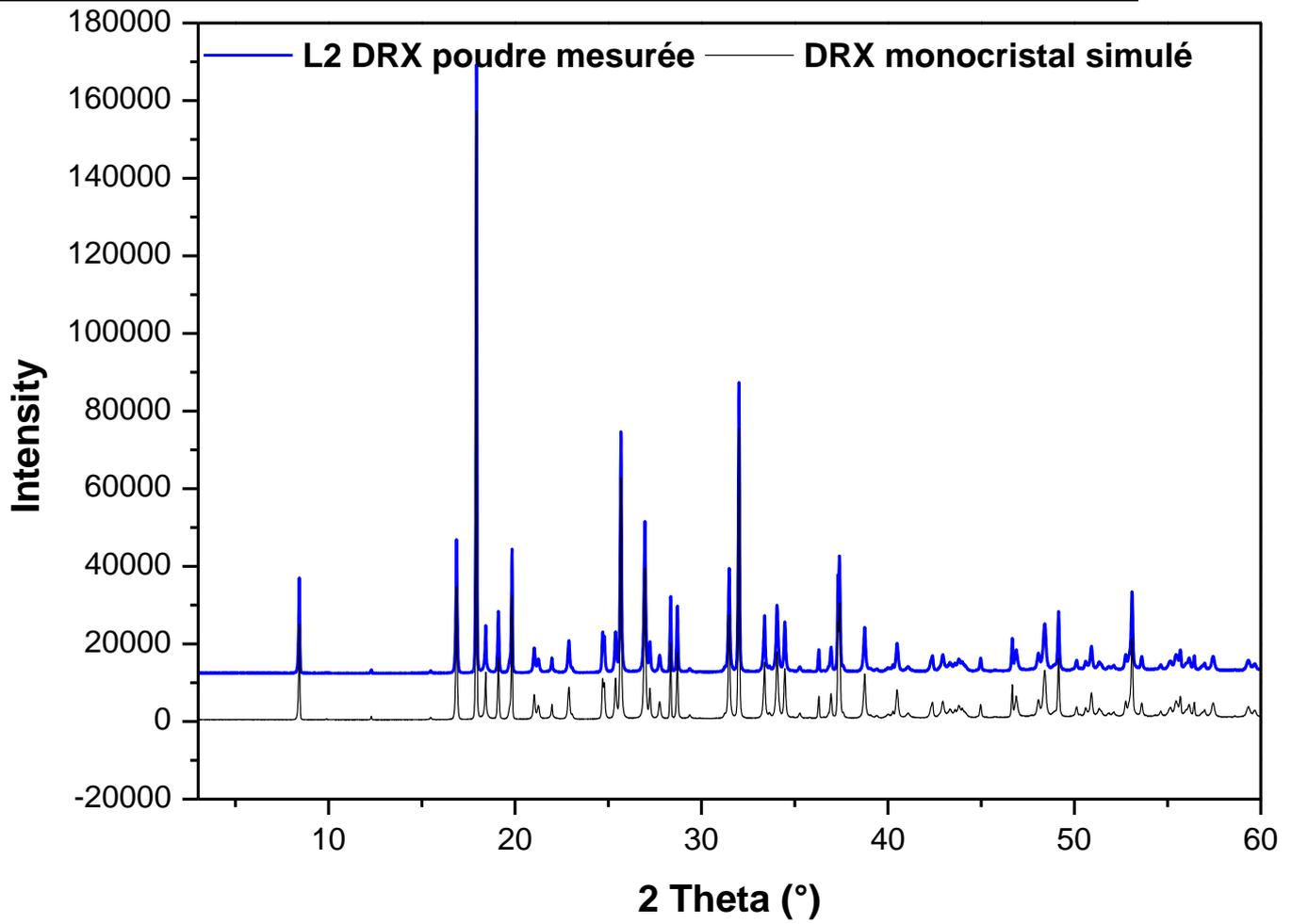


Figure 8: Diffractogramme expérimental et simulé pour (L2)

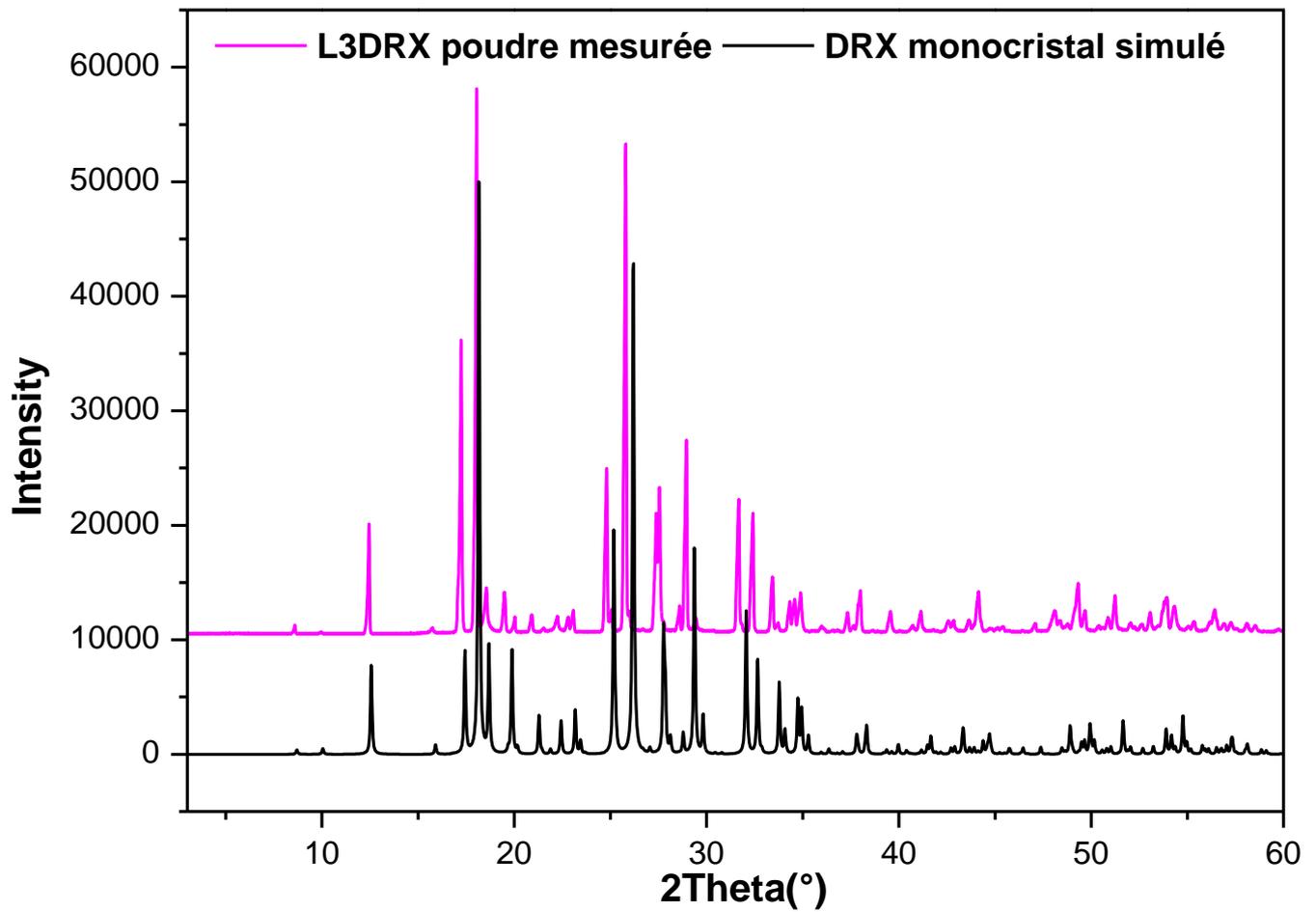


Figure 9: Diffractogramme expérimental et simulé pour (L3)

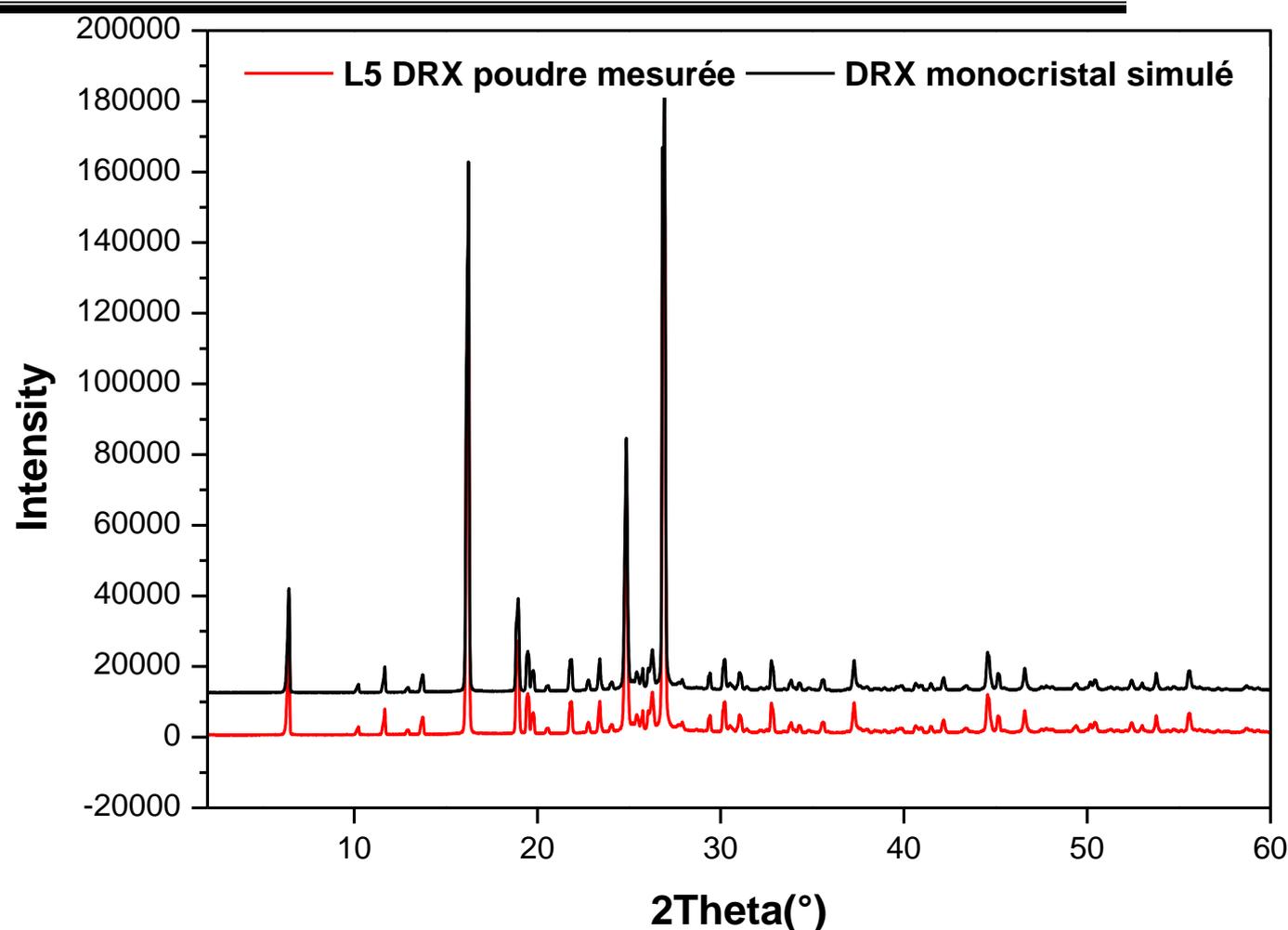


Figure 10: Diffractogramme expérimental et simulé pour (L5)

## IV- Etude structurale par diffraction des rayons X sur monocristal

### IV-1- Résolution et affinement des structures

La collecte des données, la réduction et les corrections d'absorption analytique ont été effectuées avec le logiciel CrysAlis [30]. Les structures correspondantes pour (L1), (L2), (L3), (L4) et (L5) ont été résolues par des méthodes directes et des synthèses de Fourier différence successives. L'affinement par la méthode des moindres carrés pondérés de la matrice complète par rapport à  $F^2$  a été réalisé par l'utilisation du programme SHELXL (2014) [31] disponible dans l'interface WinGX [32]. Tous les atomes autres que l'hydrogène ont été affinés de manière anisotrope.

*Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld*

---

Tous les atomes H ont été localisés sur des cartes de Fourier différences et ont été placés sur leurs atomes parents, avec C-H = 0,950 Å, N-H = 0,880 Å et  $U_{iso}(H) = -1,2.U_{iso}(X)$  (X=C ou N). Les conditions d'enregistrements, les données cristallographiques et l'affinement des cinq structures sont résumées dans le Tableau 3 suivant :

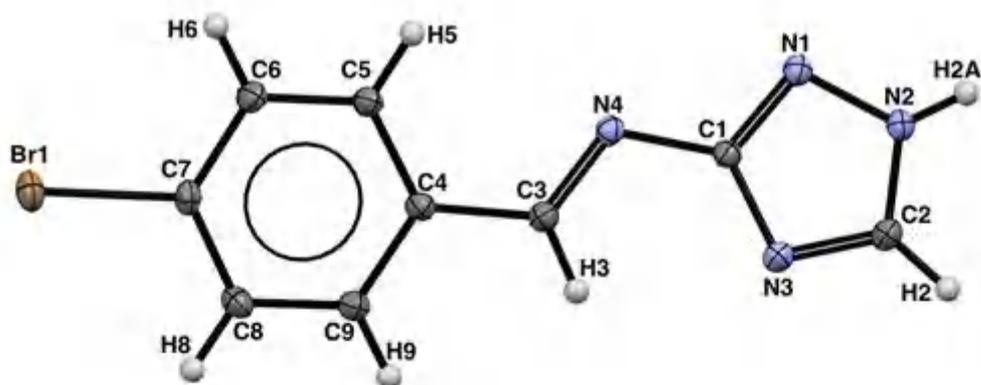
Tableau 3: Données cristallographique

Données cristallographique	(L1)	(L2)	(L3)	(L4)	(L5)
Formule chimique	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> N <sub>4</sub> Br	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> N <sub>4</sub> Br	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> N <sub>4</sub> Cl	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> N <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub>	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O
Masse molaire (g/mole)	251.10	251.10	206.64	241.08	222.22
Système cristallin, groupe d'espace	Monoclinic, <i>P2<sub>1</sub>/n</i>	Orthorhombic, <i>Pna2<sub>1</sub></i>	Orthorhombic, <i>P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub></i>	Monoclinic, <i>P 2<sub>1</sub>/c</i>	Monoclinic, <i>P2<sub>1</sub>/c</i>
Temperature (K)	100 (2)				
Paramètres de maille	a = 3.8621(1) Å b = 31.0010(8) Å c = 7.7406(2) Å β = 96.166(2) °	a = 20.8349(3) Å b = 4.5384(1) Å c = 9.8469(2) Å	a = 4.5739(2) Å b = 9.7613(3) Å c = 20.3281(1) Å	a = 6.91390(10) Å b = 15.6526(2) Å c = 9.60800(10) Å β = 106.625(2) °	a = 3.7905 (2) Å b = 9.0273 (4) Å c = 27.0221 (13) Å β = 86.060 (4)
V (Å <sup>3</sup> )	921.41(4)	931.09(3)	907.57(5)	996.32(2)	922.46 (8)
Z	4	8	8	4	4
D <sub>x</sub> (Mg m <sup>-3</sup> )	1.810	1.791	1.512	1.607	1.456
Radiation	KαMo				
μ (mm <sup>-1</sup> )	4.42	4.38	0.38	0.62	0.10
Diffractometre	Agilent SuperNova CCD diffractometer			Bruker AXS D8	Agilent SuperNova CCD
Correction d'absorption	Analytique				Emperique
T <sub>min</sub> , T <sub>max</sub>	0.650, 0.672	0.597, 0.674	0.963, 0.970	0.928, 0.946	/
Nbre. de Réflexions mesurées, indépendantes et observées (I > 2σ(I))	58567, 3371, 3184	67053, 3508, 3345	24713, 2244, 2155	98371, 5308, 4605	27305, 3308, 2826
R <sub>(int)</sub> <sup>a</sup>	0.048	0.049	0.046	0.0394	0.035
θ <sub>max</sub> (°)	32.986	33.08	30.5	32.5	33.078
Affinement	<i>F</i> <sup>2</sup>				
R <sub>1</sub> [F <sup>2</sup> > 2σ(F <sup>2</sup> )] <sup>b</sup> , wR <sub>2</sub> (F <sup>2</sup> ) <sup>c</sup> , S <sup>d</sup>	0.033, 0.065, 1.25	0.025, 0.066, 1.18	0.059, 0.169, 1.10	0.0256, 0.0668, 1.068	0.041, 0.118, 1.09
Nbre de réflexions	3371	3508	2244	5308	3308
Nbre de paramètres	127			136	146
Δρ <sub>max</sub> , Δρ <sub>min</sub> (e Å <sup>-3</sup> )	0.52, -0.64	0.74, -1.18	0.97, -0.70	0.569, -0.257	0.44, -0.29

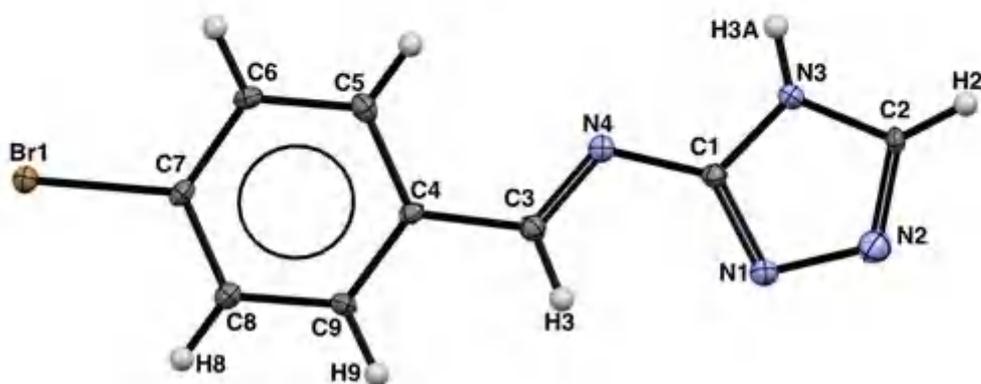
<sup>a</sup>R<sub>(int)</sub> = Σ(F<sub>o</sub><sup>2</sup> - <F<sub>o</sub><sup>2</sup>>)/Σ(F<sub>o</sub><sup>2</sup>); <sup>b</sup>R<sub>1</sub> = Σ||F<sub>o</sub>|-|F<sub>c</sub>||/Σ|F<sub>o</sub>|; <sup>c</sup>wR<sub>2</sub> = {[Σw(F<sub>o</sub><sup>2</sup>-F<sub>c</sub><sup>2</sup>)<sup>2</sup>]/[Σw(F<sub>o</sub><sup>2</sup>)<sup>2</sup>]}<sup>1/2</sup>; <sup>d</sup>Goof S = [Σw (F<sub>o</sub><sup>2</sup> - F<sub>c</sub><sup>2</sup>)<sup>2</sup>/(n- p)]<sup>1/2</sup>, ou n est le nombre de réflexions et p le nombre de paramètres.

## IV-2- Description des structures

Les structures cristallines des cinq bases de Schiff présentées dans ce chapitre sont formées sur la base du même squelette à savoir un cycle triazole et un autre cycle benzénique monosubstitué en position para par un brome pour (**L1**) et (**L2**), un chlore et un méthoxy pour (**L3**) et (**L5**) respectivement. Cependant, pour le ligand (**L4**), le cycle benzénique est disubstitué en position méta et para par deux atomes de chlores. Dans les cinq bases les deux cycles sont reliés par une fonction imine ou azométhine (C=N) caractéristique de cette famille de composés. L'unité asymétrique des composés est représentée dans la Figure 11. Les ellipsoïdes de déplacement atomique anisotrope sont représentés avec une probabilité de présence de 50%.



(a)



(b)

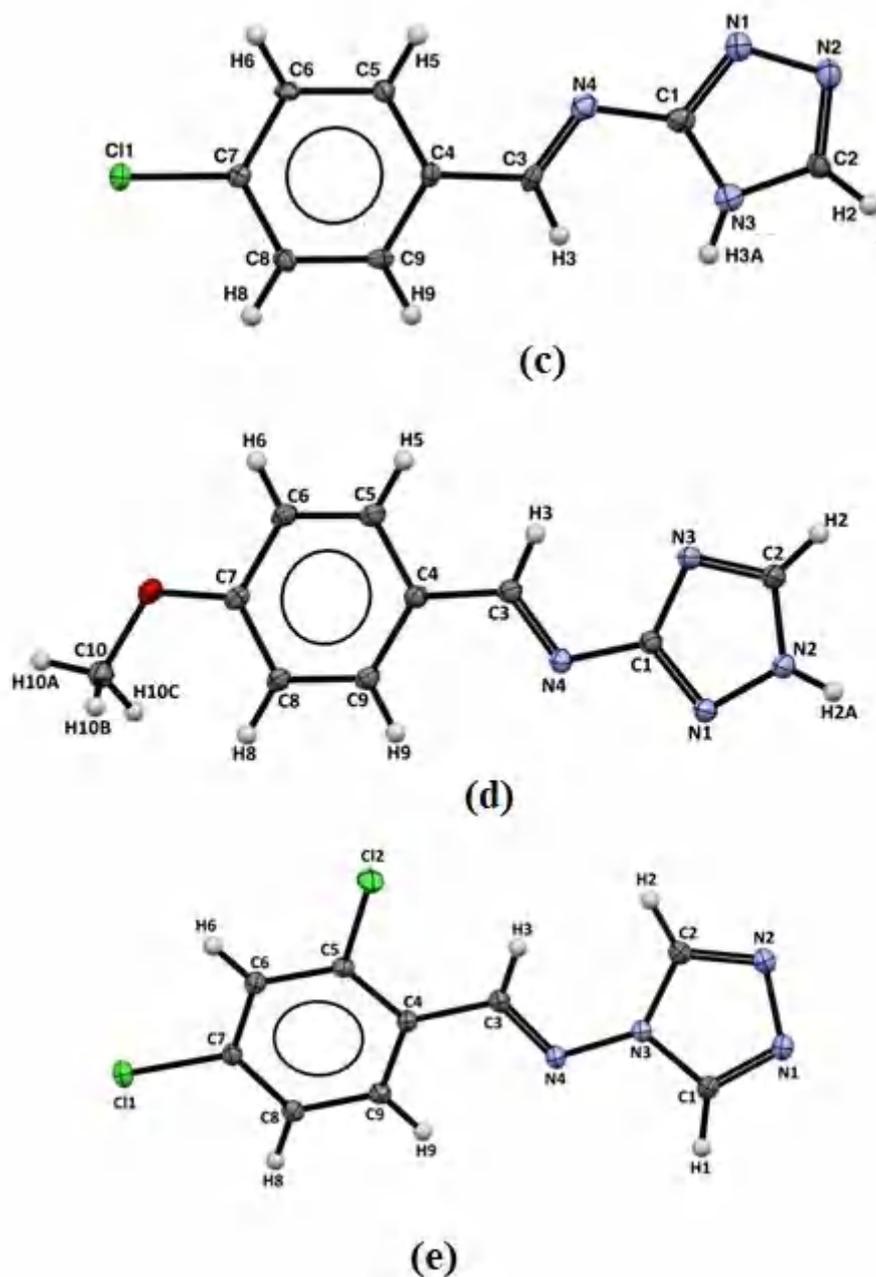


Figure 11: ORTEP de l'unité asymétrique des composés obtenus ; Les ellipsoïdes d'agitation thermique sont tracés au niveau de probabilité 50%

(a) (L1), (b) (L2), (c) (L3), (d) (L5), et (e) (L4)

### Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld

Les deux premières structures sont des polymorphes, de formules identiques  $C_9H_7N_4Br$ . Elles sont résolues et affinées, dans les groupes d'espace  $P2_1/n$  du système monoclinique pour (**L1**) et  $Pna2_1$  du système orthorhombique pour (**L2**). Ces deux composés sont des tautomères de forme 1H-triazole pour (**L1**) et 4H-triazole pour (**L2**), ils diffèrent structurellement par la position de l'atome d'hydrogène porté par l'azote du triazole N2 et N3 pour (**L1**) et (**L2**) respectivement. Cet hydrogène a subi une délocalisation spontanée conduisant à deux formes tautomériques connues dans la famille des 1,2,4-triazole [33]. D'autre part, on observe également une différence dans l'angle dièdre entre les deux cycles aromatiques. Les études spectroscopiques (RMN, ATR-FTIR et UV-Vis) du composé (**L1**) et une brève description de sa structure cristalline ont été précédemment rapportés par Kolodziej et ses collaborateurs [19].

La structure de la troisième base de Schiff (**L3**) est similaire à celle de (**L2**) avec un atome de chlore en position para à la place du brome. Elle cristallise dans le groupe d'espace  $P2_12_12_1$  du système Orthorhombique. Le composé (**L4**) quant à lui, possède deux groupement chlorure en position 2 et 4, il cristallise dans le système monoclinique avec  $P2_1/c$  comme groupe d'espace. Les deux cycles, phényle et triazole, ne sont pas coplanaires et forment un angle de  $41.97^\circ$ . La structure du composé (**L5**), cristallise dans le même groupe d'espace que (**L4**)  $P2_1/c$  du système monoclinique, avec un groupement méthoxy en position para sur le phényle à la place du brome et du chlore pour les trois premiers ligands, et un cycle triazole de l'autre côté, les deux liés entre eux par une fonction (C=N). (**L5**) est structurellement semblable à (**L1**) de par la position de l'hydrogène du triazole.

Les cinq molécules adoptent une configuration (*E*) par rapport à la double liaison imine C=N, indiquée par la valeur de l'angle de torsion C1-N4-C3-C4 de  $177,04(17)^\circ$  pour (**L1**), -  $178,5(2)^\circ$  pour (**L2**) et  $178,2(2)^\circ$  pour (**L3**),  $175,69(6)^\circ$  pour (**L4**) et  $178.63(8)^\circ$  pour (**L5**). Cette configuration est généralement considérée comme la configuration la plus stable, ceci est conforme avec les composés similaires contenant cette liaison [34,35].

Les longueurs des liaisons de l'azométhine C3=N4 sont proches de  $1.280 \text{ \AA}$  dans les deux composés (**L1**) et (**L2**), et sont plus longues que celle observée dans (**L3**) qui est de  $1.256(6) \text{ \AA}$ , tandis que pour (**L4**) et (**L5**), ces longueurs de liaisons sont pratiquement identiques de  $1.282(9) \text{ \AA}$  à  $1.286(11) \text{ \AA}$  respectivement. Cependant, ces valeurs sont en parfait accord avec les structures similaires reportées dans la littérature [36-38].

*Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld*

Les longueurs de liaison C1-N4 et C3-C4 autour de l'azométhine, sont proches de 1.40 Å et 1.46 Å respectivement dans les cinq composés et sont en bon accord avec les valeurs moyennes observées pour les liaisons C-N et C-C dans des systèmes conjugués [35-41].

La mesure de l'angle dièdre entre les deux cycles benzénique et triazole constituant le squelette dans les cinq bases de Schiff est de 3.86°, 21.09°, 3.60°, 2.56° et 41.97° dans (**L1**), (**L2**), (**L3**), (**L5**) et (**L4**) respectivement, cette dernière valeur indique une conformation distordue entre les groupements triazole et azométhine dans le composé (**L4**).

### IV.3. Étude des interactions intermoléculaires

#### IV.3.1. Etude des liaisons hydrogène

La structure cristalline des ligands (**L1**), (**L2**), (**L3**) et (**L5**) est essentiellement bâtie sur la base des liaisons hydrogène du type N-H...N et C-H...N faibles à modérées. Pour le ligand (**L4**), on observe essentiellement des liaisons hydrogène de type C-H...N et C-H...Cl, Tableau 4.

**Tableau 4: Liaisons hydrogène dans les cinq composés**

<b>(L1)</b>				
$D-H \cdots A$	$D-H$ (Å)	$H \cdots A$ (Å)	$D \cdots A$ (Å)	$D-H \cdots A$ (°)
N2—H2A...N4 <sup>i</sup>	0.880	2.050	2.924(2)	172
C2—H2...N1 <sup>i</sup>	0.950	2.580	3.162(2)	120
C3—H3...N3	0.950	2.380	2.769(2)	104
<i>Code de Symétrie : (i) <math>x-1/2, -y+1/2, z+1/2</math>.</i>				
<b>(L2)</b>				
$D-H \cdots A$	$D-H$ (Å)	$H \cdots A$ (Å)	$D \cdots A$ (Å)	$D-H \cdots A$ (°)
N3—H3A...N1 <sup>i</sup>	0.880	1.970	2.850(3)	173
C3—H3...N1	0.950	2.450	2.822(4)	103
<i>Code de Symétrie : (i) <math>-x+1, -y+3, z+1/2</math>.</i>				
<b>(L3)</b>				
$D-H \cdots A$	$D-H$ (Å)	$H \cdots A$ (Å)	$D \cdots A$ (Å)	$D-H \cdots A$ (°)
N3—H3A...N1 <sup>i</sup>	0.860	1.980	2.840(7)	174

**Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld**

C3—H3...N1	0.930	2.470	2.840(6)	104
<i>Code de Symétrie : (i) <math>-x+3, y-1/2, -z+3/2</math>.</i>				
<b>(L4)</b>				
D-H...A	D—H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D—H...A (°)
C2-H2...N2 <sup>i</sup>	0.95	2.370	3.3066(9)	168
C6-H6...N1 <sup>ii</sup>	0.95	2.420	3.3617(9)	169
C8-H8...C12 <sup>iii</sup>	0.95	2.920	3.787(7)	152
C3-H3...C11	0.95	2.710	3.0749(7)	104
<i>Codes de symétrie : (i) <math>x, -y+1/2, z+1/2</math>; (ii) <math>-x, y-1/2, -z+3/2</math>. (iii) <math>1-x, -y, 3-z</math></i>				
<b>(L5)</b>				
D-H...A	D—H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D—H...A (°)
N2-H2A...N4 <sup>i</sup>	0.8600	2.1000	2.9450(11)	168
C2-H2...N1 <sup>i</sup>	0.9300	2.5300	3.1283(12)	123
C6-H6...N3 <sup>ii</sup>	0.9300	2.5900	3.4916(12)	164
C3-H3...N3	0.9300	2.3600	2.7629(12)	106

*Codes de symétrie : (i)  $-x+2, y+1/2, -z+3/2$ . (ii)  $x, y-1, z$ .*

Les liaisons hydrogène du type N-H...N résultent de l'interaction intermoléculaire entre les atomes d'azote des cycles trizoles, pour **(L1)**, **(L2)**, **(L3)**.

Ces liaisons hydrogène donnent naissance à des chaînes infinies de motif C(4) [42,43] se développant suivant l'axe **c** pour **(L2)** (Figure 12a) et l'axe **b** pour **(L3)** (Figure 12b).

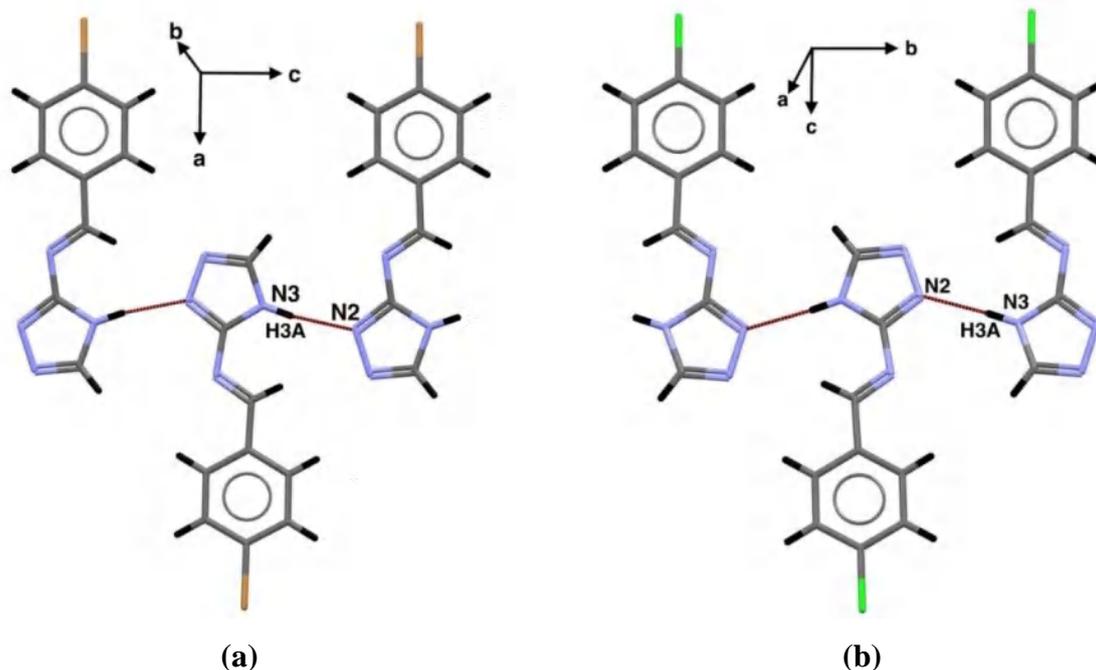


Figure 12: Liaisons hydrogène N-H...N dans les composés (a) : (L2) et (b) : (L3)

Cependant, La rotation des deux cycles aromatiques dans (L1) a généré une liaison hydrogène supplémentaire de type C-H...N (Figure 13) entre le carbone du groupe imine et l'atome N1 du cycle triazole. La combinaison de ces deux liaisons hydrogène transforme ces chaînes infinies en chaîne de cycles de motif  $R_2^2(7)$  [44,45].

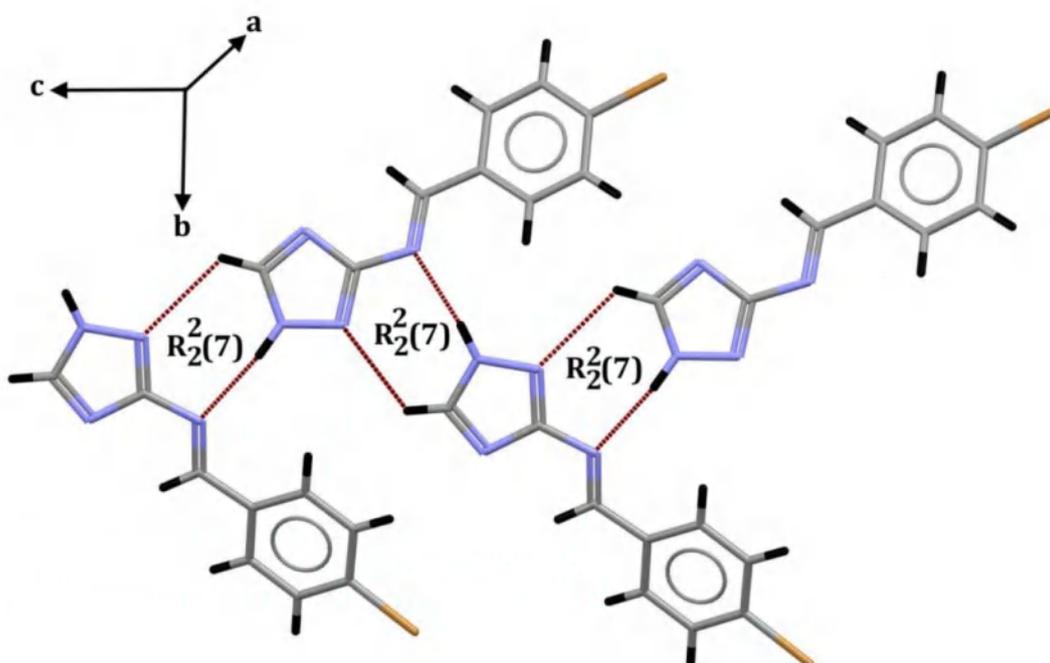


Figure 13: Liaisons hydrogène N-H...N et C-H...N présent dans le composé (L1)

Dans (L5), La présence de liaison hydrogène de type N-H...N est formée entre l'atome N2 du cycle triazole et l'atome N4 de la fonction imine, de plus, on trouve l'existence de la liaison C-H...N qui résulte de l'interaction intermoléculaire entre le carbone C2 et l'azote N1 de deux cycles triazole. La combinaison de ces deux liaisons hydrogène forme ainsi des cycles de motif  $R_2^2(7)$  [44,45], (Figure 14).

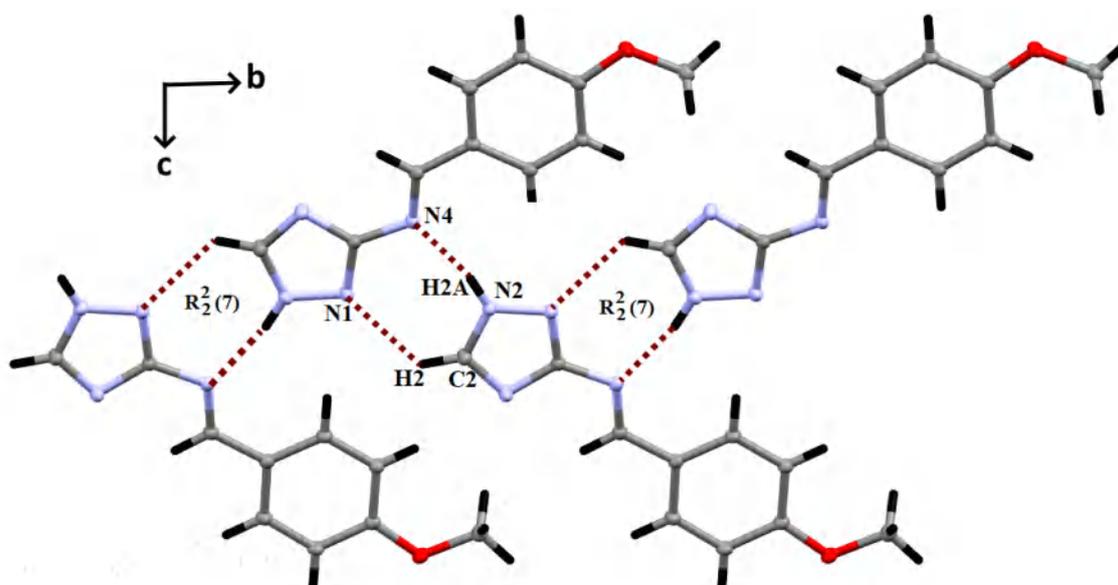
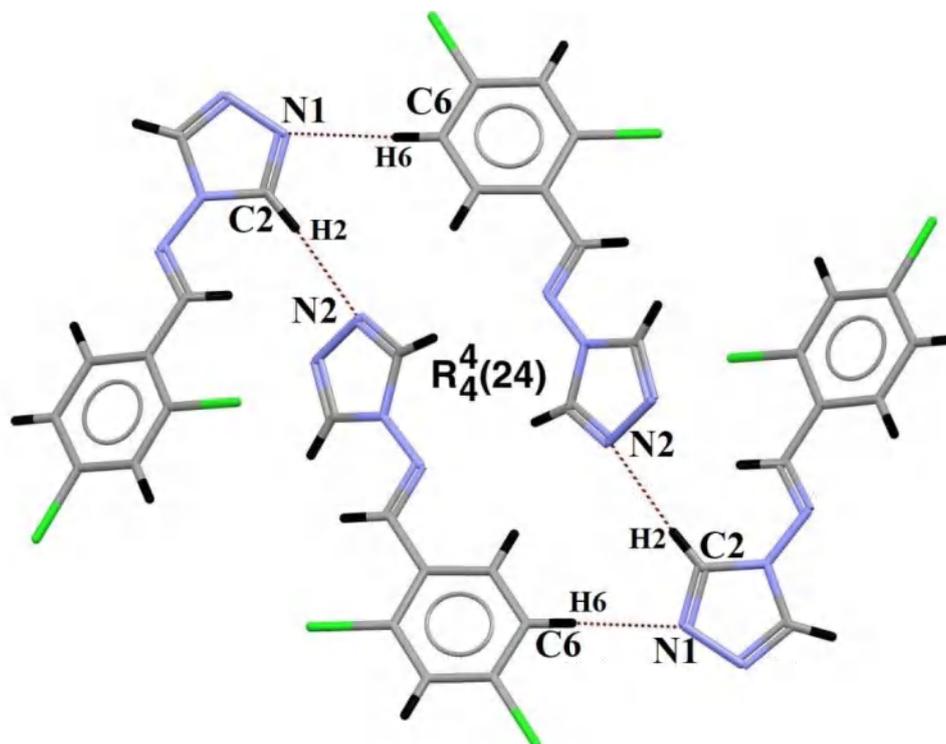


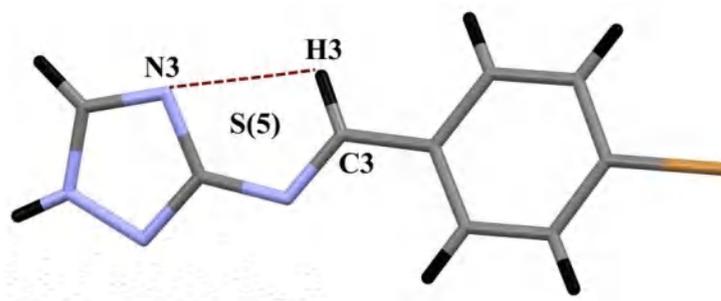
Figure 14: Liaisons Hydrogène C-H...N et N-H...N dans le composé (L5)

Les deux liaisons hydrogène de type C-H...N existantes dans le composé di-substitué (L4) sont entre le carbone C6 du cycle phényle et l'azote N1 du triazole dans un premier cas, et entre l'atome de carbone C2 et l'atome d'azote N2 de deux cycles triazole dans un second cas. La combinaison de ces deux liaisons donne des cycles de type  $R_4^4(24)$  [44,45], (Figure 15).



**Figure 15: Les deux liaisons hydrogène C-H...N dans le composé (L4)**

On observe également dans le composé (L1), une troisième interaction de type intramoléculaire entre l'hydrogène H3 porté par le carbone C3 de la fonction imine et l'atome d'azote N3 du triazole et forme un cycle de motif S(5) (Figure 16).

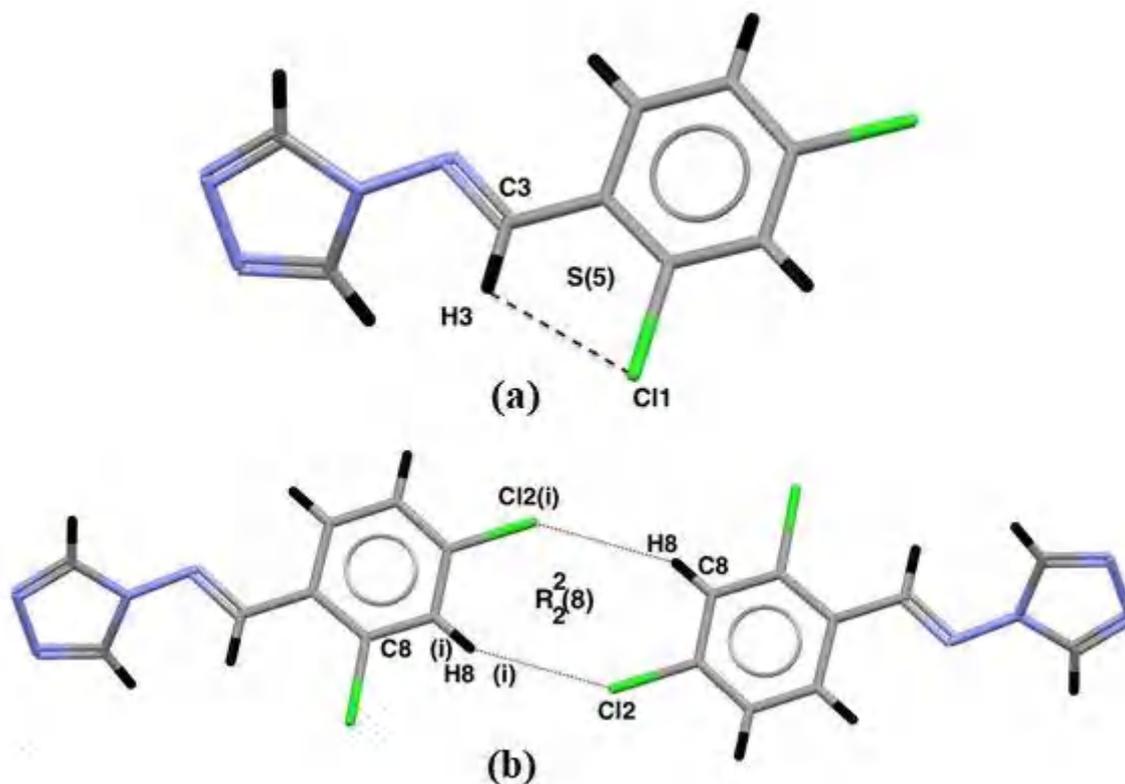


**Figure 16 : liaison hydrogène intramoléculaire C-H...N présente dans (L1)**

Les deux liaisons hydrogène type C-H...Cl, présentent dans (L4) quant à elles, sont de deux types, une intramoléculaire entre l'hydrogène porté par le carbone de la fonction imine C3 et le chlore Cl1, et donne un cycle de motif S(5) [33,34]. (Figure 17a), et l'autre

*Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld*

intermoléculaire, formée par l'effet du centre d'inversion des dimères bâtis sur la base de cycles de type  $R_2^2(8)$  [44,45] (Figure 17b). Cette dernière, est formée entre le carbone C8 du cycle benzénique et le deuxième chlore Cl2.



**Figure 17 : (a) : Liaison C-H...Cl intramolécule. (b) : Dimère issu de C-H...Cl intermoléculaire par l'effet du centre d'inversion. (i) : 1-x, -y, 3-z dans (L4)**

La combinaison de toutes les liaisons hydrogène intermoléculaires (C-H...N et C-H...Cl) présentent dans (L4) donne des couches bidimensionnelles parallèles au plan (ab) (Figure 18) contenant des cavités sous forme de losanges ayant pour motif  $R_6^6(46)$  [44,45], (Figure 19).

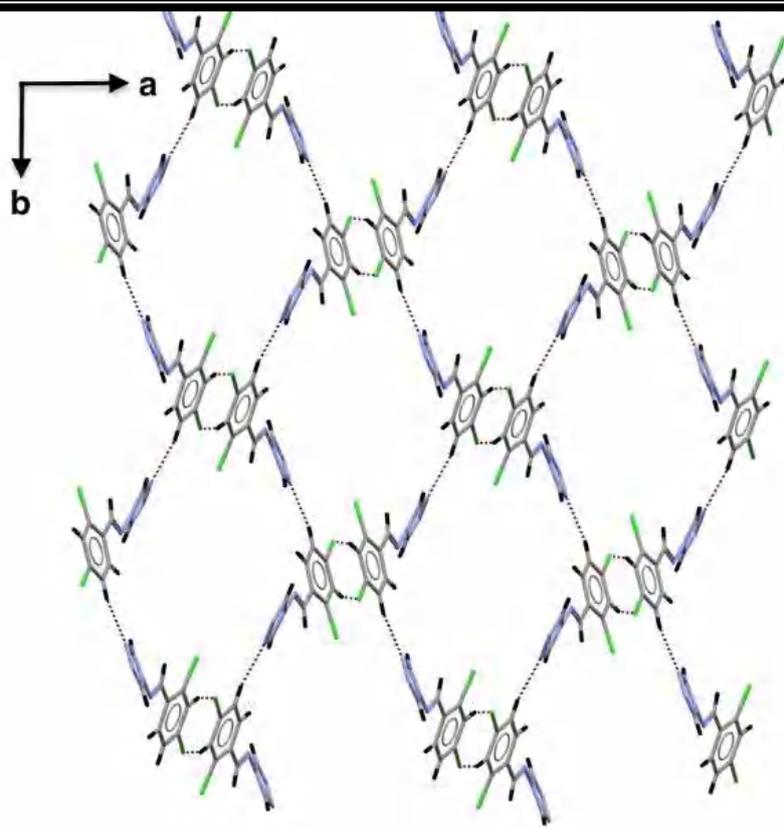


Figure 18: Cavités losanges issues de C-H...Cl et C-H...N dans (L4)

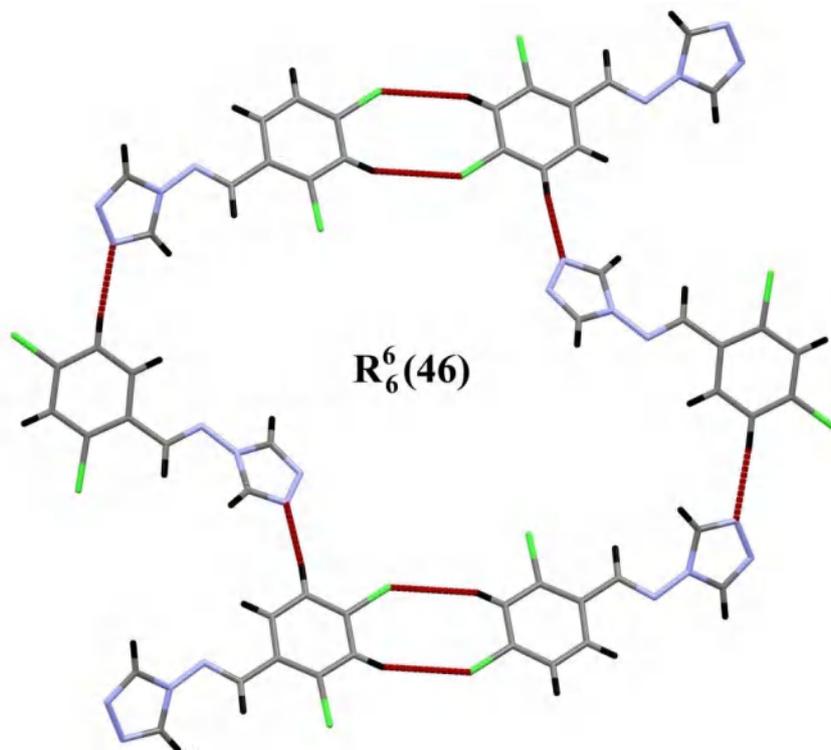
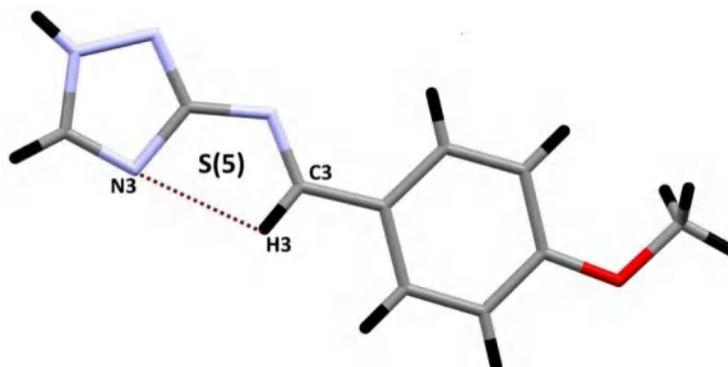


Figure 19 : Motif du cycle de la cavité dans (L4)

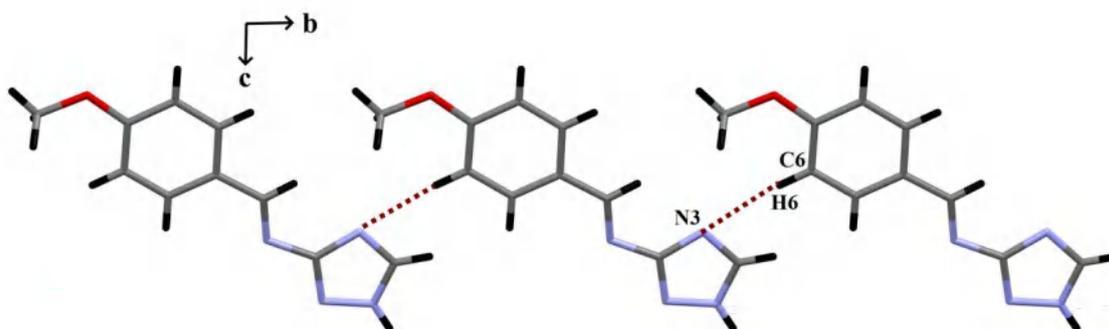
*Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld*

Dans le composé (L5), on observe également une liaison intramoléculaire C-H...N entre l'atome d'hydrogène H3 porté par le carbone C3 de l'azométhine et l'azote N3 du cycle triazole, et donne un cycle de motif S(5) (Figure 20).



**Figure 20 : Liaison C-H...N intramoléculaire présente dans (L5)**

Dans le même composé (L5), l'existence d'une liaison hydrogène intermoléculaire C-H...N, entre l'atome de carbone C6 du cycle benzénique et l'atome d'azote N3 du triazole, a permis la formation de chaînes infinies de motif C(4) se développant ainsi suivant l'axe b (Figure 21).



**Figure 21 : Liaison hydrogène intermoléculaire dans (L5)**

La combinaison des deux liaisons hydrogène C6-H6...N3 et N2-H2A...N4 forme des cycles de motif  $R_3^3(12)$  (Figure 22).

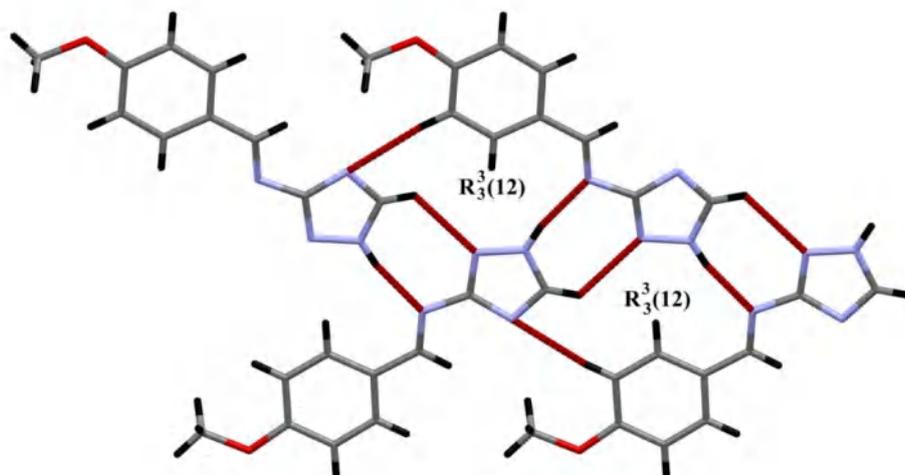


Figure 22 : Motif du cycle formé par les liaisons hydrogène C6-H6...N3 et N2-H2A...N4 dans (L5)

#### IV-3-2- Les différentes interactions halogènes, $\pi... \pi$ et halogène... $\pi$

La présence des halogènes (Br/Cl) partiellement chargés négativement, a permis la création d'interactions  $\pi...X$  (halogènes) et  $X...X$ , en plus des liaisons hydrogène. Ces interactions jouent un rôle très important dans les structures des composés, et assurent leur tridimensionnalité. Dans le cas de (L1), une interaction de type Br...Br a été observée, avec une distance Br...Br de 3.862(3) Å (Figure 23).

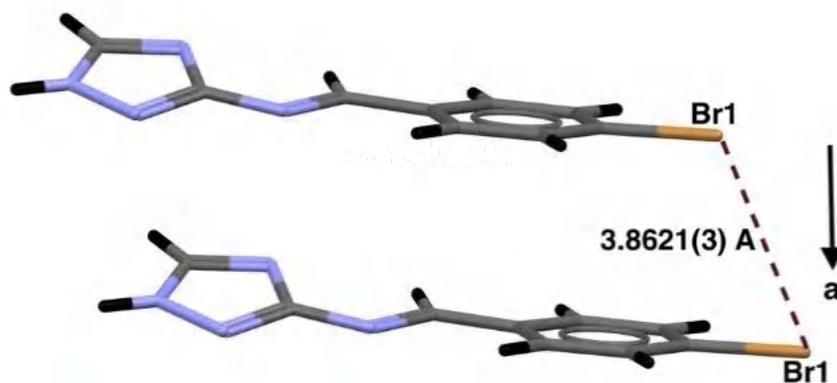


Figure 23 : interaction Br...Br dans (L1)

La même chose pour (L4), où l'on trouve une interaction Cl...Cl, avec une distance Cl...Cl de 3.364 Å et deux angles C7-C12...Cl1 de 123.04° et C9-C12...Cl1 de 177.19° (Figure 24).

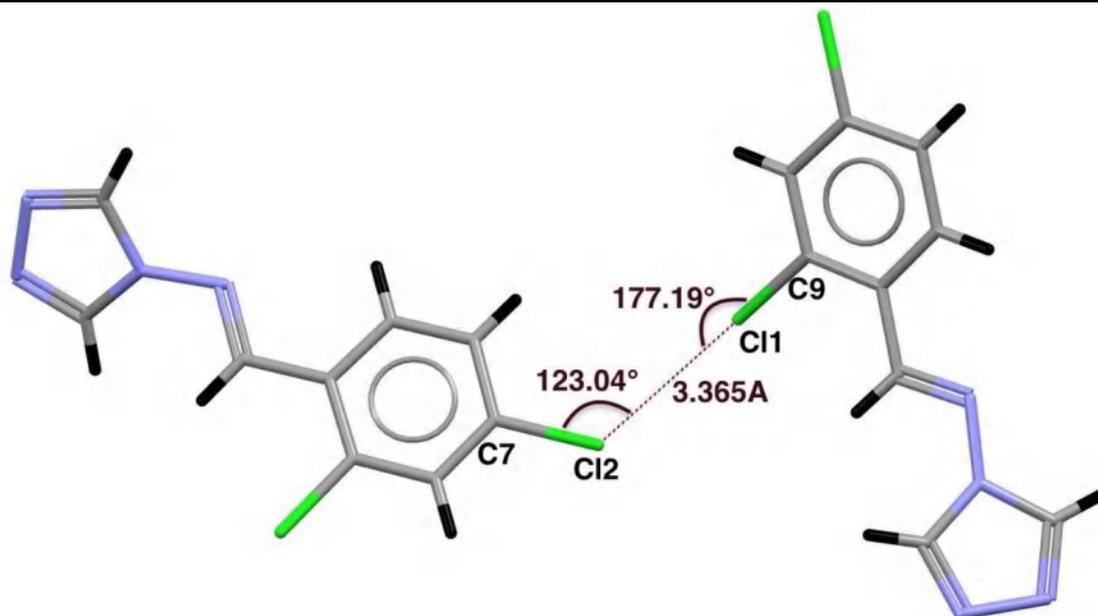


Figure 24 : Interaction Cl...Cl dans (L4)

Pour (L2) et (L3) ces interactions sont de type C-X ... $\pi$  (X = Br ou Cl) où l'atome d'halogène interagit soit avec le cycle phényle (C-Br... $\pi$  = 3.579(2) Å et C-Cl... $\pi$  = 3.509(2) Å) soit avec le cycle triazole (C-Br... $\pi$  = 3.751(2) Å et C-Cl... $\pi$  = 3.715(2) Å) (Figure 25(a) et (b)).

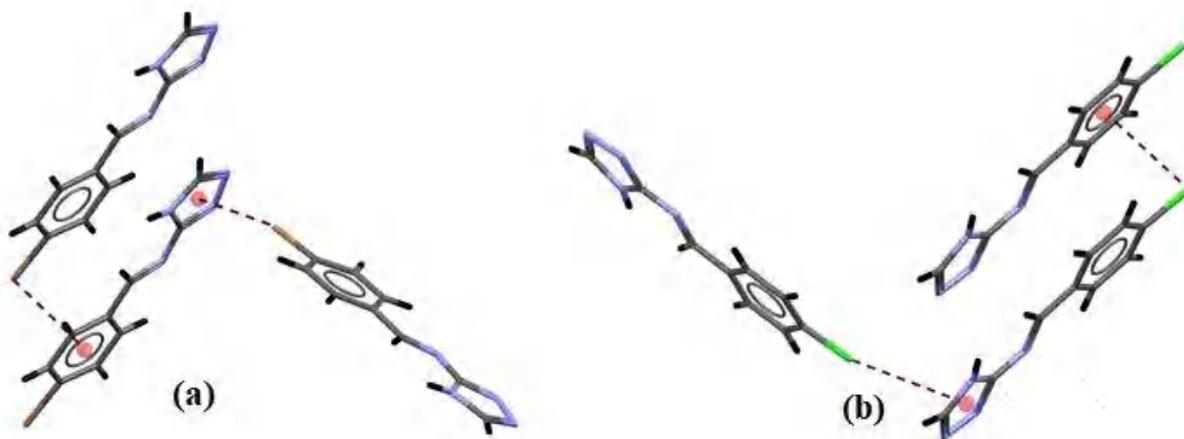
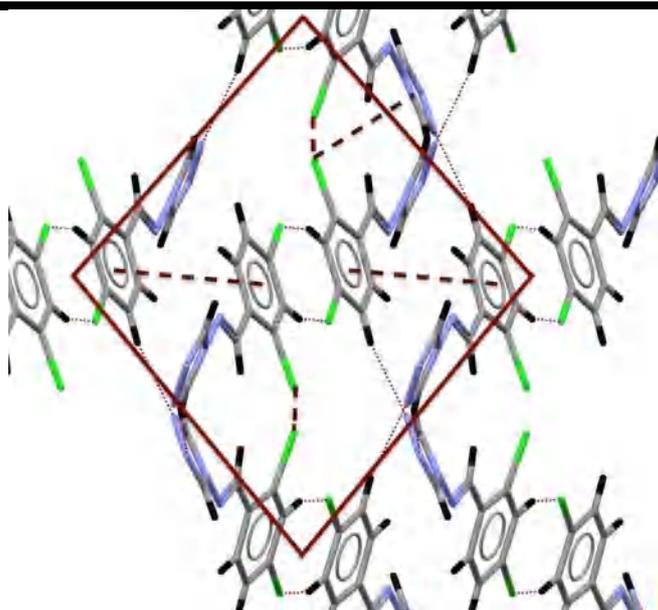


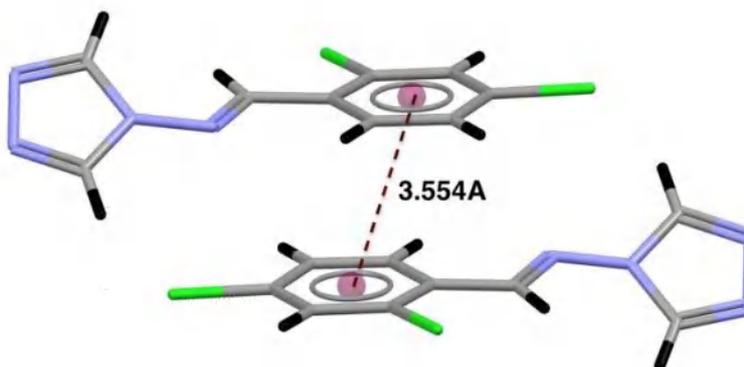
Figure 25: Interactions de type X... $\pi$  (a) : (L2), (b) : (L3).

Les cavités observées précédemment dans (L4) ne sont pas vides, elles contiennent les dimères formés par la liaison C8-H8...Cl2 qui renforcent la structure par des interactions type Cl...Cl,  $\pi$ ... $\pi$  et Cl... $\pi$  (Figure 26).



**Figure 26: Occupation des cavités par les dimères et interactions Cl...Cl,  $\pi$ ... $\pi$  et Cl... $\pi$  dans le composé (L4)**

En plus des interactions étudiées, l'aromaticité des composés est susceptible de créer des rapprochements type  $\pi$ ... $\pi$  entre les différents cycles aromatiques (phényle et/ou triazole) ou, entre l'azométhine (C=N) et un des cycles. Ce type d'interaction  $\pi$ ... $\pi$  a été observé pour les composés (L4) et (L5), où une étude détaillée, a en effet mis en évidence un rapprochement  $\pi$ ... $\pi$  décalé entre deux cycles phényles pour (L4) et (L5) et entre deux triazoles pour (L5) avec des valeurs Cg1...Cg1 de 3.5544(4) Å et Cg1...Cg1, Cg2...Cg2 de 3.791(6) Å pour (L4) et (L5) respectivement (Figure 27(a,b)).



(a)

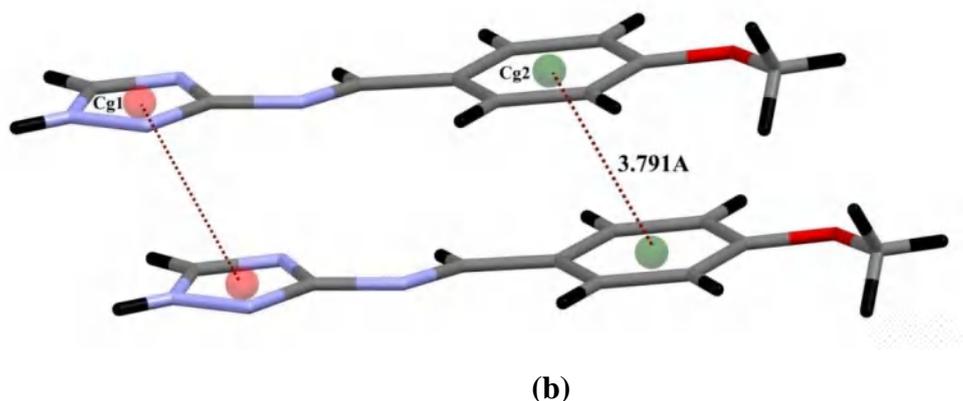


Figure 27: Interactions type  $\pi\cdots\pi$  entre deux phényles/ triazole (a) : (L4) et (b) : (L5)

Le troisième type d'interaction qui renforce la structure du composé (L4) est entre l'atome de chlore Cl1 et les électrons  $\pi$  de l'hétérocycle triazole. Ce rapprochement de type  $Cl\cdots\pi$  a une valeur  $Cl1\cdots Cg2$  de 3.4938(4) Å (Figure 28).

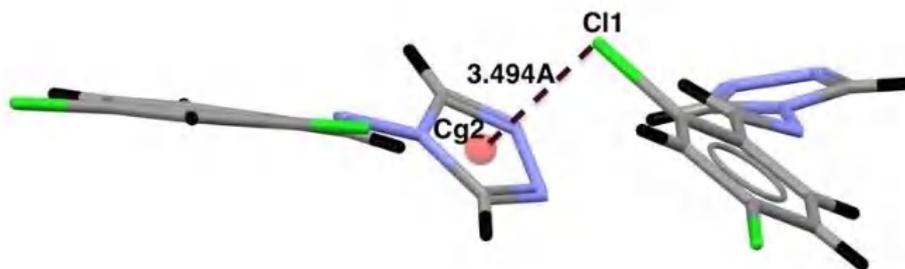


Figure 28: Interactions  $Cl\cdots\pi$  dans (L4)

## V- Analyse des Surfaces Hirshfeld

Des analyses de surface Hirshfeld ont été entreprises afin de mieux comprendre les interactions intermoléculaires au sein de la structure cristalline à l'aide d'outils graphiques [46]. C'est une méthode complémentaire qualitative et quantitative à l'analyse structurale par diffraction des rayons X. Elle consiste à découper la densité électronique du cristal en fragments moléculaires. Chaque fragment moléculaire (la promolécule) est entouré par une surface séparant ses atomes de ceux composant le reste du cristal (le procrystal). Ainsi, les surfaces d'Hirshfeld peuvent être considérées comme les frontières délimitant l'espace occupé par la densité électronique moléculaire de celles des molécules voisines dans un cristal [47,48]. Cette condition est décrite à l'aide de la fonction de distribution  $w(r)$  (équation 1)

dont le rapport entre la densité électronique promoléculaire et la densité électronique du procrystal est supérieur ou égal à 0.5 :

$$w(\mathbf{r}) = \frac{\sum_{A \in \text{molecule}} \rho_A(\mathbf{r})}{\sum_{A \in \text{crystal}} \rho_A(\mathbf{r})} \geq 0.5 \quad (1)$$

### V-1- Propriétés des surfaces $\mathbf{d}_e$ , $\mathbf{d}_i$ et $\mathbf{d}_{\text{norm}}$

Les termes  $\mathbf{d}_i$  et  $\mathbf{d}_e$  correspondent à la distance séparant la surface d’Hirshfeld du noyau atomique le plus proche. La distance est notée  $\mathbf{d}_e$  quand l’atome est situé à l’extérieur de la surface et  $\mathbf{d}_i$  quand l’atome est à l’intérieur de la surface. L’image obtenue lors de la représentation de la surface de la molécule analysée permet d’identifier les types d’interactions au sein du cristal. Quant à  $\mathbf{d}_{\text{norm}}$ , elle correspond à la distance normalisée en tenant compte du rayon de Van Der Waals des atomes impliqués.

$$d_{\text{norm}} = \frac{d_i - r_i^{\text{vdW}}}{r_i^{\text{vdW}}} + \frac{d_e - r_e^{\text{vdW}}}{r_e^{\text{vdW}}} \quad (2)$$

Du point de vue graphique et parmi les propriétés citées ( $\mathbf{d}_e$ ,  $\mathbf{d}_i$  et  $\mathbf{d}_{\text{norm}}$ ) la  $\mathbf{d}_{\text{norm}}$  est la propriété la plus adéquate pour illustrer les interactions intermoléculaires. Pour chaque représentation un gradient de couleur est utilisé illustrant, ainsi, ces dernières interactions.

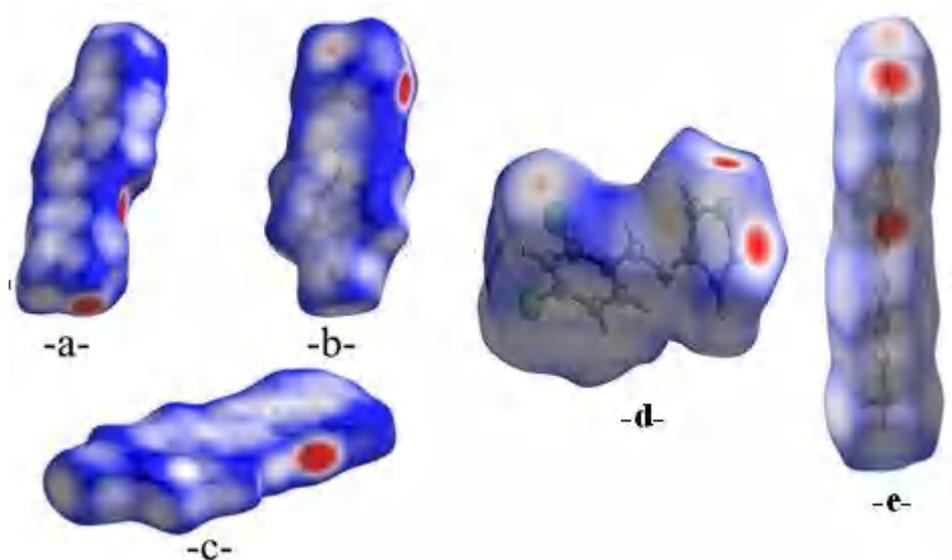
A titre d’exemple, dans la représentation  $\mathbf{d}_e$ , le gradient de couleur varie du bleu au rouge en passant par le vert et le jaune. Quant à la représentation  $\mathbf{d}_{\text{norm}}$ , le gradient de couleur varie du bleu au rouge en passant par le blanc. Cette variation de couleur est liée aux distances séparant les atomes voisins. Dans le cas de la représentation  $\mathbf{d}_{\text{norm}}$  les zones bleutées indiquent que la distance séparant les atomes voisins est supérieure à la somme de leurs rayons de Van Der Waals. Dans les zones blanches, cette distance est proche de la somme des rayons de Van Der Waals des atomes considérés. Par contre, la couleur rouge indique des zones de chevauchement.

L’analyse de la surface d’Hirshfeld est une analyse complémentaire à la fois qualitative et quantitative des interactions non covalentes au sein du cristal. Afin de tirer un maximum d’informations de cette analyse, qui révèle une contribution importante des interactions non covalentes ou faiblement polaires aux forces engendrées par le packing du cristal. Il est impératif de présenter les résultats sous forme graphique comme illustré dans la Figure 29.

Les régions rouges représentent des contacts plus étroits et une valeur  $d_{\text{norm}}$  négative ; les régions bleues représentent des contacts plus longs et une valeur  $d_{\text{norm}}$  positive. Une surface

*Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld*

blanche indique les contacts dont la distance entre les centres est égale à la somme des rayons de van der Waals (vdw).



**Figure 29: Les surfaces d'Hirshfeld (dnorm) des cinq composés. L'échelle de couleurs correspond à des valeurs de dnorm allant de -0,3 (rouge) à +0,6 (bleu) : (a) (L1), (b) (L2), (c) (L3), (d) (L4) et (e) (L5).**

Les points rouges sur les surfaces dnorm de la Figure 30 sont dus aux contacts Hc...N et HN...N correspondants respectivement aux liaisons hydrogène C-H...N et N-H...N. Les points rouges de HN...N apparaissent plus grands que ceux de HC...N. Ces indicateurs visuels sont liés aux distances d'interaction des liaisons hydrogène et donc à leur force.

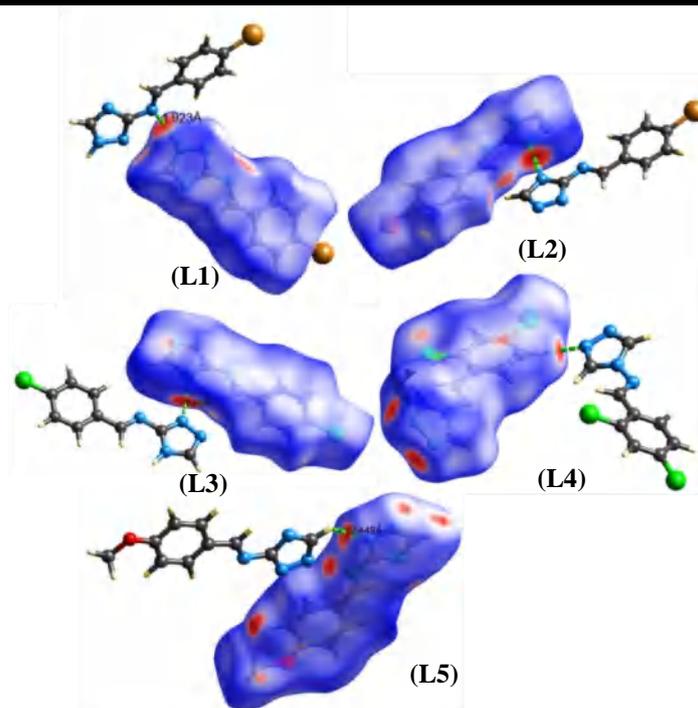


Figure 30: Surfaces d'Hirshfeld (dnorm) dans les bases de Schiff (L1), (L2), (L3), (L4) et (L5) illustrant les liaisons hydrogène N-H...N et C-H...N

## V-2- Empreinte 2D des surfaces d'Hirshfeld

Toutes les informations, concernant les interactions intermoléculaires et leur contribution à la stabilité de l'édifice cristallin, sont analysées différemment par l'empreinte 2D des surfaces [47,49]. Cette dernière constitue la représentation graphique de tous les points appartenant à la surface d'Hirshfeld dont chacun d'eux est associé aux valeurs  $d_i$  et  $d_e$ . Cette représentation met en évidence toutes les interactions présentes dans le cristal moléculaire ainsi que leurs fréquences de recouvrement. Chaque cristal moléculaire possède une empreinte 2D unique et différente l'une de l'autre.

Pour (L1), on observe la présence d'un contact intermoléculaire court H...H. Ces contacts se manifestent par des points blancs sur la surface d'Hirshfeld, (Figure 29) et sont donc considérés comme des interactions faibles. En revanche, les interactions H...H pour (L2) et (L3) sont légèrement plus courtes, atteignant 1,8 Å, elles apparaissent sous forme de points rouges sur la surface d'Hirshfeld (Figure 29) car ils correspondent à des valeurs  $d_e + d_i$  inférieurs à deux fois le rayon de van der Waals des atomes d'hydrogène.

À partir de la combinaison de la surface Hirshfeld 3D et des tracés d'empreintes digitales 2D des composés, il apparaît que les interactions intermoléculaires H...H (Figure 31), ont une

### *Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld*

---

contribution principale, correspondant à 29.2%, 32.8%, 25.8% et 38.5% des surfaces totales d'Hirshfeld pour les ligands monosubstitués **(L1)**, **(L2)**, **(L3)**, et **(L5)** respectivement, et représente un pourcentage moins important pour **(L4)** possédant un dichloro égale à 13.4%.

Dans la Figure 31 qui illustre les interactions N...H sous forme de graphiques des empreintes digitales 2D, ces dernières ont une contribution considérable de 24%, 16.3%, 26%, 27.4% et 21% de la surface totale d'Hirshfeld pour **(L1)**, **(L2)**, **(L3)**, **(L4)** et **(L5)** respectivement.

Ces interactions sont schématisées sous forme d'une paire de pointes aiguës à  $d_e + d_i \approx 1.9 \text{ \AA}$  pour **(L1)**, **(L3)**, **(L4)** et **(L5)** et à 1.85 Å pour **(L2)**.

Parmi les contributions les plus importantes de la surface totale d'Hirshfeld, on retrouve également celles correspondantes aux interactions non covalentes C-X...H, (Figure 31), représentée dans les empreintes 2D par X...H avec des pourcentages comparables pour **(L1)**, **(L2)** et **(L3)** respectivement 15.9%, 13.8%, 16.8% et 21.7% pour **(L4)**. Nous constatons que la contribution d'un seul atome de chlore dans les interactions X...H est plus importante que celles avec des atomes de bromes **(L1, L2)**, et la présence de deux atomes de chlores dans **(L4)** a augmenté considérablement le pourcentage de contribution par rapport à **(L3)**. Pour **(L5)**, qui ne possède pas d'halogène, on note un pourcentage de 10.3% de la surface totale d'Hirshfeld relatif aux interactions C...H.

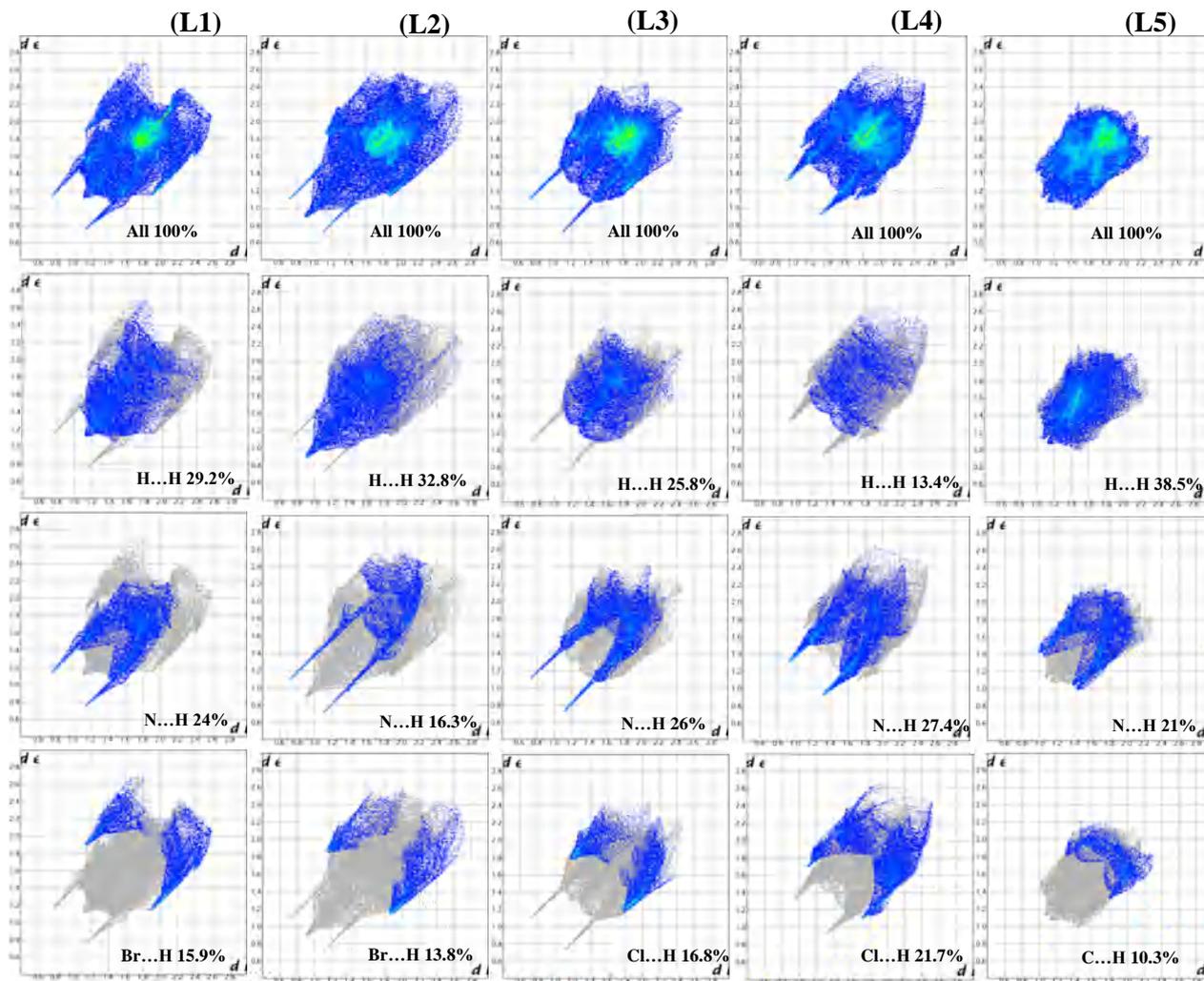
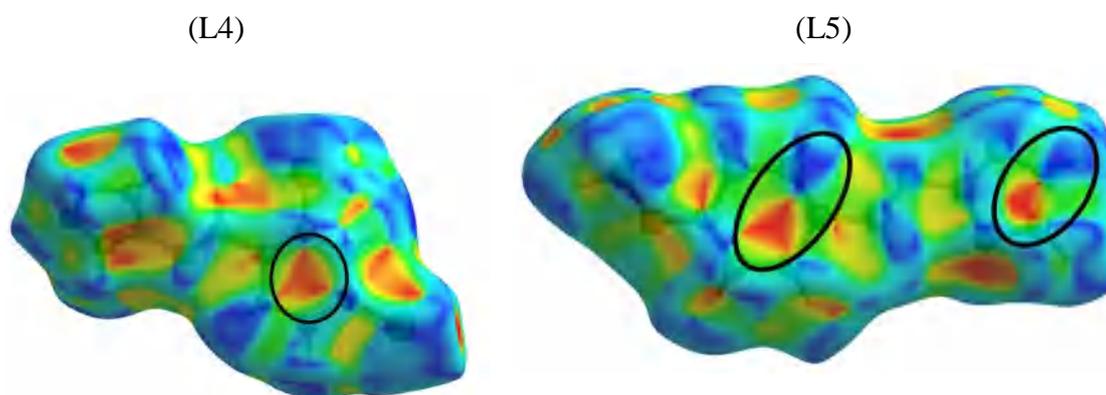


Figure 31: Empreintes 2D(FPs) des cinq composés (L1), (L2), (L3), (L4), (L5)

On retrouve également les interactions  $\pi$ - $\pi$  dans (L4) et (L5) traduites par des triangles rouge et bleu à sommet commun (Figure 32) illustrées dans le graphique Shape inde.



**Figure 32: Interactions  $\pi\dots\pi$  dans (L4) et (L5) illustrées par Shape index**

## VI- Conclusion

L'optimisation de la synthèse a permis l'obtention de cinq bases de schiff mono-halogénés pour (L1), (L2), (L3), bi-halogéné pour (L4) et un méthoxy pour (L5).

Différentes méthodes physiques ont été utilisées pour la caractérisation de nos composés.

Les analyses par RMN 1H, spectroscopie infrarouge et UV-visible ont confirmé la formation des bases de Schiff par l'apparition du groupement azométhine (HC=N) et disparition des pics amine et benzaldéhyde.

L'analyse par diffraction des rayons X sur poudre a permis la vérification de la pureté des produits.

L'étude cristallographique montre que les cinq structures adoptent une configuration (E) autour de la double liaison C=N d'azométhine.

La différence la plus significative a été observée dans les angles dièdres entre les deux cycles benzéniques et triazole. En effet, pour les structures (L1) et (L3), l'angle mesuré est de 3.82°, 3.86°, respectivement, alors qu'ils sont de 21.2°, 39.37° et 41.36° pour (L2), (L4) et (L5) respectivement.

Un réseau de liaisons hydrogène de type C-H...N et N-H...N, ainsi que des interactions halogènes et  $\pi$  assurent la cohésion de l'édifice cristallin de chaque structure. Les interactions X...X (X= Cl, Br) et C... $\pi$  renforcent la cohésion, créée par les liaisons hydrogène, entre les couches dans (L1), (L2), (L3), alors que la jonction entre les couches 2D dans (L4) et (L5) est assurée par des interactions  $\pi\dots\pi$  en plus des autres interactions.

*Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld*

---

L'analyse des surfaces d'Hirshfeld a permis d'apporter une étude supplémentaire qualitative et quantitative, complémentaire à l'étude cristallographique, comme par exemple l'empreinte 2D qui nous renseigne sur le pourcentage des différentes interactions dans le cristal.

## **VII- Références**

- [1] Brown, E. V., Granneman, G. R., *Journal of the American Chemical Society*, 97 (3), 621-627, (1975).
- [2] Li, C., Yang, W., Zhou, W., Zhang, M., Xue, R. , Li, M., Cheng, Z., *New Journal of Chemistry*, 40 (10), 8837-8845, (2016).
- [3] Kołodziej, B., Morawiak, M., Schilf, W., Kamien ski, B., *J.Mol. Struct.* 1184, 207-218, (2019).
- [4] Rachelin, Y. P., Pradhan, S., & James, C., *Spectroscopy Letters*, 51(3), 144-154, (2018).
- [5] Pokharia, M., Yadav, S. K., Mishra, H., Pandey, N., Tilak, R., and Pokharia, S., *Journal of Molecular Structure*, 1144, 324-337, (2017).
- [6] Billes, F., Endrédi, H. and Keresztury, G., *Journal of Molecular Structure THEOCHEM*, 530(1-2), 183-200, (2000).
- [7] Asiri, A. M., Karabacak, M., Sakthivel, S., Al-Youbi, A. O., Muthu, S., Hamed, S. A., Renuga, S., Alagesan, T., *Journal of Molecular Structure*, 1103, 145-155, (2016).
- [8] Mary, Y. S., Panicker, C. Y., Sapanakumari, M., Narayana, B., Sarojini, B. K., Al-Saadi, A. A., Van Alsenoy, C., War, J.A., Fun, H. K., *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 473-482, (2015).
- [9] Shojaee, S., Mahdavi Shahri, M., *Applied Organometallic Chemistry*, 32(1), e3934, (2018).
- [10] Joshi, R., Kumari, A., Singh, K., Mishra, H., & Pokharia, S., *Journal of Molecular Structure*, 1197, 519-534, (2019).
- [11] Issa, Y. M., Hassib, H. B., & Abdelaal, H. E., *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 74(4), 902-910, (2009).
- [12] Ünver, H., *Spectroscopy letters*, 34(6), 783-791, (2001).
- [13] Demircioğlu, Z., Albayrak Kaştaş, Ç., Büyükgüngör, O., *Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 139, 539-548, (2015).
- [14] Freedman, H. H., *Journal of the American Chemical Society*, 83, (13), 2900-2905, (1961).
- [15] de Toledo, T. A., da Silva, L. E., Botelho, T. C., Ramos, R. J., de Souza Jr, P. T., Teixeira, A. M. R., Freire, P. T. C., Bento, R. R. F., *Journal of Molecular Structure*, 1029, 22-27, (2012).

*Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld*

- 
- [16] Gabr, A. A., *Spectrochimica Acta Part A Molecular Spectroscopy*, 46, (12), 1751-1757, (1990).
- [17] Silverstein, R. M., Webster, F. X., Kiemle, D., Bryce, D. L., *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 8th Edition. Wiley, (2014).
- [18] Carreno, A., Gacitua, M., Paez-Hernandez, D., Polanco, R., Preite, M., Fuentes, J. A., Mora, G. C., Chavez, I., Arratia-Perez, R., *New Journal of Chemistry*, 39(10), 7822-7831, (2015).
- [19] Kołodziej, B., Morawiak, M., Schilf, W., Kamiński, B. J., *Mol. Struct.* 1184, 207-218, (2019).
- [20] Rachelin, Y.P., Pradhan, S., James, C., *Spectroscopy Letters*. 51, 144-154, (2018).
- [21] Aziz, S. G., Elroby, S. A., Alyoubi, A., Osman, O. I., Hilal, R., *J. Mol. Model*, 20, 2078-2093, (2014).
- [22] Billes, F., Endredi, H., Keresztury, G., J., *Mol. Struct. (Theochem)*, 530, 183-200, (2000).
- [23] Pokharia, M., Yadav, S. K., Mishra, H., Pandey, N., Tilak, R., & Pokharia, S., *Journal of Molecular Structure*, 1144, 324-337, (2017).
- [24] Asiri, A. M., Karabacak, M., Sakthivel, S., Al-Youbi, A. O., Muthu, S., Hamed, S. A., ... & Alagesan, T., *Journal of Molecular Structure*, 1103, 145-155, (2016).
- [25] Mary, Y. S., Panicker, C. Y., Sapnakumari, M., Narayana, B., Sarojini, B. K., Al-Saadi, A. A., & Fun, H. K., *Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 473-482, (2015).
- [26] Shojaee, S., & Mahdavi Shahri, M., *Applied Organometallic Chemistry*, 32(1), e3934, (2018).
- [27] Bouhidel, Z., Cherouana, A., Durand, P., Doudouh, A., Morini, F., Guillot, B., & Dahaoui, S., *Inorganica Chimica Acta*, 482, 34-47, (2018).
- [28] Chawla, A., & Kaur, P., *ChemInform*, 44(36), (2013).
- [29] Joshi, R., Kumari, A., Singh, K., Mishra, H., & Pokharia, S., *Journal of Molecular Structure*, 1197, 519-534, (2019).
- [30] Rigaku Oxford Diffraction, CrysAlis CCD and CrysAlis RED. (Versions 1.171.38.46), Rigaku Oxford Diffraction, Yarnton, England, (2017).
- [31] Sheldrick, G.M., *Acta Crystallogr. C*71, 3-8, (2015).
- [32] Farrugia, L.J.J., *Appl. Cryst.* 32, 837-838, (1999).
- [33] Chawla, A., & Kaur, P., *ChemInform.* 4 (1), 49-72, (2013).

*Chapitre III : Synthèse et caractérisation des cinq bases de Schiff obtenues et analyse des surfaces d'Hirshfeld*

---

- [34] Groom, C. R., Bruno, I. J., Lightfoot, M. P., Ward, S. C., *Acta Crystallographica Section B*, 72 (2), 171-179, (2016).
- [35] Bruno, I. J., Cole, J. C., Edgington, P. R., Kessler, M., Macrae, C. F., McCabe, P., Pearson, J., Taylor, R., *Acta Crystallographica Section B*, 58 (3 Part 1), 389-397, (2002).
- [36] Feng, Q., Li, Y., Wang, L., Li, C., Wang, J., Liu, Y., Li, K., Hou, H. *Chemical Communications*, 52(15), 3123-3126, (2016).
- [37] Chundawat, T. S., Sharma, N., Kumari, P., Bhagat, S., *Synlett*, 27 (03), 404-408, (2016).
- [38] Biswas, P., Bag, P., Dutta, A. K., Flörke, U., Nag, K., *Polyhedron*, 75 118-126, (2014).
- [39] Kaynar, N. K., Tanak, H., Şahin, S., Dege, N., Açar, E., Yavuz, M., *Crystallography Reports*, 61(2), 239-242, (2016).
- [40] Karakas, A., Ünver, H., *Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 75(5), 1492-1496, (2010).
- [41] Alpaslan, Y. B., Alpaslan, G., Açar, A.A., İskeleli, N.O., Öztekin, E., *Journal of Molecular Structure*, 995(1-3), 58-65, (2011).
- [42] Etter, M. C., *Acc. Chem. Res*, 23, 120-126, (1990).
- [43] Bernstein, J., Davis, R. E., Shimoni, L. and Chang, N. L., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*, 34, 1555-1573, (1995).
- [44] Etter, M.C., *Acc. Chem. Res*. 23, 120-126, (1990).
- [45] Bernstein, J., Davis, R.E., Shimoni, L., Chang, N.L., *Angew Chem. Int. Ed. Engl*. 34, 1555-1573, (1995).
- [46] Jelsch, C., Ejsmont, K., Huder, L., *IUCrJ*, 1, 119-128, (2014).
- [47] Spackman, M. A., McKinnon, J. J., *CrystEngComm*, 4(66), 378-392, (2002).
- [48] Spackman, M. A., Jayatilaka, D., *CrystEngComm*, 11, 19-32, (2009).
- [49] Parkin, A., Barr, G., Dong, W., Gilmore, C. J., Jayatilaka, D., McKinnon, J. J., ... & Wilson, C. C., *CrystEngComm*, 9(8), 648-652, (2007).

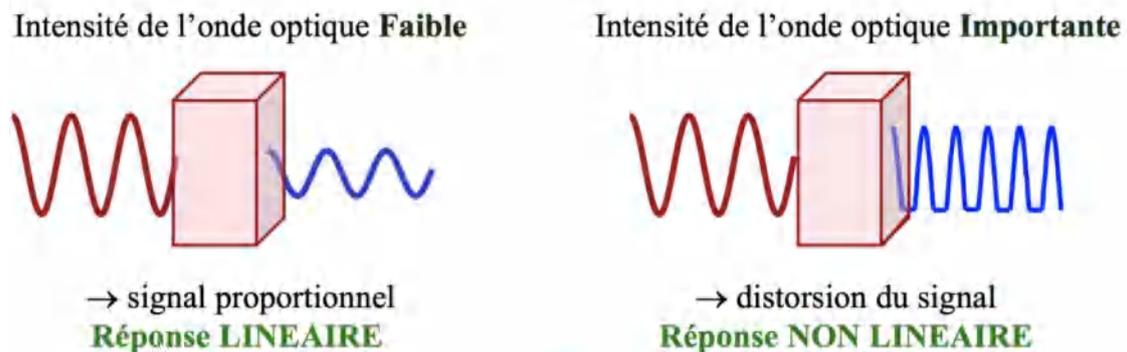
# **Chapitre IV:**

## **Propriétés optiques non linéaires (ONL)**

## I-Introduction

Nous percevons dans notre vie quotidienne des phénomènes optiques, qui relèvent des interactions entre la lumière et la matière. Les interactions classiques comme la diffusion, la réfraction et la réflexion s'effectuent dans le domaine de l'optique linéaire quand les ondes lumineuses possèdent de faibles intensités et n'interagissent pas entre elles. A ce niveau, l'intensité lumineuse transmise et incidente sont proportionnelles (Figure 33). Ceci n'est plus le cas pour les ondes lumineuses de fortes intensités comme celles produites par les lasers.

L'optique non linéaire, concerne donc les phénomènes liés à la modification des propriétés optiques d'un matériau soumis à un rayonnement de forte intensité. En effet, en présence d'un champ électrique  $E$ , le matériau est susceptible de modifier ce champ en créant une polarisation  $P$ . Cette réponse à l'excitation dépend du champ  $E$ . L'optique non linéaire regroupe l'ensemble des phénomènes optiques présentant une réponse non proportionnelle au champ électrique  $E$ .

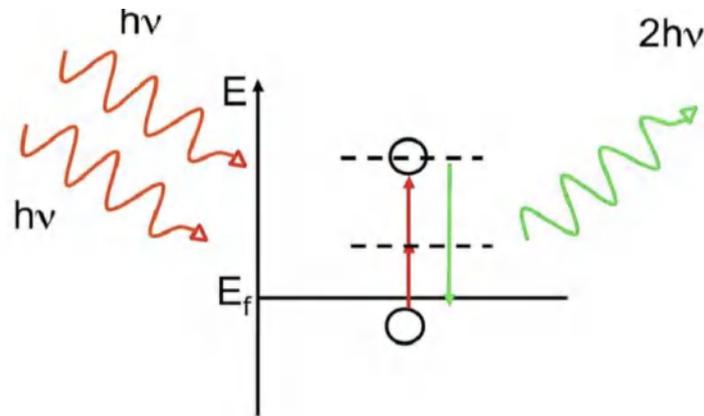


**Figure 33: Différence entre Optique Linéaire et ONL**

Le développement de l'ONL est lié à la découverte du laser par Maiman et Collins en 1960 [1, 2]. Les effets non linéaires (NL) ont été découverts dès les premières années qui suivirent l'invention du laser. En effet, la première observation du phénomène ONL est faite en 1961 : où une expérience de génération de seconde harmonique SHG « second harmonic generation » ou doublement de fréquence a été réalisée par Franken et ses collaborateurs [3], à l'aide d'une lame de quartz éclairée par un laser à rubis, utilisant une longueur d'onde de 694.3 nm [3]. Par ce processus, la lumière laser proche infrarouge peut être convertie par un matériau optique non linéaire en lumière bleue ou verte. La longueur d'onde résultante est la moitié de la longueur d'onde incidente, et il est donc possible de stocker des informations avec une densité plus élevée. Franken et ses collègues ont observé qu'un rayonnement ultraviolet

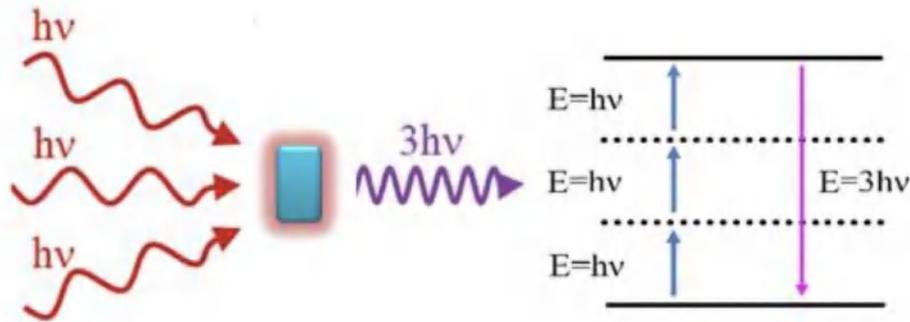
ayant deux fois la fréquence d'entrée d'un laser à rubis est généré lorsque, la lumière du laser à rubis traverse un cristal de quartz. Cependant, le processus typique de génération de seconde harmonique consiste à convertir le rayonnement invisible de 1064 nm (proche infrarouge) d'un laser grenat d'yttrium-aluminium dopé au néodyme (Nd-YAG) en rayonnement visible de 532 nm (vert) à l'aide d'un matériau actif ONL comme le montre la Figure 34: Conversion du rayonnement invisible (infrarouge) en rayonnement visible à l'aide d'un matériau NLO actif (Dédoublément de fréquence SHG).Figure 34 ci-dessous.

Pour simplifier les choses ; lorsque les photons d'un rayonnement traverse un matériau non linéaire pour former de nouveaux photons avec le double d'énergie ou le double de fréquence, ou bien la moitié de la longueur d'onde des photons initiaux, nous sommes face à un phénomène appelé génération de seconde harmonique SHG (Figure 34).



**Figure 34: Conversion du rayonnement invisible (infrarouge) en rayonnement visible à l'aide d'un matériau NLO actif (Dédoublément de fréquence SHG).**

Par la suite, la génération de la troisième harmonique (THG) a été observée par Terhune et Maker en 1962 [4]. C'est en 1965, où les premières expériences sur la génération de troisième harmonique (THG) ont été publiées [4, 5]. THG est le phénomène où la longueur d'onde des photons initiaux est divisée par trois, ou bien la fréquence est triple (Figure 35). Enfin, les premières expériences sur la modulation de l'indice de réfraction par effet électro-optique ont été réalisées en 1963 [6, 7].



**Figure 35: Conversion du rayonnement invisible (infrarouge) en rayonnement visible à l'aide d'un matériau NLO actif (THG)**

Jusqu'à nos jours, l'ONL reste un domaine très actif et intéressant. Ses applications reposent sur la diversité de ses phénomènes, et ses répercussions sont aussi grandes en recherche fondamentale que dans le domaine industriel, on les

Les différentes recherches dans ce domaine tournent autour de deux axes. D'une part, le développement des techniques d'investigation des propriétés ONL des matériaux sont de plus en plus sensibles. D'autre part, la découverte des matériaux NL possédant des coefficients NL de plus en plus importants qui participent à la diminution de la longueur d'interaction entre la lumière et le milieu (ceci implique à la miniaturisation des composants optoélectroniques). La diversité des techniques de mesures actuelles est aussi grande que le nombre des phénomènes NL: mélange à quatre ondes, génération d'harmoniques, Z-scan, absorption multiphotonique, etc. La sensibilité de la mesure varie d'une technique à une autre. Par ailleurs de nombreux progrès ont vu le jour afin d'améliorer les performances des composants à intégrer, notamment par la synthèse de nouveaux matériaux [8, 9]. Leurs réponses optiques NL dépendent fortement de différents modèles de substitutions périphériques, des conjugaisons- $\pi$  et de l'incorporation de métal au centre. Parmi ces matériaux, nous nous sommes intéressés aux bases de Schiff portant des halogènes comme substituants.

## I-1- Ondes électromagnétiques

Les ondes électromagnétiques sont des ondes lumineuses. Dans le vide, une telle onde est classiquement représentée par un couple de champs de vecteurs : le champ électrique  $\vec{E}$  (exprimé en  $V.m^{-1}$ ) et le champ magnétique  $\vec{H}$  (exprimé en  $A.m^{-1}$ ). Ces deux champs ne sont pas indépendants, les caractéristiques du milieu de propagation interviennent dans leur

relation. La direction de polarisation de l'onde électromagnétique est définie par la direction du champ électrique. Lorsqu'une onde électromagnétique se propage dans un milieu matériel homogène, les champs lumineux ont la possibilité d'induire une polarisation  $\vec{P}$ , une aimantation  $\vec{M}$  et une densité de courant  $\vec{J}$  dans la matière.

## **I-2- Absorption de la lumière**

La loi de Beer-Lambert, a été découverte par Pierre Bouguer en 1729, reprise par la suite par Lambert en 1760, puis par Beer en 1852 qui y introduisit la concentration, lui donnant la forme sous laquelle elle est le plus souvent utilisée. Elle repose sur une relation empirique qui relie l'absorption de la lumière aux propriétés du milieu qu'elle traverse, en établissant une proportionnalité entre la concentration d'une entité chimique en solution, l'absorbance de celle-ci et la longueur du trajet parcouru par la lumière dans la solution.

L'intensité d'un rayonnement électromagnétique de longueur d'onde  $\lambda$  traversant un milieu subit une diminution exponentielle en fonction de la nature chimique du milieu traversé et de la longueur du chemin optique parcouru dans ce milieu :

$$I = I_0 e^{-\alpha l}$$

Où  $\alpha$  désigne le coefficient d'absorption linéaire du milieu (en  $\text{cm}^{-1}$ ) et  $l$  l'épaisseur du milieu traversé (en cm).

Dans un milieu homogène et isotrope, la loi de Beer-Lambert peut également s'exprimer ainsi :

$$A = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = -\log(T) = \epsilon l C$$

Où  $A$  désigné l'absorbance (sans unité),  $T$  la transmittance de la solution (sans unité),  $\epsilon$  le coefficient d'absorption molaire (en  $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) s'exprimant à  $\lambda$  et  $T$  données, et  $C$  la concentration molaire de la solution (en  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

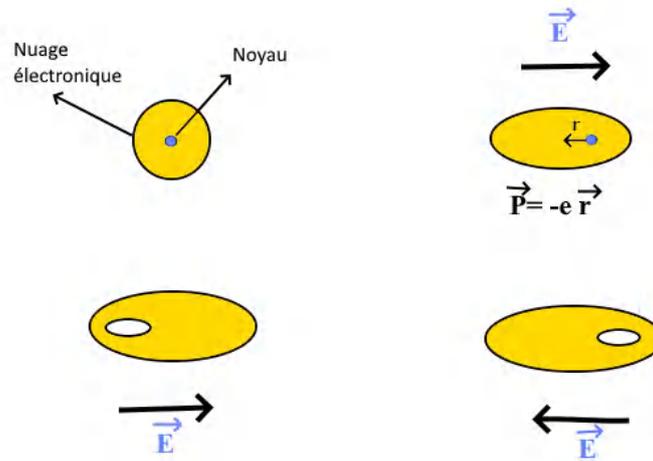
Dans certains cas, lorsque le milieu est fortement absorbant à la longueur d'onde  $\lambda$ , l'absorption peut prendre un caractère non linéaire et l'expression de la transmittance devient alors :

$$T = \frac{\alpha e^{-\alpha l}}{\alpha + \beta I_0 (1 - e^{-\alpha l})}$$

Où  $\beta$  désigne le coefficient d'absorption non linéaire (en  $\text{cm.GW}^{-1}$ ).

### I-3- Interactions matière-lumière

Les matériaux étudiés en optique sont souvent considérés comme un ensemble de particules chargées : des électrons et des ions (noyaux des atomes). Lorsqu'un milieu est soumis à un champ électrique oscillant  $E$ , Figure 36, les charges positives sont entraînées dans le sens du champ alors que les charges négatives ( $e$ ) sont entraînées dans le sens inverse, créant ainsi un dipôle oscillant. Dans le cas d'une excitation faible, le déplacement des électrons peut être représenté par un simple dipôle microscopique oscillant, proportionnel au champ, ce qui conduit à la génération d'une polarisation linéaire au niveau macroscopique.



**Figure 36: Représentation schématique de la déformation du nuage électronique d'une molécule soumise à un champ électrique oscillant.  $r$  : déplacement.**

Il existe 3 mécanismes de polarisation :

- Polarisation électronique : cette polarisation est liée à la modification de la répartition des charges internes à chaque atome ou ion.
- Polarisation atomique : cette polarisation concerne les déplacements des atomes ou des ions par rapport à leurs positions d'équilibre dans l'édifice auquel ils appartiennent (molécule ou réseau cristallin).
- Polarisation d'orientation : celle-ci concerne les édifices atomiques ou moléculaires possédant un moment dipolaire permanent.

Le champ électromagnétique suit le principe de superposition (si deux champs peuvent se propager dans le milieu, alors il en est de même de toute combinaison linéaire de ces deux champs).

- L'indice de réfraction du milieu est indépendant de l'intensité de la lumière.
- La pulsation de la lumière est inchangée lorsqu'elle traverse le milieu.
- Deux faisceaux de lumière traversant la même région d'un milieu linéaire n'interagissent pas entre eux et se propagent comme si l'autre était absent du milieu (conséquence du principe de superposition).

Cependant, si le champ électrique de l'onde lumineuse est beaucoup plus intense (de l'ordre des forces de cohésion atomiques) c.à.d. si le champ appliqué n'est plus négligeable devant le champ atomique ( $>10^{10}$  V/m), on parle d'ONL. L'approximation linéaire n'est plus valable lorsque le champ électromagnétique devient très intense. Cette forte intensité donne lieu à une polarisation NL dans le matériau.

De nouvelles propriétés optiques ont ainsi pu être révélées :

- L'indice de réfraction varie avec l'intensité lumineuse.
- La lumière peut changer de pulsation. Elle peut par exemple passer du rouge au bleu lorsqu'elle traverse un milieu NL.
- Deux faisceaux lumineux peuvent interagir dans un milieu matériel NL.

Lorsqu'on parle de l'optique NL, la propriété de non linéarité concerne le milieu traversé par la lumière et non pas la lumière elle-même. Aucun phénomène NL ne peut apparaître quand la lumière se propage en espace libre.

#### **I-4. Introduction à la figure (facteur) de mérite**

Afin d'évaluer la polarité du cristal, et sur la base de la forte relation entre le signal de seconde harmonique (SHG) et le groupe ponctuel de symétrie (PSG), nous introduisons une notion appelée figure de mérite (FOM) composée des signaux mesurés  $S_{nw}$  de SHG et THG. Cette valeur est définie par la distribution d'intensité spectrale intégrée  $Inw(E_{ph})$  enregistrée au pic harmonique ( $n = 2$  pour SHG,  $n = 3$  pour THG) après correction de la ligne de base. En d'autres termes,  $Inw(E_{ph})$  est le spectre d'émission de la  $n$ -ième génération harmonique enregistré par un spectromètre, tandis que  $S_{nw}$  est son intégrale.

Par ailleurs, Le facteur de mérite se traduit par le rapport entre le signal SHG  $S_{2w}$  et sa contrepartie THG  $S_{3w}$ , appelé dans la suite "rapport harmonique" :

$$f_R = \frac{S_{2w}^3}{S_{3w}^2} \dots\dots (5)$$

Dans cette partie du travail, nous allons donner brièvement quelques généralités sur l'ONL, sans rentrer dans les détails des équations mathématiques, mais qui sont nécessaires à la suite de la lecture et à l'interprétation des résultats des mesures ONL réalisées sur nos trois composés élaborés, à savoir **(L1)**, **(L2)** et **(L3)**.

## **II- Mesures des propriétés optiques non linéaires**

Les propriétés optiques non linéaires, en particulier la capacité à générer la deuxième harmonique (SH) et la troisième harmonique (TH) du rayonnement incident, ont été étudiées à l'aide d'un montage de réflectométrie diffuse à impulsions femtosecond.

La réflectométrie diffuse non linéaire par impulsions femtoseconde est conçue comme un outil expérimental performant pour la caractérisation sans ambiguïté des groupes de symétrie ponctuelle polaire et non polaire des nanoparticules à conversion harmonique par ascension (up conversion), en utilisant des impulsions laser intenses et ultracourtes de 40 femtosecond et un facteur de mérite (FOM) approprié.

## **III- Préparation des échantillons**

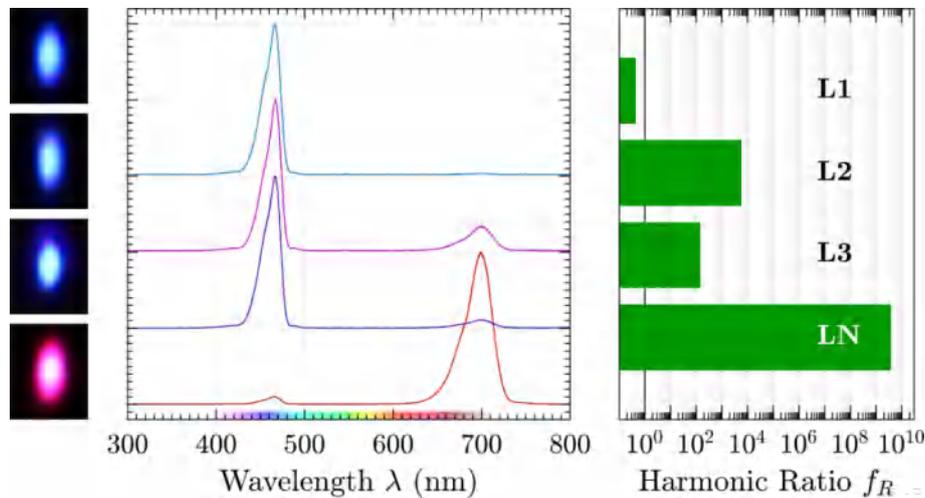
La préparation des échantillons est réalisée selon la procédure standard connue pour la spectroscopie de réflectance diffuse optique linéaire [10], c'est-à-dire en exerçant une forte pression sur la poudre. La nano poudre obtenue est ensuite placée dans un porte échantillon en acier, et pressée avec un dispositif plan muni d'un marteau jusqu'à obtention d'une pastille solide. Il est recommandé de placer une feuille de papier sec entre le poussoir et la poudre pendant la phase de compression Afin de minimiser les reflets spéculaires [11].

L'irradiation des échantillons **(L1)**, **(L2)**, et **(L3)** a été faite en utilisant un laser de modèle femtosecond délivrant des impulsions à une longueur d'onde  $\lambda = 1400$  nm.

## IV- Résultats des mesures ONL

Les résultats des mesures des échantillons révèlent une importante génération de la troisième harmonique (TH) entraînant une émission de lumière bleue visible pour les trois échantillons (Figure 37). Il s'avère que cette réponse est plus importante que l'échantillon de référence (LiNbO<sub>3</sub>).

Les spectres d'émission normalisés (Figure 37) confirment la réponse à la TH des trois composés synthétisés avec des longueurs d'onde identiques à 470 nm, cette réponse à la TH s'avère plus importante que le composé de référence (LiNbO<sub>3</sub>).



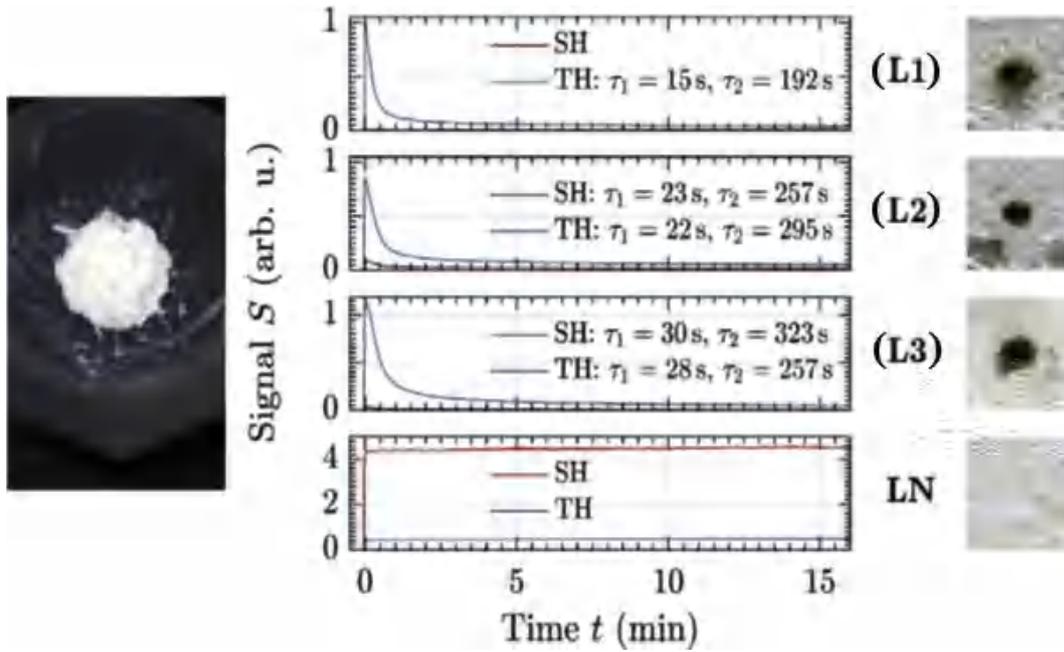
**Figure 37: Émission visible (à gauche) des composés (L1), (L2), (L3) (de haut en bas) ainsi que LiNbO<sub>3</sub>:Mg (LN) lors d'une irradiation par pulsions fs. Spectres normalisés de l'émission (au centre) et rapports harmoniques  $f_R$  (à droite).**

En comparaison avec la seconde harmonique (SH), cette dernière joue un rôle secondaire et peut être inférieur au signal (TH). Ainsi, la génération de la SH dans (L1) est fortement étouffée, ceci se traduit par un rapport harmonique  $f_R < 1$  indiquant également que la structure cristalline de (L1) est belle et bien centrosymétrique (groupe spatial  $P21/n$ ). En revanche, le composé (L2) présente une émission de SH notable qui se traduit également par un rapport harmonique  $f_R$  de l'ordre de  $10^4$ , confirmant ainsi sa symétrie et sa description dans le groupe spatial non centrosymétrique  $Pna21$ . De même, la non centrosymétrie dans le composé (L3) est également confirmée, bien qu'il possède une efficacité de conversion SH légèrement plus

faible que dans le composé (**L2**) avec un rapport harmonique  $f_R$  de l'ordre de  $10^2$ . Cela indique que la polarité du composé est principalement créée par des interactions supramoléculaires au lieu des liaisons Br-C ou Cl-C, respectivement. En outre, un tel comportement peut s'expliquer par les différences subtiles dans les interactions intermoléculaires pour les composés (**L2**) et (**L3**). L'efficacité de ces interactions est directement corrélée au transfert de charge au sein du matériau et contribue donc à l'amélioration des propriétés ONL.

Les différentes interactions intermoléculaires agissant en fonction des contacts H/H et halogène... $\pi$  significatifs et directionnels semblent être un facteur favorable à un transfert de charge plus efficace au sein des cristaux (**L2**) et (**L3**), et sont donc responsables de l'entraînement des molécules dans les groupes d'espace non centrosymétriques, conduisant finalement à leurs propriétés intéressantes d'ONL. Les mesures d'ONL montrent que (**L2**) et (**L3**) présentent en effet, une remarquable génération de deuxième (SHG) et troisième (THG) harmoniques, ce qui confirme leur polarité résultante des différentes interactions intermoléculaires présentes dans l'empilement cristallin. La légère différence dans le comportement de l'ONL entre (**L2**) et (**L3**), peut être expliquée par les différences subtiles de leurs propriétés structurales, éventuellement, dans la polarisabilité entre le brome et le chlore. Les résultats obtenus ont également été comparés à ceux du matériau de référence  $\text{LiNbO}_3$  et montrent que le rapport THG/SHG des composés étudiés sont plus importants que celui observé pour le  $\text{LiNbO}_3$ .

En comparaison, la réflectance diffuse non linéaire de la pastille  $\text{LiNbO}_3 : \text{Mg}$  (LN) est largement dominée par l'onde SH, tandis que l'onde TH n'affecte que légèrement la couleur observée, donnant une teinte rouge-magenta. Avec un rapport harmonique  $f_R < 10^9$ , LN constitue incontestablement une valeur de référence pour les matériaux hautement polaires. Néanmoins, la comparaison des signaux absolus observés de SH et de TH en fonction du temps montre une comparaison intrigante entre (**L1**, **L2**, **L3**), et LN, respectivement (Figure 38).



**Figure 38: Poudre broyée avant pressage (gauche). Signaux non linéaires pour les ondes SH et TH en fonction du temps, mis à l'échelle de l'émission TH maximale de L1 (centre). Photographies de la surface de l'échantillon après irradiation (à droite).**

Après irradiation, les signaux des trois composés se détériorent rapidement, suivant une décroissance bi exponentielle selon

$$S(t) = A_1 e^{-\frac{t}{\tau_1}} + A_2 e^{-\frac{t}{\tau_2}}$$

La constante de temps rapide  $\tau_1$  est dans tous les cas égale ou inférieure à 30 s, alors que la plus longue se situe entre 3 et 5 min. Le LN, par contre, ne présente aucune dynamique notable du signal SH ou TH en fonction du temps. L'inspection visuelle de toutes les surfaces des échantillons indique une dégradation des échantillons. En se basant à la fois sur l'apparence des points d'irradiation et sur les constantes de temps, des dommages thermiques peuvent être déduits. Même si les composés ne possèdent pas d'absorption notable dans le domaine spectral visible (Figure 5), le dépôt d'énergie du faisceau fondamental peut néanmoins avoir un effet considérable, chauffant et endommageant irréversiblement les échantillons. Afin de réduire l'accumulation de chaleur tout en conservant les signaux générés de manière non linéaire, il est possible de réduire l'intensité moyenne en diminuant le taux de répétition des impulsions (ce qui permet de conserver les intensités de crête nécessaires au déclenchement de la génération de fréquences optiques non linéaires).

## **V-Conclusion**

Dans ce chapitre, nous avons présenté les résultats des mesures des propriétés optiques non linéaires, par la méthode de génération de seconde (SHG) et troisième harmonique (THG), effectuées sur les trois premiers ligands à savoir **(L1)**, **(L2)** et **(L3)**.

Les cristaux des échantillons **(L1)**, **(L2)**, et **(L3)** ont été irradiés par un laser de modèle femtosecond délivrant des impulsions à une longueur d'onde  $\lambda = 1400$  nm.

Les résultats révèlent une importante génération de la troisième harmonique (TH), entraînant une émission de lumière bleue visible pour les trois échantillons, et qui a été confirmé par les spectres d'émission normalisés.

La génération de la seconde harmonique (SHG), nous confirme la centrosymétrie de la structure du ligand **(L1)** avec un rapport harmonique  $f_R < 1$ , en revanche, les ligands **(L2)** et **(L3)**, révèlent quant à eux une bonne réponse à la SHG, confirmant ainsi leur non-centrosymétrie.

**(L2)** avec le brome, a enregistré un meilleur résultat de conversion de la SH que **(L3)** avec un rapport harmonique  $f_R$  de l'ordre de  $10^2$ .

Les résultats obtenus ont également été comparés à ceux du matériau de référence  $\text{LiNbO}_3$ , et montrent que le rapport THG/SHG des composés étudiés sont plus prononcés que pour le matériau  $\text{LiNbO}_3$ .

## **VI- Références**

- [1] Maiman, T.H., Stimulated optical radiation in ruby, *nature*, (1960).
- [2] Collins, R.J., Nelson, D.F., Schawlow, A.L., Bond, W., Garrett, C.G.B., and Kaiser, W., *Physical Review Letters*, (1960).
- [3] Franken, P.A., and Ward, J.F., *Reviews of Modern Physics* 35.1, 23, (1963).
- [4] Terhune, R.W., Maker, P.D., and Savage, C. M., *Phys. Rev. Lett*, (1965).
- [5] Maker, P.D., and Terhune, R.W., *Phys. Rev*, (1965).
- [6] Geusic, J.E., Kurtz, S.K., Nelson, T.J., Wemple, S.H., *Applied Physics Letters*, (1963).
- [7] Geusic, J.E., Kurtz, S.K., Van Uitert, L.G., and Wemple, S.H., *Applied Physics Letters*, (1964).
- [8] Senge, M.O., Fazekas, M., Notaras, E.G., Blau, W.J., Zawadzka, M., Locos, O.B., & Ni Mhuircheartaigh, E.M., *Advanced Materials*, 19(19), 2737-2774, (2007).
- [9] Singh, K., Arora, S., Makhal, K., Kaur, P., & Goswami, D., *RSC advances*, 6(27), 22659-22663, (2016).
- [10] Torrent, J.O.S.E., & Barrón, V., *Diffuse reflectance spectroscopy. Methods of soil analysis. Part, 5*, 367-387, (2008).
- [11] Kortüm, G., *Reflectance Spectroscopy: Principles, Methods, Applications*; Springer: New York, NY, USA, (1969).

**Chapitre V:**  
**Evaluation de l'activité**  
**biologique**

## I-Introduction

Ce travail porte sur l'évaluation de l'activité inhibitrice de nos bases de Schiff qui s'exerce sur plusieurs bactéries, incluant des bactéries Gram positif et négatif.

La croissance bactérienne, s'apparentant à celle de la population, se manifeste par l'augmentation des bactéries dans la colonie ce qui est synonyme de multiplications cellulaires. Lorsqu'une bactérie est placée dans un milieu de culture favorable elle forme une colonie. La croissance bactérienne s'étudie, en milieu liquide, suivant six phases successives :

**1-Phase latente** : C'est une phase d'adaptation de la bactérie dans le nouveau substrat et dont lequel le taux de croissance est nul.

**2-Phase d'accélération** : Dans cette phase on enregistre une augmentation de la vitesse de croissance.

**3-Phase exponentielle** : Le taux de croissance dans cette phase est maximum et la mortalité est très faible, voire nulle.

**4-Phase de ralentissement** : Dans cette phase la vitesse de croissance régresse.

**5-Phase maximale stationnaire** : La capacité limite du milieu est atteinte. En conséquence, le taux de croissance devient nul.

**6-Phase de déclin** : Dans cette phase, les bactéries ne se divisent plus d'où l'augmentation du taux de la mortalité.

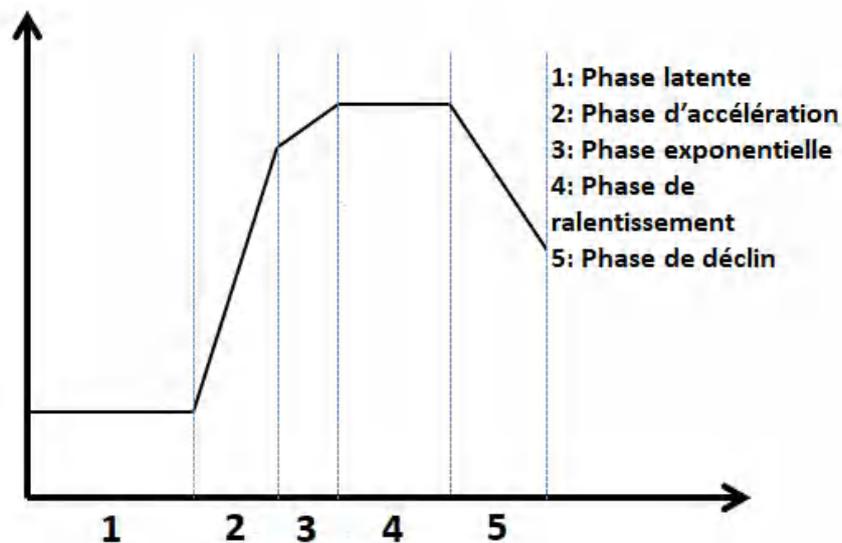


Figure 39: Exemple d'une courbe de croissance

## II- Évaluation de l'activité antibactérienne

Les souches utilisées dans les tests font parties des microorganismes, qui sont des pathogènes et des contaminants. Le support microbien est composé de bactéries Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, ainsi que la bactérie Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, provenant du laboratoire de bactériologie au Centre de Recherche en Biotechnologies (CRBT) de Constantine. Ces souches ont été choisies pour leur haute pathogénicité, leur multi résistance aux antibiotiques ainsi que leur disponibilité.

### II-1-Staphylococcus aureus (ATCC 25923)

Les staphylocoques sont des cocci Gram positif qui ont tendance à se regrouper en amas irréguliers comme une grappe de raisin [1-3]. Le *Staphylococcus aureus* est un germe aérobie ou anaérobie qui doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Il tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales et possède une enzyme appelée staphylocoagulase, responsable de la coagulation sanguine du plasma, ce qui le distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques. La bactérie est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides. Sa grande capacité d'adaptation lui a permis de développer des résistances contre la plupart des traitements antibiotiques. Les souches de *S. aureus* résistants à la Méthicilline (SARMs) [4,5] sont d'ailleurs devenues une préoccupation majeure dans le domaine de la santé car elles sont responsables d'infections nosocomiales sévères, associées à des taux de mortalité et à des frais de soins élevés. De plus, l'apparition des premiers *S. aureus* résistants à la Vancomycine (SARVs) [6-8], en 2003, n'a fait qu'aggraver la situation car la Vancomycine était jusqu'alors le seul antibiotique efficace contre les infections à SARMs [9-11].

### II-2- Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853)

Le genre *Pseudomonas* est un bacille Gram négatif, mobile, aérobie et se cultive facilement sur les milieux usuels [12,13]. Le *Pseudomonas aeruginosa* se caractérise par la couleur verdâtre de ses colonies et de son odeur douceâtre. Il se développe bien dans un intervalle variant approximativement entre 25 et 37°C et sa capacité à croître à 42°C permet de le

distinguer de nombreuses autres espèces de *Pseudomonas*. Il a peu d'exigences nutritionnelles et peut s'adapter à des conditions non tolérées par d'autres microorganismes [14-16].

*Pseudomonas aeruginosa* est un microorganisme ubiquitaire capable de survivre dans diverses conditions environnementales. Considéré comme une bactérie pathogène opportuniste, c'est le germe par excellence des infections hospitalières [17-19].

### **II-3- *Escherichia coli* (ATCC 25922)**

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. Cette bactérie est présente dans les intestins humains et animaux en bonne santé, elle se comporte habituellement comme une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses du patient se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers [20-25]. Bien que la plupart des souches *E. coli* soient inoffensives, plusieurs d'entre elles peuvent produire des toxines puissantes et causer des maladies graves chez les humains. Ce pathogène polyvalent est surtout connu pour être transmis à l'homme par des aliments contaminés, tels que la viande insuffisamment cuite et le jus de fruit non pasteurisé. Elle attire beaucoup d'attention lorsque de graves épidémies surviennent. En réalité, elle est capable de provoquer une grande variété de maladies, variant des infections des voies urinaires à la méningite. Une couverture médiatique considérable a récemment été consacrée à une souche particulière de *E. coli*, responsable d'environ 73 000 cas d'infections et de 61 décès aux États-Unis chaque année [26-30].

### **II-4-*Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028)**

La salmonelle est un bacille Gram négatif mobile, mesurant 0,7-1,5 µm par 2,0-5,0 µm [31-33]. C'est une entérobactérie hébergée dans l'intestin des animaux vertébrés et est le plus souvent transmises à l'homme par le biais d'aliments contaminés, causant des gastro-entérites et fièvres typhoïde et paratyphoïdes. En l'absence de traitement, la *Salmonella typhimurim* représente une menace majeure pour la santé humaine et, dans les pays en développement, la fièvre typhoïde reste une cause importante de morbidité et de mortalité, avec plus de 16 millions de cas et 600 000 décès par an [34].

### III-Étude de l'activité antibactérienne *in vitro*

Tous les essais *in vitro* de l'activité antibactérienne de nos bases de Schiff ont été réalisés à la bactériologie au Centre de Recherche en Biotechnologies (CRBT) de la wilaya de Constantine.

L'activité antibactérienne, sur les souches Gram négatif : *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, et *Pseudomonas aeruginosa*, et Gram positif *Staphylococcus aureus*, est réalisée, en premier temps avec les solutions mères avec des concentration finale de 4mg/ml, en utilisant la technique de contact direct par diffusion en milieu gélosé, qui permet de prévoir l'efficacité *in vitro* de chaque base. Cette méthode servira ainsi à la présélection des produits ayant une activité antimicrobienne effective. Ensuite, pour le calcul de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) des bases testées efficaces, la même méthode est employée en utilisant les différentes dilutions, préparées auparavant.

#### III-1- Principe de la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des puits)

Le principe de cette méthode repose sur la diffusion du composé à effet antibactérien en milieu solide dans une boîte de Pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition mesurable [35].

#### III-2- Mode opératoire

##### a- Préparation de l'inoculum

Chaque culture doit êtreensemencée par stries serrées sur une gélose non inhibitrice pour obtenir des colonies isolées. Après une incubation de 24 h à une température comprise entre 35° et 37°C, on choisit 4 à 5 colonies bien isolées avec une anse ou une aiguille d'inoculation et on les transfère dans un tube stérile contenant un bouillon nutritif non sélectif (bouillon de Mueller-Hinton). Une quantité suffisante de culture bactérienne est ensuite émulsionnées dans le bouillon jusqu'à ce qu'il devient trouble. On peut ensuite ajuster la turbidité à la bonne densité, que celle du standard McFarland 0,5<sup>8</sup> [37]. Si c'est nécessaire, la turbidité peut être diminuée en ajoutant plus de bouillon nutritif.

**b- Ensemencement des boîtes de Pétri**

L'inoculum préparé est ensemencé en surface du milieu gélosé par inondation. Après 15 minutes, des puits de 6 mm sont creusés dans chaque boîte de Pétri.

La solution de chaque base est ensuite versée dans chaque puit. On teste la solution mère ainsi que les autres dilutions. Les boîtes de Pétri ensemencées sont après incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

**c- Lecture**

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puit à l'aide d'une règle en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu du disque. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque souche.

**III-3- Détermination de la concentration minimale d'inhibition (CMI)**

La détermination de la concentration minimale inhibitrice des produits testés sur les quatre souches bactériennes, est inspirée de la méthode de Szewczyk [38] et Kalhmeter [39] et leurs collaborateurs. Pour cela, 50 µL de chaque solution avec une concentration donnée, est ajoutée dans chaque puits et testée de la même façon que la solution mère décrite précédemment. Pour chaque concentration la manipulation a été répétée en triplicata, en utilisant le DMSO seul comme contrôle négatif et l'antibiotique Pénicilline comme contrôle positif. Les boîtes de Pétri sont maintenues en incubation à 37°C pendant 24 heures.

L'observation et la lecture à l'œil nu des zones d'inhibition nous a permis de déterminer la CMI de nos composés. Elle consiste à diminuer progressivement la concentration de notre solution et vérifier visuellement la taille des zones d'inhibition. Une fois qu'on atteint une zone d'inhibition nulle, La CMI est déterminée par la valeur de la concentration qui vient juste avant celle qui est inefficace.

**III-4- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)**

La CMB représente la concentration minimale des substances à tester qui possèdent une habilité à détruire 99.9% de la population bactérienne, avec un reste de 0.1% de germes survivants après 18 à 24 heures d'incubation à 37 °C. L'ensemencement en spots sur boîtes de

gélose Mueller-Hinton se fait à partir de la série de puits en commençant par celui qui a montré la CMI la plus faible.

### **III-5- Résultats de l'activité antibactérienne**

Le Tableau 5 ci-après résume les résultats obtenus pour nos composés en incluant la zone d'inhibition, la CMI et la CMB.

**Tableau 5: Détermination des zones d'inhibitions, des CMI et des CMB des composés testés sur les bactéries pathogènes**

Bases de Schiff	(L1)	(L2)	(L3)	(L4)	(L5)	Pénicilline(G)
<i>Escherichia Coli (Gram -)</i>						
<i>Diamètre zone d'inhibition(mm)</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>CMI(mg/mL)</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>CMB(mg/mL)</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>Salmonella typhimurim (Gram -)</i>						
<i>Diamètre zone d'inhibition(mm)</i>	NA	NA	NA	NA	NA	34
<i>CMI(mg/mL)</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NI
<i>CMB(mg/mL)</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NI
<i>Pseudomonas aeruginosa (Gram -)</i>						
<i>Diamètre zone d'inhibition(mm)</i>	10	11	10	9	10	7
<i>CMI(mg/mL)</i>	4	4	4	4	4	NI
<i>CMB(mg/mL)</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NI
<i>Staphylococcus aureus (Gram +)</i>						
<i>Diamètre zone d'inhibition(mm)</i>	16	16	12	10	11	10
<i>CMI(mg/mL)</i>	1	0.5	2	4	2	NI
<i>CMB(mg/mL)</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NI

NA : non actif, NI : non identifié

Hautement actif = zone d'inhibition >12mm.

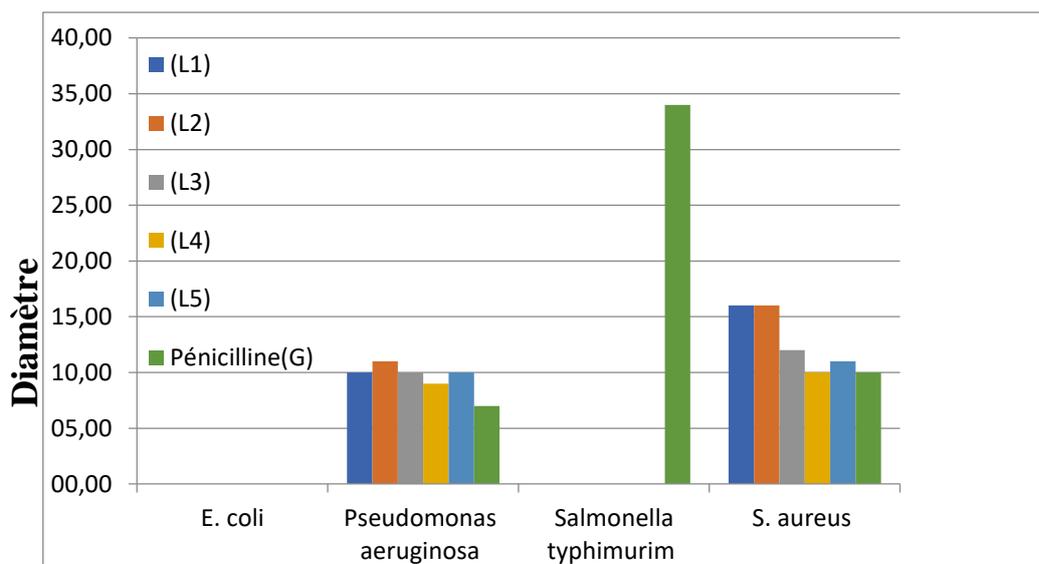
Modérément actif = zone d'inhibition entre 9 et 12mm.

## *Chapitre V: Evaluation de l'activité biologique*

---

Peu actif = zone d'inhibition entre 6 et 9mm.

Inactif = zone d'inhibition < 6mm.



**Figure 40: Histogramme montrant le diamètre de la zone d'inhibition des différents ligands face aux bactéries**

Les résultats obtenus (Figure 40), montrent que les ligands ne présentent aucune activité sur les bactéries à gram négatif à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*, avec une activité modérée où les diamètres des zones d'inhibition varient entre 9 et 11mm. Tous les ligands présentent pratiquement la même efficacité contre cette souche, avec une concentration minimale d'inhibition de 4mg/ml.

La souche à Gram positif *Staphylococcus aureus* a exprimé une forte sensibilité face aux trois premiers ligands, avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 12 et 16mm.

(L1) et (L2) ont la meilleure activité contre *Staphylococcus aureus*, avec une CMI égale à 0.5mg/ml et 1mg/ml pour (L2) et (L1) respectivement.

(L4) et (L5) sont modérément actifs contre la même bactérie.

L'efficacité des ligands synthétisés face à la *staphylococcus aureus*, s'est avérée meilleure que celle observé pour la Pénicilline, qui a présenté une zone d'inhibition de 10mm.

Nous observons une bonne activité antibactérienne pour toutes les bases de Schiff sur les staphylocoques par rapport aux autres souches à Gram négatif, Cette différence peut être liée à la structure de la paroi de ces deux familles de bactéries : l'enveloppe cellulaire des entérobactéries (Gram négatif) est plus complexe que celle des staphylocoques (Gram positif)

qui ne possèdent pas de membrane externe. C'est en particulier cette dernière qui confère aux bactéries à Gram négatif leur imperméabilité par rapport aux bactéries à Gram positif [36].

## IV. Étude de l'activité antifongique *in vitro*

L'activité antifongique des quatre bases de Schiff à savoir (L1), (L2), (L3), et (L5), a été déterminée par la méthode des puits, sur un phytopathogène nommé : *Fusarium oxysporum* strain 4287, cultivé dans un milieu PDA (Potatos-Dextrose-Agar), contenant différentes concentrations des composés dans des boîtes de Pétri (90 mm de diamètre).

Le *Fusarium oxysporum* est une espèce anamorphique qui comprend des souches pathogènes et non pathogènes. Les formes pathogènes pour les plantes provoquent une maladie de flétrissement et sont regroupées en forme spéciale en fonction de leur gamme d'hôtes , certaines sont encore subdivisées en races pathogènes.

### IV.1- Mode opératoire

Un volume de 1 ml de solution de DMSO contenant le composé à tester a été ajouté à 100 ml de PDA préalablement stérilisé à 60°C, puis versé de façon égale dans la cuve de quatre boîtes de Pétri. 1ml de DMSO a été ajouté à 100 ml de milieu PDA stérilisé comme contrôle. Un disque (5 mm de diamètre) d'un agent pathogène mycélien âgé de 7 jours a été transféré de manière aseptique au centre de la colonie du milieu PDA solidifié en plaques. Les plaques étaient par la suite incubées pendant 7 jours à 25°C. La croissance Mycélienne de l'agent pathogène a été mesurée pour chaque plaque et a été comparée à la croissance du pathogène contenant du DMSO (témoin). L'opération a été répétée quatre fois pour chaque traitement et les valeurs moyennes ont été prises. La fongitoxicité a été enregistrée en termes de pourcentage d'inhibition des colonies et calculée selon [40] (Dennis et al, 1971).

L'activité inhibitrice des différents composés sur le pathogène a été calculé suivant la formule

$$I = (D_C - D_T / D_C) \times 100 \text{ (Dennis et al., 1971).}$$

I = Pourcentage d'inhibition ,

D<sub>C</sub> : La croissance mycélienne moyenne dans le contrôle DMSO ,

D<sub>T</sub>= Augmentation moyenne du diamètre de la colonie du champignon contenant les composés à tester.

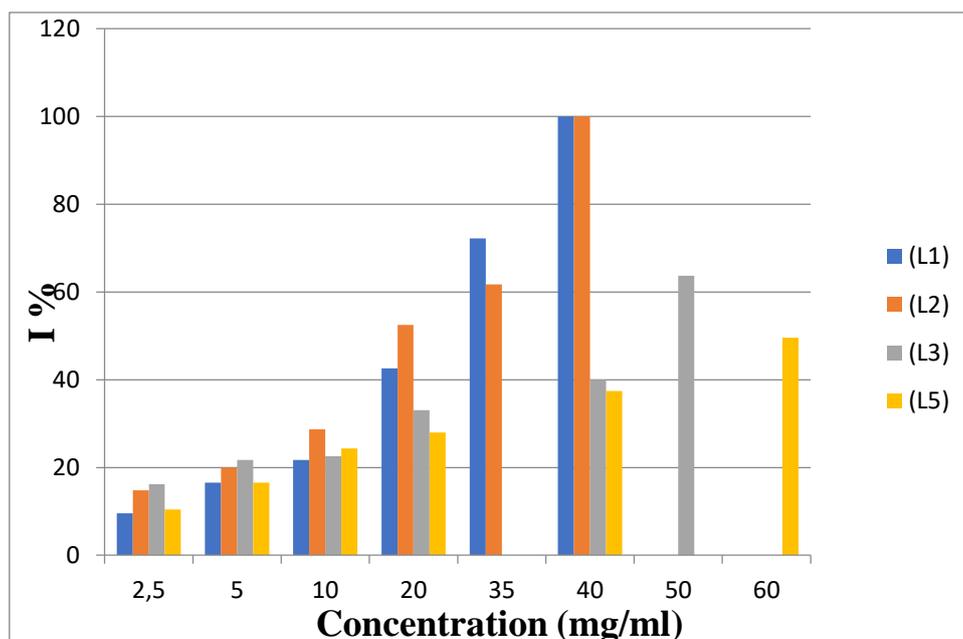
### *Chapitre V: Evaluation de l'activité biologique*

Les résultats de l'activité antifongique des composés testés sur le phytopathogène *Fusarium oxysporum* sont résumés dans le Tableau 6 ci-après :

**Tableau 6: zone d'inhibition et pourcentage inhibiteur des bases de Schiff :**

Phytopathogène		<i>Fusarium oxysporum</i>							
Bases de Schiff	Concentrations (mg/ml)	2.5	5	10	20	35	40	50	60
(L1)	Diamètre Zone d'inhibition (mm)	65.11±0.09	60.34±0.64	56.25±0.43	41.25±0.43	20.11±0.09	0.00±0.00	C	C
	I(%)	9.56	16.52	21.74	42.61	72.17	100	C	C
(L2)	Diamètre Zone d'inhibition (mm)	61.25±0.09	57.76±0.64	51.25±0.43	34.16±0.09	27.50±0.01	0.00±0.00	C	C
	I(%)	14.78	20	28.69	52.47	61.74	100	C	C
(L3)	Diamètre Zone d'inhibition (mm)	60.63±0.09	56.26±0.13	55.63±0.09	48.13±0.86	C	43.13	26.25	C
	I(%)	16.17	21.74	22.61	33.04	C	40	63.65	C
(L5)	Diamètre Zone d'inhibition (mm)	64.38±0.09	60	54.38±0.09	51.75±0.11	C	45.13±0.86	C	36.25±0.11
	I(%)	10.43	16.52	24.348	28	C	37.39	C	49.56

*C : contamination.*



**Figure 41: Histogramme montrant le pourcentage d'inhibition des ligands (L1, L2, L3, L5) face au phytopathogène**

Les composés testés ont exprimé une bonne activité antifongique (Figure 41), en effet, (L1) et (L2) présentent une inhibition totale de 100% du phytopathogène pour une concentration de 40 mg/ml. (L3) et (L5) représentent une activité antifongique relativement modérée, avec un pourcentage d'inhibition  $I(\%)$  de 40 % et 37.39% respectivement pour la même concentration.

Comme pour l'activité antimicrobienne, le brome a une meilleure action inhibitrice sur le pathogène que le chlore ou le méthoxyl.

## V- La Cytotoxicité

Une grande attention a été portée aux études de cytotoxicité *in vitro* en tant que première étape de l'évaluation de la toxicité de potentiels médicaments [41-43]. L'essor des biomatériaux et leur utilisation dans le domaine médical ainsi que le développement des méthodes alternatives aux tests *in vivo* sont à l'origine des techniques permettant de mesurer la cytotoxicité des matériaux. Ces tests sont largement effectués car les échantillons à tester [44-46] peuvent être destinés à être utilisés en tant que produits pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires, dans ce cas, une toxicité minimale à nulle est importante.

## **V-1. Les facteurs influençant les tests de cytotoxicité**

Les résultats des tests de cytotoxicité peuvent être fortement influencés par le milieu et les procédures de l'expérience. Il est donc judicieux de prendre en considération un certain nombre de facteurs lors de la comparaison des résultats obtenus avec des méthodes similaires.

Lors d'un test de cytotoxicité, il est primordial de noter l'état de croissance d'une culture et ses paramètres cinétiques, comme la détermination du statut de la culture au début de l'expérience et au moment d'échantillonnage [47]. La durée d'une expérience est également un facteur important. L'ajout d'une substance d'essai à un certain moment de la phase de croissance, puis le dosage lorsque les cellules connaissent encore une croissance ou lorsque leur croissance a atteint un plateau ont une incidence sur les résultats de cytotoxicité [47]. Une connaissance détaillée du cycle de croissance, y compris du temps de reproduction des cellules pendant la croissance, est nécessaire pour planifier des expériences adéquates [47].

## **V-2. Type des tests de cytotoxicité**

McGaw et al. (2014) [47], ont rapportés dans leur travaux plusieurs techniques utilisées pour l'évaluation de la cytotoxicité où l'on se base sur le métabolisme cellulaire. Mais le test le plus simple et le plus couramment utilisé est celui d'**Artemia Salina** : il est basé sur la létalité des larves de crevette *Artemia Salina* [48]. C'est un test rapide et peu coûteux nécessitant une quantité d'échantillon relativement faible (2 à 20 mg) [49]. Il a été proposé que cette bio-analyse ait une bonne corrélation avec l'activité cytotoxique dans certaines tumeurs solides humaines et avec l'activité pesticide, ce qui a conduit à la découverte des acétogénines annoncées comme une nouvelle classe de pesticides naturels et d'agents antitumoraux [50].

## **V-3. Évaluation de la cytotoxicité**

Le test de la cytotoxicité des bases de Schiff élaborées a été réalisé au laboratoire de biochimie du centre de recherche en biotechnologies, Constantine CRBT.

La cytotoxicité est le premier test de biocompatibilité à effectuer avant de commencer les essais détaillés *in vivo* [51].

L'intérêt de la cytotoxicité est d'évaluer le degré de sensibilité (ou de résistance) d'une substance étudiée. Selon Brooker, cité par Buckle (2015) [52], une substance est toxique si elle provoque des altérations ou des perturbations des fonctions de l'organisme vivant,

conduisant à des effets nocifs dont le plus grave, de toute évidence, est la mort de cet organisme.

### **V-3-1. Préparation des dilutions**

Une solution mère a été préparée en faisant dissoudre 4 mg de chaque produit, dans 1 ml de MeOH [53]. Cette solution a été ensuite utilisée dans la préparation d'une série de dilutions (2mg/ml, 1mg/ml, 0.5mg/ml, 0.25mg/ml).

### **V-3-2. Étude de la toxicité sur les larves d'*Artemia salina* 'Brine Shrimp'**

Les larves de crevettes de saumure *Artemia salina* (Brine shrimp) sont largement utilisées dans les tests toxicologiques préliminaires ou en recherche, grâce à leur disponibilité commerciale, et leur ressemblance à l'organisme humain, ainsi du fait de leur faible coût.

Dans la littérature, le test de toxicité sur *Artemia salina*, proposé par Meyer et al en 1989 [54], est une méthode simple de bio-essai très utilisée dans la recherche de nouvelles substances antibiotiques, considérée comme une méthode sensible et fiable, de mise en pratique facile. Ce test consiste à mettre en contact un nombre donné de larves avec une quantité connue de substance et d'observer leur mortalité au bout de 24 h. Les larves sont mises en contact avec les différentes solutions diluées contenant le composé potentiellement bioactif. Après 24 h, les larves survivantes sont comptées et le résultat obtenu permet de calculer la concentration létale à 50% (LC50), c'est-à-dire la concentration qui entraîne la mort de la moitié des larves de départ. Cette LC50 peut déterminer le pouvoir de toxicité des produits testés par rapport à des standards commerciaux ou à d'autres produits de référence.

### **V-3-3. Protocole utilisé**

Pour évaluer la cytotoxicité de nos bases de Schiff, nous avons utilisé la méthode proposée par Meyer et al [54] avec quelques modifications. Concernant l'éclosion, elle est désormais pratiquée dans un bécher avec aération mécanique au lieu de la faire dans un aquarium avec bullage. De plus, le test est réalisé dans des tubes à essais et non dans des plaques multi-puits.

D'abord, des cystes (œufs) commerciaux ont été incubés au laboratoire pour obtenir les Artemias. Les conditions d'éclosion pour l'obtention des nauplii sont indiquées dans le Tableau 7 [55]. Pour faire éclore et séparer les Artemias, seul un équipement simple est nécessaire. Cinq grammes de cystes sont introduits dans un grand bécher contenant 2 L d'eau de mer naturelle. Le bécher est placé ensuite dans une étuve à une température contrôlée ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) et sous éclairage continu d'une lampe de 500 watts avec une aération douce pendant 24

heures, cela permettra l'obtention des larves au stade désiré. Les larves vivantes sont récupérées et séparées des œufs restants et des larves mortes par pipetage.

Ensuite, dans des tubes à essai, 10 larves obtenues par éclosion des œufs ont été mises, puis le volume de chaque tube a été ajusté jusqu'à 5 ml avec de l'eau de mer. Dans ces derniers, 100 µl des dilutions, de l'échantillon à tester sont introduits. La manipulation a été répétée en triplicata pour chaque concentration. Un tube contenant le solvant a été pris comme témoin.

Après 24 heures d'incubation, un comptage des larves survivantes a permis d'évaluer la toxicité de chaque concentration. Les larves étaient considérées mortes si elles ne présentaient aucun mouvement pendant plusieurs secondes d'observation [56].

**Tableau 7: Conditions d'éclosion pour l'obtention de nauplii**

	Condition
Eau salée	Eau de mer ou artificielle
Salinité	10 à 40 g/L (dépend des conditions du test)
Rapport eau /cystes	400 mL/g
Temps d'éclosion	24 heures
Aération	Douce
Éclairage	Lampe de 500 watts

Le pourcentage de mortalité [57] a été calculé à partir du nombre total de larves mortes pour chaque concentration en utilisant la formule suivante :

$$\text{Mortalité \%} = \frac{N_1}{N_0} \times 100$$

Soit :  $N_1$  : nombre de larves mortes dans l'essai,  $N_0$  : nombre de larves testées.

#### **V-4-Résultats et discussion**

Après exposition à différentes dilutions pendant 24 heures, le nombre des Nauplii mortes est calculé et exprimé en moyenne  $\pm$  écart-type Tableau 8. Il faut noter que la mortalité dans le témoin ne doit pas excéder 15%.

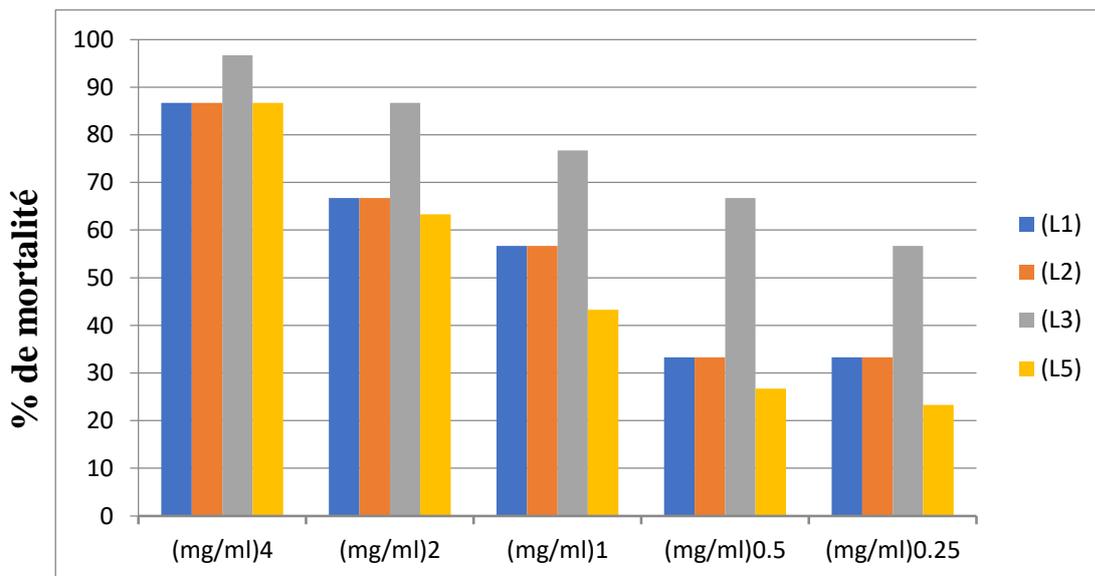
**Tableau 8: Nombre de larves mortes dans chaque essai**

	(L1)	(L2)	(L3)	(L5)
Sol (1/1)	9.67±0.58	9.67±0.58	8.67±0.58	8.67±0.58
Sol (1/2)	8.67±0.58	8.67±0.58	6.67±0.58	6.33±0.58
Sol (1/4)	7.67±0.58	7.67±0.58	4.33±0.58	5.67±0.58
Sol (1/8)	6.67±0.58	6.67±0.58	2.67±0.58	3.33±0.58
Sol (1/16)	5.67±0.58	5.67±0.58	2.33±0.58	3.33±0.58

Le pourcentage de mortalité des larves de chaque concentration Tableau 9 et pour chaque base de Schiff a été déterminé en utilisant la formule donnée précédemment.

**Tableau 9: Pourcentage de mortalité pour chaque base de Schiff**

Concentration (mg/ml)	(L1)	(L2)	(L3)	(L5)
<b>04</b>	86.70	86.70	96.70	86.70
<b>02</b>	66.70	66.70	86.70	63.30
<b>01</b>	56.70	56.70	76.70	43.30
<b>0.5</b>	33.30	33.30	66.70	26.70
<b>0.25</b>	33.30	33.30	56.70	23.30



**Figure 42: Histogramme de pourcentage de mortalité en fonction de la concentration**

D'après ces résultats (Figure 42), le pourcentage de mortalité croît en fonction de la concentration, et le maximum de mortalité observé (96.70 %) a été obtenu à partir de 4 mg/ml pour **(L3)**. **(L1)**, **(L2)** et **(L5)** quant à eux ont exprimé un taux de mortalité de 86.70% pour la même concentration.

Le pourcentage le moins important obtenu est de 23.30% pour **(L5)** suivi de 33.30% pour **(L1)** et **(L2)** ensuite **(L3)** avec 56.70% de mortalité, tout ça pour une concentration de 0.25mg/ml.

## VI- Conclusion

Dans cette partie de travail, nous avons étudié, par la méthode de diffusion en milieu gélosé, le pouvoir inhibiteur des ligands **(L1)**, **(L2)**, **(L3)**, **(L4)** et **(L5)** tout en les comparant avec la pénicilline G (antibiotique approuvé). Les résultats obtenus montrent que tous les ligands **(L1)**, **(L2)**, **(L3)**, **(L4)**, **(L5)** sont inactifs contre les souches bactériennes (*Gram -*) *Escherichia coli* et *Salmonella Typhimurium* et peu actifs contre *Pseudomonas aeruginosa*.

Les ligands halogénés et monosubstitués **(L1)**, **(L2)**, **(L3)** ont montré une très bonne activité voire excellente contre la bactérie à (*Gram +*) *Staphylococcus aureus*, par rapport au ligand **(L4)** di-substitué et **(L5)** qui porte un méthoxyl, qui a révélé une activité moyenne.

Les ligands **(L1)** et **(L2)** avec comme substituant un brome sont plus actifs contre les bactéries testées que le ligand **(L3)** avec un chlore ou un méthoxyl **(L5)**.

La présence d'un deuxième chlore dans le ligand **(L4)**, a diminué l'activité contre les souches bactériennes testées par rapport à celui avec un seul chlore **(L3)**.

Les résultats de l'activité antifongique contre un phytopathogène *Fusarium oxysporum*, ont montré que nos quatre composés **(L1)**, **(L2)**, **(L3)** et **(L5)** sont très actifs. Et l'activité la plus intéressante a été observée pour **(L1, L2)** avec le brome.

Nous avons observé une inhibition totale avec un pourcentage de 100% sur les ligands **(L1)** et **(L2)** avec un brome comme substituant dans une concentration de 40 mg/ml, contre 40% d'inhibition en présence du chlore dans **(L3)** puis le méthoxyle avec 37.39% dans les mêmes conditions.

## **VII-Références**

- [1] Harastani, H.H., Araj, G.F., Tokajian, S.T., *International Journal of Infectious Diseases*, 19, 33-38, (2014).
- [2] Monecke, S., Coombs, G., Shore, A.C., Coleman, D.C., Akpaka, P., Borg, M., Chow, H., Ip, M., Jatzwauk, L., Jonas, D., Kadlec, K., Kearns, A., Laurent, F., O'Brien, F. G., Pearson, J., Ruppelt, A., Schwarz, S., Scicluna, E., Slickers, P., Tan, H.-L., Weber, S., Ehricht, R., *PLOS ONE*. 6(4), e17936, (2011).
- [3] Reverdy, M.E., Jarraud, S., Bohin-Duhreux, S., Buret, E., Girardo, P., Lina, G., Vandenesch, F., Etienne, J. *Clinical Microbiology and Infection*. 7(5), 267-272, (2001).
- [4] Hasan, R., Acharjee, M., Noor, R. *Tzu Chi Medical Journal*. 28(2), 49-53, (2016).
- [5] Peacock, S. J., Moore, C. E., Justice, A., Kantzanou, M., Story, L., Mackie, K., Neill, G., Day, N. P., *J. Infection and Immunity*. 70(9), 4987, (2002).
- [6] Wibbenmeyer, L., Williams, I., Ward, M., Xiao, X., Light, T., Latenser, B., Lewis, R., Kealey, G. P., Herwaldt, L., *Journal of Burn Care & Research*. 31(2), 269-279, (2010).
- [7] Hiramatsu, K., Kayayama, Y., Matsuo, M., Aiba, Y., Saito, M., Hishinuma, T., Iwamoto, A., *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2(4), 213-224, (2014).
- [8] Sirichoat, A., Lulitanond, A., Kanlaya, R., Tavichakorntrakool, R., Chanawong, A., Wongthong, S., Thongboonkerd, V. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 86(4), 340-344, (2016).
- [9] Oliveira, W.F., Silva, P.M.S., Silva, R.C.S., Silva, G.M.M., Machado, G., Coelho, L.C.B. B., Correia, M.T.S. *Journal of Hospital Infection*. 98(2), 111-117, (2018).
- [10] Rubab, M., Shahbaz, H.M., Olaimat, A.N., Oh, D.H. *Biosensors and Bioelectronics*. 105, 49- 57, (2018).
- [11] Seilie, E.S., & Wardenburg, J.B., *J. Seminars in Cell & Developmental Biology*. 72, 101-116, (2017).
- [12] Impallomeni, G., Ballistreri, A., Carnemolla, G.M., Rizzo, M.G., Nicolò, M.S., Guglielmino, S.P.P., *International Journal of Biological Macromolecules*. 108, 608-614, (2018).
- [13] Kora, A. J., Rastogi, L., *Journal of Environmental Management*. 181, 231-236, (2016).
- [14] Pier, G.B., In *Goldman's Cecil Medicine (Twenty-Fourth Edition)*, Schafer, A. I., Ed., W.B. Saunders: Philadelphia. 1877-1881, (2012).

- [15] Wu, W., Jin, Y., Bai, F., Jin, S., *Molecular Medical Microbiology* (Second Edition), Sussman, M., Liu, D., Poxton, I., Schwartzman, J., Ed., Academic Press: Boston. 753-767, (2015).
- [16] Prince, A.S., *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases* (Fourth Edition), Content Repository Only London. 842-846.e2, (2012).
- [17] Rillig, M., *Encyclopedia of Soils in the Environment*, Elsevier: Oxford. 287-294, (2005).
- [18] Shomer, N.H., Holcombe, H., Harkness, J.E., *Laboratory Animal Medicine* (Third Edition), Anderson, L.C., Otto, G.M., Pritchett-Corning, K.R., Whary, M.T., Ed., Academic Press: Boston. 247-283, (2015).
- [19] Vallero, D.A., *Environmental Biotechnology* (Second Edition), Academic Press: Boston. 41-88, (2016).
- [20] Alkhafaji, S., Farid, M. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 9(4), 448-454, (2008).
- [21] Berg, R.D., In *Encyclopedia of Immunology* (Second Edition), Elsevier Oxford. 842-845, (1998).
- [22] Cheng, T., Li, R., Kou, X., Wang, S., *Food Microbiology*. 64, 186-194, (2017).
- [23] Farver, C.F., *Pulmonary Pathology* (Second Edition), Content Repository Only Philadelphia. 163-200, (2018).
- [24] Jeyaseelan, E.C., Jashothan, P.T.J., *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(9), 717-721, (2012).
- [25] Rowe, L., Sprigg, G., *Waterborne Pathogens* Academic Press Amsterdam. 351- 378, (2014).
- [26] Bahrani-Mougeot, F., Gunther, N.W., Sonnenberg, M.S., Mobley, H.L.T., *Escherichia Coli*, Sonnenberg, M.S., Academic Press San Diego. 239-268, (2002).
- [27] Blank, T.E., Nougayrède, J.P., Sonnenberg, M.S. *Escherichia Coli* Sonnenberg, M.S., Academic Press San Diego. 81-118, (2002).
- [28] Elsinghorst, E.A., *Escherichia Coli* Sonnenberg, M.S., Academic Press San Diego. 155-187, (2002).
- [29] Russo, T.A. *Escherichia Coli* Sonnenberg, M.S., Academic Press San Diego. 379-403, (2002).
- [30] Thorpe, C.M., Ritchie, J.M., Acheson, D.W.K., *Escherichia Coli* Sonnenberg, M.S., Academic Press San Diego. 119-154, (2002).
- [31] Bronze, M.S., and Greenfield, R.A., *Biodefence Principles and Pathogens horizon bioscience*. (2005).

- [32] Garrity, G.M., Brenner, D.J., Krieg, N.R., & Staley, J.T., *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd ed) New York Springer. (2005).
- [33] Collins, C.H., Kennedy, D.A., *Laboratory-acquired Infections* (4th ed) Oxford Butterworth-Heinemann. (1983).
- [34] Pang, T., Levine, M.M., Ivanoff, B., Wain, J., Finlay, B.B., Typhoid fever important issues still remain *Trends Microbiol.* 6, 131-133, (1998).
- [35] Cavallo, D., *Cancer Reseach*, 67, 876–880, (2007).
- [36] Gulluce, M., Aslan, A., Sokmen, M.R., Sahin, F.N., Adiguzel, A., Agar, G., & Sokmen, A.Y., *Phytomedicine*, 13(7), 515-521, (2006).
- [37] McFarland, J., *J Am Med Assoc.* 14,1176-8, (1907).
- [38] Szewczyk, G., Wisniewski, K., In *Handbook for Cleaning Decontamination of Surfaces*, Johansson, I., Somasundaran, P., Elsevier Science B.V. Amsterdam. 125-195, (2007).
- [39] Kahlmeter, G., Brown, D., *Antibiotic and Chemotherapy* (9Edition), Finch, R. G., Greenwood, D., Norrby, S. R., Whitley, R. J., Ed., W.B. Saunders London. 115-122, (2010).
- [40] Dennis, C., & Webster, J., *Transactions of the British Mycological Society.* 57(1), 25-33, (1971).
- [41] Hamza, F., Kumar, A. R., Zinjarde, S., *Enzyme and Microbial Technology.* 114, 33-39, (2018).
- [42] Mesarič, T., Gambardella, C., Milivojević, T., Faimali, M., Drobne, D., Falugi, C., Makovec, D., Jemec, A., Sepčić, K., *Aquatic Toxicology*, 163, 121-129, (2015).
- [43] McGaw, L. J., Elgorashi, E. E., Eloff, J. N., *Toxicological Survey of African Medicinal Plants*, Kuete, V. Elsevier, 181-233, (2014).
- [44] Horváth, S., *Toxicology.* 16(1), 59-66, (1980).
- [45] Niles, A.L., Moravec, R.A., Riss, T.L., *Expert Opinion on Drug Discovery.* 3(6), 655-669, (2008).
- [46] Settivari, R.S., Rowlands, J.C., Wilson, D.M., Arnold, S.M., Spencer, P.J., *A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development* (2Ed) Faqi, A.S. Ed. Academic Press Boston. 843-873, (2017).
- [47] McGaw, L.J., Elgorashi, E.E., Eloff, J.N., *Toxicological Survey of African Medicinal Plants*, Kuete, V., Ed., Elsevier. 181-233, (2014).
- [48] Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L., *Planta medica*, 45(5), 31-4, (1982).

- [49] Djengue, H.W., Dansi A., Assogba, M.F., Ahissou, H., Adjatin, A., Dansi, M., Gbénou, D.J., *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*. 77-84, (2017).
- [50] McLaughlin, J. L., Rogers, L. L., Anderson, J. E., *Drug Information Journal*, 32(2), 513-524, (1998).
- [51] Goud, N. S., *Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development* (Second Edition), Faqi, A. S., Ed., Academic Press: Boston. 825-840, (2017).
- [52] Buckle, J., *Clinical Aromatherapy* (Third Edition), Buckle, J., Ed., Churchill Livingstone: St. Louis. 73-94, (2015).
- [53] Liu, X., Rodeheaver, D.P., White, J.C., Wright, A. M., Walker, L. M., Zhang, F., Shannon, S., *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 97, 24-32, (2018).
- [54] Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., McLaughlin, J. L., *Planta medica*. 45(5), 31-4, (1982).
- [55] Oliveira, T.M.N., Vaz, C., *Bioassays*, Häder, D.-P., Erzinger, G.S., Ed., Elsevier. 387-401, (2018).
- [56] Shaala, N.M.A., Zulkifli, S.Z., Ismail, A., Azmai, M.N.A., Mohamat-Yusuff, F. *Procedia Environmental Sciences*. 30, 279-284, (2015).
- [57] Iftikhar, B., Javed, K., Khan, M. S. U., Akhter, Z., Mirza, B., McKee, V., *Journal of Molecular Structure*. 1155, 337-348, (2018).

**Chapitre VI:  
Simulation par Docking  
Moléculaire, Résultats et  
discussion**

## I-Programme utilisé dans le docking moléculaire

Les outils de modélisation moléculaire, notamment le docking, sont de nos jours très utilisés dans la chimie médicinale. Dans le cadre des travaux effectués dans cette thèse, la modélisation des interactions protéine-ligand a été étudiée d'une part pour comprendre et expliquer des phénomènes biologiques et d'autre part, pour faire des études de prédiction dans le but d'optimiser la sélectivité d'un agent antibactérien.

Toutes les simulations du docking moléculaires effectuées dans cette thèse, ont été réalisées à l'aide du logiciel AutoDockTools4 (AD4 Version 1.5.6) [1]. Ce programme possède une interface utilisateur conviviale et simple (Figure 43), il a la possibilité de réaliser un paramétrage fin à tous les niveaux du processus tels que : le docking, le scoring, la flexibilité des résidus et des ligands qui est modulable. Ce programme a fait ses preuves lors de multiples travaux réalisés [2].

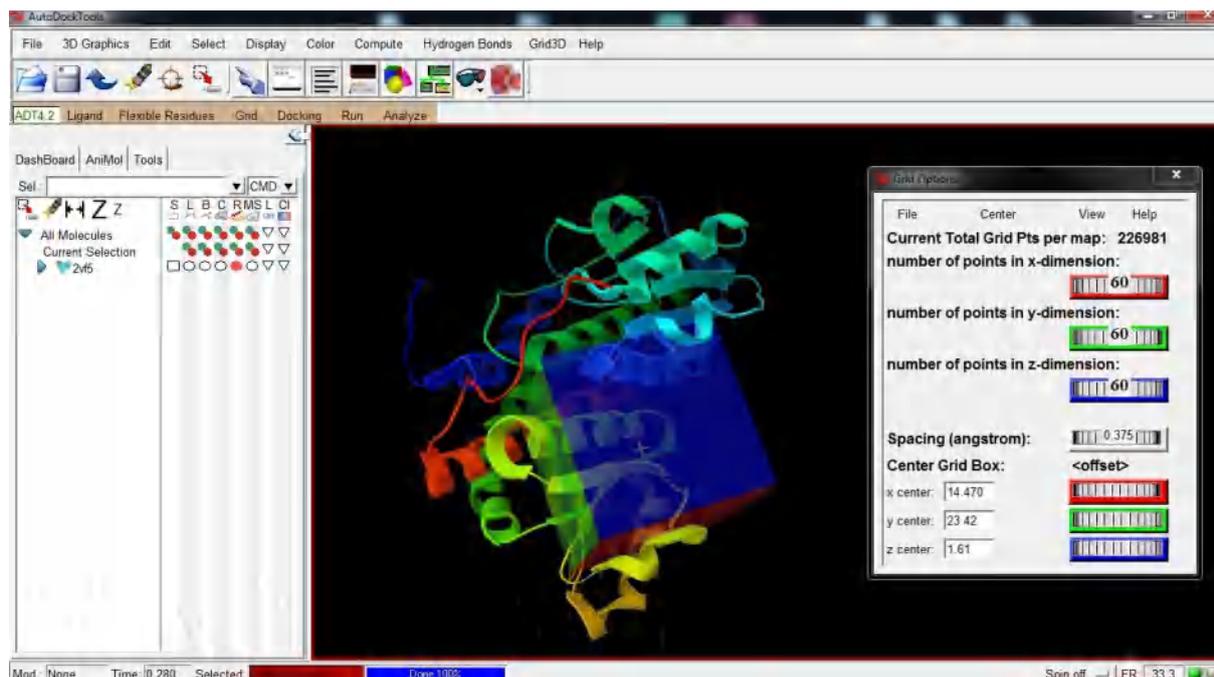


Figure 43: Interface du logiciel AutoDockTools4

Cependant, la visualisation moléculaire à deux (2D) et trois dimensions (3D) des différentes interactions résultantes des simulations du docking a été menée grâce au logiciel BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2020 [3].

## **II. Méthodes :**

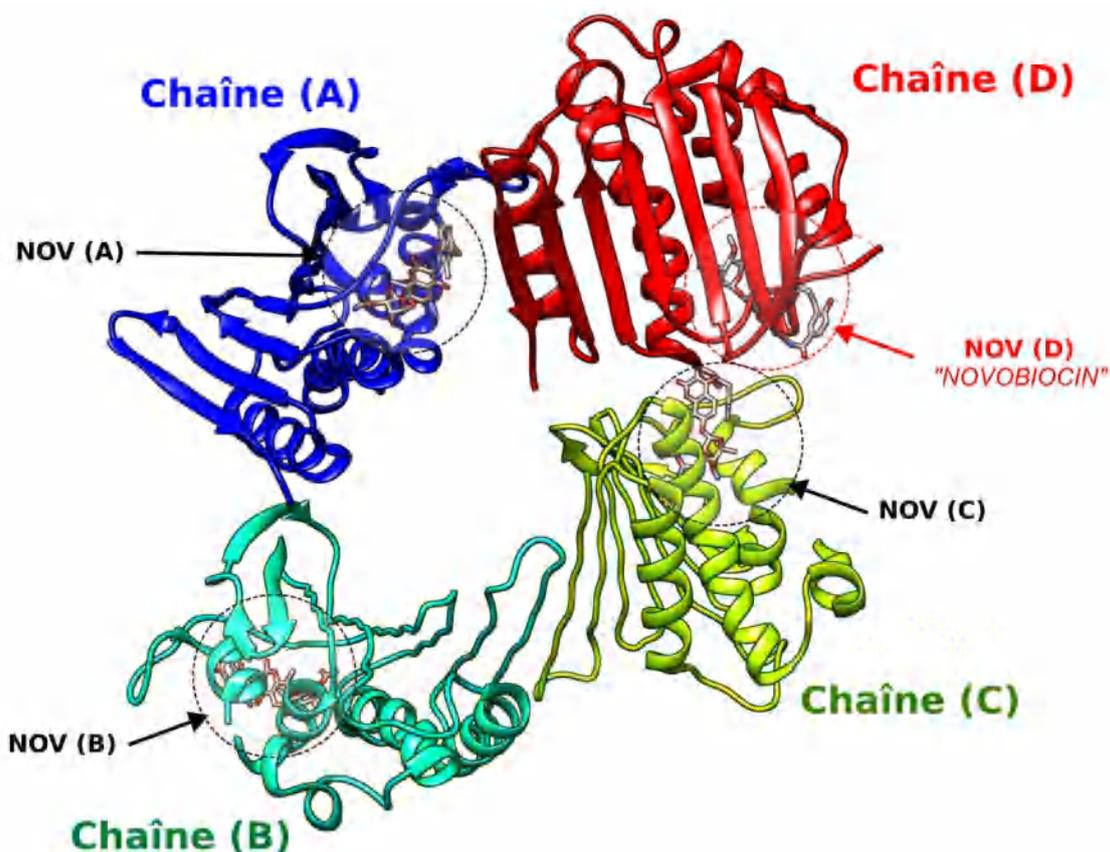
### **II.1. Préparation du récepteur (protéine) :**

La protéine cible Staph GyraseB 24kDa de l'ADN gyrase a été extraite de la banque des données des protéines [4] sous le code (ID : 4URO) en format pdb, cette dernière est co-cristallisée avec un ligand (antibiotique) connu sous le nom de la novobiocine (**NOV**), conçu pour cibler l'ADN-gyrase, et qui agit contre les bactéries Gram positif et Gram négatif même les plus résistantes. La structure de la protéine est constituée de quatre chaînes identiques (Figure 44), et possède une bonne résolution ( $R=2.59 \text{ \AA}$ ) [5].

La protéine 4URO est une enzyme classée dans la famille des isomérases, qui catalyse les changements au sein d'une molécule. L'ADN gyrase est une topoisomérase de type II qui peut introduire des superhélices négatives dans l'ADN au détriment de l'hydrolyse de l'ATP. Elle est essentielle chez toutes les bactéries mais absente des eucaryotes supérieurs, ce qui la rend en fait une cible intéressante pour les antibactériens.

Les ADN topoisomérases sont des enzymes qui catalysent les modifications de la topologie de l'ADN [6,7]. Ces enzymes sont présentes dans toutes les cellules et sont essentielles à leur survie. En raison de leur nature indispensable et de leurs mécanismes d'action, les topoisomérases sont devenues des cibles médicamenteuses clés pour la chimiothérapie antibactérienne et anticancéreuse [8-10].

Nous avons choisis cette protéine parmi tant d'autres, de par sa présence dans toutes les bactéries, ce qui permet une certaine corrélation avec l'activité biologique *in vitro*, et essayer de mieux comprendre le mode d'action en analysant les interactions protéine-ligand.



**Figure 44: Structure tridimensionnelle 3D du récepteur 4URO (Staph GyraseB 24kDa) avec quatre chaînes (A, B, C et D) en complexe avec la novobiocine.**

Généralement, les méthodes de docking moléculaire permettent de prédire, par des méthodes de calcul, les structures du complexe « ligand-protéine » en partant d'un ensemble variable de conformations et d'orientations du ligand (flexible) et parfois du récepteur (chaînes latérales, résidus flexible ou pas). Le processus global se déroule en différentes étapes présentées ici comme consécutives, mais ce n'est pas toujours le cas (selon le logiciel utilisé).

1. La première étape consiste à importer et à préparer le ligand et le récepteur dans l'espace de travail «workspace». Dans cet espace de recherche la protéine est considérée comme un corps rigide contrairement au ligand, est flexible.
2. La seconde étape, a pour objectif de simplifier la structure de l'enzyme. Cette étape essentielle consiste à éliminer les molécules d'eau, et le ligand de Co-cristallisation. La Figure 46, illustre le modèle simplifié de la structure tridimensionnelle de la 4URO.

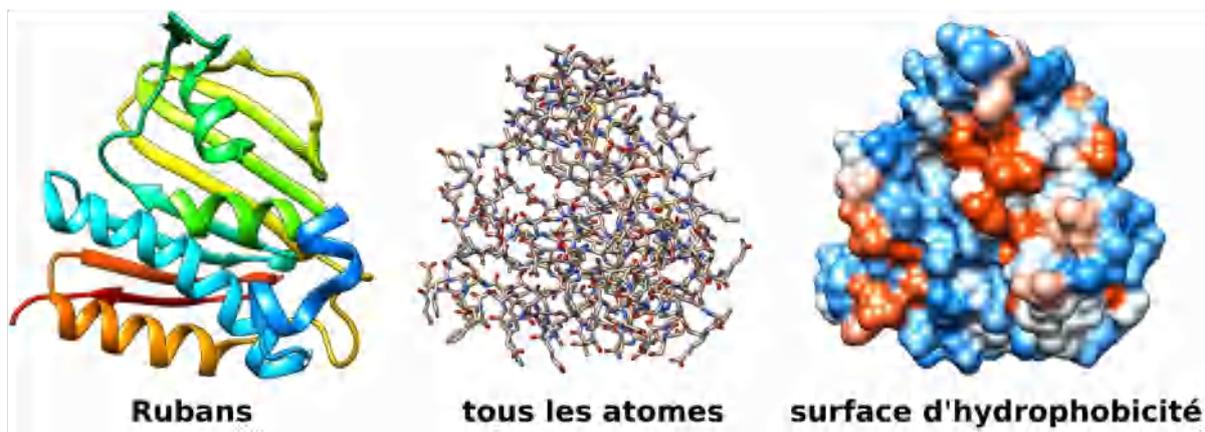


Figure 45: Modèle simplifiée de la structure tridimensionnelle 3D du récepteur 4URO.

3. La troisième étape permet de détecter les cavités présentes dans le récepteur en utilisant l'algorithme intégré pour la détection de cavité. L'utilisateur peut identifier le site actif, soit à l'aide des données bibliographiques ou par la présence d'un ligand co-cristallisé au niveau de la poche principale et la visualisation ainsi des résidus (Figure 46). Dans cette étape, le programme AUTOGRID de AUTODOCK calcule l'énergie d'interaction pour chaque atome présent dans le ligand (C, O, N...) avec la cible lorsqu'il est placé en un point donné de la grille. Cette évaluation est répétée pour chaque type d'atome et chaque point de la grille. Le but est d'évaluer très rapidement l'énergie pour les différentes configurations du ligand.

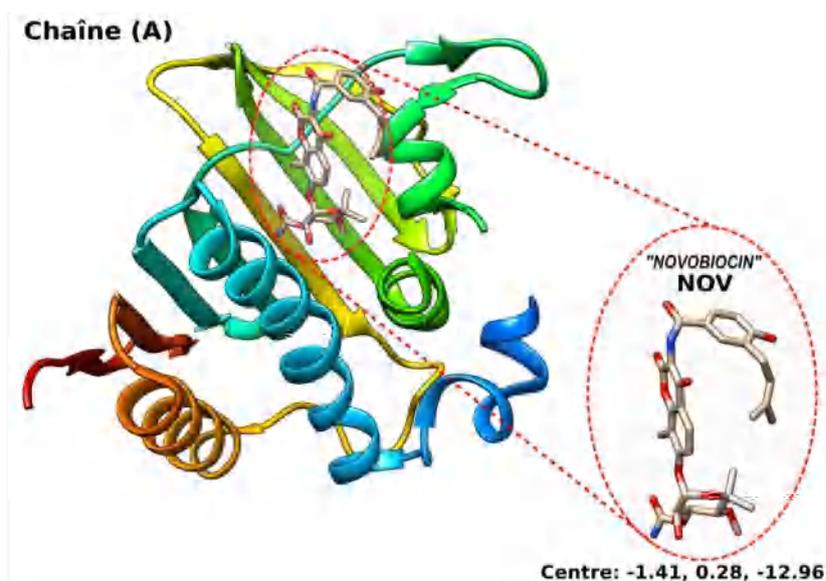


Figure 46: Structure tridimensionnelle 3D de la chaîne A du récepteur 4URO et détection de la cavité en présence de la novobiocine comme ligand co-cristallisé

4. La quatrième étape du processus du docking moléculaire, permet de produire les complexes protéines-ligands et ceci à partir des différents algorithmes implémentés dans le logiciel. Ces algorithmes permettent à la fois de générer des conformations de complexes et aussi de les faire évoluer en utilisant une fonction de score. Cette dernière qui doit être toujours minimisée.
5. La cinquième quant à elle, consiste à sélectionner/trier et regrouper les scores. Cette étape est connue sous le nom de «clustering». Il s'agit de faire ressortir des conformations représentatives, appelée : «runs» ou poses.
6. L'étape finale du processus, permet l'analyse des conformations des différentes poses «runs» et des valeurs de scores. Cette étape implique souvent une visualisation de chaque pose, également des mesures concernant l'écart quadratique des erreurs (RMSD) ou encore des analyses statistiques.

Ce test de similarité entre les deux ligands (testé et natif), montre selon la littérature, que la prédiction est dite réussie si la valeur de l'écart quadratique moyen (RMSD) de la meilleure conformation est inférieure à 2 Å par rapport aux données expérimentales.

## **II-2.Exploitation des résultats obtenus**

Les fichiers de sortie d'AD4 sont au format « **.dlg** », ils contiennent les structures des poses des ligands générées par le docking, les informations relatives à l'estimation de l'énergie d'affinité par le scoring et d'autres informations concernant l'AGL (Algorithme Génétique Lamarkian).

### **II-2.1. Ecart quadratique moyen (RMSD)**

La manière dont les ligands sont dockés dans le site actif peut être généralement décrite numériquement par le RMSD entre le ligand co-cristallisé et la molécule organique dockée ou simulée. Il est ainsi aisé de déterminer si un ligand se superpose avec le ligand co-cristallisé. Plus la valeur de RMSD se rapproche de zéro, plus la molécule organique se superpose avec la référence co-cristallisée.

Les valeurs obtenues de RMSD des modèles conçus par le logiciel AD4 par rapport aux structures cristallines ne dépassent pas 2Å dans les complexes « 4URO-ligands ». Le nombre des liaisons rotatives (liaisons simples ou liaisons sigma pouvant tourner librement) est pris en compte et est de 2 pour les ligands (**L1**), (**L2**), (**L3**), (**L5**) et de 3 pour (**L4**).

Les valeurs du **RMSD** obtenues lors des simulations de nos composés sont répertoriées dans le Tableau 10.

**Tableau 10: Valeurs obtenues RMSD pour les cinq complexes Ligands/4URO**

Complexe	4URO/L1	4URO/L2	4URO/L3	4URO/L4	4URO/L5
RMSD(Å)	0.14	1.10	0.14	0.02	0.10

## II-2.2. Fonction de score

AutoDock4 combine un champ de force basé sur l'énergie libre empirique (entropie) avec un algorithme génétique lamarckien, fournissant une prédiction rapide des conformations liées avec des énergies libres d'association prédites [11].

Lors de la simulation du docking plusieurs poses candidates sont générées pour chaque ligand. L'option du scoring est de sélectionner les meilleures poses avec les énergies les plus basses. Nous avons utilisé une fonction de score dans cette étude, à savoir Lamarkian Algorithme Génétique AGL-Score implémentée dans le programme utilisé, décrite en détail dans Morris et al [11].

## II-3. Affinité des bases de Schiff avec la protéine 4URO

L'estimation de l'affinité entre les ligands candidats (**L1-L5**) et le récepteur est exprimée par les énergies de liaisons obtenues par simulation du docking. Les énergies libres de liaison et leurs constantes d'inhibition ( $K_i$ ) des cinq composés dockés ainsi que la référence Novobiocine (NOV) sont classées dans le Tableau 11, ci-dessous :

**Tableau 11: L'estimation de l'affinité**

Complexe	L1	L2	L3	L4	L5	NOV
Énergie libre de liaison (kcal/mol)	-6.5	-6.52	-6.28	-5.96	-6.14	-7.43
Constante d'inhibition, $K_i$ uM (micromolar)	17.31	16.76	24.81	42.65	31.56	15.97

L'inspection visuelle des résultats du docking révèle que les interactions des cinq ligands étudiés (**L1-L5**) avec la protéine 4URO sont proches, et sont même comparables avec la référence Novobiocine, où les meilleurs résultats obtenus du docking (la meilleur pose) pour

chaque ligand sont localisés dans le même site actif (même poche), ainsi, les résultats révèlent que ce site d'interaction est le même obtenu avec la Novobiocine "NOV" (Centre ; -1.41, 0.28, -12.96).

D'après les résultats du docking (Tableau 11), les cinq ligands (**L1-L5**) se lient à l'ADN gyrase (4URO) avec des valeurs des énergies très proches autour de -6 kcal/mol. Les résultats montrent également que (**L1** et **L2**) avec le brome, possèdent la meilleure affinité avec la protéine 4URO, exprimée par l'énergie la plus basse égale à -6.5 et -6.52 kcal/mol, respectivement, la Novobiocine possède la meilleure énergie d'interaction avec la protéine qui est de -7.43 kcal/mol. Ces énergies sont associées à des valeurs de la constante d'inhibition  $K_i = 17.31$  uM (micromolar), pour (**L1**) et 16.76 uM pour (**L2**) et 15.97 uM pour la Novobiocine. Il s'avère que les constantes d'inhibition sont proportionnelles avec les énergies libres de liaison, c'est-à-dire, plus l'énergie de liaison est basse plus la constante d'inhibition est petite.

On peut constater également, que l'ordre croissant de l'affinité de liaison **L1**(-6.5 kcal/mol)  $\approx$  **L2**(-6.52) > **L3**(-6.28) > **L5**(-6.14) > **L4**(-5.96) est lié directement avec l'ordre croissant de la constante d'inhibition ( $K_i$ ); **L2**(16.76 uM)  $\approx$  **L1**(17.31) < **L3**(24.81) < **L5**(31.56) < **L4**(42.65), indiquant ainsi, que le ligand possédant la plus grande affinité de liaison avec la 4URO a une faible valeur de la constante d'inhibition  $K_i$ , et vice-versa (relation énergie et  $K_i$  proportionnelle).

Les autres paramètres calculés du docking au cours de cette étude à savoir l'énergie intermoléculaire, l'énergie électrostatique, l'énergie interne totale, l'énergie libre de torsion, l'énergie de Van Der Waals, l'énergie de dissolution des liaisons d'hydrogène) sont présentés dans le Tableau 12 qui suit.

**Tableau 12: Les paramètres calculés du docking des cinq composés ainsi que la référence avec la protéine 4URO**

	<b>L1</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>	<b>L4</b>	<b>L5</b>	<b>NOV</b>
Énergie intermoléculaire finale (kcal/mol)	-7.09	-7.11	-6.88	-6.56	-7.04	-9.01
Énergie VDW + Hbond + desolv (kcal/mol)	-5.91	-5.76	-5.49	-6.49	-5.82	-8.75
Énergie électrostatique (kcal/mol)	-1.19	-1.35	-1.39	-0.07	-1.21	-0.27
Énergie interne totale finale (kcal/mol)	-0.21	-0.16	-0.15	-0.19	-0.26	-3.12
Énergie libre de torsion (kcal/mol)	0.6	0.6	0.6	0.6	0.89	2.68

L'interaction de la **NOV** avec l'ADN gyrase, suggère une énergie intermoléculaire plus importante (-9.01 kcal/mol) par rapport aux ligands candidats, suivi de (**L1**, **L2**) avec des énergies proches de -7.09 et -7.11Kcal/mol respectivement. (**L5**) puis (**L3**) et enfin (**L4**).

De même pour l'énergie de VDW+ liaison Hydrogène+ l'énergie de désolvatation, où la référence possède un meilleur résultat par rapport aux candidats. Par contre Le (**L4**), possède une énergie (VDW+ L.H+E<sub>desolv</sub>) plus basse que les autres ligands homologues, ceci est directement liés aux nombre d'interactions créées au sein du complexe **4URO/(L4)**.

Les valeurs de l'énergie interne totale, et l'énergie libre de torsion, sont plus importantes dans la **NOV**, que dans les autres composés qui possèdent des énergies comparables.

Les énergies libres de torsions sont les mêmes pour les quatre ligands (**L1**, **L2**, **L3**, **L4**), ceci est relatif au même degré de liberté des composés qui est de 2. Nous constatons que pour (**L5**), qui possède une liaison rotative supplémentaire par rapport aux ligands précédents, l'énergie libre de torsion est légèrement plus grande. En revanche, pour la **NOV**, cette dernière a enregistré une meilleure énergie libre de torsion. On en déduit que l'énergie libre de torsion est proportionnelle au nombre de liaison rotative du ligand.

Les ligands (**L1**, **L2**) possédant chacun comme substituant un brome, ont plus d'affinité avec la protéine 4URO en terme d'énergie, que ceux avec un chlore (**L3**), et (**L4**) avec deux chlores ou alors un méthoxy (**L5**).

Le ligand (**L3**), s'insère dans le site actif de la protéine avec une meilleure énergie que (**L4**) avec le di-chloro. Ces affinités exprimées en énergie sont directement liées aux modes d'interactions et aux liaisons créées avec la protéine, et sont en parfaite corrélation avec les résultats de l'étude antibactérienne obtenue *in vitro*.

## **II-4. Les différentes interactions protéine/ligands**

Le Tableau ci-dessous récapitule les différents acides aminés de l'ADN gyrase **4URO** impliqués dans les différentes interactions pour les cinq ligands étudiés et la **NOV**.

**Tableau 13: Acides aminés impliqués dans les interactions entre les ligands et la NOV avec la protéine 4URO.**

	Acides aminés impliqués dans les interactions (Site d'interaction)	Distances (Å)
L1/4URO	Thr173(A) Val79(A) Ile175(A) Ile86(A)	2.61 2.13, 4.65 3.91 5.29
L2/4URO	Asp81(A) Thr173(A) Ile51(A) Val79(A) Ile175(A)	2.04 3.01, 3.98 5.46 4.82 3.83
L3/4URO	Asp81(A) Thr173(A) Ile51(A) Val79(A) Ile175(A)	2.19 2.92 5.49 4.78 3.97
L4/4URO	Asp81(A) Asn54(A) Gly85(A) Ile86(A) Pro87(A) Ile51(A) Ile175(A) Val79(A)	3.01, 3.02, 3.14, 3.45 5.22 5.06 4.02 4.55 5.45 4.24 4.70
L5/4URO	Thr173(A) Val79(A) Ile175(A) Ile86(A)	2.58 2.14, 4.70 3.90 5.11
NOV/ 4URO	Gly125(A) Asn54 (A) Gly85 (A) Arg84 (A) ASP57 (A) Glu54 (A) Ala61(A) Pro87(A) Ile86(A)	2.41 3.37 1.91 2.45- 5.34 3.14 4.34 4.36 4.46- 5.18 4.80

Les Figures 38-48, représentent les différentes interactions (interactions 2D et 3D) obtenues lors de la simulation du docking moléculaire, entre les ligands, la novobiocine et les acides aminés dans le site catalytique.

Le premier ligand (**L1**) (Figure 47-48) forme deux liaisons hydrogène conventionnelles entre l'hydrogène polaire de l'atome d'azote N-H du cycle triazole et les deux résidus d'acides aminés les plus proches **Thr173(A)** et **Val79(A)** de la protéine **4URO**, avec des distances 2.61 Å et 2.13 Å, respectivement. Par contre (**L2**), (Figure 49-41), forme une seule liaison hydrogène conventionnelle de longueur égale à 2.04 Å, entre le résidu **Asp81(A)** et l'hydrogène polaire porté par l'atome d'azote du triazole.

En plus des liaisons hydrogène, l'insertion de (**L1**) et (**L2**) au site actif de la **4URO** implique également des interactions non covalentes, deux d'entre elles sont hydrophobes de type  $\pi$ -alkyle entre le groupement phényle du ligand (**L1**) et le résidu **Ile86(A)**, et entre le cycle du triazole et le résidu **Val79(A)** de la protéine. Et une autre interaction  $\pi$ -sigma entre le résidu **Ile175(A)** et le cycle du triazole. L'acide aminé **Thr173(A)** impliqué dans une liaison hydrogène dans (**L1**), a formé deux interactions non covalentes avec le ligand (**L2**) (Figure 49-50), l'une de type  $\pi$ -sigma, et l'autre de type hydrogène-carbone avec le cycle triazole. Les distances observées sont de 3.98 et 3.01 Å respectivement.

Il est instructif de noter, que de nombreuses autres interactions participent à la stabilité du complexe **L2/4URO**; notamment deux interactions  $\pi$ -alkyle hydrophobes avec les résidus **Ile51(A)** et **Val79(A)**, et également une interaction  $\pi$ -sigma entre **Ile175(A)** et le cycle aromatique du triazole.

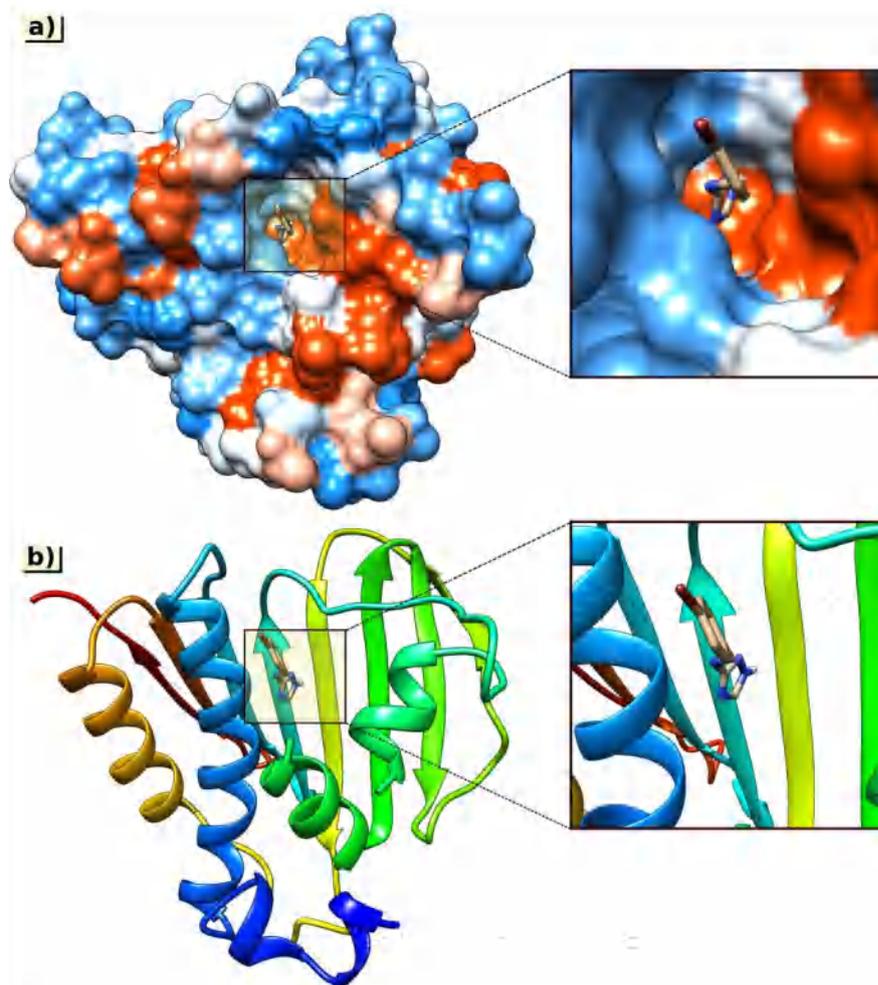


Figure 47: Insertion du ligand (L1) dans le site actif de la protéine 4URO

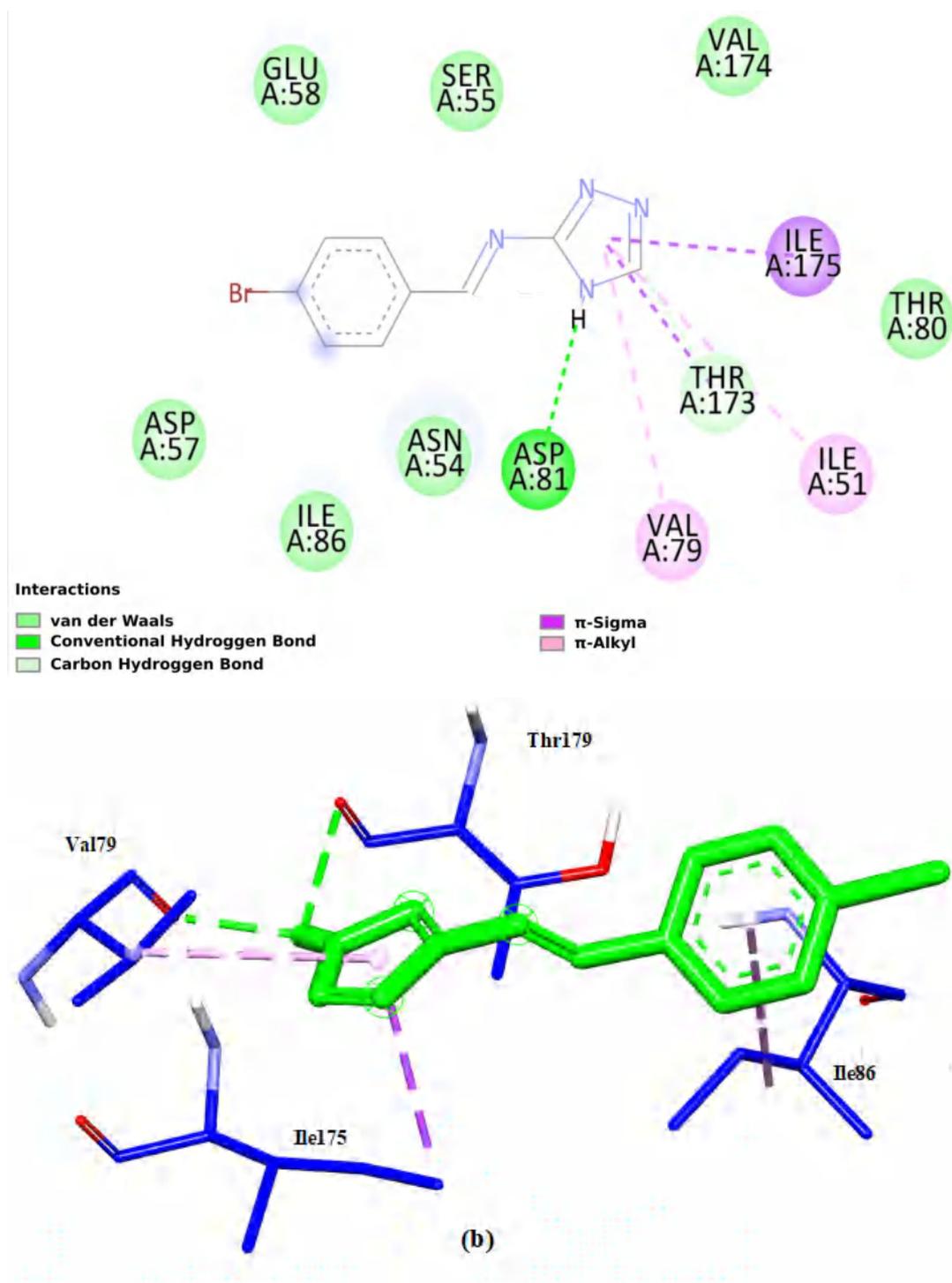


Figure 48 : Les acides aminés impliqués dans les différentes interactions avec (L1) a)- diagramme 2D, b)- représentation 3D

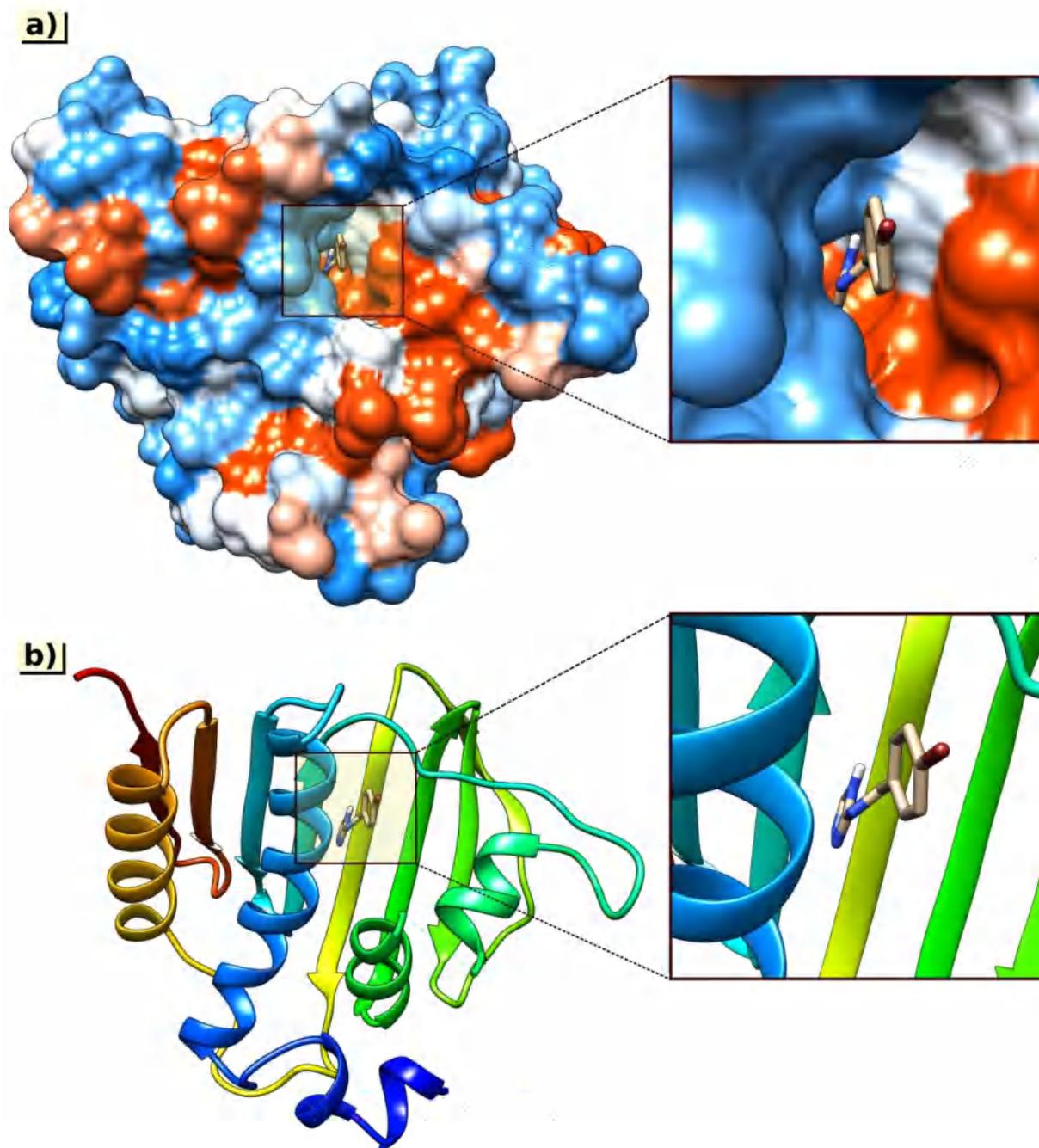


Figure 49: Insertion du ligand (L2) dans le site actif de la protéine 4URO

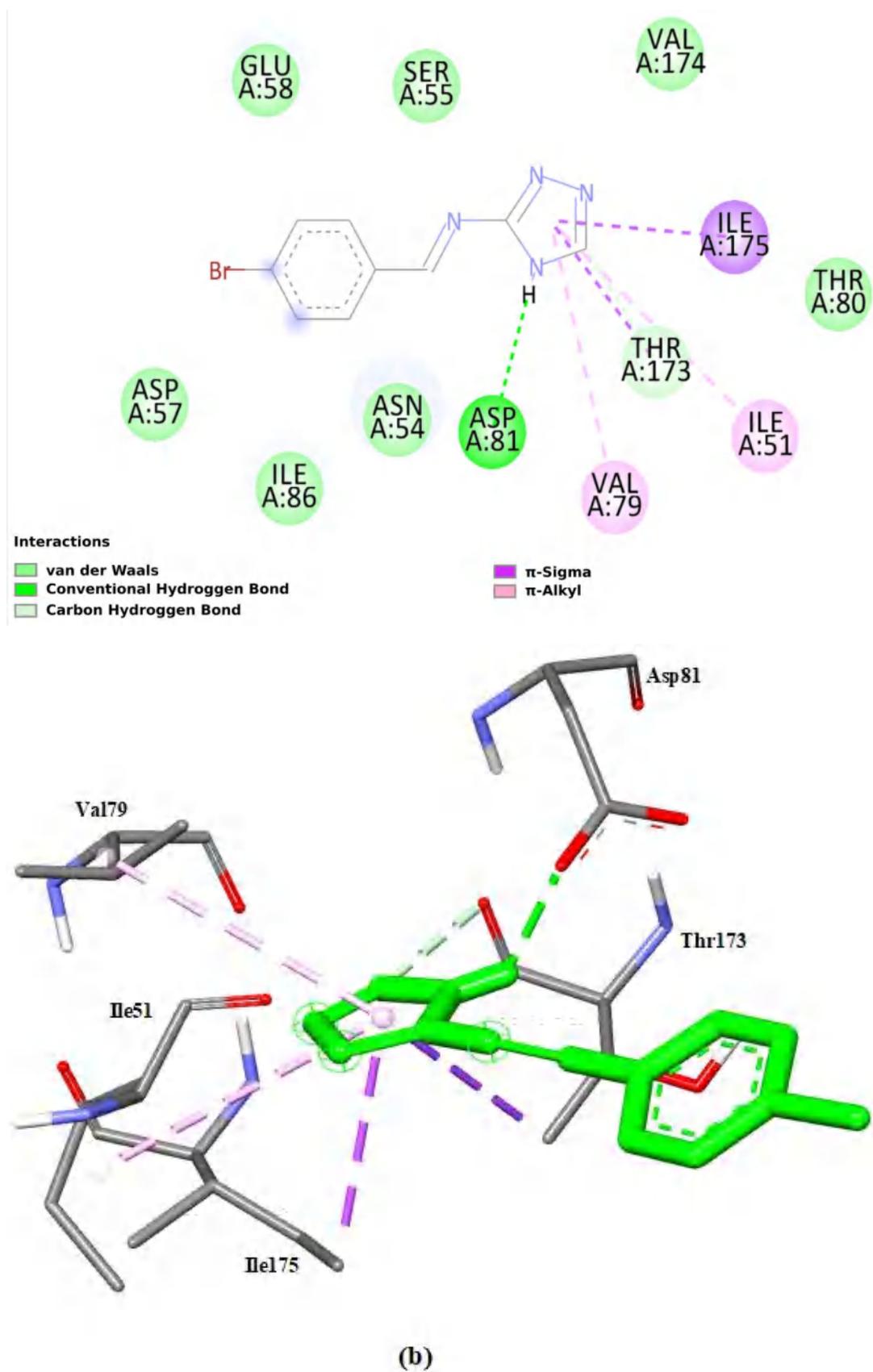
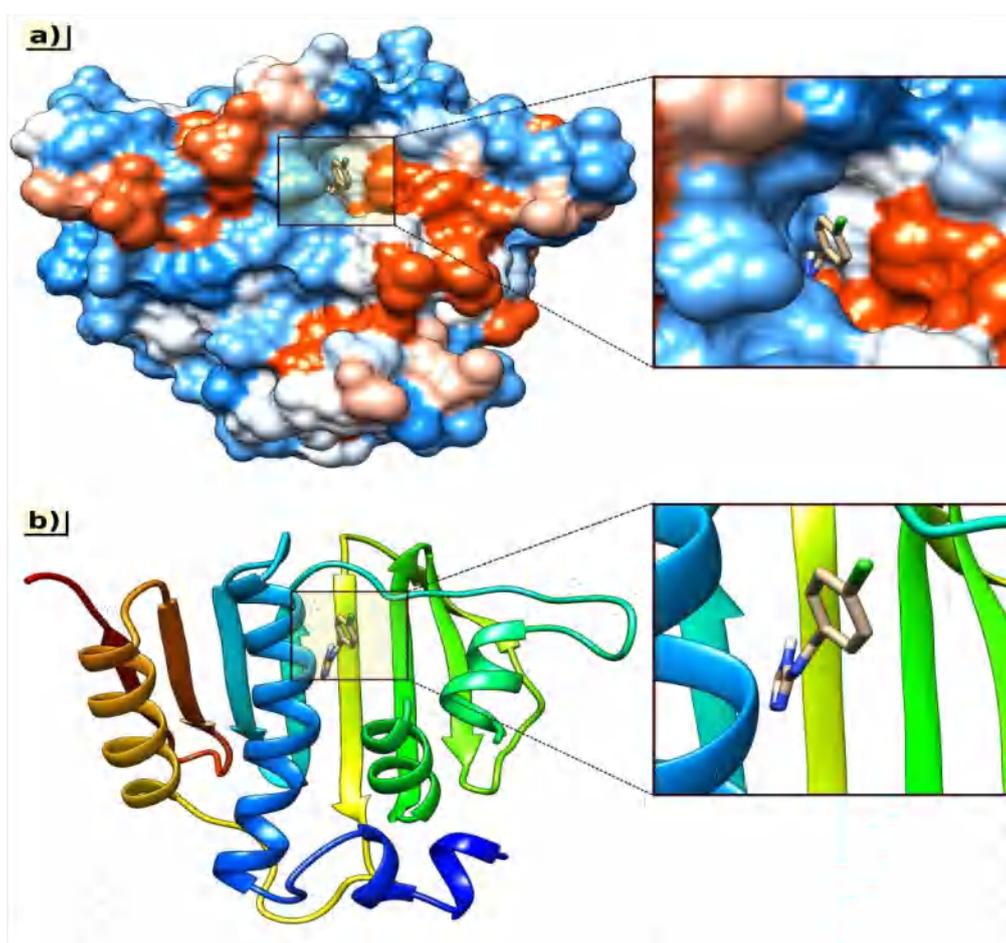
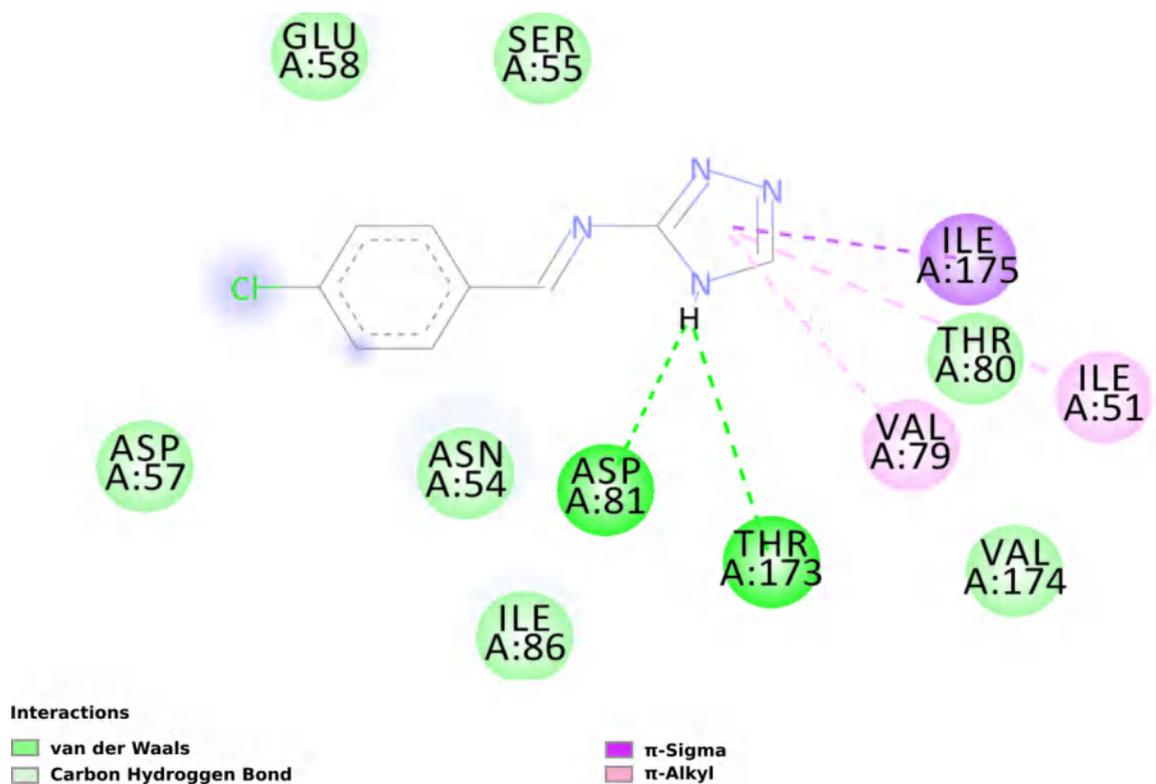


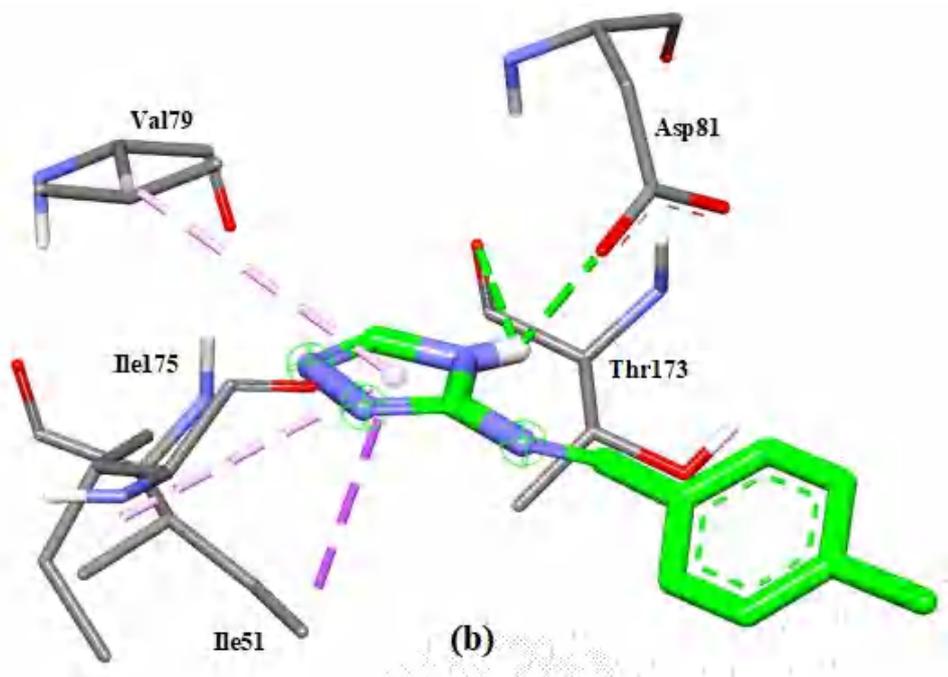
Figure 50: (L2) : Les acides aminés impliqués dans les différentes interactions avec (L2):  
a)-diagramme 2D, b)- représentation 3D

Les Figure 51-52 représentent les différentes interactions entre le ligand (**L3**) et la protéine **4URO**. Ces derniers interagissent entre eux par le biais de deux liaisons hydrogène conventionnelles entre l'atome d'azote du cycle triazole et les résidus **Asp81(A)** et **Thr173(A)** avec des distances 2.19 et 2.92 Å respectivement. Deux autres interactions de type  $\pi$ -alkyle apparaissent entre le cycle triazole et les résidus **Val79(A)** et **Ile51(A)** ainsi qu'une interaction de type  $\pi$ -sigma avec **Ile175(A)**, avec des distances 4.78, 5.49 et 3.97Å respectivement.



**Figure 51: Insertion du ligand (L3) dans le site actif de la protéine 4URO**





**Figure 52: (L3) : Les acides aminés impliqués dans les différentes interactions avec (L3): a)-diagramme 2D, b)- représentation 3D**

Le ligand di-substitué (**L4**) quant à lui, interagit avec la protéine via plusieurs interactions non conventionnelles faibles. Nous observons dans ce cas, l'absence de liaisons hydrogène. (Figure 53-54).

La présence d'un chlore en plus dans le ligand (**L4**) par rapport à (**L3**), a permis la création d'une interaction halogène (absente dans (**L3**)), entre le chlore en position para et l'acide aminé **Asp81(A)**, avec une distance de 3.14 Å. En plus d'une interaction de type  $\pi$ -anion entre le même résidu et le cycle triazole d'une distance 3.45 Å. Le résidu **Asp81** se trouve en contact avec le ligand (**L4**) via deux autres interactions de type carbone-hydrogène avec des distances 3.01 et 3.02 Å.

On observe également une interaction Van-Der Waals entre le résidu **Thr173(A)** et le carbone du triazole, et de deux autres interactions de type amide-  $\pi$  entre les acides aminés **Gly85(A)** et **Asn54(A)**, ainsi que des interactions de type alkyle et  $\pi$ -alkyle entre les deux cycles aromatiques et les différents acides aminés **Ile86(A)**, **Ile51(A)**, **Ile175(A)**, **Val79(A)** avec des distances variant de 4.02 à 5.45 Å.

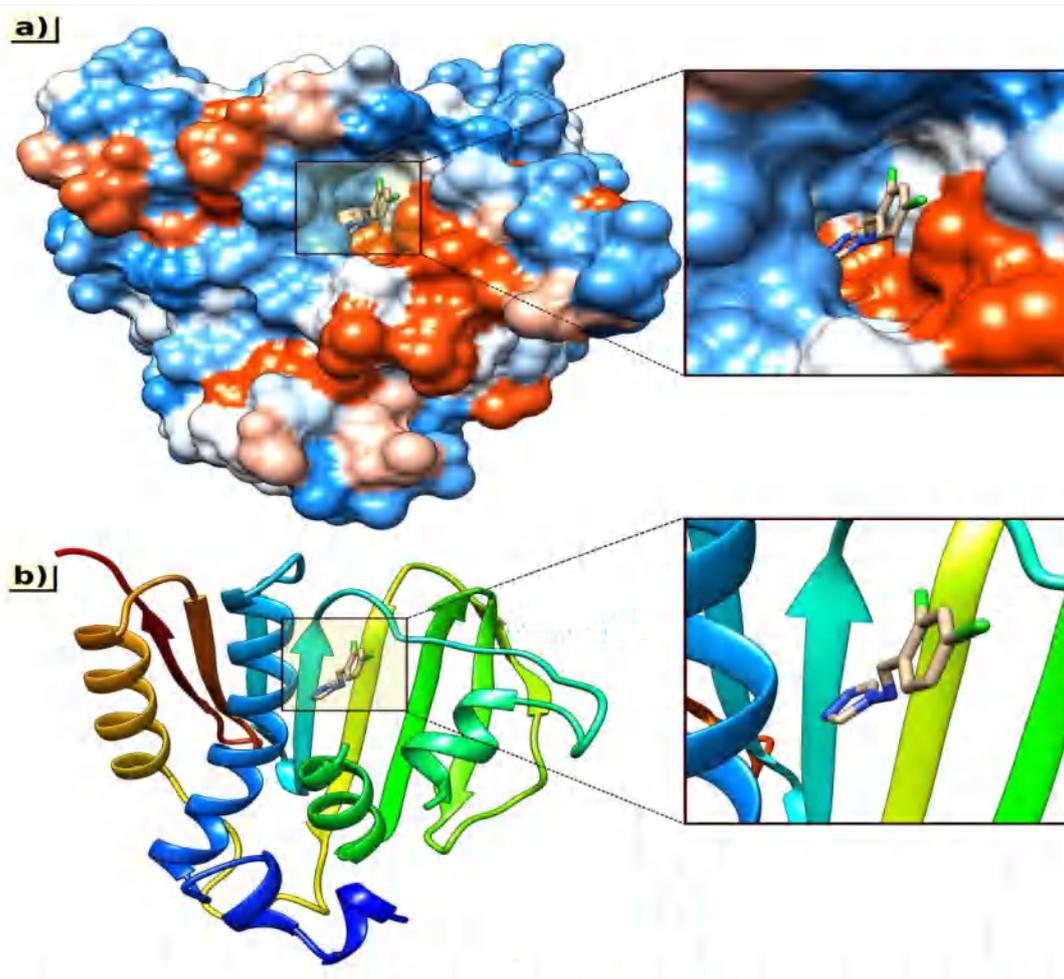


Figure 53: Insertion du ligand (L4) dans le site actif de la protéine 4URO

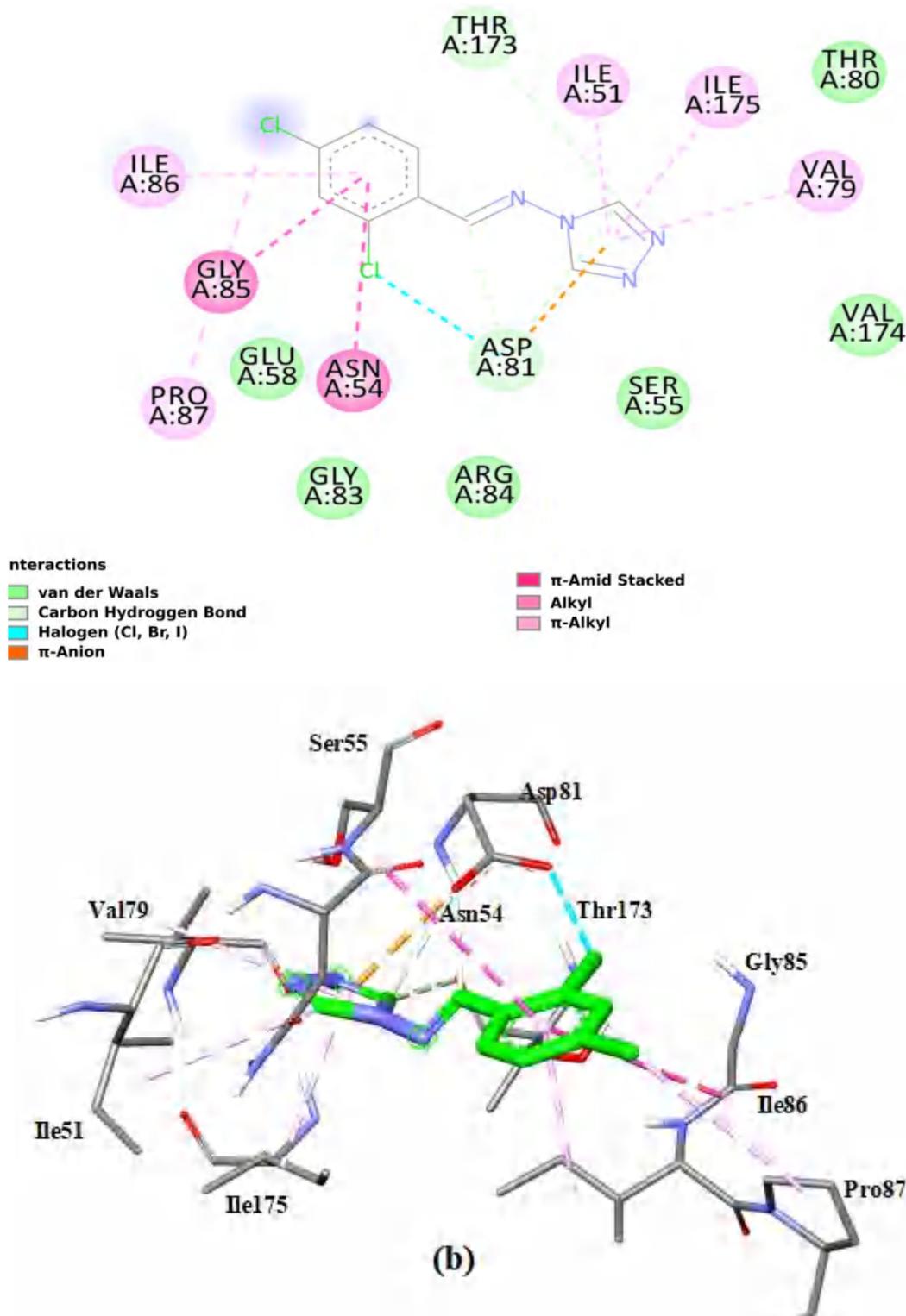
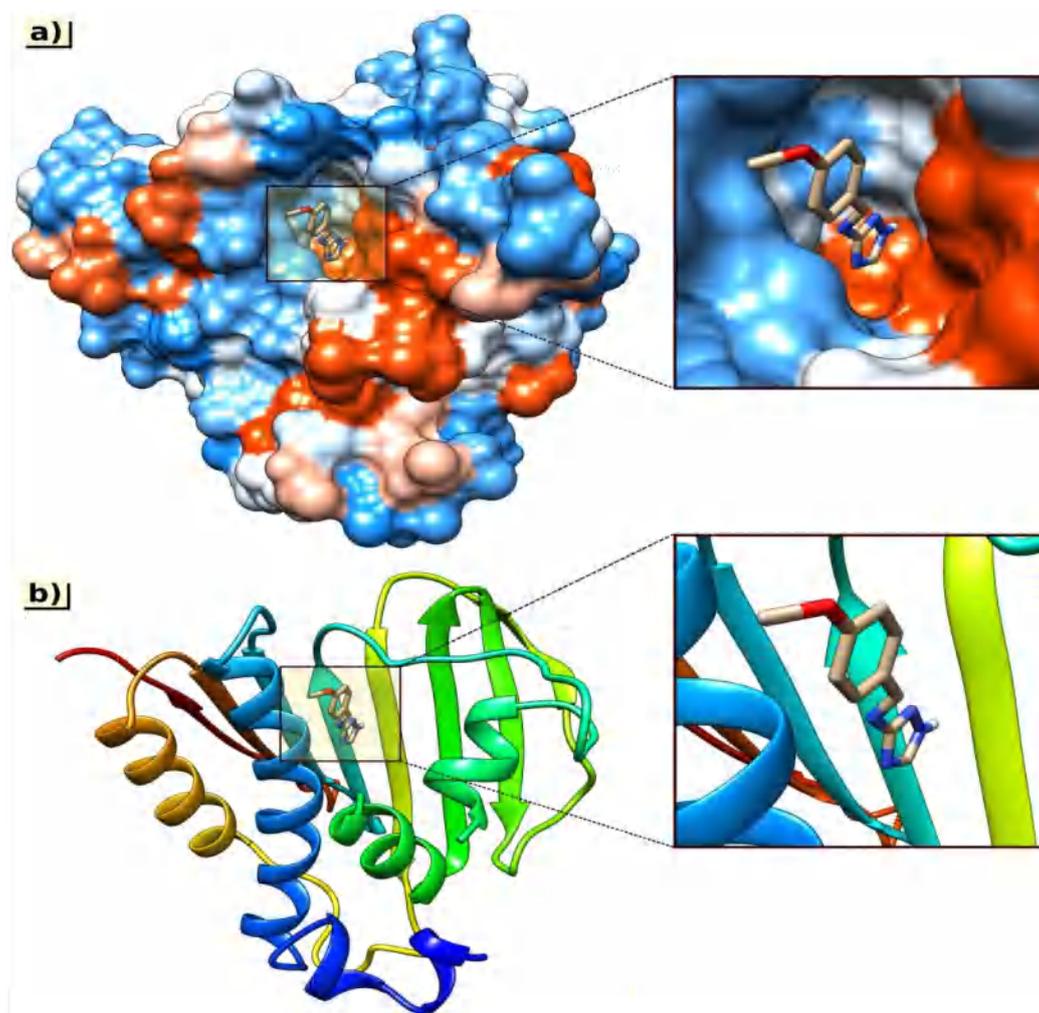


Figure 54: (L4) : Les acides aminés impliqués dans les différentes interactions avec (L4)  
: a)-diagramme 2D, b)- représentation 3D

Concernant le dernier ligand (L5), (Figure 55-56), il s'insère dans le site actif de la protéine suivant deux liaisons hydrogène conventionnelles entre l'atome d'azote du cycle triazole et les résidus **Val79(A)** et **Thr173(A)** avec des distances 2.14 et 2.58 Å respectivement. Une

interaction de type  $\pi$ -sigma est aussi formée entre le cycle triazole et le résidu **Ile175(A)**, avec une distance 3.90 Å. En plus, de deux interactions type  $\pi$ -alkyle l'une entre le cycle phényle et l'acide aminé **Ile86(A)** et l'autre entre le triazole et le résidu **Val79(A)**, avec des distances 5.11 et 4.70 Å respectivement.



**Figure 55: Insertion du ligand (L5) dans le site actif de la protéine 4URO**

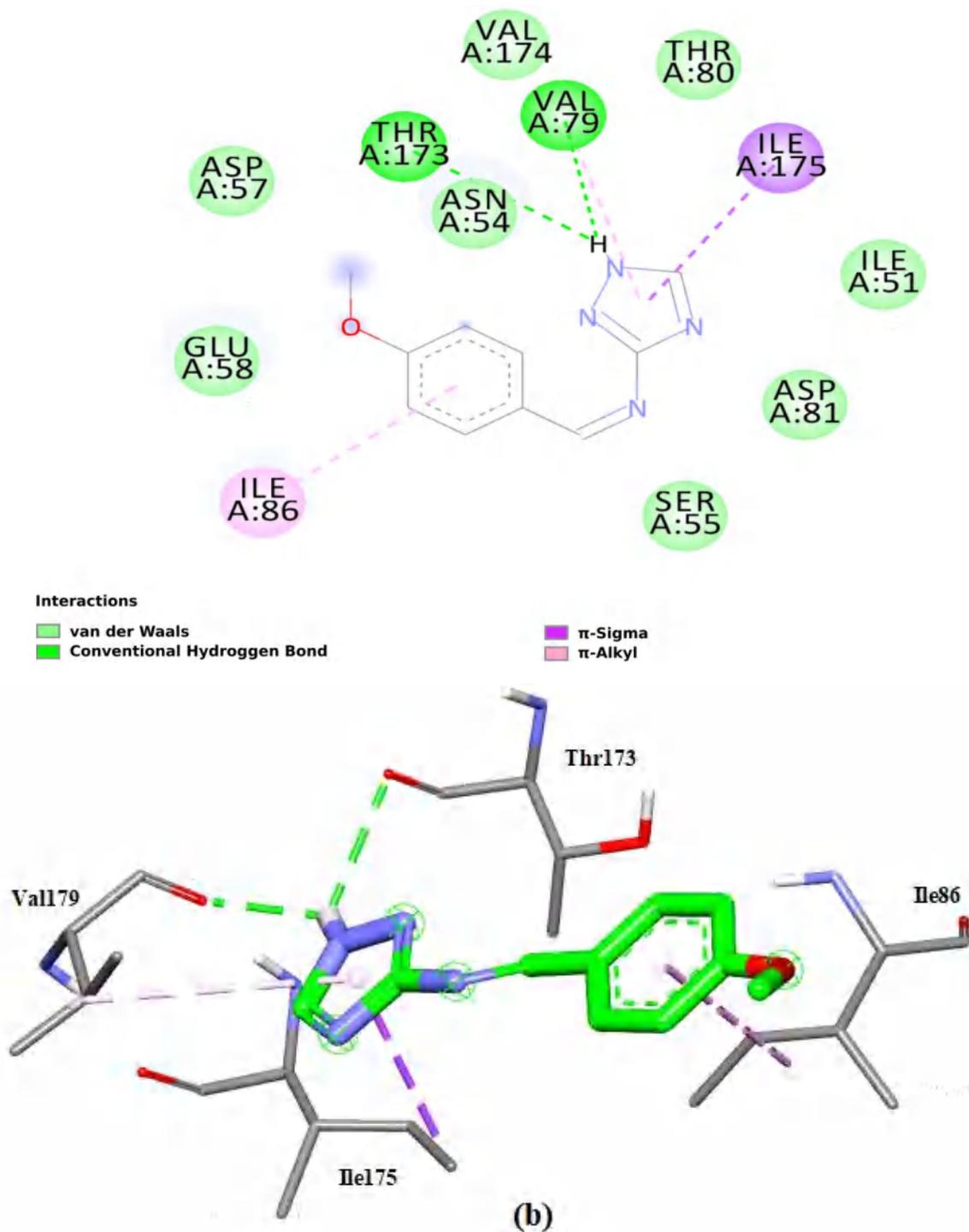


Figure 56: (L5) : Les acides aminés impliqués dans les différentes interactions avec (L5)  
: a)-diagramme 2D, b)- représentation 3D.

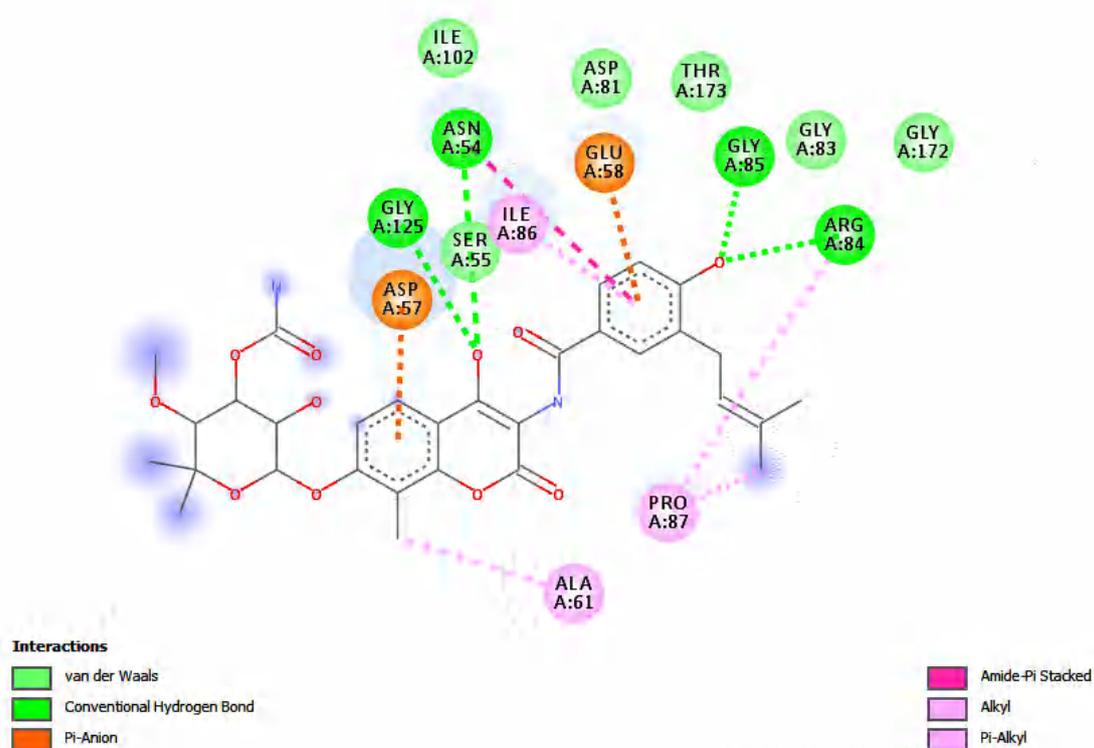
(a)

Revenant à la référence **Nov** (Figure 57), la molécule bioactive se co-cristallise dans le site actif de la protéine via quatre liaisons hydrogène, deux liaisons électrostatiques de type  $\pi$ -anion, six liaisons hydrophobes.

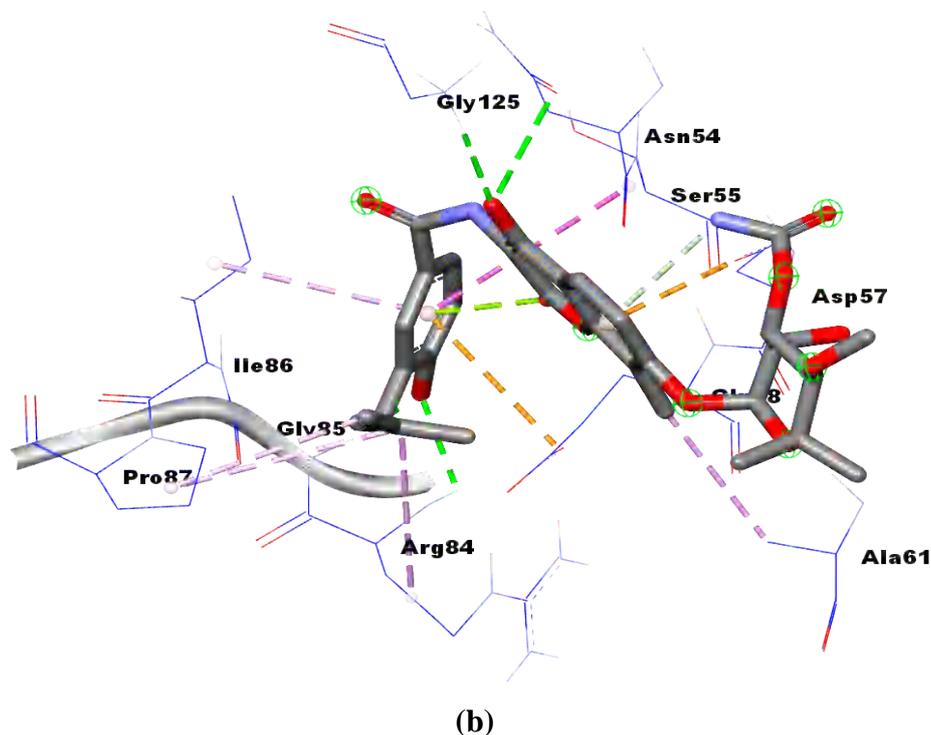
Les liaisons hydrogène (Figure 57) sont établies entre les résidus Gly85 (1.91 Å), Arg84 (2.45 Å), Gly 125(2.41 Å), Asn54 (3.37 Å).

Les résidus Glu58 et ASP57 forment des interactions électrostatiques de type  $\pi$ -anions avec des distances respectives de 4.34 Å et 3.14 Å.

Les interactions hydrophobiques quant à elles, on les retrouve de type amide-  $\pi$  stacking avec le résidu Asn54 d'une distance 5.12 Å, et quatre autres de type alkyl, dont une avec le résidu Ala 61 avec une distance égale à 4.36 Å, une avec le résidu Arg84 (5.34 Å) et deux avec le résidu Pro 87 avec des distances de 4.46 Å, 5.18 Å. Un autre type d'interaction hydrophobique de type  $\pi$ -alkyl est créé avec le résidu Ile86, la distance mesurée est de 4.80Å.



(a)



**Figure 57: Les acides aminés impliqués dans les différentes interactions avec la novobiocine : a)-diagramme 2D, b)- représentation 3D**

En récapitulatif, les ligands (**L1, L2**) avec le brome ont une meilleure affinité avec la protéine que ceux avec le chlore (**L3, L4**) ou le méthoxyl (**L5**) en terme d'énergie.

Le ligand (**L3**) monosubstitué a un meilleur score exprimé en énergie avec la protéine, que le ligand disubstitué (**L4**).

Les ligands (**L1, L2**), ont formé des liaisons hydrogène avec le site actif, et ont obtenu le meilleur score, et en comparant tous les résultats avec ceux simulés pour la référence **Nov**, on en déduit que les liaisons hydrogène sont les principales interactions qui peuvent influencer d'une manière directe sur l'affinité des complexes formés.

### III-Application de la règle de Lipinski

Il est important de compléter notre étude par l'application de la méthode de filtre ADME qui est basée sur la règle de 5 de Lipinski [12], afin de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques (ADME) des composés présentant une affinité avec la protéine. Pour cela nous avons utilisé le serveur Molinspiration [13]. Le Tableau 14 suivant résume les propriétés ADME(T).

**Tableau 14: Les propriétés pharmacocinétiques des bases de Schiff**

Ligand	PM (g/mol) ( $\leq 500$ )	Log P ( $\leq 5$ )	nOH, NH ( $\leq 5$ )	nO, N ( $\leq 10$ )	Nrotb ( $\leq 15$ )
(L1)	251.10	2.05	1	4	2
(L2)	251.10	2.05	1	4	2
(L3)	206.64	1.92	1	4	2
(L4)	241.08	2.53	1	4	2
(L5)	202.22	1.50	1	5	3

**PM** : poids moléculaire. **nO, N** : nombre d'accepteurs de liaisons H. **nOH, NH** : nombre de donneurs de liaisons H. **Log P**: coefficient de partition calculé. **Nrotb** : nombre de liaisons rotables.

Le logarithme décimal du coefficient de partage eau / octanol, noté Log P, doit être  $\leq 5$ . Cette valeur permet de déterminer le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule. S'il est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement [12].

En visualisant les valeurs répertoriées dans le Tableau 14 précédent, on en conclue que nos cinq bases vérifient la règle de 5 de Lipinski [12].

## IV-Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons effectué une simulation par *Docking Moléculaire*, une approche théorique très prometteuse afin de corrélérer les résultats obtenus avec ceux entrepris par l'étude antibactérienne *in vitro*.

Nous avons choisi une protéine ADN-gyrase (pdb : 4URO) comme cible, de par sa présence dans tous les microorganismes (*Gram+*) et (*Gram-*), et étant une cible antibactérienne très intéressante car elle fait partie de la famille des Topoisomérases.

Les résultats obtenus lors de la simulation par *Docking Moléculaire*, montrent que :

Tous ligands ont un RMSD positif  $< 2 \text{ \AA}$ .

Les ligands monosubstitués (**L1**, **L2**, **L3**, **L5**) ont une meilleure affinité avec la protéine 4URO par rapport à (**L4**) disubstitué.

Les ligands (**L1**, **L2**) avec un brome comme substituant, ont les meilleurs scores en terme d'énergie par rapport à ceux avec des chlores (**L3**, **L4**), ou alors (**L5**) possédant un méthoxyl.

Les ligands (**L1**, **L2**, **L3**) ont interagi dans le site actif de la protéine via des liaisons hydrogène conventionnelles, ainsi que d'autres liaisons hydrophobes non conventionnelles.

La présence d'un deuxième chlore dans le ligand (**L4**), a créé des interactions de type halogène X avec les résidus du site actif, qui n'y étaient pas dans les autres ligands halogénés monosubstitués (**L1, L2, L3**).

Nous avons comparé les résultats obtenus par simulation du *Docking Moléculaire*, des cinq ligands élaborés avec un antibiotique de référence à savoir la *novobiocine*, et il en sort que les liaisons hydrogène sont les principales interactions influençant l'affinité avec la protéine.

Nous avons complété notre étude par l'application de la méthode de filtre ADME qui repose sur la règle de 5 de Lipinski conçu pour la sélection des « drug-like », et il s'avère que toutes nos bases de Schiff (**L1-L5**) vérifient correctement cette règle.

Pour conclure, tous ces résultats prometteurs sont en parfaite corrélation avec ceux obtenus en amant par évaluation antibactérienne *in vitro*.

## **VI-Références**

- [1] Morris, G. M., Huey R., Lindstrom, W., Sanner, M.F., Belew, R.K., Goodsell, D.S., and Olson, A.J., *J. Computational Chemistry*. 16, 2785-2791, (2009)
- [2] Alves, M.J., Froufe, H.J., Costa, A.F., Santos, A.F., Oliveira, L.G., Osório, S.R., Abreu, R., Pintado, M. and Ferreira, I.C., *Molecules*. 19(2), 1672-1684, (2014).
- [3] Visualizer, D. S. Dassault Systèmes BIOVIA. San Diego, (2020).
- [4] <https://www.rcsb.org>
- [5] Mouilleron, S., Badet-Denisot, M.A., Golinelli-Pimpaneau, B., *J. Mol. Biol.* 377(4), 1174-1185, (2008).
- [6] Bates, A.D., Andrew, D., and Maxwell, A., *DNA topology*, Oxford University Press, USA, (2005).
- [7] Schoeffler Allyn, J., and James Berger M., *Quarterly reviews of biophysics*. 41.1, 41-101, (2008).
- [8] Pommier, Y., et al. *Chemistry & biology*. 17.5 (2010): 421-433.
- [9] Tse-Dinh, Y.C., *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*. 7.1, 3-9, (2007).
- [10] Bradbury, Barton J., and Michael, J., Pucci. *Current opinion in pharmacology* 8.5, 574-581, (2008).
- [11] Morris, G.M., Goodsell, D.S., Halliday, R.S., Huey, R., Hart, W.E., Belew, R.K., Olson A.J., *J Comp Chem*. 19,1639–1662, 1998.
- [12] Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P. J., *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 46, 3-26, (2001).
- [13] <https://www.molinspiration.com/>

# **Conclusion Générale**

Ce travail de thèse a été réalisé dans le cadre d'une collaboration Franco-Algérienne entre l'Unité de Recherche de Chimie de l'Environnement et Moléculaire Structurale (CHEMS) de l'Université de Constantine 1, et le laboratoire de Cristallographie, Résonance Magnétique et Modélisations CRM2 de la faculté des sciences Université de Lorraine.

Le principal objectif de ce travail de thèse est l'optimisation de la synthèse de nouvelles bases de Schiff de triazole halogénés, leur caractérisation physico-chimique et l'étude de leur propriétés biologiques et optique, à fin de corrélérer les résultats obtenus via une approche prometteuse « *Le Docking Moléculaire* ».

Au début de ce manuscrit, nous avons présenté une étude bibliographique portant sur les bases de Schiff de triazole, et leurs applications dans différents domaines tels que la chimie, la biologie et l'optique non linéaire.

Ensuite, une recherche bibliographique plus approfondie a été consacrée pour présenter les principes fondamentaux du *Docking Moléculaire*, ainsi que les techniques utilisées, dans le but de prédire l'affinité entre la protéine et les ligands synthétisés.

La seconde partie de ce travail, traite la partie expérimentale, où nous avons présenté la synthèse et la caractérisation des cinq composés élaborés. Ces composés ont été caractérisés par des analyses préliminaires utilisant la spectroscopie infrarouge IR et UV-Vis et RMN du proton. Les structures cristallines de ces composés ont été déterminées à partir des données de diffraction des rayons X sur monocristal à basse température (100K), la diffraction des rayons X sur poudre, a été faite afin de vérifier leurs puretés.

Dans cette partie, nous avons présenté une étude structurale complète et détaillée des cinq composés élaborés (**L1**), (**L2**), (**L3**), (**L4**) et (**L5**). Cette étude, effectuée par diffraction des RX sur monocristal, nous a permis de mettre en évidence l'effet des substituants (mono/ bi) halogénés (X: Cl / Br) sur l'empilement cristallin via les différentes interactions intermoléculaires et notamment les liaisons hydrogène, et les interactions du type halogènes et halogènes -  $\pi$ . En effet, un réseau de liaisons hydrogène de type C—H...A et des interactions halogènes et  $\pi$  assurent la cohésion de l'édifice cristallin de chaque structure. Les interactions X...X (X= Cl, Br) et C... $\pi$  renforcent la cohésion, créée par les liaisons hydrogène, entre les couches bidimensionnelles dans (**L1**), (**L2**), (**L3**), alors que la jonction entre les couches 2D dans (**L4**) et (**L5**) est assurée par des interactions  $\pi$ ... $\pi$  en plus des autres interactions.

L'étude qualitative et quantitative des interactions intermoléculaires des cinq ligands, a été réalisée en utilisant les surfaces d'Hirshfeld, qui nous donne la classification et la

quantification des différentes contributions de toutes les interactions présentes conventionnelles et non conventionnelles.

L'investigation des propriétés optiques non linéaire, sur les trois premières bases de Schiff (**L1**), (**L2**) et (**L3**), montre une bonne réponse des ligands (**L2**) et (**L3**) à la seconde et troisième harmonique, ainsi nous avons confirmé la non-centrosymétrie de ces derniers. Les résultats obtenus sont comparés à ceux mesurés dans les mêmes conditions pour le matériau de référence LiNbO<sub>3</sub>, et il en sort que les composés étudiés présentent un rapport (THG/SHG) plus prononcé que celui de la référence LiNbO<sub>3</sub>. De ce fait, nous confirmons par ces résultats le grand potentiel d'application de cette famille de composés dans l'optique non linéaire.

L'étude des propriétés biologiques des cinq bases de Schiff, a révélé une activité antifongique assez intéressante contre un phytopathogène. Tandis que les résultats de l'activité antibactérienne ont montré que (**L1**), (**L2**), (**L3**), (**L4**) et (**L5**) sont inactifs contre les souches *Gram(-)* testées et actifs et moyennement actifs contre les bactéries *Gram(+)*. Les résultats de l'activité antibactérienne montrent clairement que les ligands halogénés monosubstitués (**L1**, **L2** et **L3**) possèdent un meilleur pouvoir inhibiteur contre la bactérie à *Gram(+)* *Staphylococcus aureus* que (**L4**) bisubstitué, ou le (**L5**) avec un méthoxyl.

Les ligands (**L1**) et (**L2**) avec le brome comme substituant, s'avèrent plus actifs que (**L3**) avec le chlore.

Afin de corrélérer entre l'approche expérimentale élaborée par l'activité antibactérienne *in vitro* et l'approche théorique *in silico*, nous avons optimisé une simulation par **Docking Moléculaire**, des cinq bases de Schiff sur une protéine présente dans les microorganismes étudiés *in vitro*.

Le **Docking Moléculaire**, nous a permis une meilleure compréhension des mécanismes d'interaction entre les protéines et les ligands dans le site actif de la cible.

L'analyse des résultats montrent l'existence des liaisons hydrogène importantes établies entre les différents ligands et la protéine, ainsi que des interactions non covalentes de type hydrophobes et halogènes.

L'affinité des ligands dans le site actif de la protéine, a été évaluée par le calcul de l'énergie d'interaction, et a révélé que les ligands (**L1**) et (**L2**) avec un brome ont l'énergie la plus basse que ceux avec des chlores (**L3**, **L4**) ou un méthoxy (**L5**).

Les ligands monosubstitués (**L1**, **L2**, **L3**, **L5**), ont un meilleur score en terme d'énergie avec la protéine que celui di-substitué avec le dichloro (**L4**).

La présence d'un deuxième chlore dans le ligand (**L4**), a créé des interactions de type halogène X avec les résidus du site actif, qui n'y étaient pas dans (**L1, L2, L3**).

Les résultats obtenus par simulation du *Docking moléculaire*, ont été comparés avec ceux de l'antibiotique de référence à savoir la *novobiocine*, co-cristallisé en amant avec la protéine cible, et il en sort que les liaisons hydrogène sont les principales interactions influençant l'affinité avec la protéine.

Nous avons complété notre étude par l'application de la méthode de filtre ADME qui repose sur la règle de 5 de Lipinski conçu pour la sélection des « drug-like », et il s'avère que toutes nos bases de Schiff (**L1-L5**) vérifient correctement cette règle.

Par tous les résultats obtenus, nous mettons en exergue, la corrélation entre l'approche expérimentale élaborée préalablement par l'activité antibactérienne testée *in vitro*, et l'approche théorique *in silico* par le *Docking Moléculaire*, à fin d'élucider l'étude structure-propriété, et avoir une meilleure compréhension sur les mécanismes d'interactions entre les différents ligands et les microorganismes.

# **Annexes**

**Annexe A: Résultats des expériences de diffraction des rayons X du ligand (L1) à 100 K.**

**Tableau 1 :** Paramètres géométriques (Å, °)

Br1—C7	1.8966 (17)	N3—C1	1.360 (2)
N1—N2	1.356 (2)	N3—C2	1.320 (2)
N1—C1	1.328 (2)	N4—C1	1.399 (2)
N2—C2	1.332 (2)	N4—C3	1.280 (2)
N2—N1—C1	101.87 (14)	N1—C1—N3	115.11 (14)
N1—N2—C2	109.92 (15)	N2—C2—N3	111.02 (15)
C1—N3—C2	102.09 (14)	N4—C3—C4	123.38 (15)
C1—N4—C3	116.66 (14)	Br1—C7—C8	119.36 (14)
N3—C1—N4	125.40 (15)	Br1—C7—C6	118.67 (12)
N1—C1—N4	119.49 (14)		

**Tableau 2:** Coordonnées atomiques fractionnées et paramètres de déplacement isotropes ou isotropes équivalents (Å<sup>2</sup>)

	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>U</i> <sub>iso</sub> */ <i>U</i> <sub>eq</sub>
Br1	0.78859 (5)	0.03629 (2)	-0.32533 (2)	0.0191 (1)
N1	0.0199 (4)	0.23929 (5)	0.42338 (19)	0.0145 (4)
N2	-0.1097 (4)	0.24282 (5)	0.57883 (19)	0.0136 (4)
N3	-0.0150 (4)	0.17378 (5)	0.5508 (2)	0.0165 (4)
N4	0.2084 (4)	0.18008 (5)	0.26715 (19)	0.0124 (3)
C1	0.0739 (4)	0.19710 (5)	0.4135 (2)	0.0117 (4)
C2	-0.1282 (5)	0.20399 (6)	0.6510 (2)	0.0158 (4)
C3	0.2994 (4)	0.14038 (5)	0.2749 (2)	0.0131 (4)
C4	0.4292 (4)	0.11729 (5)	0.1303 (2)	0.0123 (4)
C5	0.4142 (5)	0.13480 (6)	-0.0370 (2)	0.0143 (4)
C6	0.5233 (5)	0.11087 (6)	-0.1723 (2)	0.0155 (4)
C7	0.6539 (5)	0.06960 (6)	-0.1382 (2)	0.0136 (4)
C8	0.6787 (5)	0.05183 (6)	0.0268 (2)	0.0153 (4)
C9	0.5635 (5)	0.07592 (6)	0.1603 (2)	0.0150 (4)
H2	-0.21181	0.19874	0.76014	0.0190*
H2A	-0.17233	0.26715	0.62512	0.0160*
H3	0.28181	0.12513	0.38004	0.0160*

H5	0.32864	0.16327	-0.05787	0.0170*
H6	0.50920	0.12247	-0.28646	0.0190*
H8	0.77256	0.02377	0.04802	0.0180*
H9	0.57630	0.06404	0.27396	0.0180*

**Tableau 3:** Paramètres de déplacement atomique ( $\text{\AA}^2$ ):

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$
Br1	0.0203 (1)	0.0200 (1)	0.0174 (1)	0.0031 (1)	0.0046 (1)	-0.0061 (1)
N1	0.0180 (7)	0.0135 (6)	0.0126 (6)	0.0002 (5)	0.0041 (5)	-0.0010 (5)
N2	0.0161 (7)	0.0124 (6)	0.0127 (6)	0.0013 (5)	0.0037 (5)	-0.0012 (5)
N3	0.0211 (7)	0.0142 (6)	0.0153 (7)	0.0019 (6)	0.0075 (6)	0.0018 (5)
N4	0.0137 (6)	0.0121 (6)	0.0118 (6)	-0.0010 (5)	0.0027 (5)	-0.0015 (5)
C1	0.0112 (7)	0.0123 (7)	0.0116 (7)	0.0004 (5)	0.0011 (5)	0.0004 (5)
C2	0.0183 (8)	0.0164 (8)	0.0135 (7)	0.0015 (6)	0.0049 (6)	0.0012 (6)
C3	0.0135 (7)	0.0133 (7)	0.0125 (7)	-0.0005 (6)	0.0017 (6)	0.0004 (5)
C4	0.0117 (7)	0.0117 (7)	0.0134 (7)	0.0001 (5)	0.0014 (6)	0.0000 (5)
C5	0.0175 (8)	0.0120 (7)	0.0134 (7)	0.0004 (6)	0.0015 (6)	0.0005 (6)
C6	0.0199 (8)	0.0145 (7)	0.0121 (7)	0.0006 (6)	0.0024 (6)	-0.0001 (6)
C7	0.0136 (7)	0.0139 (7)	0.0138 (7)	-0.0004 (6)	0.0033 (6)	-0.0039 (6)
C8	0.0161 (8)	0.0120 (7)	0.0173 (8)	0.0026 (6)	0.0002 (6)	-0.0009 (6)
C9	0.0177 (8)	0.0133 (7)	0.0139 (7)	0.0017 (6)	0.0017 (6)	0.0010 (6)

**Tableau 4:** Paramètres géométriques ( $\text{\AA}$ ,  $^\circ$ )

Br1—C7	1.8966 (17)	C4—C5	1.400 (2)
N1—N2	1.356 (2)	C5—C6	1.386 (2)
N1—C1	1.328 (2)	C6—C7	1.390 (3)
N2—C2	1.332 (2)	C7—C8	1.385 (2)
N3—C1	1.360 (2)	C8—C9	1.387 (2)
N3—C2	1.320 (2)	C2—H2	0.9500

N4—C1	1.399 (2)	C3—H3	0.9500
N4—C3	1.280 (2)	C5—H5	0.9500
N2—H2A	0.8800	C6—H6	0.9500
C3—C4	1.462 (2)	C8—H8	0.9500
C4—C9	1.394 (2)	C9—H9	0.9500
Br1...Br1 <sup>i</sup>	3.8621 (3)	C6...N3 <sup>iii</sup>	3.430 (2)
Br1...Br1 <sup>ii</sup>	3.8621 (3)	C7...C5 <sup>ii</sup>	3.582 (3)
Br1...C7 <sup>ii</sup>	3.6460 (19)	C7...Br1 <sup>i</sup>	3.6460 (19)
Br1...H9 <sup>iii</sup>	3.2400	C8...C4 <sup>ii</sup>	3.558 (2)
Br1...H8 <sup>iv</sup>	3.1900	C8...C8 <sup>x</sup>	3.505 (3)
N1...N3	2.268 (2)	C8...C9 <sup>ii</sup>	3.542 (3)
N1...N2 <sup>v</sup>	3.207 (2)	C9...C8 <sup>i</sup>	3.542 (3)
N1...C2 <sup>v</sup>	3.162 (2)	C9...C3 <sup>ii</sup>	3.510 (2)
N2...N1 <sup>vi</sup>	3.207 (2)	C1...H2A <sup>v</sup>	2.7600
N2...N4 <sup>vi</sup>	2.924 (2)	C2...H6 <sup>viii</sup>	2.9500
N2...N3	2.186 (2)	C2...H5 <sup>vii</sup>	2.9900
N3...C6 <sup>vii</sup>	3.430 (2)	C3...H2A <sup>v</sup>	3.1000
N3...N2	2.186 (2)	C5...H2 <sup>ix</sup>	2.9900
N3...C3 <sup>i</sup>	3.381 (2)	C6...H2 <sup>ix</sup>	2.9800
N4...N2 <sup>v</sup>	2.924 (2)	C8...H8 <sup>x</sup>	2.9400
N1...H2A <sup>v</sup>	2.7200	H2...C5 <sup>viii</sup>	2.9900
N1...H2 <sup>v</sup>	2.5800	H2...C6 <sup>viii</sup>	2.9800
N3...H3	2.3800	H2...N1 <sup>vi</sup>	2.5800
N3...H6 <sup>vii</sup>	2.7700	H2A...N1 <sup>vi</sup>	2.7200
N3...H6 <sup>viii</sup>	2.8300	H2A...N4 <sup>vi</sup>	2.0500
N4...H5	2.6600	H2A...C1 <sup>vi</sup>	2.7600
N4...H2A <sup>v</sup>	2.0500	H2A...C3 <sup>vi</sup>	3.1000
C1...C2 <sup>ii</sup>	3.421 (2)	H2A...H5 <sup>vi</sup>	2.5800
C1...C3 <sup>i</sup>	3.536 (2)	H3...N3	2.3800
C2...C1 <sup>i</sup>	3.421 (2)	H3...H9	2.4000
C2...C6 <sup>viii</sup>	3.523 (3)	H5...N4	2.6600
C2...N1 <sup>vi</sup>	3.162 (2)	H5...C2 <sup>iii</sup>	2.9900
C3...C1 <sup>ii</sup>	3.536 (2)	H5...H2A <sup>v</sup>	2.5800
C3...N3 <sup>ii</sup>	3.381 (2)	H6...N3 <sup>iii</sup>	2.7700

C3...C9 <sup>i</sup>	3.510 (2)	H6...N3 <sup>ix</sup>	2.8300
C3...C4 <sup>i</sup>	3.500 (2)	H6...C2 <sup>ix</sup>	2.9500
C4...C3 <sup>ii</sup>	3.500 (2)	H8...Br1 <sup>iv</sup>	3.1900
C4...C8 <sup>i</sup>	3.558 (2)	H8...C8 <sup>x</sup>	2.9400
C5...C7 <sup>i</sup>	3.582 (3)	H8...H8 <sup>iv</sup>	2.4700
C5...C6 <sup>i</sup>	3.565 (3)	H9...Br1 <sup>vii</sup>	3.2400
C6...C5 <sup>ii</sup>	3.565 (3)	H9...H3	2.4000
C6...C2 <sup>ix</sup>	3.523 (3)		
N2—N1—C1	101.87 (14)	Br1—C7—C6	118.67 (12)
N1—N2—C2	109.92 (15)	C6—C7—C8	121.94 (16)
C1—N3—C2	102.09 (14)	C7—C8—C9	118.50 (17)
C1—N4—C3	116.66 (14)	C4—C9—C8	121.00 (15)
N1—N2—H2A	125.00	N2—C2—H2	124.00
C2—N2—H2A	125.00	N3—C2—H2	125.00
N3—C1—N4	125.40 (15)	N4—C3—H3	118.00
N1—C1—N4	119.49 (14)	C4—C3—H3	118.00
N1—C1—N3	115.11 (14)	C4—C5—H5	120.00
N2—C2—N3	111.02 (15)	C6—C5—H5	120.00
N4—C3—C4	123.38 (15)	C5—C6—H6	121.00
C5—C4—C9	119.26 (15)	C7—C6—H6	121.00
C3—C4—C5	122.34 (15)	C7—C8—H8	121.00
C3—C4—C9	118.37 (14)	C9—C8—H8	121.00
C4—C5—C6	120.40 (16)	C4—C9—H9	120.00
C5—C6—C7	118.87 (15)	C8—C9—H9	119.00
Br1—C7—C8	119.36 (14)		
C1—N1—N2—C2	-0.38 (19)	N4—C3—C4—C9	171.69 (17)
N2—N1—C1—N3	0.52 (19)	C3—C4—C5—C6	-176.56 (16)
N2—N1—C1—N4	179.61 (14)	C9—C4—C5—C6	1.6 (3)
N1—N2—C2—N3	0.1 (2)	C3—C4—C9—C8	177.63 (16)
C2—N3—C1—N1	-0.4 (2)	C5—C4—C9—C8	-0.7 (3)
C1—N3—C2—N2	0.2 (2)	C4—C5—C6—C7	-1.3 (3)
C2—N3—C1—N4	-179.47 (16)	C5—C6—C7— Br1	177.96 (14)
C3—N4—C1—N3	-10.3 (2)	C5—C6—C7—C8	-0.2 (3)

C3—N4—C1—N1	170.76 (15)	Br1—C7—C8— C9	-176.97 (14)
C1—N4—C3—C4	177.07 (14)	C6—C7—C8—C9	1.1 (3)
N4—C3—C4—C5	-10.1 (3)	C7—C8—C9—C4	-0.7 (3)

Symmetry codes: (i)  $x-1, y, z$ ; (ii)  $x+1, y, z$ ; (iii)  $x, y, z-1$ ; (iv)  $-x+2, -y, -z$ ; (v)  $x+1/2, -y+1/2, z-1/2$ ; (vi)  $x-1/2, -y+1/2, z+1/2$ ; (vii)  $x, y, z+1$ ; (viii)  $x-1, y, z+1$ ; (ix)  $x+1, y, z-1$ ; (x)  $-x+1, -y, -z$ .

## Annexe B: Résultats des expériences de diffraction des rayons X du ligand (L2) à 100 K.

**Tableau 1** : Paramètres géométriques (Å, °)

Br1—C7	1.893 (2)	N3—C1	1.339 (4)
N1—N2	1.365 (4)	N3—C2	1.359 (4)
N1—C1	1.332 (4)	N4—C1	1.390 (3)
N2—C2	1.327 (7)	N4—C3	1.281 (4)
N2—N1—C1	102.8 (3)	N1—C1—N3	109.9 (2)
N1—N2—C2	114.7 (4)	N2—C2—N3	102.2 (2)
C1—N3—C2	110.5 (2)	N4—C3—C4	122.6 (3)
C1—N4—C3	116.4 (3)	Br1—C7—C8	119.4 (3)
N3—C1—N4	119.9 (3)	Br1—C7—C6	118.7 (3)
N1—C1—N4	130.2 (3)		

**Tableau 2**: Coordonnées atomiques fractionnées et paramètres de déplacement isotropes ou isotropes équivalents (Å<sup>2</sup>)

	$x$	$y$	$z$	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
Br1	0.19581 (2)	0.20679 (5)	0.90278 (6)	0.0113 (1)
N1	0.51705 (12)	1.5040 (6)	0.8591 (2)	0.0122 (5)
N2	0.56064 (10)	1.7071 (5)	0.9032 (7)	0.0182 (5)
N3	0.51806 (12)	1.5449 (5)	1.0803 (2)	0.0119 (5)
N4	0.44310 (11)	1.2001 (5)	0.9960 (3)	0.0112 (6)
C1	0.49121 (12)	1.4069 (6)	0.9744 (3)	0.0098 (6)
C2	0.56345 (13)	1.7383 (6)	1.0371 (3)	0.0096 (6)
C3	0.42053 (12)	1.0730 (5)	0.8901 (4)	0.0111 (6)
C4	0.36873 (10)	0.8561 (5)	0.8966 (4)	0.0093 (5)
C5	0.3437 (2)	0.7620 (8)	1.0220 (4)	0.0118 (8)
C6	0.29246 (19)	0.5636 (10)	1.0236 (4)	0.0114 (8)
C7	0.26784 (10)	0.4609 (5)	0.9000 (4)	0.0100 (5)
C8	0.29398 (18)	0.5440 (9)	0.7764 (4)	0.0115 (8)

C9	0.3445 (2)	0.7441 (9)	0.7766 (4)	0.0118 (8)
H2	0.59032	1.86377	1.08938	0.0110*
H3	0.43814	1.12162	0.80400	0.0130*
H3A	0.50775	1.51455	1.16587	0.0140*
H5	0.36139	0.83259	1.10470	0.0140*
H6	0.27458	0.49935	1.10725	0.0140*
H8	0.27779	0.46624	0.69359	0.0140*
H9	0.36271	0.80503	0.69271	0.0140*

**Tableau 3:** Paramètres de déplacement atomique ( $\text{\AA}^2$ ):

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$
Br1	0.0107 (1)	0.0126 (1)	0.0107 (1)	-0.0026 (1)	0.0003 (2)	-0.0002 (2)
N1	0.0134 (10)	0.0133 (10)	0.0100 (8)	-0.0020 (9)	0.0008 (8)	-0.0004 (8)
N2	0.0165 (9)	0.0195 (9)	0.0185 (9)	-0.0015 (7)	0.0004 (19)	0.0026 (17)
N3	0.0129 (9)	0.0143 (10)	0.0086 (8)	-0.0039 (8)	-0.0008 (7)	-0.0003 (7)
N4	0.0117 (10)	0.0112 (9)	0.0106 (10)	-0.0019 (7)	-0.0001 (7)	0.0000 (8)
C1	0.0093 (10)	0.0110 (11)	0.0090 (10)	-0.0004 (8)	-0.0005 (8)	0.0016 (8)
C2	0.0080 (9)	0.0094 (10)	0.0113 (11)	-0.0036 (8)	-0.0012 (8)	0.0001 (8)
C3	0.0123 (9)	0.0106 (9)	0.0105 (13)	-0.0005 (7)	-0.0009 (10)	-0.0009 (10)
C4	0.0114 (8)	0.0081 (8)	0.0085 (9)	-0.0005 (6)	0.0011 (14)	0.0020 (13)
C5	0.0120 (15)	0.0117 (13)	0.0116 (15)	-0.0007 (12)	-0.0014 (12)	-0.0026 (12)
C6	0.0132 (14)	0.0135 (15)	0.0076 (13)	-0.0010 (13)	0.0013 (12)	0.0021 (12)
C7	0.0107 (8)	0.0083 (8)	0.0109 (8)	-0.0010 (6)	0.0018 (14)	0.0021 (15)
C8	0.0127 (14)	0.0113 (15)	0.0104 (14)	-0.0022 (12)	0.0003 (12)	0.0015 (12)
C9	0.0155 (16)	0.0124 (12)	0.0075 (13)	-0.0030 (13)	-0.0018 (12)	-0.0002 (11)

**Tableau 4:** Paramètres géométriques ( $\text{\AA}$ ,  $^\circ$ )

Br1—C7	1.893 (2)	C4—C5	1.407 (5)
N1—N2	1.365 (4)	C5—C6	1.397 (6)
N1—C1	1.332 (4)	C6—C7	1.401 (5)
N2—C2	1.327 (7)	C7—C8	1.386 (5)
N3—C1	1.339 (4)	C8—C9	1.390 (6)
N3—C2	1.359 (4)	C2—H2	0.9500
N4—C1	1.390 (3)	C3—H3	0.9500
N4—C3	1.281 (4)	C5—H5	0.9500
N3—H3A	0.8800	C6—H6	0.9500
C3—C4	1.462 (3)	C8—H8	0.9500
C4—C9	1.382 (5)	C9—H9	0.9500

Br1...C6 <sup>i</sup>	3.741 (4)	C5...C1 <sup>i</sup>	3.502 (5)
Br1...C7 <sup>i</sup>	3.703 (2)	C6...Br1 <sup>v</sup>	3.741 (4)
Br1...N2 <sup>ii</sup>	3.385 (2)	C7...C4 <sup>i</sup>	3.458 (3)
Br1...C2 <sup>ii</sup>	3.665 (3)	C7...Br1 <sup>v</sup>	3.703 (2)
Br1...H5 <sup>iii</sup>	3.2200	C8...C3 <sup>i</sup>	3.574 (5)
Br1...H9 <sup>iv</sup>	3.1400	C1...H3A <sup>vi</sup>	3.0600
Br1...H6 <sup>iii</sup>	3.1200	C2...H3 <sup>viii</sup>	2.7000
Br1...H8 <sup>iv</sup>	3.1100	C2...H9 <sup>viii</sup>	3.0000
N1...N3	2.186 (3)	C3...H2 <sup>vi</sup>	2.9800
N1...C3 <sup>v</sup>	3.288 (4)	C6...H8 <sup>ix</sup>	2.8800
N1...N3 <sup>vi</sup>	2.849 (3)	C8...H6 <sup>x</sup>	3.0100
N2...N3	2.090 (6)	C9...H2 <sup>vi</sup>	2.9000
N2...Br1 <sup>vii</sup>	3.385 (2)	H2...C3 <sup>viii</sup>	2.9800
N2...C3 <sup>v</sup>	3.361 (3)	H2...C9 <sup>viii</sup>	2.9000
N3...N1 <sup>viii</sup>	2.849 (3)	H2...H3 <sup>viii</sup>	2.2000
N3...N2	2.090 (6)	H2...H9 <sup>viii</sup>	2.0600
N4...C5 <sup>v</sup>	3.295 (4)	H3...N1	2.4500
N4...C2 <sup>i</sup>	3.293 (4)	H3...H9	2.3900
N1...H3A <sup>vi</sup>	1.9700	H3...N3 <sup>vi</sup>	2.8200
N1...H3	2.4500	H3...C2 <sup>vi</sup>	2.7000
N2...H3A <sup>vi</sup>	2.9200	H3...H2 <sup>vi</sup>	2.2000
N3...H3 <sup>viii</sup>	2.8200	H3...H3A <sup>vi</sup>	2.4200
N4...H5	2.6100	H3A...N1 <sup>viii</sup>	1.9700
C1...C2 <sup>i</sup>	3.443 (4)	H3A...N2 <sup>viii</sup>	2.9200
C1...C3 <sup>v</sup>	3.464 (4)	H3A...C1 <sup>viii</sup>	3.0600
C1...C4 <sup>v</sup>	3.355 (3)	H3A...H3 <sup>viii</sup>	2.4200
C1...C5 <sup>v</sup>	3.502 (5)	H5...N4	2.6100
C2...C3 <sup>viii</sup>	3.595 (5)	H5...Br1 <sup>ix</sup>	3.2200
C2...N4 <sup>v</sup>	3.293 (4)	H6...Br1 <sup>ix</sup>	3.1200
C2...C1 <sup>v</sup>	3.443 (4)	H6...C8 <sup>iv</sup>	3.0100
C2...Br1 <sup>vii</sup>	3.665 (3)	H6...H8 <sup>ix</sup>	2.5300
C3...C2 <sup>vi</sup>	3.595 (5)	H8...Br1 <sup>x</sup>	3.1100
C3...N2 <sup>i</sup>	3.361 (3)	H8...C6 <sup>iii</sup>	2.8800
C3...N1 <sup>i</sup>	3.288 (4)	H8...H6 <sup>iii</sup>	2.5300
C3...C8 <sup>v</sup>	3.574 (5)	H9...H3	2.3900
C3...C1 <sup>i</sup>	3.464 (4)	H9...C2 <sup>vi</sup>	3.0000
C4...C7 <sup>v</sup>	3.458 (3)	H9...H2 <sup>vi</sup>	2.0600
C4...C1 <sup>i</sup>	3.355 (3)	H9...Br1 <sup>x</sup>	3.1400
C5...N4 <sup>i</sup>	3.295 (4)		

N2—N1—C1	102.8 (3)	Br1—C7—C6	118.7 (3)
N1—N2—C2	114.7 (4)	C6—C7—C8	121.9 (3)
C1—N3—C2	110.5 (2)	C7—C8—C9	118.3 (3)
C1—N4—C3	116.4 (3)	C4—C9—C8	121.2 (3)
C1—N3—H3A	125.00	N2—C2—H2	129.00
C2—N3—H3A	125.00	N3—C2—H2	129.00
N3—C1—N4	119.9 (3)	N4—C3—H3	119.00
N1—C1—N4	130.2 (3)	C4—C3—H3	119.00
N1—C1—N3	109.9 (2)	C4—C5—H5	120.00
N2—C2—N3	102.2 (2)	C6—C5—H5	120.00
N4—C3—C4	122.6 (3)	C5—C6—H6	120.00
C5—C4—C9	120.2 (3)	C7—C6—H6	121.00
C3—C4—C5	121.1 (3)	C7—C8—H8	121.00
C3—C4—C9	118.7 (3)	C9—C8—H8	121.00
C4—C5—C6	119.3 (3)	C4—C9—H9	119.00
C5—C6—C7	119.0 (3)	C8—C9—H9	119.00
Br1—C7—C8	119.4 (3)		
C1—N1—N2—C2	0.5 (3)	N4—C3—C4—C9	175.9 (3)
N2—N1—C1—N3	0.0 (3)	C3—C4—C5—C6	177.4 (3)
N2—N1—C1—N4	179.0 (3)	C9—C4—C5—C6	-2.6 (5)
N1—N2—C2—N3	-0.8 (3)	C3—C4—C9—C8	-178.1 (3)
C2—N3—C1—N1	-0.5 (3)	C5—C4—C9—C8	1.9 (5)
C1—N3—C2—N2	0.8 (3)	C4—C5—C6—C7	0.7 (6)
C2—N3—C1—N4	-179.6 (2)	C5—C6—C7—Br1	-177.0 (3)
C3—N4—C1—N3	-178.7 (2)	C5—C6—C7—C8	1.8 (5)
C3—N4—C1—N1	2.4 (4)	Br1—C7—C8—C9	176.3 (3)
C1—N4—C3—C4	-178.5 (2)	C6—C7—C8—C9	-2.5 (5)
N4—C3—C4—C5	-4.1 (4)	C7—C8—C9—C4	0.6 (6)

Symmetry codes: (i)  $x, y-1, z$ ; (ii)  $x-1/2, -y+3/2, z$ ; (iii)  $-x+1/2, y-1/2, z-1/2$ ; (iv)  $-x+1/2, y-1/2, z+1/2$ ; (v)  $x, y+1, z$ ; (vi)  $-x+1, -y+3, z-1/2$ ; (vii)  $x+1/2, -y+3/2, z$ ; (viii)  $-x+1, -y+3, z+1/2$ ; (ix)  $-x+1/2, y+1/2, z+1/2$ ; (x)  $-x+1/2, y+1/2, z-1/2$ .

### Annexe C: Résultats des expériences de diffraction des rayons X du ligand (L3) à 100 K.

Tableau1 : Paramètres géométriques (Å, °)

C11—C7	1.737 (3)	N3—C1	1.339 (4)
N1—N2	1.359 (4)	N3—C2	1.360 (4)
N1—C1	1.337 (4)	N4—C1	1.391 (4)
N2—C2	1.330 (5)	N4—C3	1.263 (5)

N2—N1—C1	110.4 (3)	N3—C1—N4	130.2 (3)
N1—N2—C2	102.4 (3)	N2—C2—N3	114.5 (3)
C1—N3—C2	102.9 (3)	N4—C3—C4	122.7 (3)
C1—N4—C3	117.4 (3)	C11—C7—C8	119.3 (3)
N1—C1—N3	109.8 (3)	C11—C7—C6	119.0 (3)
N1—C1—N4	120.0 (3)		

**Tableau 2:** Coordonnées atomiques fractionnées et paramètres de déplacement isotropes ou isotropes équivalents ( $\text{\AA}^2$ )

	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
C11	1.28590 (15)	0.50140 (9)	-0.04972 (3)	0.0138 (2)
N1	-0.0479 (7)	0.6755 (3)	0.26939 (15)	0.0153 (7)
N2	-0.2395 (7)	0.6320 (3)	0.31602 (15)	0.0169 (7)
N3	-0.0004 (7)	0.4524 (3)	0.27065 (15)	0.0152 (6)
N4	0.3000 (7)	0.5902 (3)	0.19388 (14)	0.0133 (6)
C1	0.0935 (7)	0.5689 (3)	0.24306 (16)	0.0124 (7)
C2	-0.2022 (7)	0.4969 (4)	0.31492 (14)	0.0133 (6)
C3	0.4297 (7)	0.4861 (4)	0.17135 (15)	0.0128 (7)
C4	0.6462 (6)	0.4942 (4)	0.11852 (13)	0.0103 (6)
C5	0.7641 (8)	0.3722 (3)	0.09424 (16)	0.0129 (7)
C6	0.9633 (7)	0.3736 (3)	0.04300 (16)	0.0122 (7)
C7	1.0447 (6)	0.4989 (4)	0.01627 (12)	0.0099 (5)
C8	0.9387 (8)	0.6221 (3)	0.04106 (17)	0.0123 (7)
C9	0.7367 (8)	0.6193 (3)	0.09232 (15)	0.0113 (7)
H2	-0.30569	0.43767	0.34217	0.0159*
H3	0.38569	0.40067	0.18907	0.0154*
H3N	0.05367	0.36977	0.26242	0.0182*
H5	0.70801	0.28906	0.11273	0.0154*
H6	1.04116	0.29228	0.02679	0.0146*
H8	1.00179	0.70512	0.02367	0.0148*
H9	0.66211	0.70075	0.10907	0.0135*

**Tableau 3:** Paramètres de déplacement atomique ( $\text{\AA}^2$ ):

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$
C11	0.0140 (3)	0.0144 (3)	0.0130 (3)	-0.0001 (3)	0.0046 (2)	-0.0002 (3)
N1	0.0156 (12)	0.0141 (11)	0.0163 (11)	0.0008 (10)	0.0038 (10)	-0.0008 (9)
N2	0.0160 (13)	0.0190 (12)	0.0156 (11)	-0.0002 (11)	0.0058 (10)	-0.0017 (10)

N3	0.0173 (12)	0.0111 (10)	0.0171 (11)	0.0003 (10)	0.0028 (11)	0.0016 (9)
N4	0.0132 (11)	0.0130 (11)	0.0136 (10)	-0.0005 (9)	0.0019 (9)	-0.0003 (8)
C1	0.0128 (12)	0.0116 (12)	0.0127 (12)	-0.0004 (10)	0.0016 (10)	0.0003 (10)
C2	0.0153 (11)	0.0130 (11)	0.0115 (10)	-0.0007 (15)	0.0030 (8)	-0.0006 (11)
C3	0.0103 (10)	0.0160 (14)	0.0122 (10)	-0.0015 (11)	0.0019 (9)	-0.0001 (11)
C4	0.0095 (9)	0.0107 (10)	0.0106 (10)	-0.0009 (11)	0.0008 (8)	0.0002 (11)
C5	0.0152 (14)	0.0090 (11)	0.0144 (12)	-0.0025 (11)	0.0010 (11)	-0.0007 (10)
C6	0.0134 (13)	0.0116 (12)	0.0117 (12)	0.0006 (11)	0.0028 (11)	-0.0007 (10)
C7	0.0096 (9)	0.0104 (10)	0.0098 (9)	-0.0001 (12)	0.0001 (8)	0.0015 (11)
C8	0.0143 (13)	0.0084 (11)	0.0143 (13)	0.0012 (10)	0.0008 (11)	0.0012 (10)
C9	0.0113 (13)	0.0101 (11)	0.0124 (11)	0.0004 (10)	0.0033 (11)	0.0005 (9)

**Tableau 4:** Paramètres géométriques (Å, °)

C11—C7	1.737 (3)	C4—C5	1.397 (5)
N1—N2	1.359 (4)	C5—C6	1.384 (5)
N1—C1	1.337 (4)	C6—C7	1.389 (5)
N2—C2	1.330 (5)	C7—C8	1.391 (5)
N3—C1	1.339 (4)	C8—C9	1.393 (5)
N3—C2	1.360 (4)	C2—H2	0.9300
N4—C1	1.391 (4)	C3—H3	0.9300
N4—C3	1.263 (5)	C5—H5	0.9300
C3—C4	1.463 (4)	C6—H6	0.9300
N3—H3N	0.8600	C8—H8	0.9300
C4—C9	1.395 (5)	C9—H9	0.9300
N2—N1—C1	110.4 (3)	C11—C7—C6	119.0 (3)
N1—N2—C2	102.4 (3)	C6—C7—C8	121.7 (3)
C1—N3—C2	102.9 (3)	C7—C8—C9	119.0 (3)
C1—N4—C3	117.4 (3)	C4—C9—C8	120.0 (3)
N1—C1—N3	109.8 (3)	N2—C2—H2	123.00
N1—C1—N4	120.0 (3)	N3—C2—H2	123.00
N3—C1—N4	130.2 (3)	N4—C3—H3	119.00
N2—C2—N3	114.5 (3)	C4—C3—H3	119.00
N4—C3—C4	122.7 (3)	C4—C5—H5	120.00
C1—N3—H3N	129.00	C6—C5—H5	120.00
C2—N3—H3N	129.00	C5—C6—H6	121.00
C5—C4—C9	119.8 (3)	C7—C6—H6	121.00
C3—C4—C5	118.3 (3)	C7—C8—H8	120.00
C3—C4—C9	121.9 (3)	C9—C8—H8	120.00

C4—C5—C6	120.8 (3)	C4—C9—H9	120.00
C5—C6—C7	118.7 (3)	C8—C9—H9	120.00
C11—C7—C8	119.3 (3)		
C1—N1—N2—C2	-0.2 (4)	N4—C3—C4—C9	4.1 (5)
N2—N1—C1—N3	0.5 (4)	C3—C4—C5—C6	178.1 (3)
N2—N1—C1—N4	179.7 (3)	C9—C4—C5—C6	-2.0 (5)
N1—N2—C2—N3	-0.1 (4)	C3—C4—C9—C8	-178.6 (3)
C2—N3—C1—N1	-0.6 (4)	C5—C4—C9—C8	1.5 (5)
C1—N3—C2—N2	0.4 (4)	C4—C5—C6—C7	0.2 (5)
C2—N3—C1—N4	-179.6 (3)	C5—C6—C7—C11	-178.0 (2)
C3—N4—C1—N3	-1.9 (5)	C5—C6—C7—C8	2.1 (5)
C3—N4—C1—N1	179.1 (3)	C11—C7—C8—C9	177.6 (3)
C1—N4—C3—C4	178.5 (3)	C6—C7—C8—C9	-2.6 (5)
N4—C3—C4—C5	-176.1 (3)	C7—C8—C9—C4	0.7 (5)

**Annexe D: Résultats des expériences de diffraction des rayons X du ligand (L4) à 100 K.**

**Tableau1 :** Paramètres géométriques (Å, °)

C11—C9A	1.7323 (7)	C4A—C9A	1.4016 (9)
C12—C7A	1.7359 (7)	C5A—C6A	1.3869 (9)
N1A—N2A	1.3939 (9)	C6A—C7A	1.3891 (9)
N1A—C2A	1.3101 (10)	C7A—C8A	1.3864 (9)
N2A—C1A	1.3077 (10)	C8A—C9A	1.3909 (9)
N3A—N4A	1.3906 (8)	C1A—H1A	0.9500
N3A—C1A	1.3593 (9)	C2A—H2A	0.9500
N3A—C2A	1.3671 (9)	C3A—H3A	0.9500
N4A—C3A	1.2828 (9)	C5A—H5A	0.9500
C3A—C4A	1.4646 (9)	C6A—H6A	0.9500
C4A—C5A	1.4025 (9)	C8A—H8A	0.9500
C11...C12 <sup>i</sup>	3.3652 (2)	C4A...C6A <sup>iv</sup>	3.4822 (10)
C11...C2A <sup>ii</sup>	3.3584 (8)	C5A...C4A <sup>iii</sup>	3.5661 (10)
C12...C1A <sup>iii</sup>	3.6214 (8)	C5A...C8A <sup>iii</sup>	3.5545 (10)
C12...N3A <sup>iv</sup>	3.4760 (7)	C5A...C9A <sup>iii</sup>	3.3512 (10)
C12...C11 <sup>v</sup>	3.3652 (2)	C5A...C5A <sup>iv</sup>	3.3107 (10)
C12...C12 <sup>vi</sup>	3.6669 (2)	C5A...C6A <sup>iv</sup>	3.3925 (10)
C12...C2A <sup>iv</sup>	3.5193 (8)	C6A...C5A <sup>iv</sup>	3.3925 (10)
C11...H3A	2.7100	C6A...C4A <sup>iv</sup>	3.4822 (10)
C12...H1A <sup>vii</sup>	3.0500	C6A...C4A <sup>iii</sup>	3.4712 (10)

C12...H8A <sup>vi</sup>	2.9200	C6A...N1A <sup>xi</sup>	3.3617 (9)
N1A...N3A	2.1876 (9)	C6A...C9A <sup>iii</sup>	3.5403 (10)
N1A...C6A <sup>viii</sup>	3.3617 (9)	C7A...C4A <sup>iii</sup>	3.5689 (10)
N1A...C3A <sup>ix</sup>	3.2611 (10)	C7A...C3A <sup>iii</sup>	3.4809 (10)
N2A...C2A <sup>ix</sup>	3.3062 (10)	C8A...C5A <sup>iii</sup>	3.5545 (10)
N2A...N3A	2.1909 (9)	C9A...C6A <sup>iii</sup>	3.5403 (10)
N3A...N1A	2.1876 (9)	C9A...C5A <sup>iii</sup>	3.3512 (10)
N3A...C12 <sup>iv</sup>	3.4760 (7)	C2A...H6A <sup>viii</sup>	3.0300
N4A...C1A <sup>x</sup>	3.4091 (10)	C2A...H3A	2.6400
N1A...H6A <sup>viii</sup>	2.4200	C3A...H2A	2.8700
N1A...H3A <sup>ix</sup>	2.7700	H1A...C12 <sup>xii</sup>	3.0500
N1A...H2A <sup>ix</sup>	2.8300	H1A...N4A <sup>x</sup>	2.7800
N2A...H3A <sup>ix</sup>	2.9200	H2A...C3A	2.8700
N2A...H2A <sup>ix</sup>	2.3700	H2A...H3A	2.3800
N2A...H5A <sup>x</sup>	2.8000	H2A...N1A <sup>ii</sup>	2.8300
N4A...H5A	2.5000	H2A...N2A <sup>ii</sup>	2.3700
N4A...H1A <sup>x</sup>	2.7800	H3A...C11	2.7100
C1A...C12 <sup>iii</sup>	3.6214 (8)	H3A...C2A	2.6400
C1A...N4A <sup>x</sup>	3.4091 (10)	H3A...H2A	2.3800
C2A...C11 <sup>ix</sup>	3.3584 (8)	H3A...N1A <sup>ii</sup>	2.7700
C2A...N2A <sup>ii</sup>	3.3062 (10)	H3A...N2A <sup>ii</sup>	2.9200
C2A...C12 <sup>iv</sup>	3.5193 (8)	H5A...N4A	2.5000
C3A...N1A <sup>ii</sup>	3.2611 (10)	H5A...N2A <sup>x</sup>	2.8000
C3A...C7A <sup>iii</sup>	3.4809 (10)	H6A...N1A <sup>xi</sup>	2.4200
C4A...C5A <sup>iii</sup>	3.5661 (10)	H6A...C2A <sup>xi</sup>	3.0300
C4A...C7A <sup>iii</sup>	3.5689 (10)	H8A...C12 <sup>vi</sup>	2.9200
C4A...C6A <sup>iii</sup>	3.4712 (10)		
N2A—N1A—C2A	107.63 (6)	C7A—C8A—C9A	118.16 (6)
N1A—N2A—C1A	106.85 (6)	C11—C9A—C4A	121.18 (5)
N4A—N3A—C1A	122.70 (6)	C11—C9A—C8A	117.14 (5)
N4A—N3A—C2A	131.59 (6)	C4A—C9A—C8A	121.65 (6)
C1A—N3A—C2A	105.48 (6)	N2A—C1A—H1A	125.00
N3A—N4A—C3A	115.45 (6)	N3A—C1A—H1A	125.00
N2A—C1A—N3A	110.45 (7)	N1A—C2A—H2A	125.00
N1A—C2A—N3A	109.58 (6)	N3A—C2A—H2A	125.00
N4A—C3A—C4A	118.94 (6)	N4A—C3A—H3A	121.00
C3A—C4A—C5A	120.64 (6)	C4A—C3A—H3A	121.00
C3A—C4A—C9A	121.45 (6)	C4A—C5A—H5A	119.00
C5A—C4A—C9A	117.90 (6)	C6A—C5A—H5A	119.00

C4A—C5A—C6A	121.62 (6)	C5A—C6A—H6A	121.00
C5A—C6A—C7A	118.30 (6)	C7A—C6A—H6A	121.00
Cl2—C7A—C6A	118.57 (5)	C7A—C8A—H8A	121.00
Cl2—C7A—C8A	119.12 (5)	C9A—C8A—H8A	121.00
C6A—C7A—C8A	122.32 (6)		
C2A—N1A—N2A—C1A	0.90 (9)	C9A—C4A—C5A—C6A	1.91 (11)
N2A—N1A—C2A—N3A	-0.14 (9)	C3A—C4A—C9A—Cl1	-6.00 (10)
N1A—N2A—C1A—N3A	-1.33 (9)	C3A—C4A—C9A—C8A	176.05 (7)
C1A—N3A—N4A—C3A	152.86 (7)	C5A—C4A—C9A—Cl1	175.54 (5)
C2A—N3A—N4A—C3A	-33.50 (11)	C5A—C4A—C9A—C8A	-2.41 (11)
N4A—N3A—C1A—N2A	176.30 (7)	C4A—C5A—C6A—C7A	0.22 (11)
C2A—N3A—C1A—N2A	1.23 (9)	C5A—C6A—C7A—Cl2	178.10 (5)
N4A—N3A—C2A—N1A	-175.08 (7)	C5A—C6A—C7A—C8A	-2.00 (11)
C1A—N3A—C2A—N1A	-0.64 (9)	Cl2—C7A—C8A—C9A	-178.59 (6)
N3A—N4A—C3A—C4A	175.70 (6)	C6A—C7A—C8A—C9A	1.52 (11)
N4A—C3A—C4A—C5A	-9.77 (11)	C7A—C8A—C9A—Cl1	-177.28 (6)
N4A—C3A—C4A—C9A	171.81 (7)	C7A—C8A—C9A—C4A	0.75 (11)
C3A—C4A—C5A—C6A	-176.57 (7)		

**Tableau2 :** Coordonnées atomiques fractionnées et paramètres de déplacement isotropes ou isotropes équivalents ( $\text{\AA}^2$ )

	x	y	z	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
Cl1	0.45616 (3)	0.20802 (1)	1.10368 (2)	0.0186 (1)
Cl2	0.39493 (3)	-0.08647 (1)	1.37197 (2)	0.0169 (1)
N1A	-0.05674 (11)	0.23564 (4)	0.42829 (7)	0.0184 (1)
N2A	-0.00417 (11)	0.16819 (4)	0.35160 (7)	0.0190 (2)
N3A	0.07421 (9)	0.13361 (4)	0.58198 (6)	0.0127 (1)
N4A	0.13609 (10)	0.08042 (4)	0.70251 (6)	0.0144 (1)
C1A	0.07092 (12)	0.10806 (5)	0.44611 (7)	0.0165 (2)
C2A	-0.00836 (11)	0.21365 (4)	0.56552 (8)	0.0158 (1)

C3A	0.20913 (10)	0.11850 (4)	0.82451 (7)	0.0128 (1)
C4A	0.26457 (10)	0.06765 (4)	0.95804 (7)	0.0118 (1)
C5A	0.21062 (10)	-0.01882 (4)	0.95588 (7)	0.0128 (1)
C6A	0.25220 (10)	-0.06701 (4)	1.08213 (7)	0.0132 (1)
C7A	0.34913 (10)	-0.02743 (4)	1.21289 (7)	0.0127 (1)
C8A	0.41044 (11)	0.05720 (4)	1.22043 (7)	0.0141 (1)
C9A	0.36821 (10)	0.10387 (4)	1.09203 (7)	0.0129 (1)
H1A	0.11670	0.05410	0.42310	0.0200*
H2A	-0.02770	0.24810	0.64190	0.0190*
H3A	0.22700	0.17870	0.82820	0.0150*
H5A	0.14400	-0.04500	0.86570	0.0150*
H6A	0.21530	-0.12560	1.07930	0.0160*
H8A	0.47940	0.08260	1.31080	0.0170*

**Tableau 3:** Paramètres de déplacement atomique ( $\text{\AA}^2$ ):

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$
Cl1	0.0238 (1)	0.0118 (1)	0.0174 (1)	-0.0040 (1)	0.0014 (1)	-0.0001 (1)
Cl2	0.0225 (1)	0.0158 (1)	0.0122 (1)	0.0015 (1)	0.0046 (1)	0.0039 (1)
N1A	0.0258 (3)	0.0146 (2)	0.0136 (2)	0.0036 (2)	0.0038 (2)	0.0023 (2)
N2A	0.0283 (3)	0.0169 (3)	0.0115 (2)	0.0028 (2)	0.0051 (2)	0.0017 (2)
N3A	0.0169 (2)	0.0112 (2)	0.0097 (2)	0.0011 (2)	0.0033 (2)	0.0012 (2)
N4A	0.0195 (2)	0.0124 (2)	0.0102 (2)	0.0014 (2)	0.0027 (2)	0.0020 (2)
C1A	0.0242 (3)	0.0145 (3)	0.0107 (2)	0.0023 (2)	0.0047 (2)	-0.0001 (2)
C2A	0.0208 (3)	0.0130 (2)	0.0132 (2)	0.0031 (2)	0.0041 (2)	0.0009 (2)
C3A	0.0147 (2)	0.0121 (2)	0.0114 (2)	0.0004 (2)	0.0033 (2)	0.0010 (2)
C4A	0.0133 (2)	0.0115 (2)	0.0104 (2)	0.0004 (2)	0.0031 (2)	0.0007 (2)
C5A	0.0146 (2)	0.0117 (2)	0.0116 (2)	-0.0003 (2)	0.0029 (2)	-0.0002 (2)
C6A	0.0153 (2)	0.0114 (2)	0.0126 (2)	0.0000 (2)	0.0036 (2)	0.0005 (2)
C7A	0.0145 (2)	0.0128 (2)	0.0110 (2)	0.0016 (2)	0.0041 (2)	0.0018 (2)
C8A	0.0177 (3)	0.0129 (2)	0.0108 (2)	0.0002 (2)	0.0027 (2)	0.0000 (2)
C9A	0.0154 (2)	0.0108 (2)	0.0119 (2)	-0.0005 (2)	0.0031 (2)	-0.0001 (2)

Symmetry codes: (i)  $-x+1, y+1/2, -z+5/2$ ; (ii)  $x, -y+1/2, z+1/2$ ; (iii)  $-x+1, -y, -z+2$ ; (iv)  $-x, -y, -z+2$ ; (v)  $-x+1, y-1/2, -z+5/2$ ; (vi)  $-x+1, -y, -z+3$ ; (vii)  $x, y, z+1$ ; (viii)  $-x, y+1/2, -z+3/2$ ; (ix)  $x, -y+1/2, z-1/2$ ; (x)  $-x, -y, -z+1$ ; (xi)  $-x, y-1/2, -z+3/2$ ; (xii)  $x, y, z-1$ .

## Annexe E: Résultats des expériences de diffraction des rayons X du ligand (L5) à 100 K.

**Tableau1 :** Paramètres géométriques ( $\text{\AA}$ ,  $^\circ$ )

O1—C7	1.3566 (12)	C9—C8	1.3811 (14)
O1—C10	1.4299 (12)	C6—H6	0.9300
N4—C2	1.3968 (12)	C6—C5	1.3874 (13)
N4—C3	1.2872 (12)	C6—C7	1.3995 (13)
N2—N1	1.3592 (12)	C5—H5	0.9300
N2—C2	1.3298 (12)	C3—H3	0.9300
N1—C1	1.3320 (13)	C7—C8	1.3939 (13)
N3—C2	1.3643 (12)	C8—H8	0.9300
N3—C1	1.3225 (13)	C1—H1	0.9300
C4—C9	1.4024 (13)	C10—H10A	0.9600
C4—C5	1.3967 (13)	C10—H10B	0.9600
C4—C3	1.4495 (13)	C10—H10C	0.9600
C9—H9	0.9300		
C7—O1—C10	117.61 (8)	C6—C5—H5	119.4
C3—N4—C2	116.39 (8)	N4—C3—C4	124.62 (9)
C2—N2—N1	102.21 (8)	N4—C3—H3	117.7
C1—N1—N2	109.71 (8)	C4—C3—H3	117.7
C1—N3—C2	102.15 (8)	O1—C7—C6	124.21 (9)
N2—C2—N4	119.73 (8)	O1—C7—C8	115.56 (8)
N2—C2—N3	114.73 (8)	C8—C7—C6	120.23 (9)
N3—C2—N4	125.53 (9)	C9—C8—C7	119.63 (9)
C9—C4—C3	118.13 (9)	C9—C8—H8	120.2
C5—C4—C9	118.39 (9)	C7—C8—H8	120.2
C5—C4—C3	123.48 (9)	N1—C1—H1	124.4
C4—C9—H9	119.4	N3—C1—N1	111.19 (9)
C8—C9—C4	121.20 (9)	N3—C1—H1	124.4
C8—C9—H9	119.4	O1—C10—H10A	109.5
C5—C6—H6	120.3	O1—C10—H10B	109.5
C5—C6—C7	119.39 (9)	O1—C10—H10C	109.5
C7—C6—H6	120.3	H10A—C10—H10B	109.5
C4—C5—H5	119.4	H10A—C10—H10C	109.5
C6—C5—C4	121.15 (9)	H10B—C10—H10C	109.5

**Tableau 2 :** Coordonnées atomiques fractionnées et paramètres de déplacement isotropes ou isotropes équivalents ( $\text{Å}^2$ )

	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
O1	0.7987 (2)	0.12268 (8)	0.45956 (3)	0.01728 (17)
N4	0.2902 (2)	0.64521 (9)	0.31720 (3)	0.01328 (16)

N2	0.0759 (2)	0.80599 (9)	0.25736 (3)	0.01546 (18)
N1	0.0460 (2)	0.95575 (9)	0.25457 (3)	0.01546 (18)
N3	0.2793 (3)	0.91607 (10)	0.32531 (3)	0.01798 (19)
C2	0.2194 (3)	0.78787 (11)	0.30050 (4)	0.01273 (18)
C4	0.5391 (3)	0.49860 (11)	0.38142 (4)	0.01318 (18)
C9	0.6775 (3)	0.50609 (11)	0.42817 (4)	0.01553 (19)
H9	0.715117	0.598154	0.442322	0.019*
C6	0.5732 (3)	0.23067 (11)	0.38539 (4)	0.01438 (18)
H6	0.539975	0.138521	0.371041	0.017*
C5	0.4900 (3)	0.35919 (11)	0.36056 (4)	0.01415 (18)
H5	0.399933	0.352387	0.329478	0.017*
C3	0.4496 (3)	0.63622 (11)	0.35764 (4)	0.01417 (18)
H3	0.511835	0.724231	0.372668	0.017*
C7	0.7076 (3)	0.24098 (11)	0.43222 (4)	0.01366 (18)
C8	0.7590 (3)	0.37921 (11)	0.45356 (4)	0.01561 (19)
H8	0.847672	0.385958	0.484732	0.019*
C1	0.1653 (3)	1.01761 (11)	0.29494 (4)	0.0184 (2)
H1	0.168182	1.119007	0.300982	0.022*
C10	0.7310 (3)	-0.02166 (11)	0.44059 (4)	0.0180 (2)
H10A	0.862809	-0.034811	0.409278	0.027*
H10B	0.482991	-0.031842	0.436166	0.027*
H10C	0.801602	-0.095219	0.463581	0.027*

**Tableau 3:** Paramètres de déplacement atomique ( $\text{\AA}^2$ ):

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$
O1	0.0232 (4)	0.0153 (3)	0.0141 (3)	-0.0002 (3)	-0.0075 (3)	0.0028 (2)
N4	0.0156 (4)	0.0122 (3)	0.0123 (3)	-0.0005 (3)	-0.0029 (3)	0.0015 (3)
N2	0.0220 (4)	0.0117 (4)	0.0132 (4)	-0.0010 (3)	-0.0050 (3)	0.0009 (3)
N1	0.0204 (4)	0.0126 (4)	0.0139 (4)	-0.0005 (3)	-0.0048 (3)	0.0011 (3)
N3	0.0269 (5)	0.0123 (4)	0.0158 (4)	0.0007 (3)	-0.0088 (3)	-0.0010 (3)
C2	0.0146 (4)	0.0123 (4)	0.0116 (4)	-0.0007 (3)	-0.0025 (3)	0.0001 (3)
C4	0.0138 (4)	0.0140 (4)	0.0120 (4)	-0.0003 (3)	-0.0029 (3)	0.0011 (3)
C9	0.0185 (4)	0.0157 (4)	0.0130 (4)	-0.0006 (3)	-0.0049 (3)	-0.0012 (3)
C6	0.0171 (4)	0.0140 (4)	0.0126 (4)	-0.0003 (3)	-0.0046 (3)	0.0003 (3)
C5	0.0160 (4)	0.0154 (4)	0.0114 (4)	-0.0005 (3)	-0.0043 (3)	0.0004 (3)
C3	0.0159 (4)	0.0142 (4)	0.0127 (4)	-0.0007 (3)	-0.0031 (3)	0.0001 (3)
C7	0.0137 (4)	0.0158 (4)	0.0118 (4)	-0.0003 (3)	-0.0029 (3)	0.0014 (3)
C8	0.0188 (4)	0.0169 (4)	0.0118 (4)	-0.0004 (3)	-0.0055 (3)	-0.0001 (3)
C1	0.0267 (5)	0.0129 (4)	0.0167 (4)	0.0008 (4)	-0.0083 (4)	0.0003 (3)
C10	0.0210 (5)	0.0154 (4)	0.0184 (4)	-0.0006 (3)	-0.0056 (4)	0.0023 (3)

## Annexe F: Les spectres RMN $^1\text{H}$ des cinq bases de Schiff élaborées

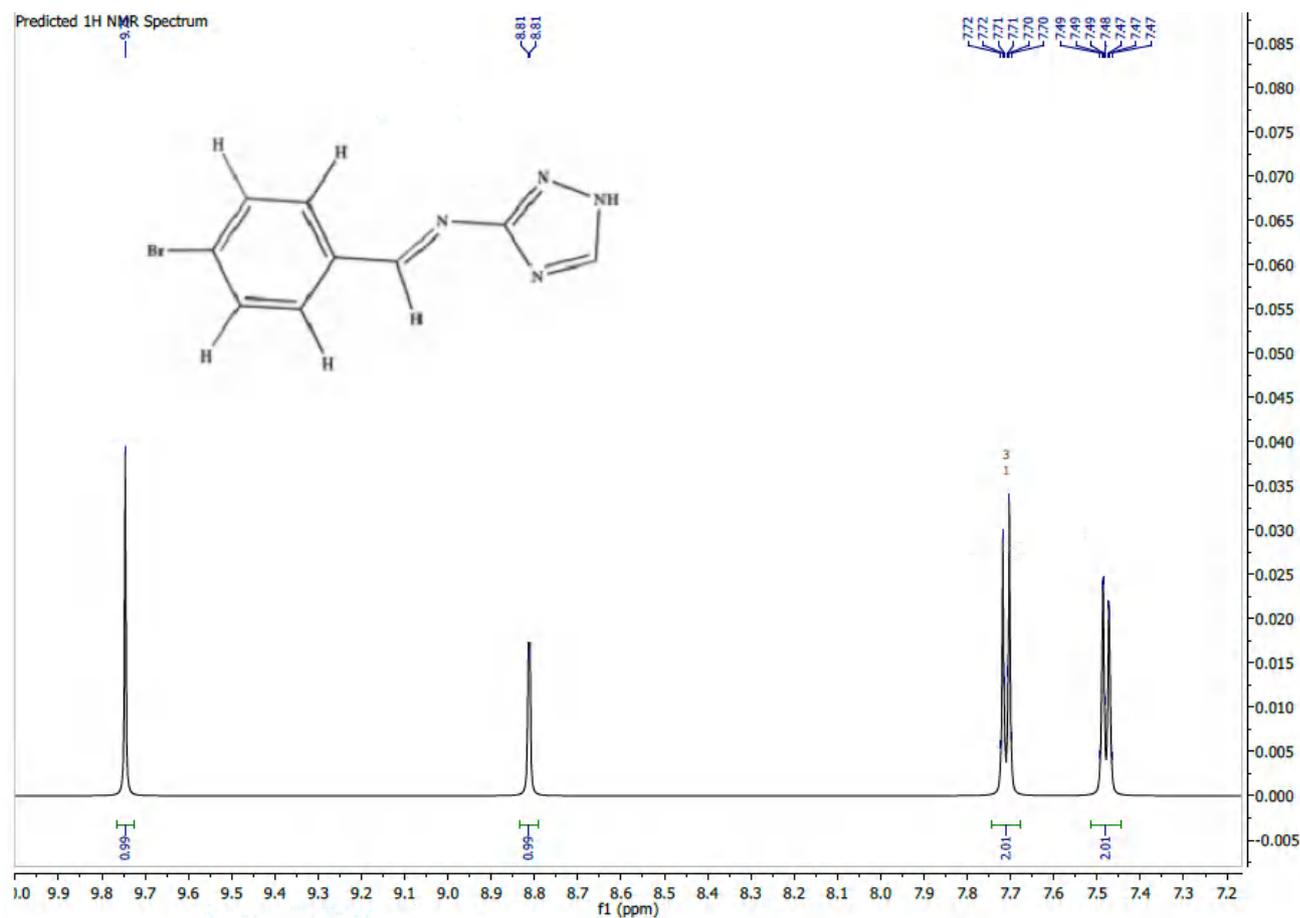


Figure 1: RMN H1 du Composé L1

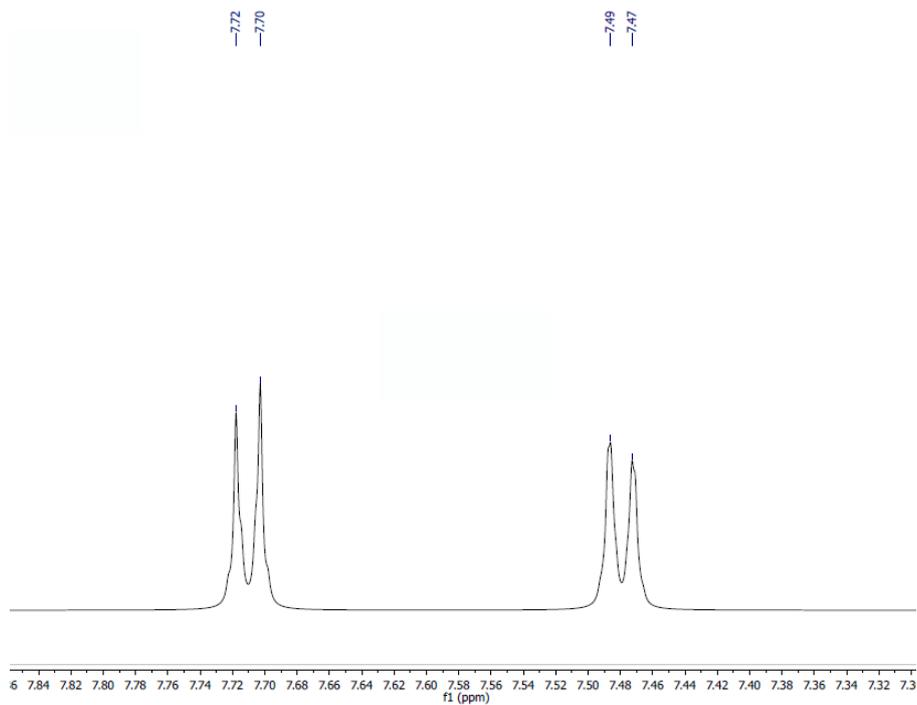


Figure 2: Zoom partie aromatique L1

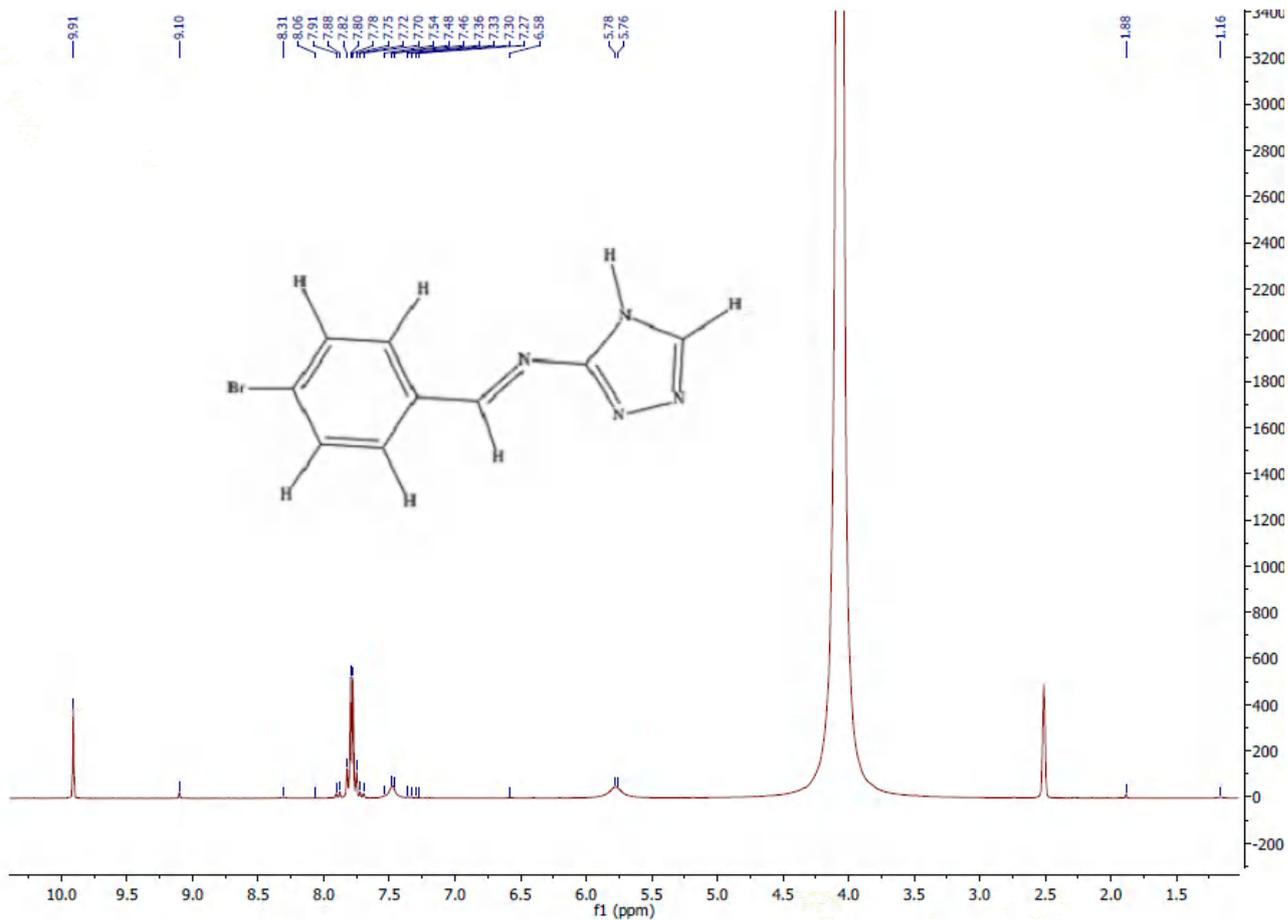


Figure 3: RMN H1 du Composé L2

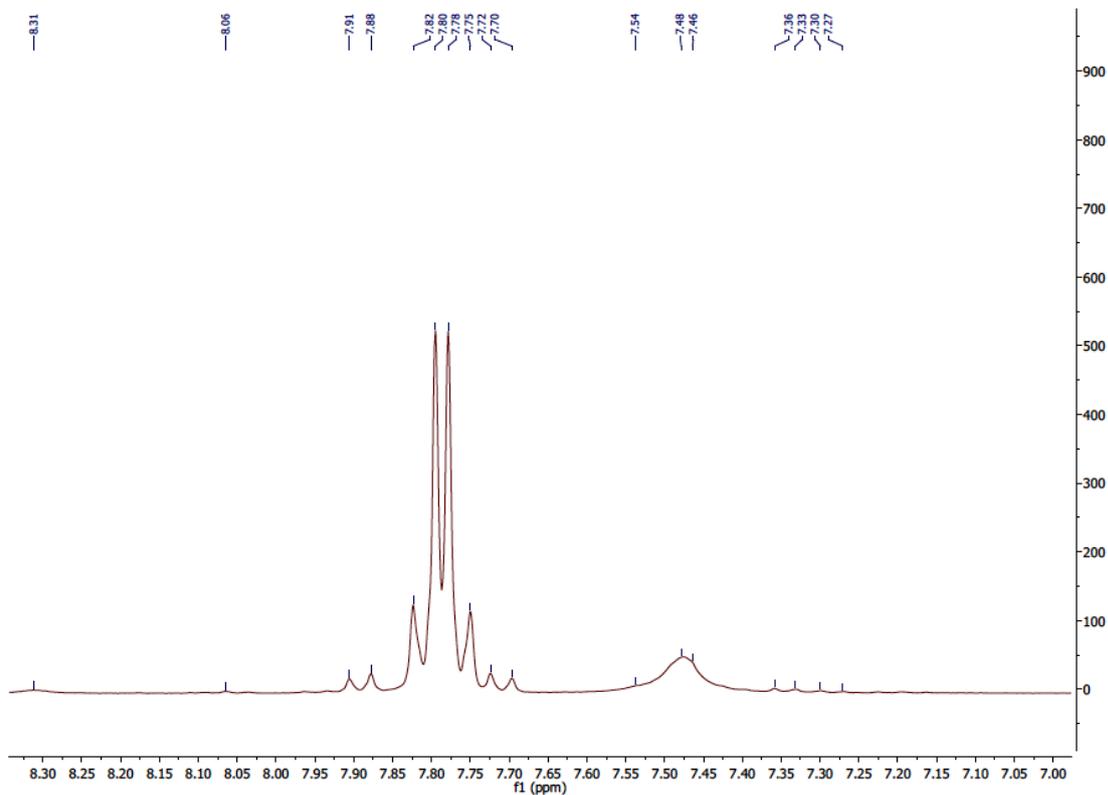


Figure 4: Zoom partie aromatique L2

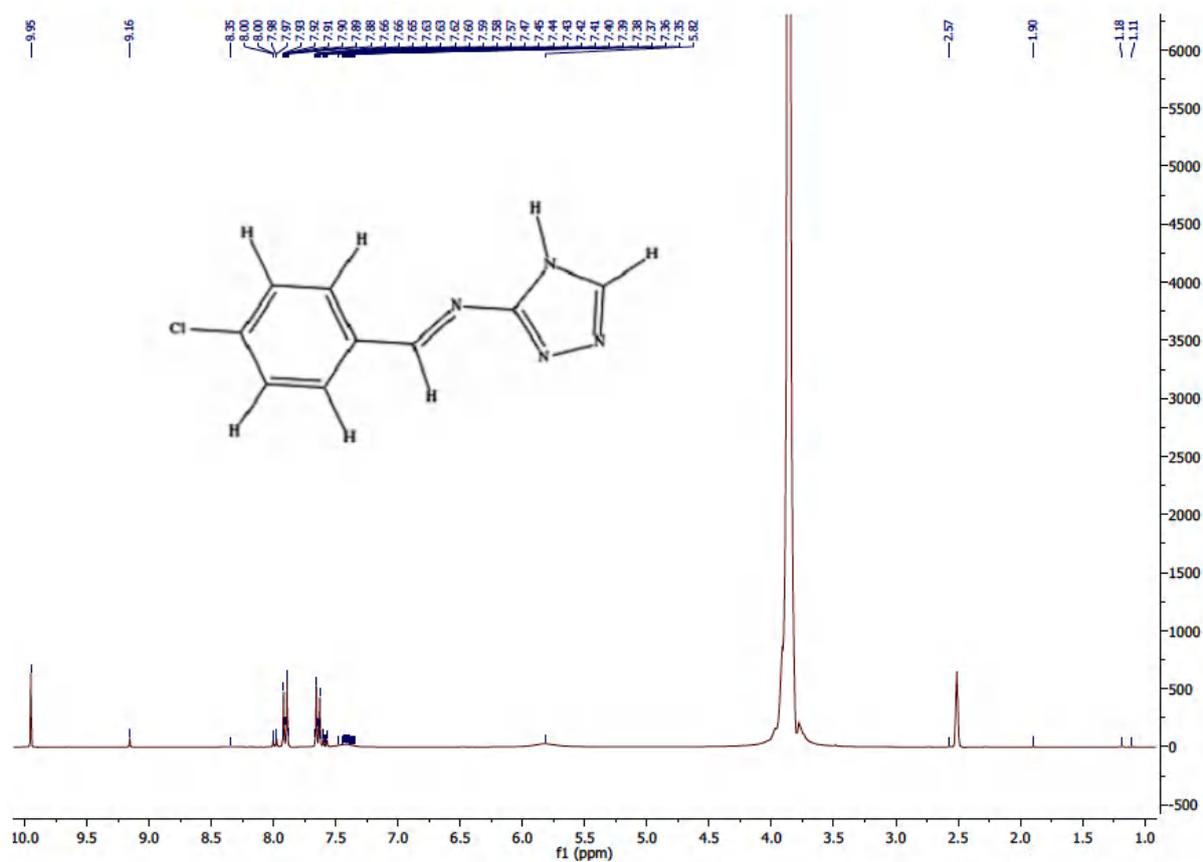


Figure 5: RMN H1 du Composé L3

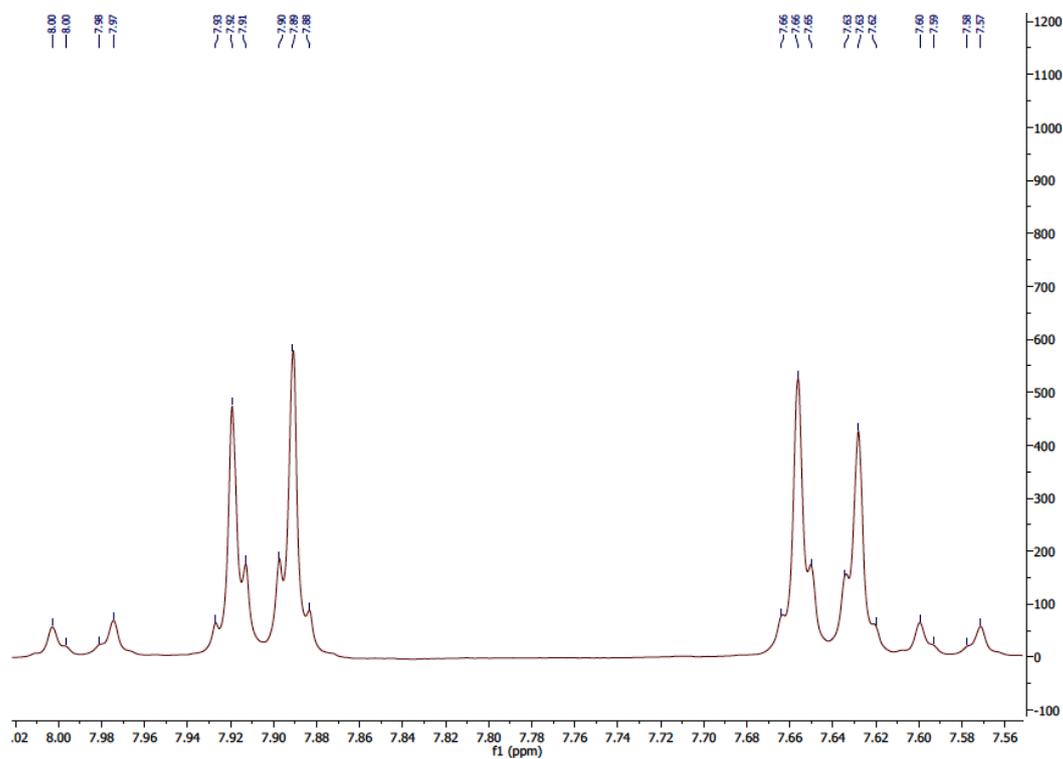


Figure 6: Zoom partie aromatique L3

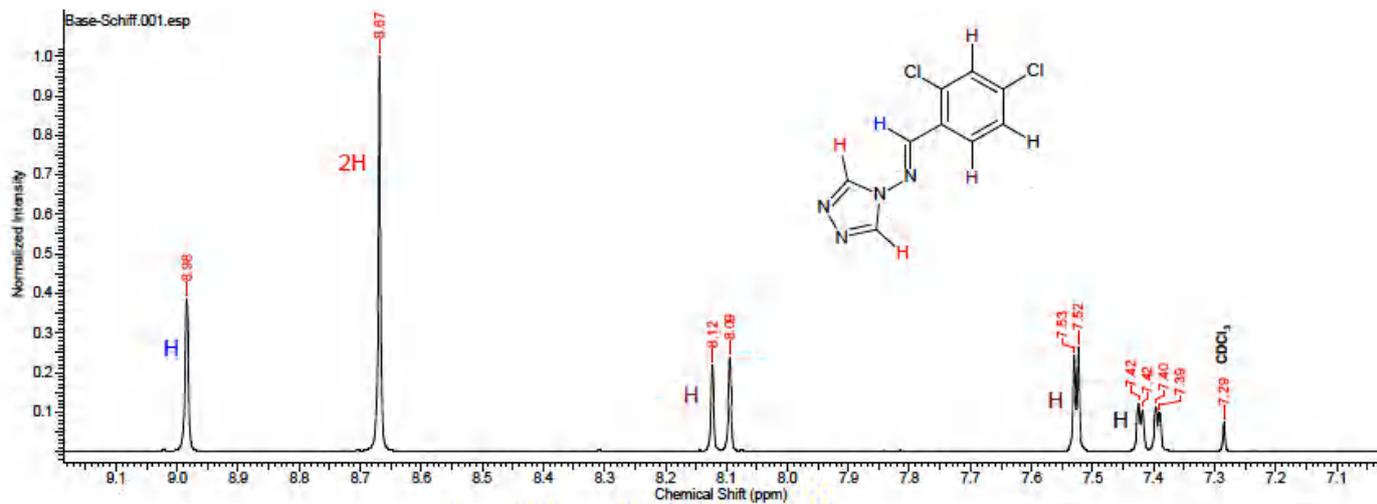


Figure 7: RMN H1 du Composé L4

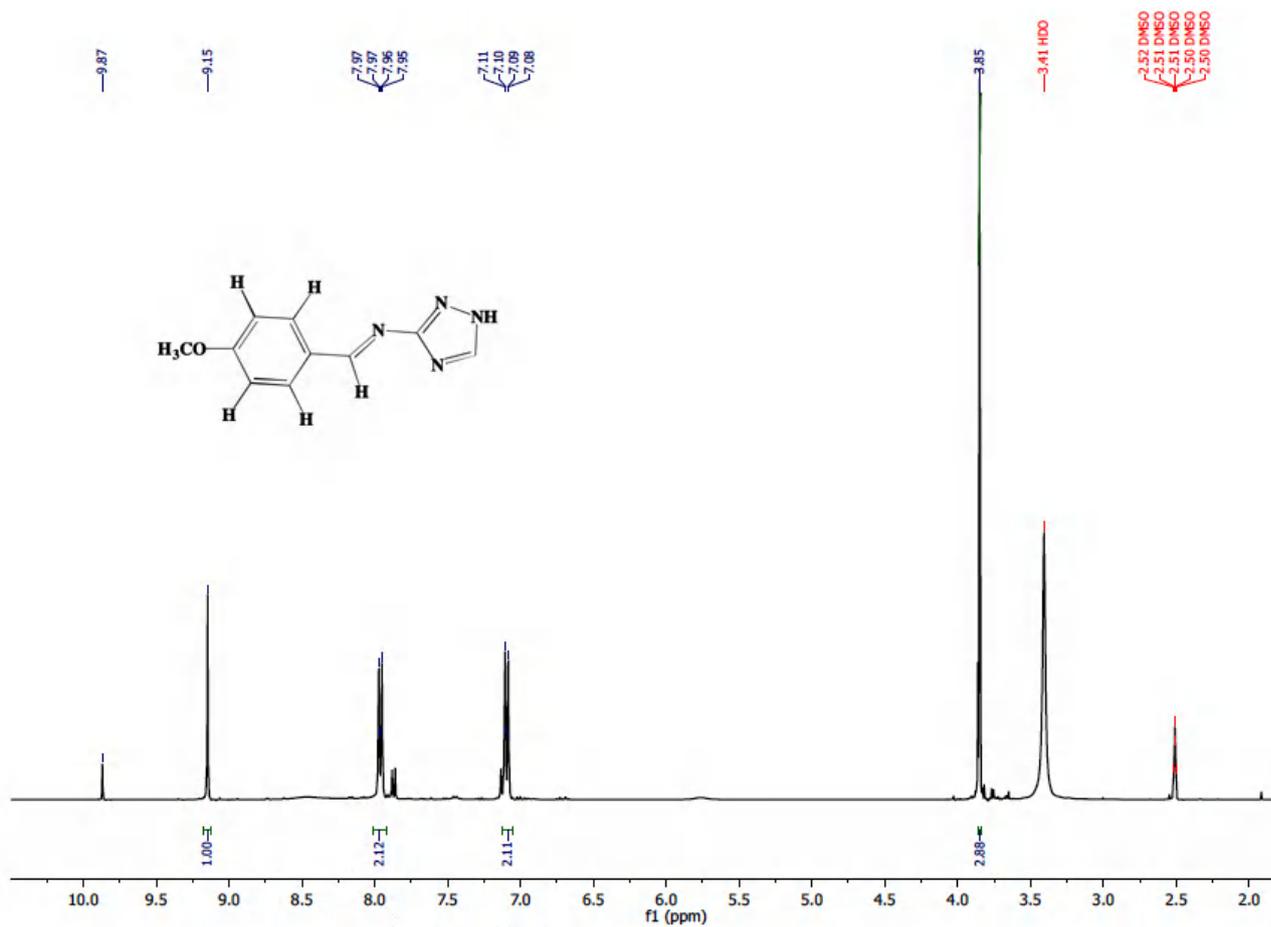


Figure 7: RMN H1 du Composé L5

# Résumé

## Résumé

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre de la caractérisation spectroscopique et structurale par la diffraction des RX, étude des propriétés optiques non linéaires et biologiques de nouveaux composés organiques à base de triazole, ainsi que le docking moléculaire.

L'optimisation de la synthèse a permis l'obtention de cinq bases de schiff halogénés pour (L1), (L2), (L3), (L4) et un méthoxyle pour (L5).

L'étude biologique prometteuse obtenue auparavant au sein de notre équipe, nous a incité et orienté vers l'étude de l'effet de la substitution sur l'activité biologique, afin de déterminer le ou les groupements responsables de ces activités, d'une part, et procéder à l'investigation et l'optimisation par le docking moléculaire, d'autre part.

L'étude des propriétés biologiques des cinq bases de Schiff obtenus, a révélé une bonne activité antifongique contre un phytopathogène. Tandis que les résultats de l'activité antibactérienne ont montré que nos composés sont inactifs contre certaines souches testées et actifs et moyennement actifs contre d'autres.

L'investigation des propriétés optiques non linéaire, sur les trois bases de Schiff (L1), (L2) et (L3), montre une bonne réponse à la seconde (SHG) et troisième harmonique (TH) dépassant même la référence LiNbO<sub>3</sub>.

Le docking moléculaire nous a permis de prédire l'affinité et les modes d'interactions entre les différents ligands et la protéine responsable de l'activation des quatre microorganismes préalablement testés *in vitro*.

Cette approche nous a permis de corrélérer entre l'étude biologique effectuée expérimentalement *in vitro* et l'approche par simulation théorique *in silico*.

**Mots clés :** Bases de Schiff halogénés, 1,2,4-Triazole, Diffraction des rayons X, Docking moléculaire, propriétés biologiques, Propriétés optique non linéaire.

## Abstract

This thesis work is part of the spectroscopic and structural characterisation by X-ray diffraction as well as the non-linear optical and biological properties of Schiff bases containing triazole-moieties, as well as molecular docking.

The promising biological results previously obtained in our team, prompted us to study the effect of substitution on biological activity, in order to determine the group(s) responsible and influencing these activities, on the one hand, and to proceed with the investigation and optimisation by molecular docking, on the other hand.

The study of the biological properties of the five Schiff bases revealed good antifungal activity against a plant pathogen. While the results of the antibacterial activity showed that our compounds are inactive against some tested strains and moderately active against others.

Investigation of the non-linear optical properties, on the three Schiff bases (L1), (L2) and (L3), shows a good response to the second (SHG) and third harmonic (TH) even exceeding the LiNbO<sub>3</sub> reference.

Molecular docking allowed us to predict the affinity and interaction modes between the different ligands and the protein responsible for the activation of the four microorganisms previously tested *in vitro*.

This approach by molecular docking allowed us to correlate the biological study carried out experimentally *in vitro* and the theoretical simulation approach *in silico*.

**Key words :** Halogenated Schiff bases, 1,2,4-Triazole, X-ray diffraction, Molecular docking, Biological properties, Non-linear optics.

## ملخص

يعد هذا العمل جزءاً من التوصيف الطيفي والتركيبى بواسطة حيود الأشعة السينية بالإضافة إلى الخصائص البصرية غير الخطية والبيولوجية للمركبات العضوية القائمة على التريازول، وكذلك الالتحام الجزيئي. دفعتنا النتائج البيولوجية الواعدة التي تم الحصول عليها سابقاً داخل فريقنا إلى دراسة تأثير الاستبدال على النشاط البيولوجي، من أجل تحديد المجموعة (المجموعات) المسؤولة عن هذه الأنشطة، من ناحية، والمضي قدماً في التحقيق و التحسين من خلال الالتحام الجزيئي، من ناحية أخرى. كشفت دراسة الخصائص البيولوجية للقواعد الخمسة لـ Schiff عن نشاط مضاد للفطريات جيد ضد مسببات الأمراض النباتية. بينما أظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا أن مركباتنا غير نشطة ضد بعض السلالات المختبرة ونشطة بشكل معتدل ضد البعض الآخر. يُظهر التحقيق في الخصائص البصرية غير الخطية، على قواعد شيف الثلاثة (L1) و (L2) و (L3)، استجابة جيدة للثاني (SHG) والثالث التوافقي (TH) تتجاوز حتى المرجع  $\text{LiNbO}_3$ . مكنتنا الالتحام الجزيئي من التنبؤ بألفة وأنماط التفاعل بين مختلف الروابط والبروتينات المسؤولة عن تنشيط الكائنات الحية الدقيقة الأربعة التي تم اختبارها سابقاً في المختبر. سمح لنا هذا النهج بالربط بين الدراسة البيولوجية التي أجريت تجريبياً في المختبر ونهج المحاكاة النظرية في السيليكون.

**الكلمات المفتاحية:** قواعد شيف، 1، 2، 4-تريازول، حيود الأشعة السينية، الالتحام الجزيئي، الخصائص البيولوجية، البصريات اللاخطية.