

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE
N° :



DOMAINE: Sciences de la matière
FILIERE: Chimie
OPTION: Chimie pharmaceutique

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par :

BAALI ABIR

AMROUCHE CHEYMA NOR ALLAH

Intitulé

Caractérisations des substances azoïques et leurs applications dans le domaine pharmaceutique

Soutenu le : 23/06/2025 devant le jury

Dr. Aldjia Hadroug	Université Mohamed Boudiaf - M'sila	Président
Dr. Nabila Benabila	Université Mohamed Boudiaf - M'sila	Examineur
Dr. Souheyla Chetioui	Université Mohamed Boudiaf - M'sila	Rapporteur

Année universitaire : 2024/2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements

« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage »

Nous remercions tout d'abord notre **Allah** le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Car l'homme repose mais dieu dispose, également nous remercions infiniment nos parents, qui nous ont encouragé et aidé à arriver à ce stade

Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique du département de chimie de la faculté des sciences, université Mohammed Boudiaf de M'sila et CRBT de Constantine

Nous tenons tout d'abord à remercier très sincèrement notre directrice de mémoire **Dr. Souheyla CHETIOUI** pour nous avoir suivi, encadré et soutenu tout au long de ce travail. Nous la remercions pour ses conseils scientifiques, son aide et son encouragement

Nous remercions également les membres du jury : **Dr. Aldjia Hadroug** et **Dr. BENABILA Nabila** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Avec toute notre estime et notre reconnaissance à **Dr. Ouafa Boukhemis**, Pour son soutien précieux et son aide généreuse dans les laboratoires de chimie au CRBT de Constantine. Nos sincères remerciements.

Un grand merci pour **Hamla Imane** l'ingénieur des laboratoires
Toutes nos reconnaissances envers les personnages qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail



Dédicace

*C'est avec grand plaisir que je dédie ce modeste travail
Mes très chers Parents sans leurs amours, leurs sacrifices
et leurs
Encouragements je ne serais jamais arrivée à réussir dans
mes études. Je sais bien
Quel que soit les remerciements que je leurs adresse c'est
peu, que Dieu les protège et
Leur donne la santé et une longue vie.
Pour leurs patiences, leurs amours, leurs soutiens et leurs
encouragements
A la source de tendresse et d'amour « mes frères et sœurs »
Ikram , Abd elmoumen, ahmed , Adem
A mes chères amies: fayza, asmaa, zina,
Vous resterez dans ma mémoire pour toujours
et à toute la promotion 2025.
Merci d'être toujours là pour nous.*

Abir



Dédicace

Au terme de ce travail

Nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir donné la foi, la volonté et le courage afin d'arriver à réaliser ce modeste travail.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral, ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon cher papa.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, maman que j'adore.

Avec un cœur reconnaissant et une âme remplie d'amour, je dédie cette réussite à :

*À mon âme sœur Maroua Hibat Allah, je lui offre ce modeste travail, symbole de mon amour et de ma gratitude pour tout ce qu'elle m'a donné
À mes sœurs, mes étoiles filantes, Lina et Roaa merci d'être toujours là pour m'éclairer*

À Mohammed Zine Eddine tous les rires et les moments de joie qu'il a apportés dans ma vie.

*A mon frère El Hadj Ali, mon pilier, mon confident, mon ami. Merci d'avoir été là pour moi, dans les bons comme dans les mauvais moments.
À travers ces lignes, j'exprime tous les sentiments d'amour et de tendresse qui unissent nos cœurs.*

Que l'amour et la fraternité nous lient pour toujours. J'ai la chance de vous avoir, je vous adore

A ma tante Amina merci pour tes encouragements tout au long de mon parcours

À mes rayons de soleil mes amies Madjda et Amira avec affection et gratitude. Ces moments passés ensemble resteront à jamais gravés dans mon cœur.

*À ceux dont la présence aurait rendu ce moment plus beau et plus profond,
Ma grand-mère bien-aimée et ma chère tante.*

*Comme j'aurais aimé que vous soyez là, partageant avec moi ce moment que j'ai toujours rêvé de voir comblé par vos regards et vos prières,
Mais le destin a voulu que nos corps se séparent, mais nos âmes restent avec nous.*

Veillez trouver, dans ce modeste travail, le fruit de vos conseils et l'expression de notre profonde affection et notre vive reconnaissance. Que Dieu vous protège et vous garde pour nous. Nous vous aimons énormément.

Cheyma

Table des matières

Introduction générale:.....	2
-----------------------------	---

Chapitre I : Généralités sur les composés Azoïques

1. Introduction:.....	6
2. Définition des composés azoïques :.....	6
3. Caractéristiques des composés Azoïques :.....	7
3.1. Les composés azoïques homocycliques:.....	7
3.2. Les composés azoïques hétérocycliques :	7
3.3. Isomérie Z/E:	8
3.4. Tautomérie :.....	9
4. Classification des composés azoïques	10
4.1. Composés azoïques aliphatiques	10
4.2. Composés azoïques aromatiques	10
5. Applications Médicales des Composés Azo	11
5.1. Les composés azoïques comme vecteurs de médicaments.....	11
5.2. Les composés azoïques comme agents anticancéreux:	14
5.3. Agents Antibactériens :	17
5.4. Applications Antivirales :	18
5.5. Composés Azoïques Antituberculeux:	18

Chapitre II : Synthèse et caractérisation des composés azoïques

1. Introduction	23
2. Préparation générale des azoïques:	23
2.1. Diazotation :.....	25
2.2. Copulation :.....	24
2.3. Recristallisation :.....	25
2.3.1. Définition :.....	25
2.3.2. Principe de base :.....	25
2.3.3. Étapes de la recristallisation :.....	25
3. Les mécanismes de la réaction :.....	26
4. Résultats expérimentaux :.....	27
5. Analyse et interprétation des spectres des composés préparés :	29
5.1. Analyse Infrarouge IR :	29

5.2. Analyse RMN :	30
5.3. Spectroscopie UV-Visible.....	31
6. Etude cristallographique des composés synthétisés.....	34
6.1 Détermination et résolution structurale	34
6.1.1. Etude structurale du composé (E)-1-(1-(5-chloro-2-hydroxyphenyl)diazen-1-ium-2-yl)naphthalen-2-olate	34
6.1.2. Etude structurale du composé 1-[(E)-2-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)-diazen-2-ium-1-yl]naphthalen-2-olate	35

Chapitre III : Activités biologiques des substances azoïques

1. Introduction.....	38
2. L'application des composés azoïques dans le domaine pharmaceutique et thérapeutiques	38
3. Activitiés biologiques de substances azoïques synthétisés :	41
3.1. Activité antioxydantes :	41
3.1.1. Principes des méthodes de dosage des antioxydants :	41
• Dosage de la capacité antioxydante des radicaux hydroxyles (HORAC).....	42
• Trolox Equivalen tAntioxidant Capacity (TEAC) Method:.....	42
• La méthode DPPH :.....	42
3.2. Activités anti-oxydantes des composés azoïques :	42
3.2.1. L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH	42
• Principe de réactionl	43
• Protocole :.....	43
• Résultats et discussion :.....	44
3.2.2. L'activité de piégeage des radicaux libres ABTS.....	45
• Principe :	46
• Protocole :	46
• Résultants et discussion :.....	49
3.3. l'activité anti-inflammatoire	50
3.3.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :	50
• Inhibition de la dénaturation de BSA :	50
• Protocole :.....	50
• Resultats et discussion :.....	51
3.4. Activité antibactérienne :	52
3.4.1. Techniques d'études in vitro du pouvoir antimicrobien.....	53

3.4.2. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en puits sur gélose :.....	53
• Les souches utilisées :.....	53
• La méthode utilisée :.....	53
• Résultats et discussion :.....	54
Conclusion générale	56
Références.....	58
Annexes.....	65
Résumé	69

Liste des figures

Figure I. 1 : Groupement fonctionnel azo	7
Figure I. 2 : Les deux formes isomères : Z et E de molécule d'azobenzène	8
Figure I. 3 : Les conformations Trans/Cis : Z et E de molécule d'un Azobenzène.....	9
Figure I. 4 : Tautomérie dun colorant orange.....	9
Figure I. 5 : (A-D). Exemples de promédicaments azoïques.....	14
Figure I. 6 : Structures des composés azoïques actifs ; sulfasalazine (A) azoïques (B, C) et dérivés de bases de Schiff à base azoxy	16
Figure I. 7 : Dérivés de composés azoïques comme composés anticancéreux.....	16
Figure I. 8 : Dérivés azoïques comme antibactériens..	17
Figure I. 9 : Synthèse des ligands hydrazone (HL1–HL2) (1–2) et de leurs complexes métalliques de transition (3–10).....	19
Figure I. 10 : Synthèse des azo-adduits TCS 11a-k.....	20
Figure I. 11 : Colorants azoïques à base de coumarine-benzothiazole [55]	21
Figure I. 12 : Structures of Phenazopyridine (A), Balsalazide (B).....	21
Figure II. 1: La formulation de composé azoïque.....	24
Figure II. 2 : La filtration du produit finale	24
Figure II. 3: Spectre UV-vis du composé (E)-1-(1-(5-chloro-2-hydroxyphenyl)diazen-1-ium-2-yl)naphthalen-2-olat	33
Figure II. 4: Spectre UV-vis du composé (E)-1-(1-(5-chloro-2-hydroxyphenyl)diazen-1-ium-2-yl)naphthalen-2-olat	33
Figure II. 5: Unité asymétrique du composé (E)-1-(1-(5-chloro-2-hydroxyphenyl)diazen-1-ium-2-yl)naphthalen-2-olate	35
Figure II. 6: Unité asymétrique du composé 1-[(E)-2-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)-diazen-2-ium-1-yl]naphthalen-2-olate.....	36
Figure III. 1: Réduction de DPPH par un antioxydant	43
Figure III. 2: Résultats du test DPPH sur microplaques (trois répétitions pour chaque composé respectivement et la concentration augmente selon les numérotations de 1-7)	44
Figure III. 3: Formation et réduction du radical ABTS \bullet^+ par un antioxydant donneur de H^\bullet 46	
Figure III. 4: Résultats du test ABTS sur microplaques.....	48
Figure III. 5: Résultats du inti-inflammatoire sur microplaques.....	51

Figure III. 6 : Inhibition de la dénaturation de la BSA induite par la chaleur. Composé P1 (A), Composé P2 (B) et le standard diclofenac de sodium (C).	52
Figure III. 7 : Résultats de l'activité antimicrobienne des molécules produits en utilisant la méthode de diffusion en puits sur gélose.	54

Liste des tableaux

Tableau II. 1: Les composés synthétisés	28
Tableau II. 2: Bandes IR caractéristiques des principaux groupements fonctionnels	30
Tableau II. 3: Signaux RMN ^1H caractéristiques des composés synthétisés (ppm).....	30
Tableau II. 4: Pics RMN ^{13}C caractéristiques des composés synthétisés (ppm)	31
Tableau III. 1: Récapitulatif des résultats de pourcentages d'inhibition et de IC50 des extraits testés et des standards utilisés du test DPPH.....	45
Tableau III. 2: Récapitulatif des résultats de pourcentages d'inhibition et de IC50 des extraits testés et des standards utilisés du test ABTS.....	50
Tableau III. 3: Zone d'inhibition (mm).....	55

Liste des schémas

Schéma 1 : Mécanisme général de la synthèse des composés azoïques.....27

Schéma 2 : Schéma réactionnel de la synthèse des composés azoïques.....28

Schéma 3 : Les formes tautomères azo et quinonehydrazone.....32

Abréviations

1. **AIBN** : Azobisisobutyronitrile (Initiateur de polymérisation radicalaire).
2. **QSAR** : Relation Quantitative Structure-Activité (Modélisation des propriétés chimiques).
3. **QPAR** : Relation Quantitative Structure-Propriété (Évaluation des propriétés physico-chimiques).
4. **VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine (Pathogène ciblé par les composés antiviraux).
5. **VHB** : Virus de l'Hépatite B (Cible thérapeutique mentionnée).
6. **VHC** : Virus de l'Hépatite C (Cible des dérivés azoïques antiviraux).
7. **IR** : Spectroscopie Infrarouge (Analyse des groupements fonctionnels).
8. **RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire (Caractérisation des protons et carbones).
9. **RMN ¹H** : RMN du Proton (Détection des atomes d'hydrogène).
10. **RMN ¹³C** : RMN du Carbone 13 (Analyse des environnements carbonés).
11. **UV-Vis** : Spectroscopie Ultraviolet-Visible (Étude des transitions électroniques).
12. **DRX** : Diffraction des Rayons X (Détermination des structures cristallines).
13. **CCD** : Détecteur à Couplage de Charge (Utilisé en diffraction des rayons X).
14. **BSA** : Albumine Sérique Bovine (Modèle protéique pour les tests anti-inflammatoires).
15. **DPPH** : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle (Radical utilisé pour les tests antioxydants).
16. **ABTS** : Acide 2,2'-Azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (Radical cationique pour les tests antioxydants).
17. **HORAC** : Capacité Antioxydante des Radicaux Hydroxyles (Méthode de dosage).
18. **TEAC** : Capacité Antioxydante Équivalente au Trolox (Mesure comparative).
19. **IC50** : Concentration Inhibitrice 50% (Efficacité d'un composé).
20. **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice (Activité antimicrobienne).
21. **PDA** : Potato Dextrose Agar (Milieu de culture pour champignons).

22. **COX-2** : Cyclooxygénase-2 (Enzyme ciblée par les anti-inflammatoires).
23. **LOX** : Lipoxygénase (Enzyme impliquée dans l'inflammation).
24. **BHA** : Butylhydroxyanisole (Antioxydant de référence).
25. **BHT** : Butylhydroxytoluène (Antioxydant synthétique comparatif).
26. **FDA** : Food and Drug Administration (Organisme de régulation des médicaments).
27. **MSN** : Nanoparticules Mésoporeuses de Silice (Vecteurs pour médicaments).
28. **PEG** : Polyéthylène Glycol (Polymer utilisé en vectorisation).
29. **NIR** : Proche Infrarouge (Lumière utilisée pour activer des composés).
30. **ORAC** : Capacité d'Absorption des Radicaux Oxygénés (Méthode antioxydante).
31. **MABA** : Méthode d'Analyse par Bleu de Méthylène (Test antituberculeux).

Introduction générale

Introduction générale :

Les composés azoïques représentent une classe d'une importance capitale dans la chimie organique moderne, occupant une place prépondérante dans la recherche scientifique et les applications industrielles en raison de leurs propriétés uniques et de leur diversité structurale. Ces composés sont caractérisés par la présence du groupe fonctionnel distinctif (-N=N-), qui constitue l'épine dorsale de leur structure moléculaire, leur conférant des propriétés chimiques et physiques exceptionnelles qui ont attiré l'attention des chercheurs depuis leur découverte au XIXe siècle.

L'importance des composés azoïques découle de leurs applications étendues couvrant divers domaines industriels et scientifiques. Dans les industries textile et alimentaire, ils sont largement utilisés comme colorants en raison de leurs couleurs vives et de leur stabilité chimique. Dans le domaine pharmaceutique, ils se distinguent comme composés biologiquement actifs présentant des potentialités thérapeutiques prometteuses, de nombreuses études ayant démontré leur efficacité en tant qu'agents antibactériens, antiviraux et inhibiteurs de la croissance des cellules cancéreuses, ainsi que leur utilisation dans des systèmes intelligents d'administration de médicaments.

D'un point de vue chimique, les composés azoïques se caractérisent par leur capacité à subir une photoisomérisation entre les formes cis et trans, une propriété unique exploitée dans des applications technologiques avancées telles que le stockage optique de données et les matériaux intelligents contrôlables à distance. Ces composés présentent également le phénomène de tautomérisation entre les formes azoïque et hydrazonique, ajoutant ainsi une autre dimension à leur diversité chimique et ouvrant de nouvelles perspectives pour des applications pratiques.

Dans le domaine médical et pharmaceutique, les composés azoïques ont joué un rôle central dans le développement de nombreux agents thérapeutiques. Parmi les exemples les marquants figurent la sulfasalazine (Sulfasalazine) utilisée dans le traitement des maladies inflammatoires intestinales, et le prontosil, considéré comme le premier antibiotique de la classe des sulfamides. Le mécanisme d'action de nombreux de ces composés repose sur leur capacité à se dégrader sélectivement dans le côlon sous l'action des enzymes bactériennes intestinales, ce qui en fait des systèmes idéaux pour l'administration de médicaments au niveau colique.

Malgré ces potentialités prometteuses, l'utilisation des composés azoïques dans les applications pharmaceutiques fait face à certains défis, notamment les préoccupations liées à leur toxicité potentielle et à leurs effets secondaires. En effet, certains de ces composés peuvent se transformer en dérivés aminés potentiellement cancérigènes, nécessitant ainsi des études approfondies pour évaluer leur innocuité et leur efficacité. Ce défi particulier stimule les recherches actuelles visant à concevoir de nouveaux dérivés azoïques plus sûrs tout en préservant leur efficacité thérapeutique.

Dans ce contexte, ce mémoire se présente comme une étude exhaustive des composés azoïques sous divers aspects, allant des fondamentaux chimiques et des méthodes de synthèse, en passant par leurs propriétés physicochimiques et leurs applications pratiques, jusqu'à l'évaluation de leur activité biologique et de leur potentiel thérapeutique. Cette étude s'appuie sur une méthodologie intégrative combinant des analyses en laboratoire et une caractérisation utilisant les techniques analytiques les plus avancées telles que la spectroscopie infrarouge (IR), la résonance magnétique nucléaire (RMN), la spectroscopie ultraviolette-visible (UV-Vis), ainsi que des études cristallographiques par diffraction des rayons X (DRX).

Ce mémoire est divisé en trois chapitres principaux :

Chapitre I : Il aborde les aspects théoriques des composés azoïques, incluant leur définition, leur classification, leurs propriétés chimiques et physiques, ainsi que les mécanismes de leurs réactions fondamentales. Ce chapitre passe également en revue les applications historiques et actuelles de ces composés dans divers domaines.

Chapitre II : Il se concentre sur les aspects pratiques de la synthèse et de la caractérisation des composés azoïques. Les méthodes de laboratoire pour la préparation de ces composés via les réactions de diazotation et de couplage azoïque y sont expliquées, en mettant l'accent sur les facteurs influençant le rendement réactionnel et la pureté du produit. Les techniques analytiques utilisées pour la caractérisation de ces composés et la détermination de leurs structures sont ensuite présentées.

Chapitre III : Il est consacré à l'étude de l'activité biologique des composés azoïques et de leurs applications pharmaceutiques. Les mécanismes moléculaires de leur efficacité thérapeutique y sont analysés, avec des exemples concrets de leurs utilisations médicamenteuses. Ce chapitre traite également des défis actuels et des orientations futures dans le développement de nouveaux dérivés azoïques plus sûrs et plus efficaces.

À travers ce travail exhaustif, nous visons à offrir une vision intégrée des composés azoïques, des fondamentaux chimiques jusqu'aux applications les plus récentes dans le domaine pharmaceutique. Nous cherchons également à mettre en lumière les opportunités et

Introduction générale

les défis dans ce domaine de recherche vital, qui recèle encore de nombreuses potentialités inexploitées pouvant contribuer au développement d'une nouvelle génération de composés thérapeutiques efficaces et sûrs.

Chapitre I
Généralités sur les composés
azoïques

1. Introduction

Les composés azoïques (-N=N-) représentent une classe importante de composés organiques aux applications variées [1]. Ils se caractérisent par la présence d'une liaison azo dans leur structure moléculaire, ce qui leur confère des propriétés chimiques et physiques uniques [2].

Dans le domaine médical, ces composés ont démontré une activité inhibitrice remarquable sur la synthèse des protéines et de l'ARN [3], ainsi qu'une action antibactérienne contre des souches comme *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* [4]. Leur potentiel comme agents anticancéreux a également été étudié [5]. Face à l'augmentation de la résistance aux antibiotiques, la recherche de nouveaux composés azoïques plus efficaces est devenue cruciale [6].

D'un point de vue chimique, ces composés sont utilisés dans la préparation de complexes de coordination [7] et comme réactifs analytiques pour la détection des éléments métalliques [8]. Ils jouent également un rôle important comme intermédiaires en synthèse organique [9].

Les composés azoïques aromatiques présentent une stabilité élevée due au phénomène de résonance entre la liaison azo et les cycles aromatiques [10]. Leur synthèse s'effectue généralement par couplage de sels de diazonium avec des agents de couplage appropriés [11].

Ainsi, les composés azoïques constituent un domaine de recherche riche en perspectives, grâce à leurs multiples applications dans les secteurs médical, chimique et industriel [12].

2. Définition des composés azoïques :

Les composés azoïques sont des composés chimiques synthétiques caractérisés par la présence du groupement fonctionnel $\Phi-N=N-\Phi$, où Φ représente un cycle benzénique. Leur nom dérive de la présence de la double liaison $-N=N-$, appelée liaison azoïque [13]. Ces composés peuvent unir deux radicaux alkyle ou aryle, identiques ou non, ce qui permet de les classer en deux catégories : les composés azoïques symétriques et dissymétriques [14]. La synthèse des composés azoïques est généralement réalisée par des réactions de diazotation ou de tétra-azotation de monoamines ou de diamines aromatiques. Ces réactions sont effectuées en présence de nitrite de sodium en milieu chlorhydrique, suivies d'une étape de copulation. Ces procédés de synthèse confèrent aux composés azoïques une grande diversité structurale et des propriétés chimiques variées, ce qui explique leur utilisation extensive dans divers domaines industriels et scientifiques.

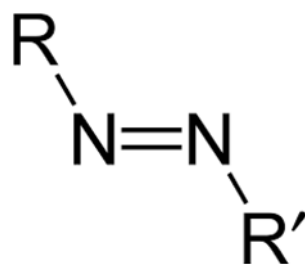


Figure I. 1: Groupement fonctionnel azo

3. Caractéristiques des composés Azoïques :

Les composés azo-aromatiques sont classés en deux catégories principales, en fonction des cycles aromatiques attachés aux deux extrémités du groupe azoïque (-N=N-). On distingue ainsi :

3.1. Les composés azoïques homocycliques:

Ces composés possèdent des cycles aromatiques ne contenant pas d'hétéroatomes (tels que l'azote (N), l'oxygène (O) ou le soufre (S)). Un exemple typique est l'azobenzène et ses dérivés. Cette classe de composés est largement utilisée dans divers domaines, notamment en médecine et dans l'industrie, en raison de leurs propriétés polyvalentes et de leurs applications multiples [15,18].

3.2. Les composés azoïques hétérocycliques :

Ces composés contiennent un ou plusieurs hétéroatomes (N, O, S) dans les cycles aromatiques liés au groupe azoïque. Ils sont fréquemment employés comme réactifs en chimie analytique pour la détermination spectroscopique de nombreux éléments chimiques. Leur sélectivité et leur sensibilité élevées ont suscité un intérêt considérable dans ce domaine.

Le groupe azoïque (-N=N-) se caractérise par ses excellentes propriétés de donneur, dues à la présence d'électrons libres sur les atomes d'azote. Cela en fait un ligand important en chimie de coordination. De plus, le groupe azoïque est un chromophore, c'est-à-dire un groupe porteur de couleur, responsable de la coloration vive des composés azoïques. Ces composés peuvent également contenir un ou plusieurs groupes auxochromes tels que : (-OH, -SH, -Br, -COOH, -NH₂), qui intensifient la couleur, améliorent la solubilité des composés et de leurs complexes métalliques, et augmentent leur sélectivité et sensibilité [19,20].

Le groupement azoïque est l'un des trois groupes chimiques les plus couramment utilisés dans la production de colorants, aux côtés des groupes phtalocyanine et anthraquinone. Il constitue la classe principale des colorants synthétiques en raison de son importance et de sa polyvalence [21].

Les composés azoïques présentent des couleurs vives et intenses, allant du jaune à l'orange, au rouge, au vert et jusqu'au bleu, en fonction de la structure moléculaire [22].

3.3. Isomérisation Z/E:

L'azobenzène présente deux isomères, les formes trans (E) et cis (Z), cette dernière étant instable et obtenue à partir de la forme trans par photo-isomérisation [23,24]. La possibilité d'une photo-isomérisation réversible trans-cis (E-Z) constitue l'une des propriétés les plus remarquables des matériaux à base de colorants azoïques. Cette transition se produit facilement sous irradiation lumineuse à une longueur d'onde appropriée.

Ces matériaux se caractérisent par leur capacité à commuter de manière réversible entre les deux états (trans et cis) lorsqu'ils sont exposés à des longueurs d'onde spécifiques, ce qui ouvre des perspectives prometteuses dans divers domaines, tels que les matériaux intelligents et les systèmes de stockage optique. Ce phénomène repose sur la modification structurale de la liaison azoïque lors de l'absorption d'énergie lumineuse, entraînant une réorganisation stérique de la molécule.

Cette propriété unique confère aux colorants azoïques un potentiel considérable pour des études visant à contrôler optiquement les propriétés moléculaires, offrant ainsi une grande flexibilité dans leur conception et leurs applications fonctionnelles.

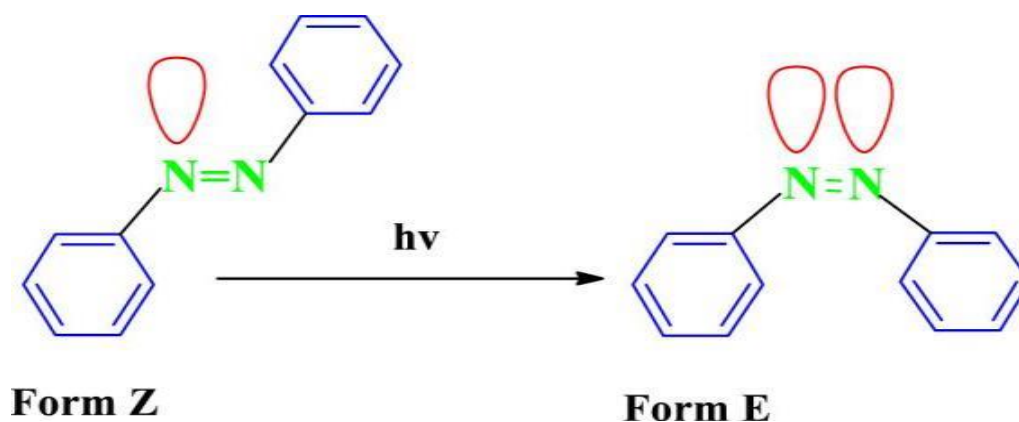


Figure I. 2: Les deux formes isomères : Z et E de molécule d'azobenzène

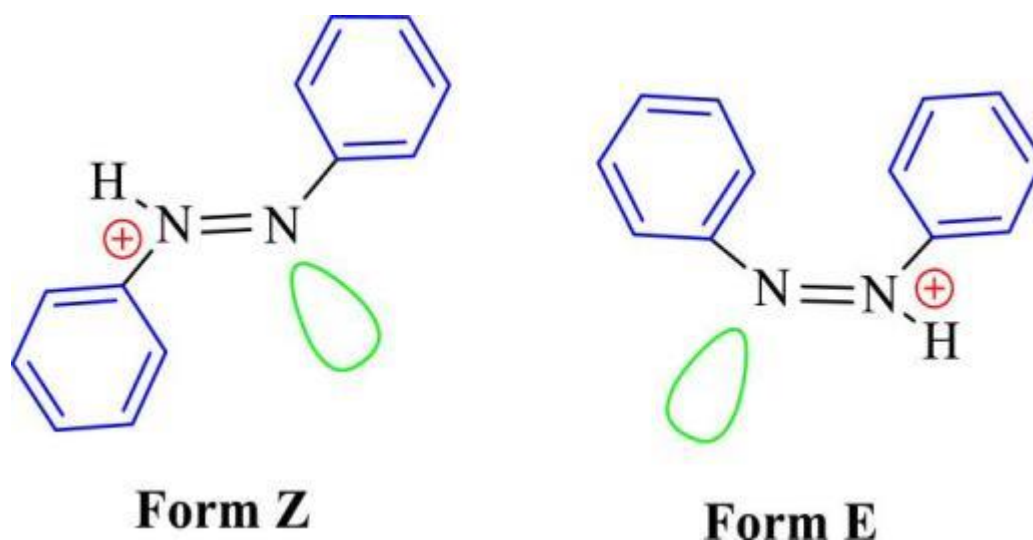


Figure I. 3: Les conformations Trans/Cis : Z et E de molécule d'un Azobenzène

3.4. Tautomérie :

En 1884, Zincke et son équipe de recherche ont découvert le phénomène de tautomérie azo/hydrazone dans les composés azotiques [25]. Les colorants azoïques présentent une capacité remarquable à subir différents types de tautomérie :

1. L'équilibre azo/hydrazone dans les hydroxy-azo composés
2. L'équilibre azo/imino dans les colorants aminoazo
3. L'équilibre azonium/ammonium lors de la protonation des colorants azoïques [26]

Une étude illustrative a été menée sur un colorant orange synthétisé par :

- Couplage du chlorure de benzènediazonium avec le 1-naphtol
- Condensation de la phénylhydrazine avec la 1,4-naphtoquinone

Les résultats ont révélé la coexistence des deux formes :

1. La forme azoïque (R = H)
2. La forme hydrazone (R = H)

Cette observation a validé l'hypothèse d'un équilibre tautomérique entre ces deux structures, confirmée par les recherches ultérieures.

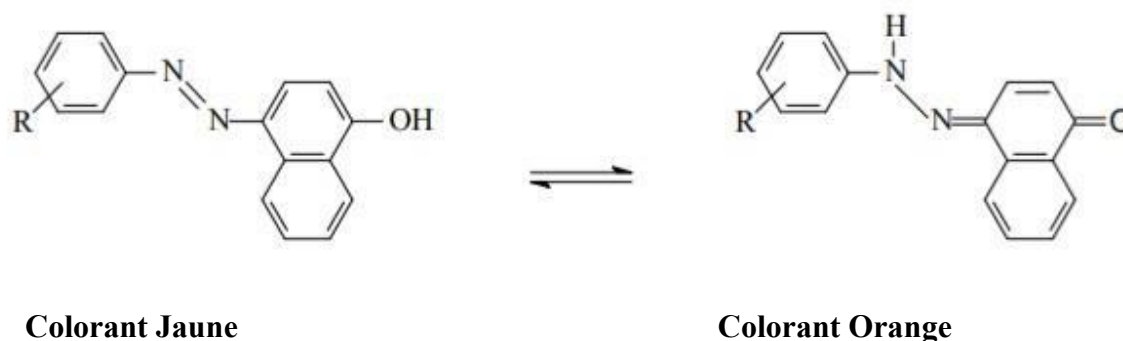


Figure I. 4: Tautomérie d'un composé azoïque

4. Classification des composés azoïques

4.1. Composés azoïques aliphatiques

Les composés azoïques aliphatiques (où R et/ou R' sont des groupes alkyle) sont moins courants que les composés azoïques aromatiques. Un exemple commercial important est l'azobisisobutyronitrile (AIBN), largement utilisé comme initiateur dans les polymérisations radicalaires et d'autres réactions radicalaires. Il agit en se décomposant thermiquement, libérant une molécule d'azote gazeux pour former deux radicaux 2-cyanoprop-2-yle (Schéma 1-1).

Par exemple, un mélange de styrène et d'anhydride maléique dans du toluène réagit sous chauffage en présence d'AIBN pour former un copolymère. Un autre exemple simple est le diéthyl diazène (EtN=NEt). Cependant, les composés azoïques aliphatiques sont généralement instables et peuvent présenter un risque d'explosion.

4.2. Composés azoïques aromatiques

Les composés azoïques aromatiques sont généralement des solides cristallins stables. Le azobenzène en est l'exemple le plus connu, existant principalement sous forme **trans**, mais pouvant se convertir en isomère **cis** sous irradiation lumineuse.

➤ Synthèse des composés azoïques aromatique

▪ Couplage azoïque

- Cette réaction de substitution électrophile aromatique implique l'attaque d'un sel de diazonium aromatique par un noyau aromatique riche en électrons (ex. dérivés de phénol ou d'aniline) (Schéma 1-2).
- En raison de l'instabilité des sels de diazonium, ces réactions sont généralement réalisées à basse température (proche de 0 °C).

- **Oxydation des hydrazines**
 - Les composés azoïques peuvent aussi être synthétisés par oxydation de dérivés d'hydrazine (R–NH–NH–R').
- **Réduction des intermédiaires azoxy**
 - Une autre méthode fait intervenir la condensation de nitroaromatiques avec des anilines, suivie de la réduction du composé azoxy formé (Schéma 1-3).

➤ Applications des composés azoïques aromatiques

- **Colorants azoïques** : Leur conjugaison π confère des couleurs vives (rouge, orange, jaune), utilisées en teinture textile (ex. Disperse Orange 1).

- **Indicateurs pH** : Certains comme le méthylorange changent de couleur avec le pH.

- **Stockage optique** : Certains colorants azoïques (ex. bleu) sont utilisés dans les couches enregistrables des DVD-R/+R et certains CD-R. L'importance commerciale des colorants azoïques a stimulé la recherche sur ces composés. [27]

5. Applications Médicales des Azo-Composés

Les composés azoïques constituent une classe polyvalente de molécules organiques aux applications étendues dans diverses industries, notamment les cosmétiques, l'alimentation, les textiles et les produits pharmaceutiques, où ils sont principalement utilisés comme colorants et additifs. Au-delà de leur usage conventionnel en tant que teintures, ces composés présentent des activités biologiques notables, telles que des effets antimicrobiens, antifongiques, cytotoxiques et antiprolifératifs. Une application particulièrement importante réside dans leur rôle dans les systèmes ciblés d'administration de médicaments, en particulier pour la libération spécifique au niveau du côlon.

5.1. Les composés azoïques comme vecteurs de médicaments

1. Approche par prodrogues azoïques

Les composés azoïques présentent un intérêt majeur comme vecteurs de médicaments, notamment à travers le concept de prodrogue. Initialement proposé par Albert en 1958, ce concept désigne une entité pharmacologiquement inactive pouvant être transformée en sa forme active in vivo par des processus chimiques ou enzymatiques [28,29]. Cette stratégie permet une libération ciblée du principe actif et d'un promoteur non toxique sous l'action de stimuli spécifiques.

Les travaux de Karaman et al. [30,33] ont significativement contribué au développement de ce concept, tandis que Mulu et al. [34] ont récemment examiné les propriétés de clivage des liaisons azoïques et leurs applications pharmaceutiques.

Applications en ciblage colique :

L'utilisation de prodrogues azoïques présente un intérêt particulier pour le ciblage du côlon. Ces systèmes exploitent l'activité de l'azoréductase, une enzyme produite par la flore bactérienne colique, pour libérer sélectivement des amines thérapeutiques [35]. Cette approche est particulièrement pertinente pour le traitement de pathologies coliques telles que :

- Le cancer colorectal
- Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin
- Les infections parasitaires comme l'amibiase [36]

Avantages clés :

- Protection du principe actif contre l'environnement gastrique acide
- Libération ciblée au niveau du site d'action
- Réduction des effets systémiques indésirables

Exemples notables :

- La conjugaison de la 5-aminosalicylate (5-ASA) avec des dendrimères polyamidoamines via une liaison azoïque permet une délivrance efficace au niveau colique [37]
- Kennedy et al. [38] ont développé des prodrogues mutuelles combinant des peptides antimicrobiens et des AINS, offrant une action thérapeutique combinée contre les infections à *Clostridium difficile*

Limitations :

Cette approche reste cependant limitée aux molécules possédant une fonction amine aromatique, nécessaire à la formation de la liaison azoïque.

2. Systèmes stimulo-sensibles

a. Systèmes photosensibles

L'isomérisation réversible des composés azoïques sous l'effet de la lumière offre des possibilités intéressantes pour le contrôle temporel de la libération médicamenteuse :

- **Systèmes liposomaux** : L'incorporation de phospholipides azobenzéniques permet une libération induite par irradiation UV [39]
- **Copolymères amphiphiles** : Des systèmes combinant des segments hydrophobes (PAzoMA) et hydrophiles (PAA) présentent des changements morphologiques réversibles sous irradiation [40]
- **Nanoparticules mésoporeuses** : Des dérivés d'azopyridine peuvent servir de nanoportes pour contrôler la libération de principes actifs [41,42]

Perspectives :

L'utilisation de lumière dans le proche infrarouge (NIR) permet une meilleure pénétration tissulaire, ouvrant des perspectives pour le ciblage de tissus profonds [43]. Les C-dots, récemment approuvés par la FDA, illustrent le potentiel de ces approches [44].

b. Systèmes thermosensibles

Des nanoparticules mésoporeuses de silice (MSN) fonctionnalisées avec des polymères thermosensibles (comme le PEG-azo) permettent une libération contrôlée par champ magnétique [45]. Cette approche combine l'avantage d'une activation externe non invasive avec une excellente spécificité spatiale

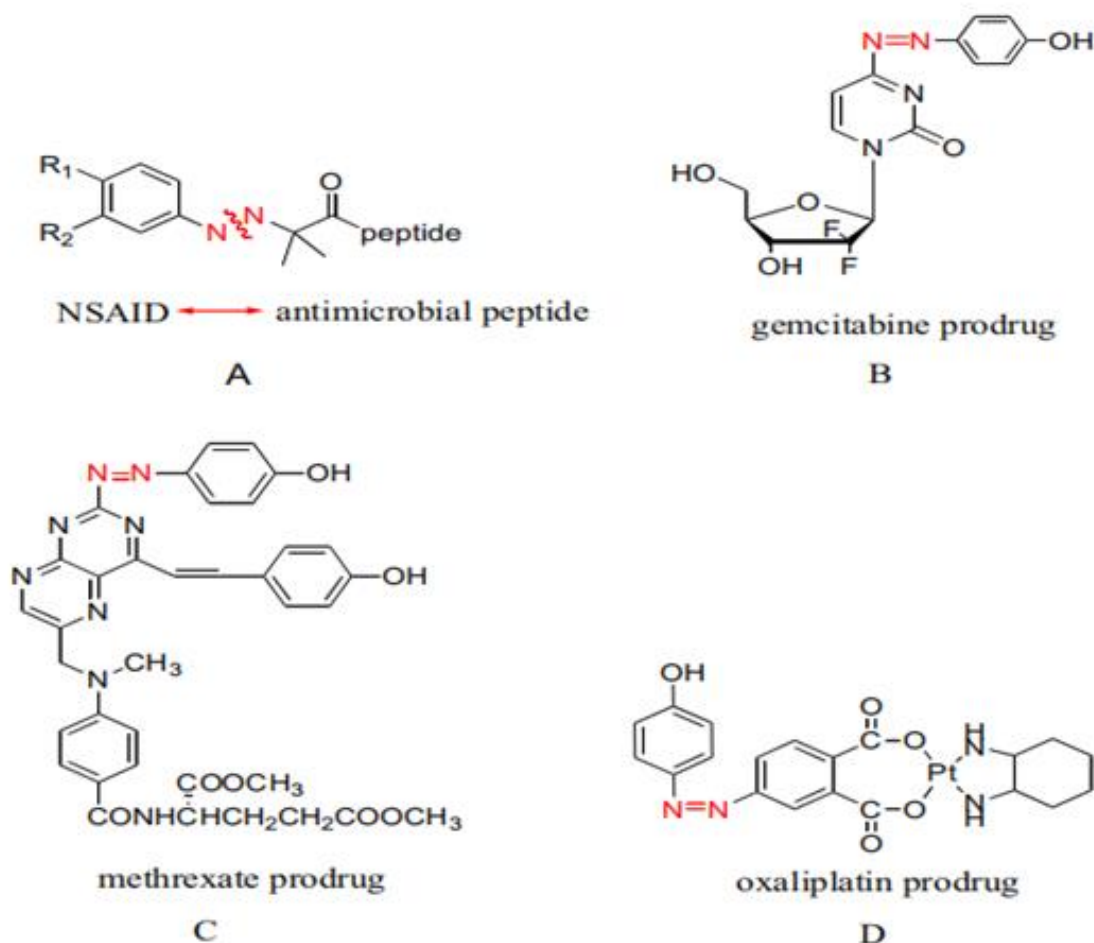


Figure I. 5: (A-D). Exemples de promédicaments azoïques.

5.2. Les composés azoïques comme agents anticancéreux:

À ce jour, aucun composé azoïque n'est commercialisé comme médicament anticancéreux. Cependant, des études *in vitro* et *in vivo* suggèrent le potentiel anticancéreux de plusieurs composés azoïques, comme l'ont rapporté certains chercheurs. **La sulfasalazine (Azulfidine®)** (Fig. 6A), un anti-inflammatoire bien connu présentant également un effet antifibrogénique [46], a été proposée pour le traitement des tumeurs cérébrales [47]. Une étude clinique évaluant son impact sur les taux de glutamate chez des patients atteints de gliome par spectroscopie par résonance magnétique a été menée [48].

Plus récemment, plusieurs rapports ont mis en évidence l'activité anticancéreuse d'autres composés azoïques :

- **Ran et al.** [49] ont synthétisé des dérivés azoïques et azoxy de bases de Schiff, démontrant une activité antiproliférative et cytotoxique sur des lignées cellulaires (Fig. **6B-D**). Les composés azoïques se sont révélés plus actifs que leurs analogues azoxy.
- **Farghaly et al.** [50] ont évalué des composés azoïques à base de noyau thiophene, dont certains ont montré une meilleure activité antitumorale contre les cellules du carcinome d'Ehrlich que la doxorubicine.
- Dans une autre étude [51], le même groupe a synthétisé des azolotriazino-benzosubérones fusionnés et testé leur efficacité *in vivo* contre le cancer du côlon murin (Colon 38). Les valeurs de **GI50** (0,6–0,7 μM) étaient comparables à celles de l'étoposide. De plus, ces composés inhibaient plus fortement l'activité de la topoisomérase II que l'étoposide.

La **surexpression de la protéine tyrosine phosphatase PTPRZ** dans les glioblastomes et d'autres cancers (neuroblastome, cancer gastrique, etc.) a conduit à l'étude du **colorant alimentaire Rouge acide 27** et de ses analogues. Ces composés inhibent l'activité de la PTPRZ dans les cellules de gliome C6, réduisant leur migration et prolifération *in vitro*. Cependant, leur faible perméabilité membranaire et leur instabilité limitent leur utilisation clinique [52]. Enfin, certains **colorants azoïques** sont étudiés pour le diagnostic et le traitement des maladies du système nerveux central [53].

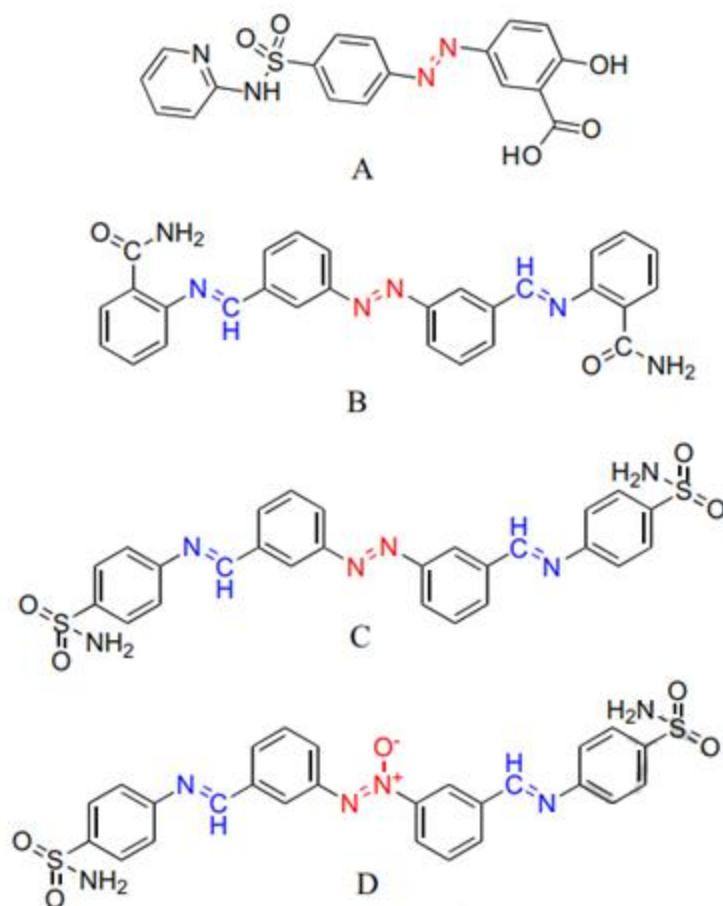


Figure I. 6 : Structures des composés azoïques actifs : sulfasalazine (A) azoïques (B, C) et dérivés de bases de Schiff à base azoxy

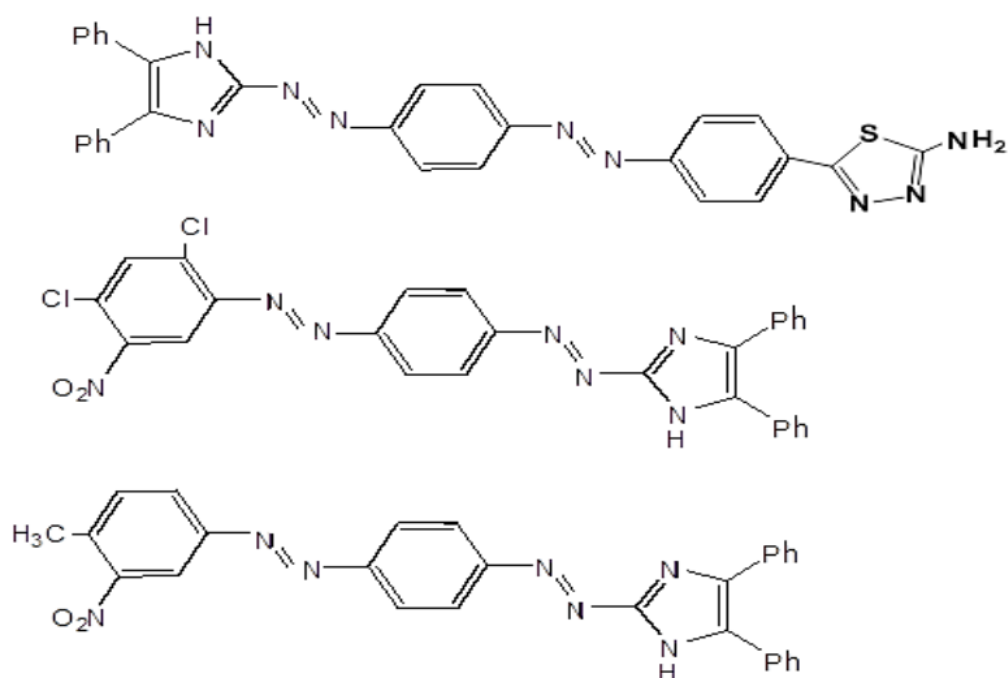


Figure I. 7 : Dérivés de composés azoïques comme composés anticancéreux

5.3. Agents Antibactériens :

Les composés azoïques sont considérés comme des composés efficaces dans la lutte contre les bactéries, grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui en font des candidats prometteurs pour la conception de médicaments antibactériens. Ces composés sont utilisés pour traiter les infections bactériennes par différents mécanismes, tels que l'inhibition de la reproduction des bactéries ou la destruction de leur paroi cellulaire. Par exemple, le composé Sulfamidochrysoïdine, un composé azoïque, a été développé comme l'un des premiers médicaments antibactériens [54]. De plus, des dérivés azoïques de Quinazolinones ont été synthétisés, montrant une efficacité dans l'inhibition de la croissance des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, telles que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* [55].

Dans un autre contexte, des composés azoïques contenant des groupes Oxadiazole ont été développés, montrant une activité antibactérienne contre différentes souches bactériennes, telles que *Salmonella typhi* et *Bacillus subtilis* [56]. De même, des dérivés azoïques de Coumarine ont été synthétisés, montrant une efficacité dans l'inhibition de la croissance des bactéries par interaction avec les enzymes bactériennes [57].

Ces composés représentent un nouvel espoir dans le développement de médicaments plus efficaces pour lutter contre les infections bactériennes, en particulier face aux grands défis posés par les traitements actuels, tels que la résistance des bactéries aux antibiotiques. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour améliorer l'efficacité de ces composés et réduire leurs effets secondaires.

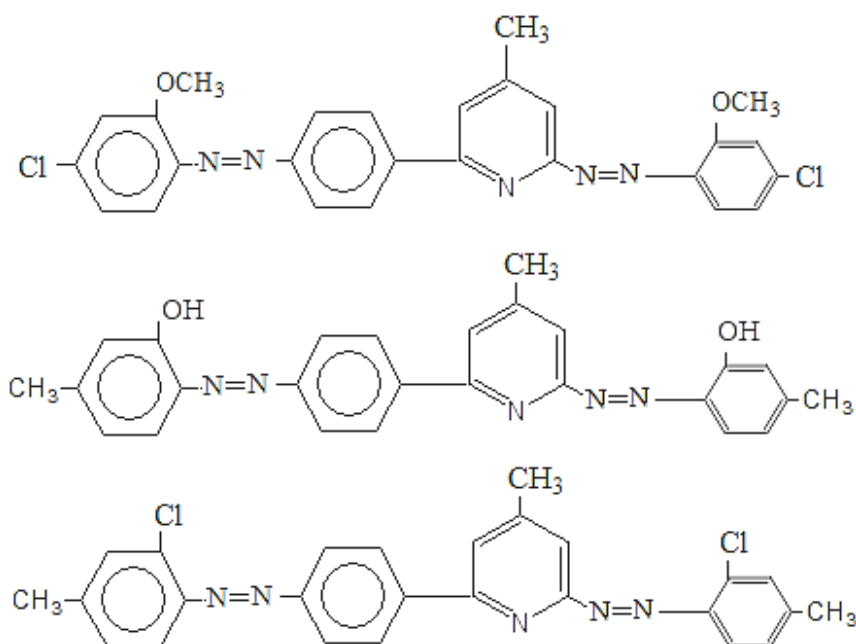


Figure I. 8: Dérivés azoïques comme antibactériens..

5.4. Applications Antivirales :

Les composés azoïques sont considérés comme des composés prometteurs dans le domaine des médicaments antiviraux, grâce à leur capacité à inhiber la réplication des virus par différents mécanismes. Ces composés sont utilisés pour traiter de nombreuses maladies virales chroniques, telles que le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et les virus de l'hépatite (VHC et VHB). Par exemple, le composé ADS-J1, un composé azoïque, a été développé pour inhiber le VIH-1 en empêchant la fusion du virus avec les cellules hôtes, ce qui arrête le processus de réplication virale dans le corps [58]. De plus, des dérivés azoïques de l'antibiotique Olivomycine ont été synthétisés, montrant une efficacité dans l'inhibition de la réplication virale en se liant à l'ADN viral et en bloquant les processus de transcription et de transcription inverse [59].

Dans le contexte des virus de l'hépatite, des composés azoïques tels que les Arylazobenzosuberones ont été développés, montrant une efficacité dans l'inhibition des enzymes protéases virales, ce qui en fait des candidats prometteurs pour le traitement de l'hépatite C (VHC) [60]. De même, des dérivés de l'acide hippurique (Hippuric Acid) contenant des groupes azoïques ont été synthétisés, montrant une activité antivirale contre le virus de l'hépatite B (VHB) en inhibant la réplication virale dans les cellules hépatiques [61].

Ces composés représentent un nouvel espoir dans le développement de médicaments plus efficaces et moins toxiques pour lutter contre les maladies virales, en particulier face aux grands défis posés par les traitements actuels, tels que la résistance des virus aux médicaments et les effets secondaires toxiques. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour améliorer l'efficacité de ces composés et réduire leurs effets secondaires.

5.5. Composés Azoïques Antituberculeux:

La tuberculose (TB) reste une maladie mortelle et un défi majeur de santé publique. Dans la recherche de traitements efficaces, des ligands hydrazone et leurs complexes métalliques avec Co(II), Ni(II), Cu(II) et Zn(II) ont été synthétisés. Ces composés ont été caractérisés par diverses techniques spectroscopiques et analytiques, confirmant une géométrie octaédrique.

L'activité antituberculeuse des composés (1-10) a été évaluée *in vitro*. Parmi eux, les complexes 6, 9 et 10 ont montré la plus forte activité, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) allant de $0,0028 \pm 0,0013$ à $0,0063 \pm 0,0013$ $\mu\text{mol/mL}$. Le complexe de Zn(II) (71) s'est révélé particulièrement efficace (CMI = $0,0028 \pm 0,0013$ $\mu\text{mol/mL}$), étant quatre fois plus puissant que la streptomycine (CMI = $0,0107 \pm 0,0011$ $\mu\text{mol/mL}$). De plus, le complexe 10 a présenté une forte activité antibactérienne et anti-inflammatoire, avec une CMI

de 0,0057–0,0114 $\mu\text{mol/mL}$ et un IC_{50} de $7,14 \pm 0,05 \mu\text{M}$, comparable aux médicaments standards (Figure. 9) [62].

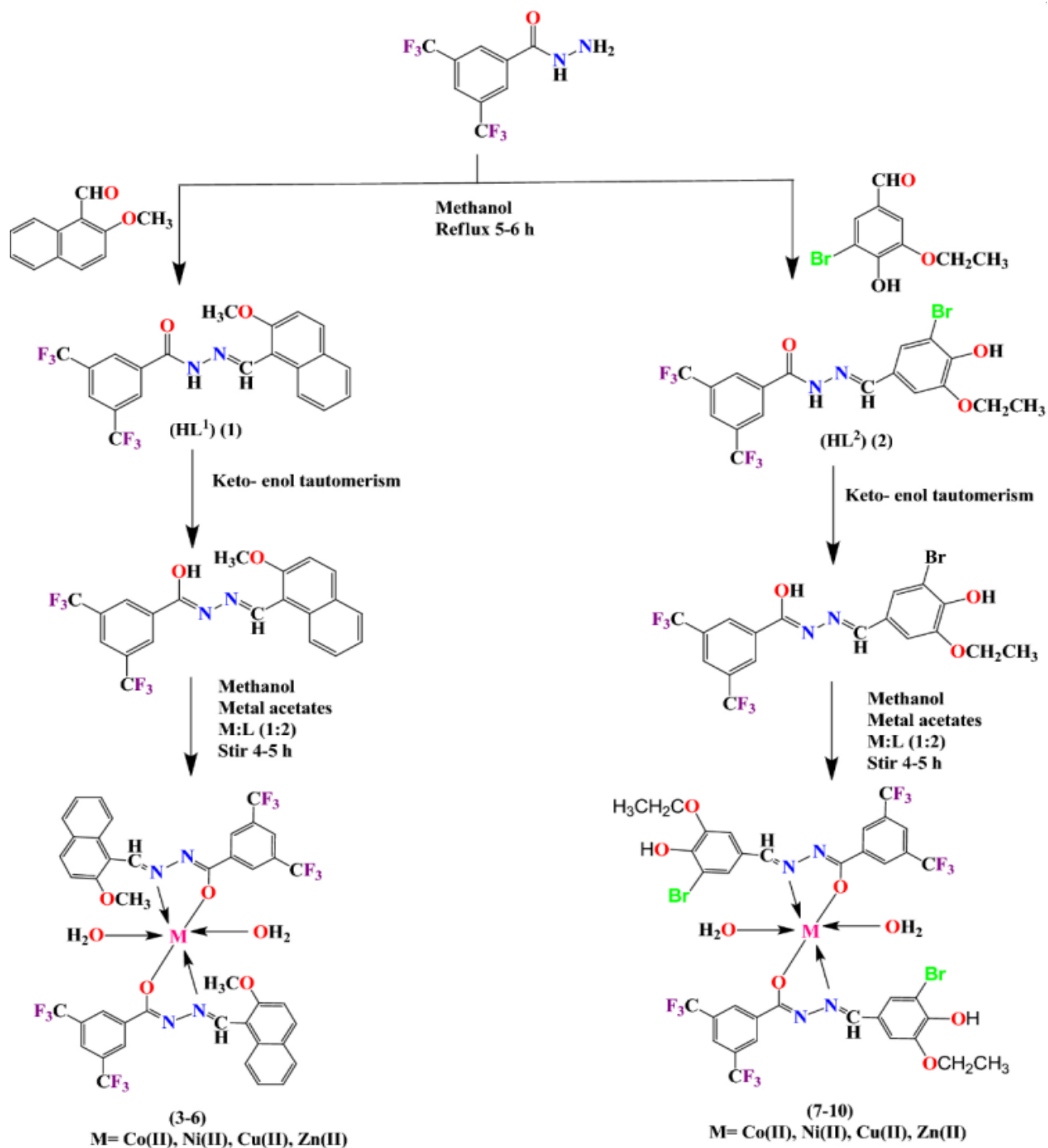


Figure I. 9: Synthèse des ligands hydrazone (HL1–HL2) (1–2) et de leurs complexes métalliques de transition (3–10)

Une autre étude a examiné la relation structure-activité des dérivés azoïques du triclosan contre *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) et les mycobactéries non tuberculeuses. Un composé a montré une activité quatre fois supérieure au triclosan et seize fois plus élevée que la rifabutine contre *Mycobacterium abscessus* résistant. De plus, ce composé était moins cytotoxique envers les macrophages humains. Un autre dérivé a présenté deux fois l'activité du triclosan contre MTB et du double de l'efficacité de l'isoniazide contre *Mycobacterium marinum*. Ces composés restaient actifs contre les souches de *M. abscessus* surexprimant *InhA*, suggérant un mécanisme d'action différent (Figure 10) [63].

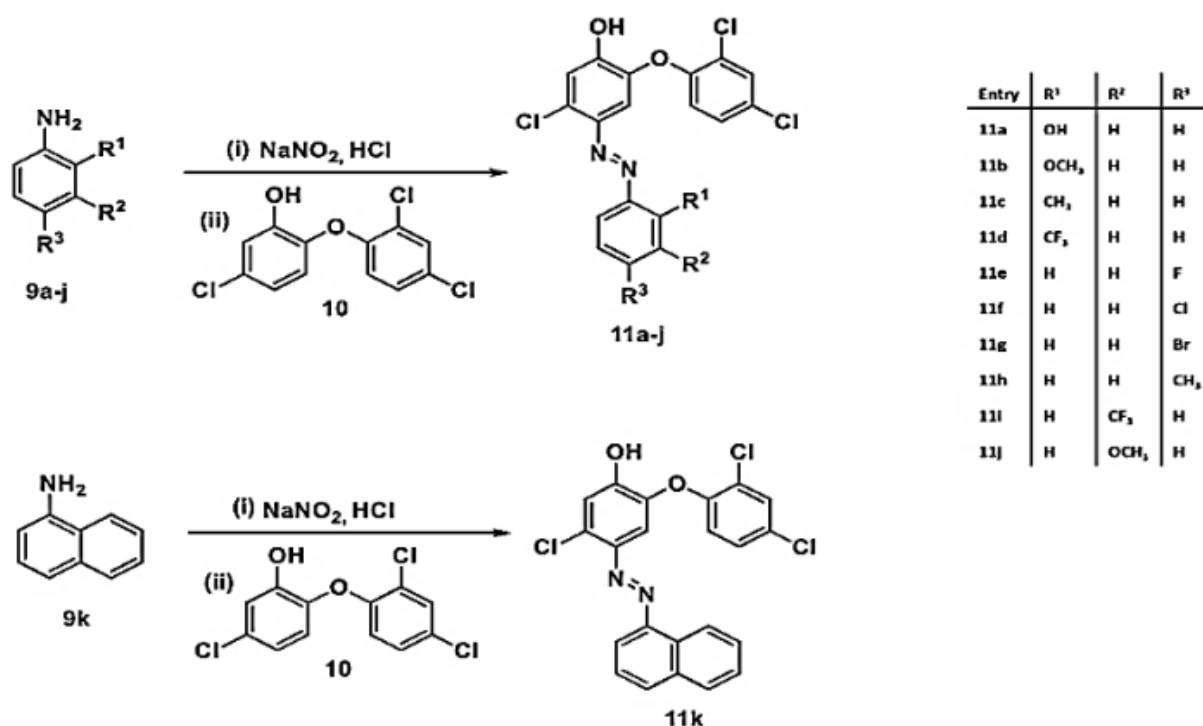


Figure I. 10: Synthèse des azo-adduits TCS 11a-k

Enfin, des colorants azoïques dérivés du benzothiazole (C1-C5) ont été testés contre *M. tuberculosis* H37Rv (méthode MABA). Les composés C1, C2, C3 et C5 ont montré une forte activité (CMI = 1,6 µg/mL), comparable à la streptomycine (CMI = 6,24 µg/mL). En revanche, le composé C4, portant un groupe éthoxy en position 6 du benzothiazole, a montré une activité modérée (CMI = 3,2 µg/mL) (Figure I.11) [64]

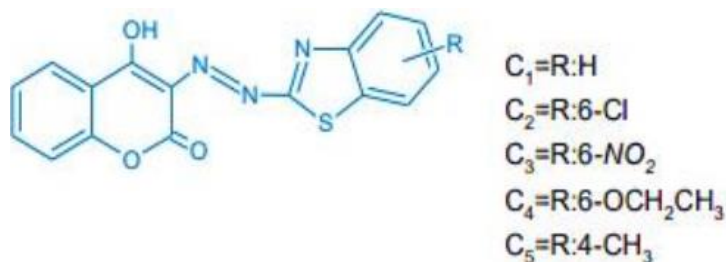


Figure I. 11: Colorants azoïques à base de coumarine-benzothiazole [65]

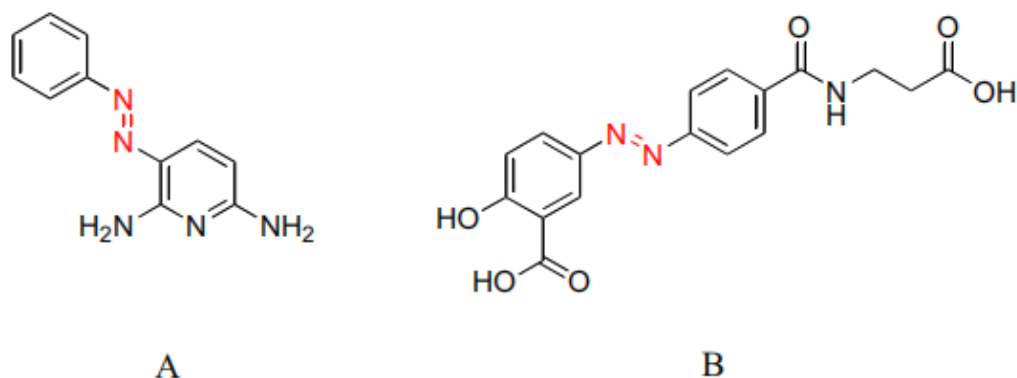


Figure I. 12: Structures of Phenazopyridine (A), Balsalazide (B)

Les études de modélisation moléculaire (QSAR/QPAR) indiquent la possibilité d'optimiser les propriétés pharmaceutiques des composés azoïques antituberculeux, tout en réduisant les risques de toxicité et de mutations potentielles [66,67], ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour la conception de médicaments plus sûrs et plus efficaces.

Chapitre II
Synthèse et caractérisation
des composés azoïques

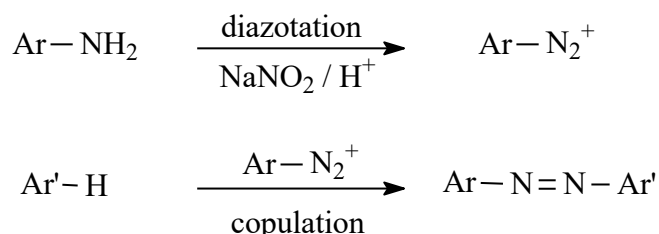
1. Introduction

Les composés azoïques représentent une classe majeure de colorants synthétiques caractérisés par la présence d'un groupement azo (-N=N-) comme unité chromophore. Ces substances jouent un rôle industriel important en tant qu'additifs pour carburants, lubrifiants, polymères et divers matériaux. Cependant, leur utilisation dans l'industrie alimentaire fait l'objet de restrictions strictes en raison de leur métabolisation en dérivés potentiellement mutagènes et cancérigènes.

La synthèse de ces composés s'effectue selon un protocole bien défini en deux étapes fondamentales :

- La réaction de diazotation : Conversion d'une amine aromatique primaire en sel de diazonium par traitement avec un agent diazotant (comme NaNO₂) en milieu acide.
- La réaction de couplage azoïque : Le sel de diazonium ainsi formé subit une réaction de couplage avec un composé aromatique activé, tel que le β-naphtol, pour former la liaison azoïque caractéristique.

Cette méthodologie permet d'obtenir une large gamme de colorants aux propriétés physico-chimiques variées, adaptés à différentes applications technologiques.

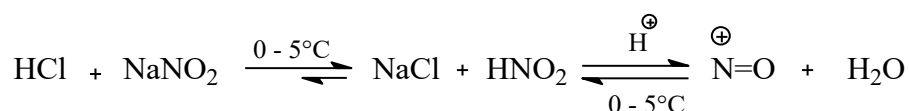


2. Préparation générale des azoïques

L'expérience a été réalisée sous hotte.

2.1. Diazotation

On dissout 0.02 mole d'une amine aromatique primaire dans une solution de 16 ml d'acide chlorhydrique HCl et 6 ml d'eau distillée à une température comprise entre 0 et 5°C, le mélange réactionnel est placé dans un bécher contenant un agitateur magnétique qui permet d'agiter, puis on ajoute 0.012 mole de nitrite de sodium NaNO₂ dissout dans 10 ml d'eau glacée et met dans le mélange précédent. Une agitation modérée pendant 30 minutes permet la formation du sel de diazonium.



2.2. Copulation

On ajoute la solution obtenue après la diazotation goutte à goutte à une solution de 0,2 mole du β -naphтол M = 144.18 g/mol dissout dans 20 ml d'hydroxyde de sodium (10 %) (NaOH) et 100 ml d'eau distillée, à la même température et l'agitation pendant une heure. Le changement de la couleur indique que notre sel de diazonium s'est transformé par fixation sur le copulant en colorant azoïque.



Figure II. 1: La formulation du composé azoïque

Le produit obtenu est filtré sous vide et lavé avec l'eau glacée puis laissé sécher à l'air libre pendant une nuit ou plus.



Figure II. 2 : La filtration du produit final

2.3. Recristallisation

2.3.1. Définition

La recristallisation est une technique utilisée en chimie pour purifier des composés solides en les dissolvant dans un solvant approprié, puis en refroidissant lentement la solution pour former des cristaux purs, laissant les impuretés dans la solution mère.

2.3.2. Principe de base

Cette méthode repose sur la différence de solubilité du composé à purifier dans un solvant à différentes températures :

- Le composé est dissous dans un solvant chaud (généralement à son point d'ébullition).
- Lors du refroidissement, la solubilité diminue, entraînant la formation de cristaux purs, tandis que les impuretés restent en solution.

2.3.3. Étapes de la recristallisation

Choix du solvant approprié : Le solvant doit :

- Dissoudre le composé à haute température.
- Avoir une faible solubilité pour le composé à basse température.
- Ne pas réagir avec le composé à purifier.

Dissolution du composé

Chauffer une quantité suffisante de solvant jusqu'à ébullition.

Ajouter progressivement le composé tout en maintenant le chauffage jusqu'à dissolution complète.

Élimination des impuretés insolubles

Filtrer la solution chaude pour éliminer les impuretés non dissoutes (en utilisant un papier filtre préchauffé ou du charbon actif).

Refroidissement de la solution

Laisser refroidir lentement (parfois en utilisant un bain de glace pour accélérer la cristallisation).

Isolation des cristaux

Récupérer les cristaux par filtration sous vide (à l'aide d'un entonnoir de Büchner).

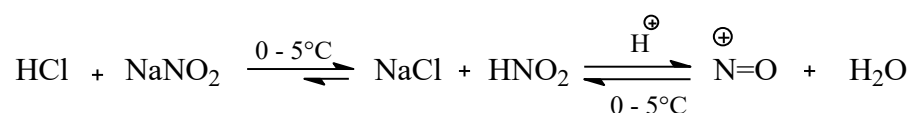
Laver les cristaux avec un solvant froid pour éliminer les impuretés résiduelles.

Séchage

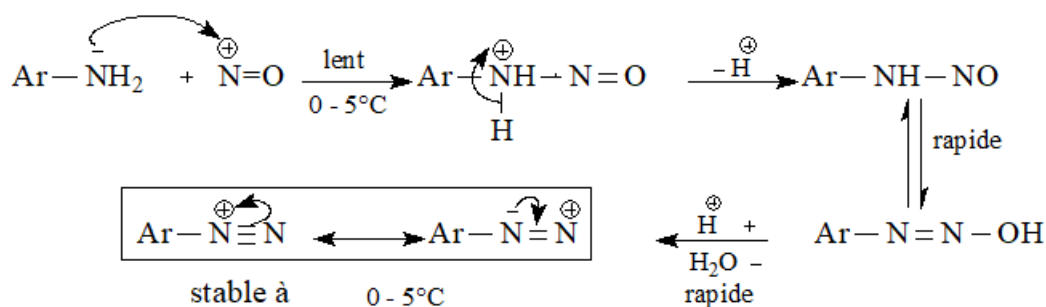
Sécher les cristaux à l'air ou dans un étuve à une température appropriée.

3. Les mécanismes de la réaction**✓ Diazotation**

L'action de l'acide chlorhydrique concentré HCl sur le nitrite de sodium NaNO₂, produit l'acide nitreux HNO₂, qui génère in-situ l'ion nitronium (NO⁺) selon le schéma suivant :



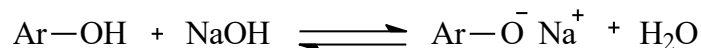
Le cation diazonium est ensuite obtenu grâce à l'attaque électrophile de NO⁺ sur l'amine aromatique primaire qui conduit dans un premier temps à la N-nitrosoamine, puis par réarrangement interne acido-basique (milieu acide) conduit enfin au Cation diazonium aromatique correspondant [68] :



La réaction se déroule à froid dans l'intervalle de température comprise entre 0-5°C (bain de glace).

✓ Copulation

La copulation du sel de diazonium obtenu avec les dérivés du naphthol est réalisée en milieu basique. L'hydroxyde de sodium NaOH permet la transformation du dérivé naphthol en naphtolate de sodium [69] :



La copulation diazoïque peut être considérée comme une substitution électrophile par un cation diazonium. Le cation diazonium est un réactif électrophile faible. Il ne peut attaquer que des systèmes aromatiques suffisamment riches en électrons [70].

Copulation avec le 2-naphthol

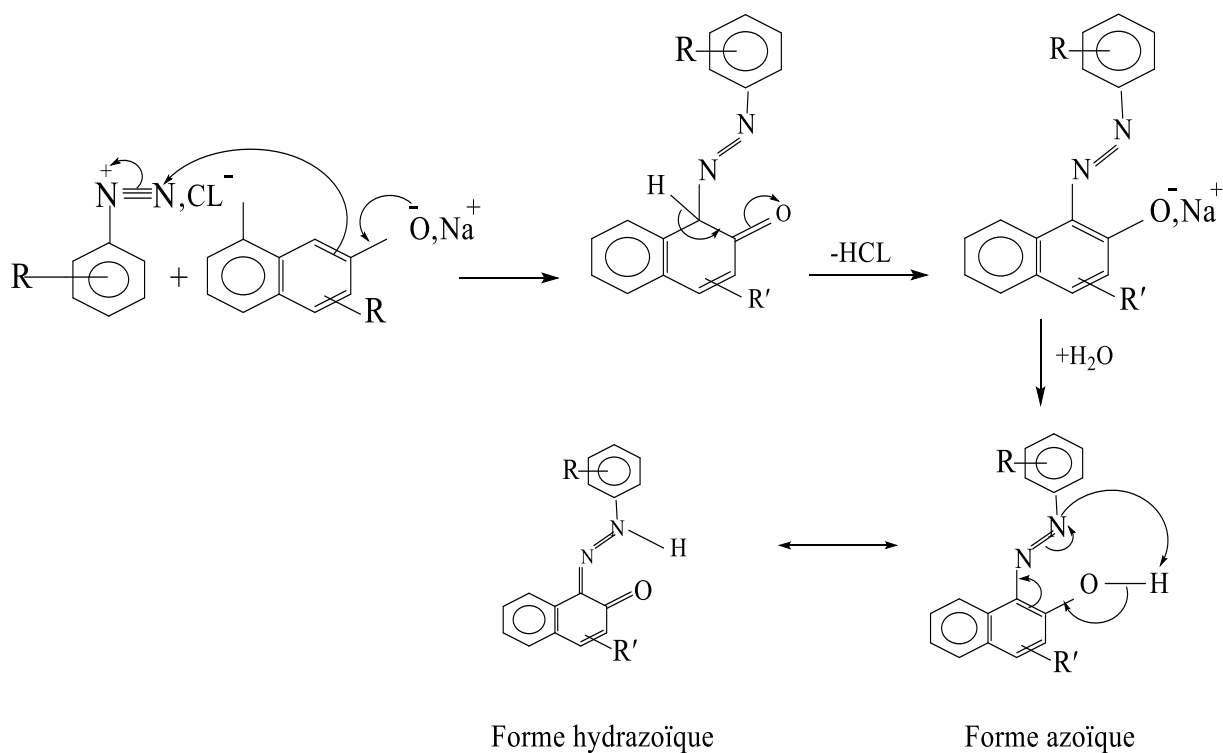


Schéma 1 : Mécanisme général de synthèse des composés azoïques

4. Résultats expérimentaux

Tous nos ligands azoïques ont été synthétisés par la réaction classique de diazotation d'un dérivé d'aniline suivie d'une copulation sur le β -Naphthol, selon le schéma réactionnel suivant :

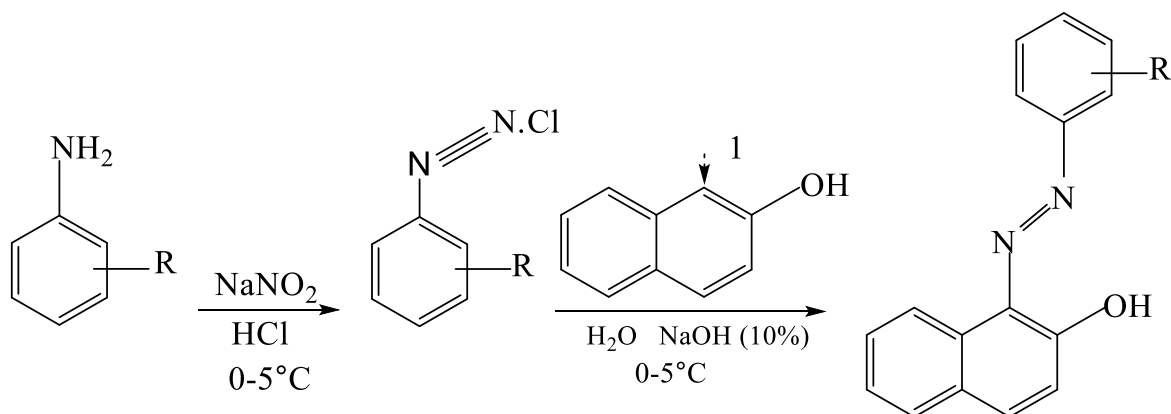
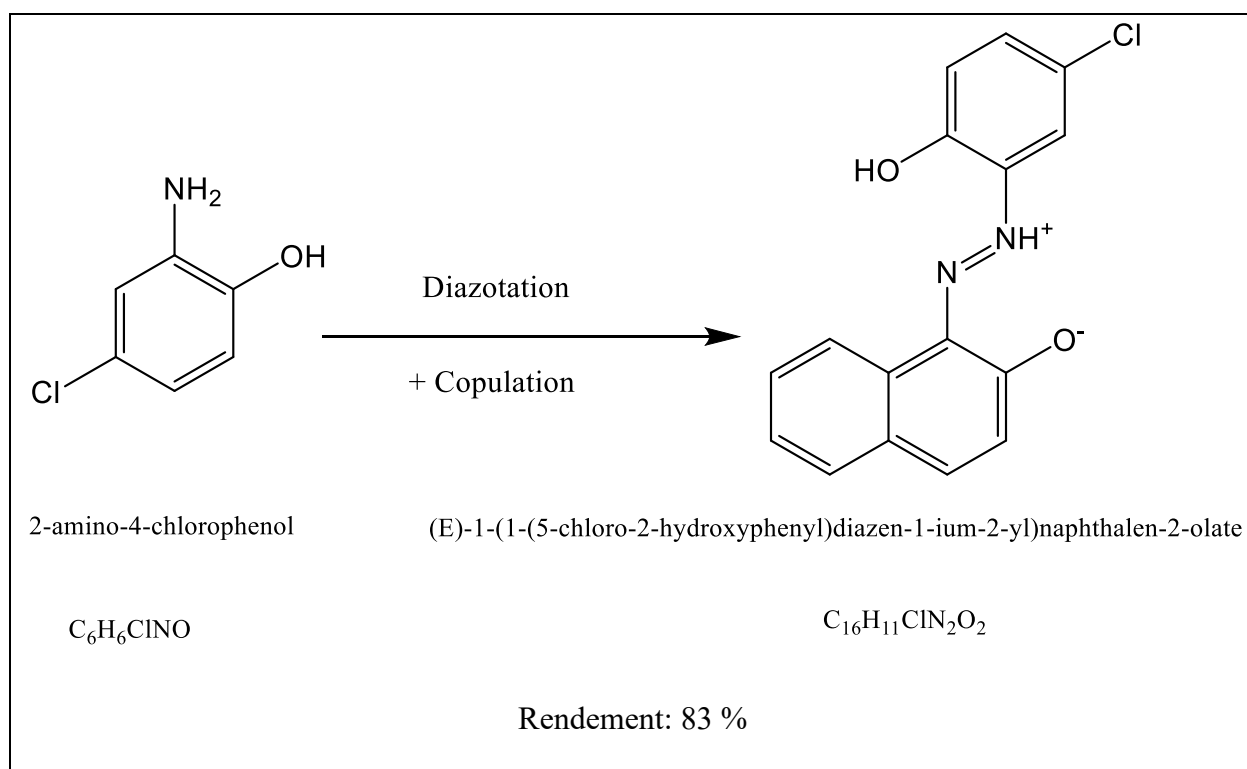
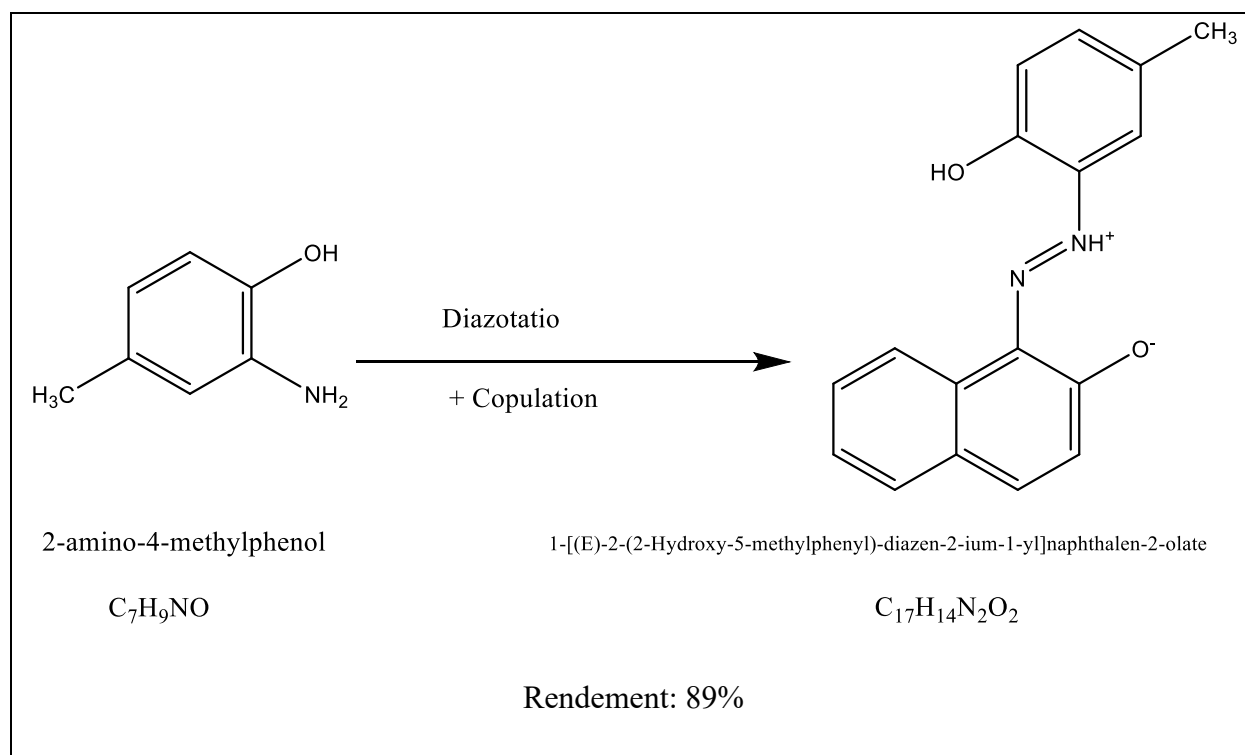


Schéma 2 : Schéma réactionnel de la synthèse des composés azoïques

Résultats obtenus sont rassemblés dans le (Tableau II. 1).

Tableau II. 1: Les composés synthétisés





5. Analyse et interprétation des spectres des composés préparés

5.1. Analyse Infrarouge IR

La spectroscopie infrarouge (IR) constitue une méthode analytique permettant d'identifier les modes vibrationnels spécifiques aux ligands chimiques, ce qui facilite la caractérisation des groupements fonctionnels présents dans le matériau étudié.

L'analyse par spectrométrie IR des composés azoïques synthétisés révèle les bandes d'absorption caractéristiques associées aux vibrations des liaisons des différents groupements fonctionnels.

- Le groupement fonctionnel (C=O) présente une bande de vibration entre 1600 cm^{-1} et 1650 cm^{-1} . Les bandes vibrationnelles de C-H aromatique ont été observées environ 3050 cm^{-1} .
- Une bande de vibration aromatique (C=C) se situe environ vers 1600 cm^{-1} et les bandes de groupement (C-C) se situent entre 1475 cm^{-1} et 1500 cm^{-1} , les bandes vibrationnelles de H aromatique ont été observées environ 3050 cm^{-1} .
- La bande de vibration du groupement (N-H) est située entre 3250 cm^{-1} et 3450 cm^{-1}
- La bande de vibration du groupement (C=N) apparaît environ 1550 cm^{-1} .

Tableau II. 2: Bandes IR caractéristiques des principaux groupements fonctionnels des composés synthétisés

	O-H	C-H	C=C naphtol	C=O	C=C Ar	N-H	C-C Ar	C-Cl	N=N
P1	2921	2921	1596	1594	1490-1397	1510	1285-1206	745.10	1595
P2	3050	1381	1542	1612	1496-1450	1550	1445-1490	/	1616

5.2. Analyse RMN

La RMN ^1H et RMN ^{13}C ont été utilisées pour identifier les protons et les carbones des azo-composés synthétisés.

✓ RMN ^1H

Les spectres RMN ^1H des colorants synthétisés donnent un singlet autour de 14.5 ppm caractérise le proton labile N-H \cdots O)

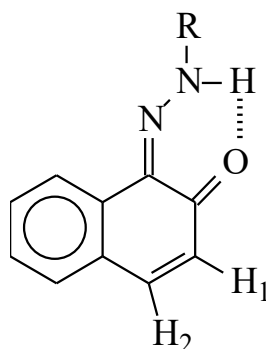


Tableau II. 3: Signaux RMN ^1H caractéristiques des composés synthétisés (ppm)

Composé	δ (ppm)			
	O-H	Ar	H ₁	H ₂
P-1	12.3	6.7-8.4	7.1	7.9
P-2	2.5	6.8-8.2	6.8	7.9

✓ RMN ¹³C

En analyse par Résonance Magnétique Nucléaire du carbone-13 (RMN ¹³C) des composés azoïques synthétisés, les spectres présentent des signaux caractéristiques reflétant les différents environnements chimiques des atomes de carbone dans la molécule. On observe les éléments suivants :

- Carbonyle (C=O) : Apparaît à des déplacements chimiques avoisinant 172 (ppm).
- Carbone lié par une double liaison à l'azote (C=N) : Se manifeste vers 112 ppm.
- Carbone lié à l'azote dans le cycle aromatique (C-N) : Est observé autour de 142 ppm.
- Carbones aromatiques (C-C) : Leurs signaux apparaissent dans la région d'environ 125 ppm.

Ces valeurs fournissent des informations importantes sur la structure moléculaire et contribuent à confirmer la réussite de la synthèse.

Tableau II. 4: Pics RMN ¹³C caractéristiques des composés synthétisés (ppm).

Composé	$\delta(\text{ppm})$				
	C=O	C=N	C-N	C-C (Ar)	C-Cl
P-1	167.26	153.56	48.42	119-130	61.92
P-2	165.35	153.25	45.35	120-160	/

5.3. Spectroscopie UV-Visible

Préparation des solutions et étude des propriétés optiques :

Une série de solutions des composés [P1, P2], à une concentration de 10^{-5} M, a été préparée dans du dichlorométhane (CH₂Cl₂) à température ambiante (25 °C). Ces composés présentent une plage d'absorption caractéristique correspondant à deux formes tautomères en équilibre. Selon les données rapportées dans la littérature, ces équilibres tautomériques se manifestent dans le domaine spectral ultraviolet-visible (UV-Vis), avec des bandes d'absorption distinctes pour chaque forme.

Forme	Zone de λ
Azo	300 – 350 nm
Quinonehydrazone	450 – 500 nm

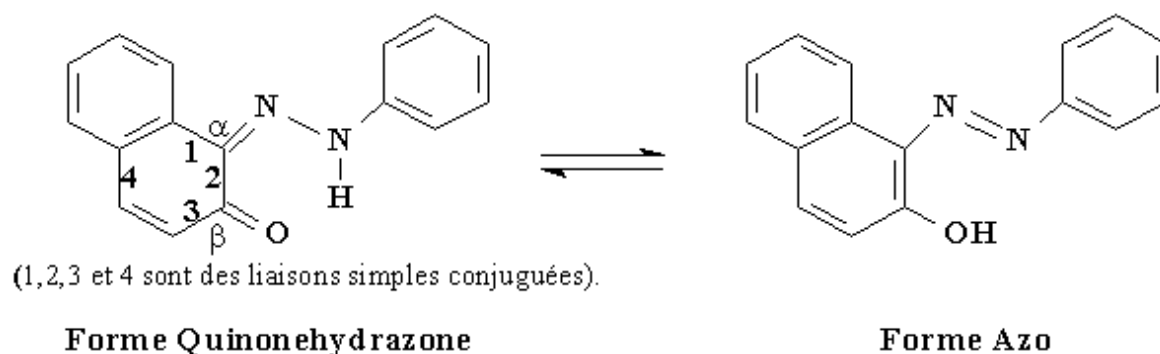


Schéma 3 : Les formes tautomères azo et quinonehydrazone

Les spectres UV-Vis ont été réalisés dans une solution de CH_2Cl_2 et ils ont montré pour tous les ligands, il existe deux bandes d'absorption autour de 300 nm, qui appartiennent à la forme le trans-azobenzène et d'autres à environ 470 nm correspondent à la forme quinone hydrazone, c'est-à-dire La forme azoïque prédomine toujours.

Composé \ Forme	Azo	Quinonehydrazone
P1	315 nm	481 nm
P2	318 nm	480 nm

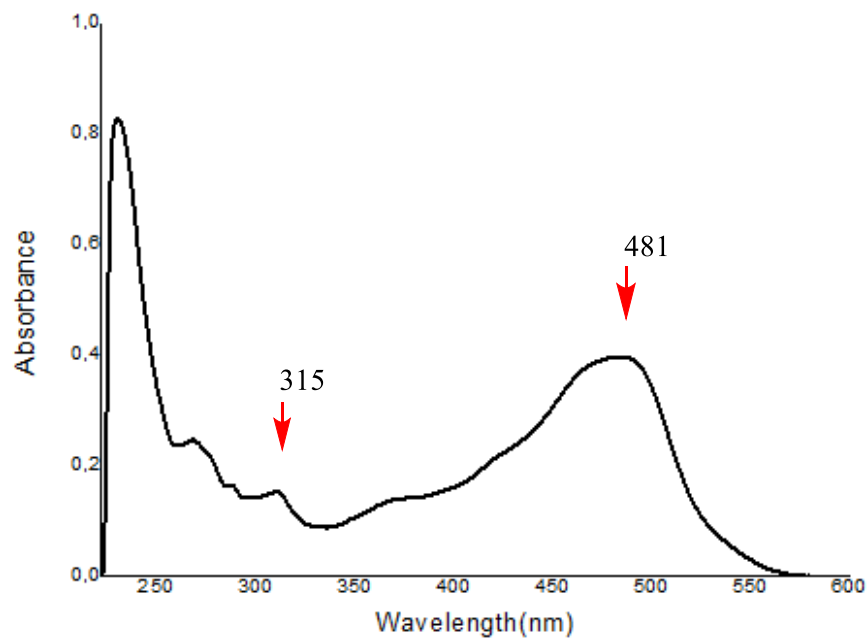


Figure II. 3: Spectre UV-vis du composé (E)-1-(1-(5-chloro-2-hydroxyphenyl)diazen-1-ium-2-yl)naphthalen-2-olat

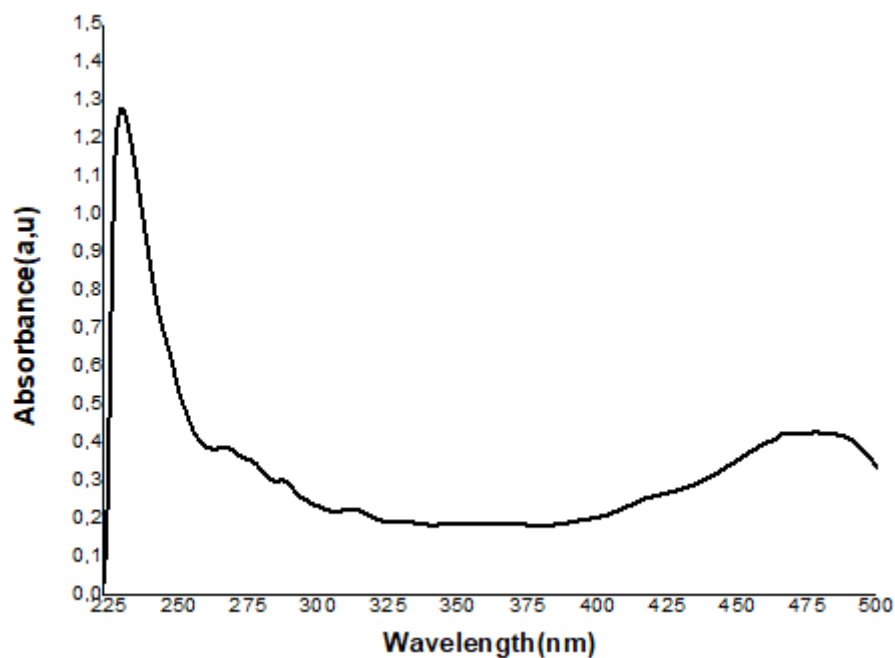


Figure II. 4: Spectre UV-vis du composé 1-[(E)-2-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)-diazen-2-ium-1-yl]naphthalen-2-olate

6. Etude cristallographique des composés synthétisés

La diffraction des rayons X (DRX) constitue l'une des méthodes les plus puissantes pour étudier la structure cristalline des composés chimiques, permettant de déterminer avec une grande précision les positions atomiques au sein du réseau cristallin.

Dans cette étude, des échantillons monocristallins de haute qualité ont été sélectionnés pour des analyses structurales à l'aide d'un diffractomètre à rayons X équipé d'un détecteur bidimensionnel. Cette approche a permis d'obtenir des données précises, contribuant ainsi à la caractérisation détaillée des propriétés structurales des composés examinés.

6.1 Détermination et résolution structurale

La résolution structurale a pour objectif principal l'établissement des coordonnées fractionnaires (x, y, z) des atomes au sein de la maille cristalline. Ces données permettent ensuite de calculer les distances interatomiques, les angles de liaison, ainsi que la géométrie moléculaire. La diffraction des rayons X constitue une méthode essentielle pour accéder non seulement aux paramètres de la maille cristalline, mais également à des informations détaillées sur les liaisons chimiques et la conformation moléculaire. Ces éléments revêtent une importance capitale dans l'étude des propriétés des matériaux, lesquelles sont étroitement liées à leur arrangement atomique et aux éventuels défauts structuraux [42].

Dans le cadre de cette étude, des composés chromogènes de couleur rouge ont été synthétisés. Plusieurs tentatives de recristallisation ont été menées en utilisant divers solvants polaires, aboutissant à l'obtention de cristaux stables à l'air libre, présentant une morphologie bien définie.

Les données de diffraction ont été enregistrées à l'aide d'un diffractomètre automatique équipé d'une géométrie à quatre cercles et d'un détecteur bidimensionnel (CCD).

6.1.1. Etude structurale du composé (E)-1-(1-(5-chloro-2-hydroxyphenyl)diazen-1-ium-2-yl)naphthalen-2-olate

Après la caractérisation initiale du produit synthétisé par résonance magnétique des mutants du proton (RMN ^1H) et (RMN ^{13}C) ainsi que par analyse infrarouge (IR), les cristaux ont été utilisés pour l'étude cristallographique et la détermination structurale à l'aide des données de diffraction. La structure du composé (E)-1-(1-(5-chloro-2-hydroxyphenyl)diazen-1-ium-2-yl)naphthalen-2-olate, de formule générale $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{ClN}_2\text{O}_2$, adopte une conformation de type quinonehydrazone dans laquelle l'unité asymétrique est constituée d'un cycle naphthalénique lié à l'atome d'azote N1 et d'un cycle benzénique substitué lié au second atome d'azote N2. L'hydrogène mobile est localisé

sur l'atome d'azote N1 formant une liaison hydrogène intramoléculaire avec l'atome d'oxygène adjacent du naphthol (N—H...O) (Figure II.5). Les cristaux de ce composé ont cristallisé dans le groupe spatial Cc du système monoclinique avec un volume d'environ 2725.1 (6)Å³, et les paramètres de maille suivants :

$$a = 32.830 (4) \text{ \AA}, b = 4.4049 (5) \text{ \AA}, c = 18.844 (2) \text{ \AA}, \alpha = 70,12^\circ, \beta = 90.130 (3)^\circ.$$

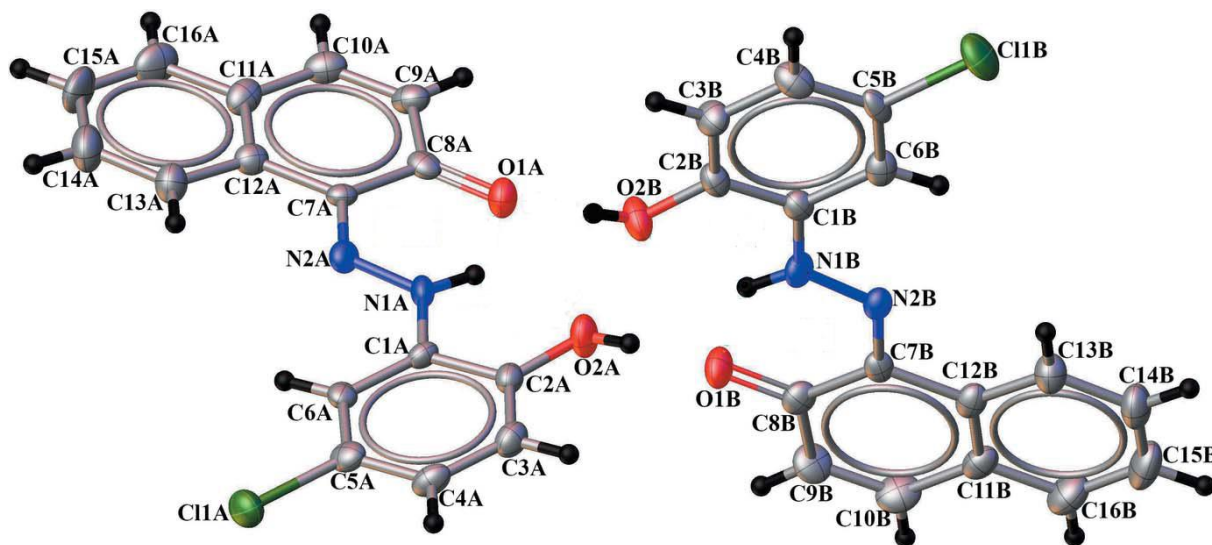


Figure II. 5: Unité asymétrique du composé (E)-1-(1-(5-chloro-2-hydroxyphenyl)diazen-1-ium-2-yl)naphthalen-2-olate

6.1.2. Etude structurale du composé 1-[(E)-2-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)-diazen-2-ium-1-yl]naphthalen-2-olate

La première étape de l'enregistrement des données de diffraction consiste à sélectionner un cristal approprié, d'une taille pratique et ayant la morphologie la plus isotrope possible.

Des cristaux sous forme de prisme rouge ont été choisis pour l'étude structurale par la diffraction des rayons (DRX). Cette étude nous a révélé que notre produit de formule générale C₁₇H₁₄N₂O₂ cristallise dans groupe d'espace P21/a du système monoclinique, avec un volume de 2810 (3) Å³ et les paramètres de maille :

$$a = 14.541 (5) \text{ \AA}, b = 6.052 (5) \text{ \AA}, c = 32.633 (5) \text{ \AA}, \beta = 101.871 (5)^\circ.$$

L'unité asymétrique montre que notre produit de formule générale C₁₇H₁₄N₂O₂ se présente sous forme d'un dimère constitué de deux molécules indépendantes, chaque molécule est constituée

d'un cycle benzénique et les deux cycles aromatiques du noyau β -naphтол sont reliés entre eux par un pont formé par deux atomes d'azote.

Le groupe azoïque adopte la configuration E et la molécule a des liaisons hydrogène intramoléculaires N-H \cdots O (Figure II. 6).

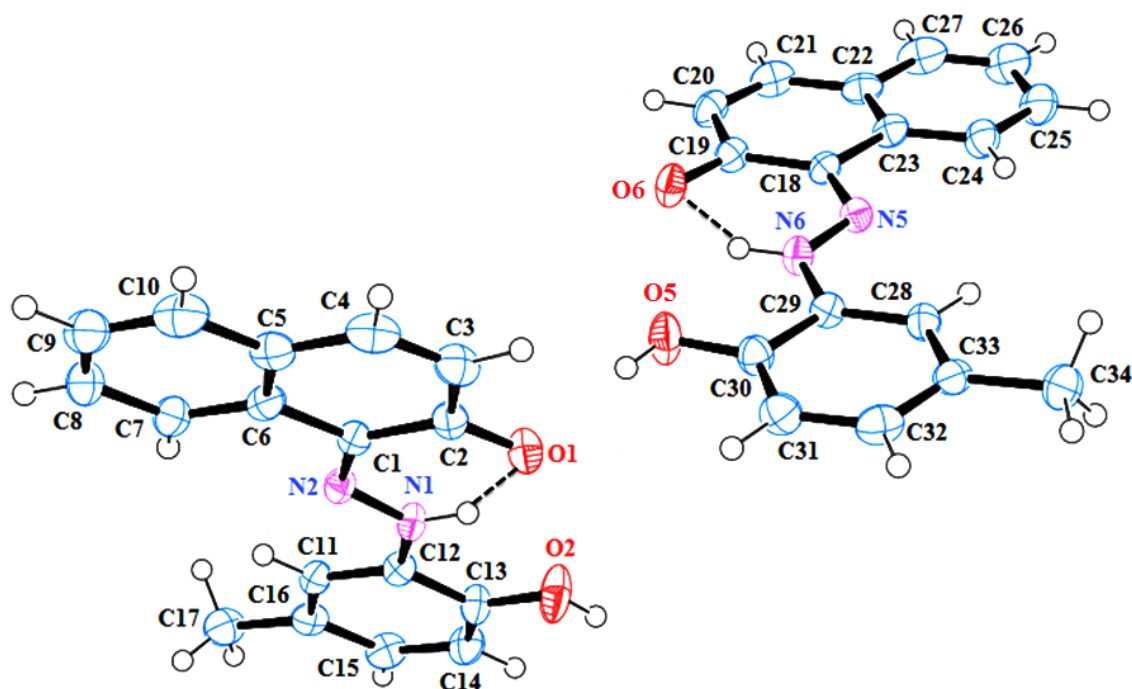


Figure II. 7: Unité asymétrique du composé 1-[(E)-2-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)-diazén-2-ium-1-yl]naphthalen-2-olate

Chapitre III

**Activités biologiques des
substances azoïques**

1. Introduction

Les composés azoïques, caractérisés par la présence du groupement fonctionnel azo (-N=N-) représentent une classe importante de composés organiques connus pour leur grande flexibilité structurale et la diversité de leurs applications, notamment dans les domaines thérapeutique et pharmaceutique. Cette diversité d'activités biologiques est principalement liée à la nature électronique de la liaison azo et à la possibilité de modifier les groupes substituants qui y sont liés.

De nombreuses études ont mis en évidence un large éventail d'activités biologiques associées aux substances azoïques, telles que l'activité antimicrobienne, anti-tumorale, anti-inflammatoire, anti-oxydante, ainsi que la capacité à inhiber certaines enzymes biologiques.

Dans le cadre de ce travail, deux nouveaux composés azoïques ont été synthétisés, à savoir :

- (E)-1-(1-(5-chloro-2-hydroxyphenyl)diazen-1-ium-2-yl)naphthalen-2-olate
- 1-[(E)-2-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)-diazen-2-ium-1-yl]naphthalen-2-olate

et leur potentiel biologique a été étudié à travers deux types d'activités principales :

L'activité anti-inflammatoire, évaluée à travers l'étude de l'effet des composés sur la réponse inflammatoire dans des modèles biologiques ;

L'activité antioxydante, examinée par la capacité des composés à neutraliser les radicaux libres et à prévenir les dommages oxydatifs.

Cette étude vise à mettre en valeur le potentiel thérapeutique de ces deux nouvelles molécules, tout en établissant un lien entre leur structure chimique et leur activité biologique

2. L'application des composés azoïques dans le domaine pharmaceutique et thérapeutiques

Actuellement, les composés azoïques sont peu utilisés en médecine moderne, principalement en raison de l'apparition de substances alternatives plus efficaces et moins toxiques. Cependant, certains d'entre eux conservent une place dans la pharmacopée en raison de leurs propriétés spécifiques.

En plus du Prontosil, un des premiers agents antibactériens synthétiques, et de la **Sulfasalazine**, employée notamment dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (comme la rectocolite hémorragique et la maladie de Crohn), deux autres principes actifs azoïques sont encore utilisés aujourd'hui :

La Phénazopyridine :

Ce composé est utilisé comme analgésique urinaire. Il soulage les symptômes tels que la douleur, les brûlures ou les envies fréquentes d'uriner, souvent associés à des infections ou des

irritations des voies urinaires inférieures. Il ne traite pas l'infection elle-même, mais agit uniquement sur les symptômes.

Le Balsalazide :

Il s'agit d'un dérivé de l'acide 5-aminosalicylique (5-ASA), indiqué dans le traitement de la rectocolite hémorragique. Le balsalazide est un promédicament : il reste inactif jusqu'à son arrivée dans le côlon, où il est transformé en principe actif. Cela permet une libération ciblée au site de l'inflammation, réduisant ainsi les effets indésirables systémiques.

Ces quatre composés ont en commun la présence d'une liaison azo (-N=N-), caractéristique de leur structure chimique. Toutefois, les groupes fonctionnels qui entourent cette liaison leur confèrent des propriétés pharmacologiques spécifiques, justifiant leurs indications thérapeutiques distinctes

La phénazopyridine, commercialisée notamment sous le nom de **Pyridium®**, est un médicament utilisé principalement comme analgésique urinaire. Elle est prescrite pour soulager les douleurs, les brûlures, les irritations, ainsi que les sensations d'inconfort ou de besoin urgent et fréquent d'uriner associées aux infections des voies urinaires (IVU). Son action est palliative, c'est-à-dire qu'elle ne traite pas l'infection elle-même, mais contribue à améliorer la qualité de vie du patient en atténuant les symptômes désagréables [71].

Ce médicament est également utilisé pour soulager les douleurs post-opératoires liées à certaines procédures médicales urologiques, telles que :

- Une chirurgie des voies urinaires,
- Une endoscopie vésicale (cystoscopie),
- La pose d'un cathéter urinaire,
- Ou encore en cas de traumatisme vésical ou urétral.

Grâce à son effet local sur la muqueuse urinaire, la phénazopyridine agit rapidement, généralement dès les premières heures suivant la prise. Toutefois, elle est généralement prescrite pour de courtes durées (généralement 2 à 3 jours), afin de ne pas masquer les symptômes d'une infection évolutive et de limiter le risque d'effets indésirables, notamment sur le foie ou les reins.

Il est important de souligner que l'urine peut prendre une couleur rouge-orangée pendant le traitement, un effet secondaire bénin mais surprenant, qui doit être expliqué aux patients pour éviter toute inquiétude.

Le Balsalazide : un dérivé des aminosalicylés dans le traitement de la colite ulcéreuse Le Balsalazide (commercialisé sous les noms **Colazal®** aux États-Unis et **Colazide®** au Royaume-Uni) est un médicament appartenant à la classe des acides 5-aminosalicyliques (5-ASA), tout

comme la sulfasalazine. Ces composés sont largement utilisés dans la prise en charge des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), notamment la colite ulcéreuse (CU) [72].

Le balsalazide est une prodrogue, c'est-à-dire une molécule inactive administrée par voie orale qui est ensuite transformée dans l'organisme en un principe actif. Plus précisément, le balsalazide est métabolisé par les bactéries coliques en acide 5-aminosalicylique (5-ASA), qui est l'agent pharmacologique actif. Ce processus se produit principalement dans le côlon, ce qui permet une libération ciblée du médicament au site de l'inflammation, réduisant ainsi les effets secondaires systémiques [73].

Comparé à la sulfasalazine, le balsalazide présente un meilleur profil de tolérance, car il ne libère pas de sulfapyridine, une molécule responsable de nombreux effets indésirables associés à la sulfasalazine (tels que les maux de tête, les nausées, les éruptions cutanées ou l'oligospermie). Cette différence rend le balsalazide particulièrement adapté aux patients intolérants à la sulfasalazine.

Un autre médicament de la même catégorie est l'Olsalazine (**Dipentum®**). Il s'agit également d'une prodrogue du 5-ASA, composée de deux molécules de 5-ASA liées entre elles par une liaison azoïque. Comme le balsalazide, l'olsalazine est activée dans le côlon par l'action des enzymes bactériennes. Bien qu'il partage le même mécanisme d'action que le balsalazide, l'olsalazine peut parfois provoquer une diarrhée dose-dépendante, ce qui peut en limiter l'utilisation chez certains patients [74].

Ainsi, le balsalazide, par son mode d'action localisé et son profil de sécurité amélioré, constitue une option thérapeutique efficace et bien tolérée pour les patients atteints de colite ulcéreuse, en particulier ceux qui présentent une intolérance à la sulfasalazine.

Certains de ces composés ont démontré une activité antimicrobienne et antifongique, et sont également utilisés comme agents anti-inflammatoires, comme la sulfasalazine, utilisée dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin comme la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique. Les composés azoïques se caractérisent par leur capacité à être dégradés par les enzymes présentes dans le côlon en composants thérapeutiquement actifs, permettant ainsi la libération du médicament directement au site de l'infection et minimisant les effets secondaires sur les autres organes. Ce type de ciblage local les rend adaptés à la conception de promédicaments activés uniquement dans des environnements spécifiques de l'organisme. De plus, l'utilisation de ces composés dans le traitement du cancer suscite un intérêt croissant, des recherches étant menées pour développer des dérivés azoïques capables d'interagir sélectivement avec les cellules cancéreuses. Cependant, certains composés azoïques peuvent poser des problèmes de sécurité, car ils peuvent être métabolisés en amines aromatiques toxiques ou cancérigènes, ce qui nécessite une évaluation rigoureuse de leur toxicité lors du développement de médicaments azoïques. Malgré

ces difficultés, les composés azoïques restent un outil prometteur pour la conception de médicaments intelligents à haute efficacité et à faibles effets secondaires, ouvrant de nouveaux horizons à la médecine pharmaceutique moderne.

3. Activités biologiques de substances azoïques synthétisés :

3.1. Activité antioxydante :

L'intérêt scientifique pour les antioxydants a commencé au milieu du 20^e siècle lorsque les scientifiques ont découvert que les radicaux libres endommageaient les cellules et contribuaient au vieillissement et aux maladies chroniques telles que le cancer et les maladies cardiaques. En 1956, Denham Harman a introduit la théorie du « vieillissement par radicaux libres », ouvrant la porte à l'étude des antioxydants comme moyen de lutter contre le stress oxydatif nocif.

3.1.1. Principes des méthodes de dosage des antioxydants :

Voici quelques-unes des méthodes *in vitro* les plus utilisées, telles que décrites par Mermelstein (2008) :

- **Dosage de la capacité antioxydante des radicaux hydroxyles (HORAC) :**

Le dosage de la capacité anti-oxydante des composés en évaluant leur capacité à protéger contre la formation de radicaux hydroxyles via la réaction de Fenton avec un complexe Co(II), utilisant des mesures de fluorescence et des solutions d'acide gallique [75].

- **Méthode de la capacité antioxydante équivalente au Trolox (TEAC) :**

Cette méthode, similaire en principe à l'ORAC, utilise un spectrophotomètre à réseau de diodes pour mesurer la perte de la couleur lorsqu'un antioxydant est ajouté au chromophore bleu-vert. ABTS^{•+}, Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique).

L'antioxydant diminue l'ABTS^{•+} pour former de l'ABTS, le décolorant. Le radical ABTS^{•+} est un radical stable qui n'existe pas dans l'organisme humain [76].

- **La méthode DPPH :**

Ce test évalue, à l'aide d'un spectrophotomètre, la capacité des antioxydants à réduire le 2,2-diphénylpicrylhydrazyle (DPPH), un autre radical rarement présent dans les systèmes biologiques.

Un certain nombre de protocoles ont été suivis pour les essais antioxydants DPPH, entraînant une variation des résultats entre différents laboratoires. Sharma & Bhat (2009) ont présenté une perspective sur les protocoles suivis par différents chercheurs avec des résultats incongrus et ont recommandé une procédure standard dans la plage de sensibilité de la

spectrophotométrie, en plus de la sensibilité du DPPH à la lumière, au pH et à la solubilité du composé [77].

3.2. Activités anti-oxydantes des composés azoïques :

Le présent travail a été effectué dans le laboratoire de biochimie, au Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBT). Au cours de cette étude, nous avons réalisé une étude in vitro de l'activité antioxydante des deux composés étudiés, en utilisant deux méthodes différentes : la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH, La méthode de piégeage des radicaux libres ABTS [78].

3.2.1. L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH

L'évaluation de l'activité de piégeage des radicaux libres par la méthode des DPPH est une technique couramment utilisée en biochimie pour évaluer le potentiel antioxydant d'une molécule. Cette méthode est considérée comme l'une des méthodes colorimétriques les plus standardisées et les plus faciles pour évaluer les propriétés antioxydantes des composés purs

- **Principe de la réaction :**

Le principe de cette méthode a été conceptualisé par Blois en 1958, qui a montré pour la première fois que les radicaux libres peuvent être piégés par des molécules antioxydantes. Le DPPH est un radical stable en solution qui apparaît de couleur violette et absorbe à 515 nm dans le méthanol. Ce test repose sur le principe que le radical DPPH, lorsqu'il accepte un atome d'hydrogène (H) de la molécule antioxydante piègeuse, est réduit en DPPH-H, entraînant une réduction de la couleur violette en jaune avec une diminution concomitante de l'absorbance à 515nm (Figure III. 1)

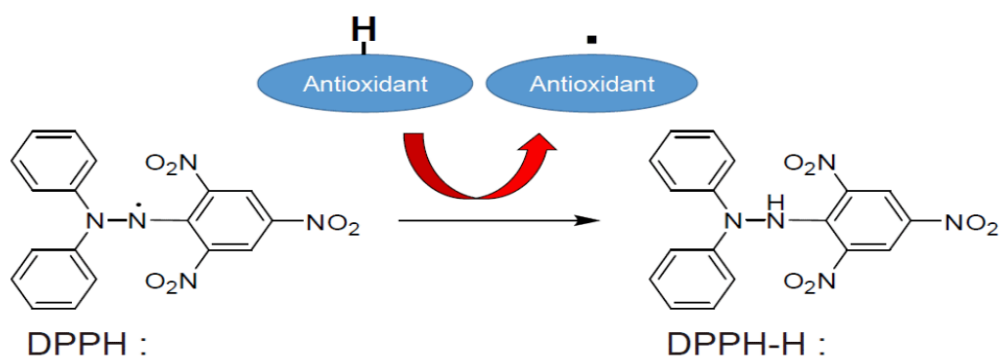


Figure III. 1: Réduction de DPPH par un antioxydant

- **Protocole :**

Pour préparer une solution de DPPH (0,1mM) : il faut dissoudre 6 mg de DPPH dans un solvant approprié tel que le méthanol, dans un volume final de 100 mL. Agiter la solution pendant quelques minutes jusqu'à dissolution complète de la DPPH. La solution de DPPH peut être conservée dans un flacon hermétique et stocké à une température appropriée, généralement à l'abri de la lumière et à température ambiante, pendant quelques mois au maximum. En se basant sur le protocole de Blois de 1958, le test a été effectué sur une microplaque de 96 puits, chacun ayant un volume de 200 μ L. 40 μ L de chaque composé, dilués à diverses concentrations (de 0 à 4 mg/mL), ont été combinés avec 160 μ L d'une solution de DPPH préparée dans le méthanol. Le mélange a été incubé pendant 30 min à température ambiante, à l'abri de la lumière, avant que l'absorbance ne soit mesurée à 517 nm par rapport à un blanc composé de 160 μ L de la solution de DPPH et de 40 μ L du solvant utilisé.

Les normes de comparaison utilisées dans des conditions réactionnelles identiques comprennent le BHA (butylhydroxytoluène) et BHT (Butylated Hydroxyanisole). Après avoir utilisé une lecture de microplaques pour mesurer l'absorbance, le pourcentage d'inhibition (%PI) est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{PI}\% = \left(\frac{\text{Densité optique de blanc} - \text{Densité optique de l'échantillon}}{\text{Densité optique blanc}} \right) * 100$$

En mesurant la cinétique de cette activité, on peut déterminer les concentrations qui entraînent une inhibition de 50% (IC50).

L'IC50 est un indicateur de l'efficacité antioxydante de l'extrait, exprimé en termes de concentration. Cette valeur correspond à la concentration de composé nécessaire pour éliminer 50% des radicaux DPPH dans la solution réactionnelle. Plus l'IC50 est bas, plus l'efficacité antioxydante de composé est élevée.

- **Résultats et discussion :**

Le radical DPPH présente une couleur violette, mais lorsque des substances anti-radicalaires présentes dans les extraits de plantes le réduisent, il change de couleur pour devenir jaune (DPPH-H). Cette réduction a été mesurée à une longueur d'onde de 517 nm, en utilisant le protocole développé en 1958 par Blois. Nous avons mesuré les pourcentages d'inhibition pour chaque extrait testé à différentes concentrations. À partir de ces données expérimentales, nous avons effectué une régression linéaire afin d'obtenir une courbe dose-réponse. En utilisant cette courbe, nous avons calculé les valeurs de IC50 en $\mu\text{g/mL}$. Dans notre étude, nous avons comparé les résultats obtenus avec ceux de standards de référence largement acceptés : BHA et BHT. Les données ont été illustrés graphiquement à l'aide figures et été présentées dans le tableau III. 1

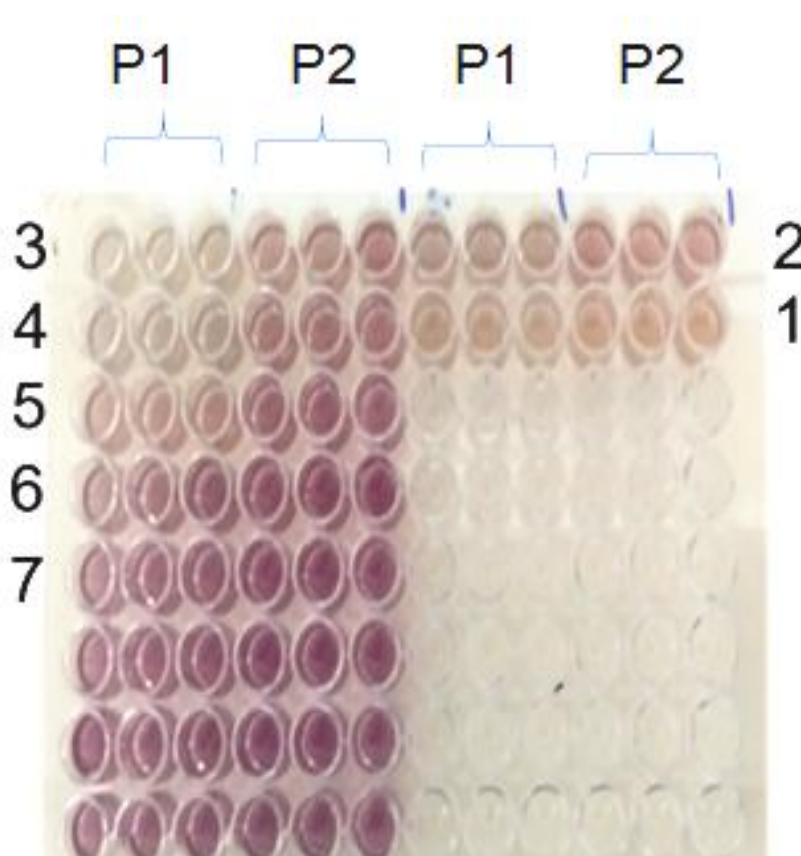


Figura III. 2: Résultats du test DPPH sur microplaques (trois répétitions pour chaque composé respectivement et la concentration augmente selon les numérotations de 1-7)

Tableau III. 1: Récapitulatif des résultats de pourcentages d'inhibition et de IC50 des produits testés et des standards utilisés du test DPPH

Pourcentage d' inhibition	IC ₅₀ µg/mL	2,52±0,30	IC50 µg/mL	30,82±2,02	IC ₅₀ µg/mL	22,32±1,19	5,73±0,41
23,6 µg	48,07±2,38	32,4 µg	52,80±2,09	200 µg	87,28±0,26	88,43±0,23	
11,8 µg	58,53±3,94	16,2 µg	33,41±0,00	100 µg	83,60±0,23	87,73±0,15	
5,9 µg	62,27±3,78	8,1 µg	33,18±2,33	50 µg	56,02±0,53	87,53±0,82	
2,95 µg	56,37±2,48	4,05 µg	24,71±0,10	25 µg	52,63±2,70	84,09±0,35	
1,475 µg	42,99±0,86	2,025 µg	12,62±1,59	12,5 µg	37,12±1,80	76,76±1,65	
0,7375 µg	28,21±4,05	1,0125 µg	-	6,25 µg	22,21±1,30	54,33±1,59	
0,36875 µg	17,29±1,75	0,50625 µg	-	3,125 µg	11,69±1,88	28,95±1,16	

A la lumière de nos résultats (**Figure III. 2**), nous observons des différences significatives entre les deux composé testés en termes d'activité antioxydante, mesurée par les valeurs d'IC50. Les composés de référence BHA et BHT présentent des IC50 de $5.73 \pm 0.41 \mu\text{g}/\text{Ml}$ et $22.32 \pm 1.19 \mu\text{g}/\text{mL}$ respectivement. Ces valeurs démontrent une activité antioxydante significative de ces composés de référence, les rendant potentiellement utiles dans des applications visant à combattre les radicaux libres.

Le composé P1 présente une faible valeur d'IC50 ($2,52 \pm 0,30 \mu\text{g}/\text{mL}$), comparable à celle du BHA et BHT ce qui suggère une excellente activité antioxydante supérieur que les deux références synthétiques BHA et BHT ainsi que le composé P2.

Le composé P2 avec une valeur d'IC50 ($30,82 \pm 2,02 \mu\text{g}/\text{mL}$), il est donc moins actif que le BHA, BHT et le composé P1.

3.2.2. L'activité de piégeage des radicaux libres ABTS :

- **Principe :**

Le test ABTS est une technique spectrophotométrique qui se base sur la formation d'un radical cationique stable et coloré bleu-vert ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) à partir de l'ABTS, également connu sous le nom d'acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), agissant comme donneur de H^{\bullet} , Permet la réduction de ce radical, entraînant sa décoloration suite à un transfert d'électron (Figure III. 3).

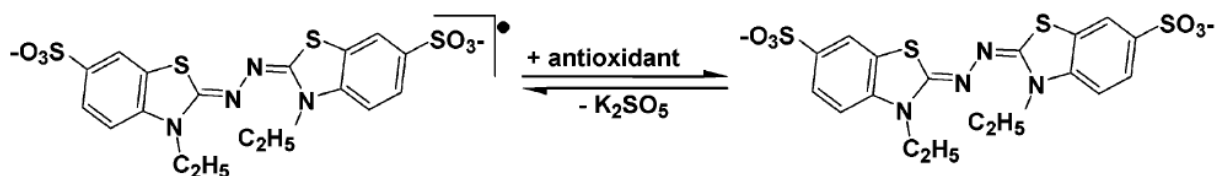


Figura III. 3: Formation et réduction du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ par un antioxydant donneur de H^{\bullet}

- **Protocole :**

Pour préparer une solution du $\text{ABTS}^{\bullet+}$: nous combinons l'ABTS (7 mM) avec le persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) (2,45 mM) afin de favoriser la formation de l'ABTS $^{\bullet+}$. Le mélange est laissé à réagir pendant 12 à 16 heures, à l'abri de la lumière et à température ambiante. Par la suite, nous diluons le mélange avec de l'eau distillée jusqu'à obtenir une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734nm. Le protocole utilisé dans cette étude est une adaptation du protocole décrit par Re et ses collaborateurs en 1999. Pour cela, 40 μL des deux composés à différentes concentrations (0.4

mg/mL) ont été déposés en triplicata dans une microplaque, puis 160 μ L d'ABTS \bullet^+ ont été ajoutés. La microplaque a ensuite été maintenue à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 10 minutes avant de mesurer l'absorbance à 734 nm par rapport à un blanc préparé dans les mêmes conditions en utilisant le solvant (MeOH) à la place des deux compose. Cette méthode permet d'obtenir une mesure en point final, directement proportionnelle à la concentration en antioxydants. L'activité ABTS \bullet^+ a été exprimée en pourcentage et calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{ABTS}^+ \text{ scavenging effect (\%)} = (A_{\text{Control}} - A_{\text{echantillon}} / A_{\text{Control}}) * 100$$

Cette méthode a été développée en 1999 par Re et ses collaborateurs. L'évaluation de l'activité antioxydante totale des extraits de plante est réalisée en mesurant leur capacité à inhiber le radical ABTS \bullet^+ obtenu à partir de l'ABTS. La décoloration du radical est quantifiée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 734 nm, et les résultats sont comparés à des antioxydants de référence tels que le BHT et le BHA [79].

Les normes de comparaison utilisées dans des conditions réactionnelles identiques comprennent le BHA et BHT. En mesurant la cinétique de cette activité, on peut déterminer les concentrations qui entraînent une inhibition de 50% (IC50). L'IC50 est un indicateur de l'efficacité antioxydante de compose, exprimé en termes de concentrations. Cette valeur correspond à la concentration de compose nécessaire pour éliminer 50% des radicaux ABTS dans la solution réactionnelle. Plus l'IC50 est bas, plus l'efficacité antioxydante de l'extrait est élevée.

- **Résultats et discussion :**

La méthode de piégeage des radicaux libres ABTS \bullet^+ est une technique optimale pour évaluer l'activité antioxydante des composés. L'ajout de composés ou de molécules de référence BHA/BHT entraîne la formation de ABTSH $^+$ à partir de ABTS \bullet^+ , ce qui entraîne une décoloration de la solution qui est quantifiée à l'aide d'un lecteur de microplaque à 734 nm. Les résultats ont été présentés dans la figure III. 4 et le tableau III. 2

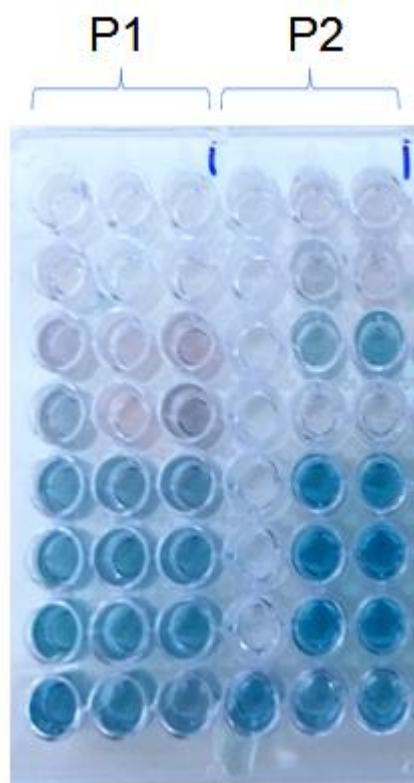


Figure III. 4: Résultats du test ABTS sur microplaques.

(Trois répétitions pour chaque composé respectivement).

Le composé P1 présente un IC50 le plus bas, révélant une activité antioxydante élevée que celle de références Le BHA et le BHT avec une IC50 de $0,91 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$, tandis que le BHT et BHA ont montré une IC50 de $1,29 \pm 0,300 \mu\text{g/mL}$ et $1,81 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$ respectivement. Ces résultats mettent en évidence l'efficacité supérieure de ce composé dans la neutralisation du radical cation ABTS⁺. Le composé P2 a démontré une activité antioxydante, avec une IC50 de $2,47 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$. Cette valeur indique leur capacité à neutraliser le radical cation ABTS⁺ et suggèrent une activité antioxydante moins actif que le BHA, BHT et le composé P1

Tableau III. 2 : Récapitulatif des résultats de pourcentages d'inhibition et de IC50 des produits testés et des standards utilisés du test ABTS.

Produits	IC ₅₀ µg/ml	0,91±0,02	IC ₅₀ µg/ml	2,47±0,10	IC ₅₀ µg/ml	1.29±0.30	1.81±0.10
	5,8 µg	87,84±2,23	5,2 µg	85,90±1,22	200 µg	96,68±0,39	95,39±2,62
	2,9 µg	88,61±2,19	2,6 µg	68,18±4,93	100 µg	94,87±0,87	94,20±0,90
	1,45 µg	68,60±0,24	1,3 µg	18,03±6,26	50 µg	93,37±0,86	93,63±0,95
	0,725 µg	39,63±4,81	0,65 µg	-	25 µg	92,18±1,27	93,63±0,16
	0,3625 µg	25,18±3,25	0,325 µg	-	12,5 µg	90,36±0,00	93,58±0,09
	0,18125 µg	15,25±3,85	0,1625 µg	-	6,25 µg	78,55±3,43	93,52±0,09
	0,090625 µg	10,73±0,60	0,0812 µg	-	3,125 µg	59,22±0,59	83,42±4,09
					Standards	BHT	BHA
		P1		P 2			

3.3. l'activité anti-inflammatoire

L'activité biologique anti-inflammatoire fait référence à la capacité d'une substance (naturelle ou synthétique) à réduire ou inhiber les processus inflammatoires dans le corps. L'inflammation est une réponse immunitaire naturelle à une blessure ou une infection, mais elle peut devenir nuisible si elle est excessive ou chronique. Les substances aux propriétés anti-inflammatoires agissent par divers mécanismes tels que :

Inhibition de la production des cytokines inflammatoires (comme IL-1, IL-6 et TNF- α).

Inhibition des enzymes inflammatoires telles que *COX-2* (Cyclooxygenase-2) et *LOX* (Lipoxygenase).

Réduire la production de prostaglandines qui contribuent à l'inflammation.

Antioxydant, ce qui réduit les dommages cellulaires associés à l'inflammation.

Ces substances sont utilisées pour traiter de nombreuses maladies inflammatoires telles que l'arthrite, la colite et les maladies auto-immunes [80].

3.3.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :

L'inflammation constitue un mécanisme de défense essentiel ainsi qu'une réponse immunitaire permettant à l'organisme de préserver l'homéostasie tissulaire en conditions défavorables L'activité anti-inflammatoire a été évaluée à l'aide de la méthode d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA).

- **Inhibition de la dénaturation de BSA :**

L'un des mécanismes d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens est leur capacité à inhiber la dénaturation des protéines. La méthode utilisant la protéine BSA (Bovine Serum Albumine) est la plus employée pour évaluer cet effet.

- **Protocole :**

L'activité anti-inflammatoire a été réalisée par la méthode de la dénaturation de la protéine BSA sous l'effet de la chaleur selon le protocole décrit par *Bakhouche et al., (2021)* avec quelques modifications. Brièvement, une solution de BSA à 0,5 % a été préparée dans un tampon tris-HCl pH 6,6. Un volume de 350 μ L des deux composés dans un mélange DMSO/Eau distillée (20 %) sont mélangés avec 350 mL de la solution BSA. Les tubes sont ensuite incubés à 37 °C/15 min pour permettre l'interaction entre le composé et la protéine. Une deuxième incubation à 72 °C/5min a été ensuite effectuée pour provoquer la dénaturation de la protéine. Après refroidissement des solutions, une lecture est effectuée à 660 nm. Un contrôle est réalisé en parallèle en remplaçant le composé avec le solvant (DMSO 20 %).

Les résultats sont rapportés en termes de pourcentages d'inhibition calculés selon la formule ci-dessous :

$$\text{Inhibition (\%)} = (\text{AC} - \text{AE}) / \text{AC} * 100$$

Où :

AC est l'absorbance du contrôle à 660 nm

AE est l'absorbance du mélange échantillon/BSA à 660 nm

- **Résultats et discussion :**

L'activité anti-inflammatoire des deux composés (Figure III. 5) pourrait s'expliquer par leur structure, qui leur permet d'interagir avec la protéine et d'en prévenir la dénaturation en stabilisant ses liaisons structurales. Cet effet a été largement démontré par des études antérieures portant sur les composés synthétisés

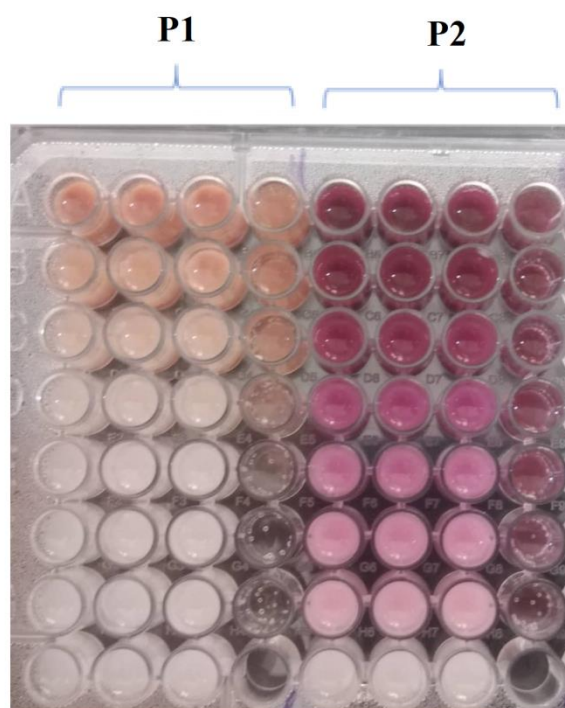


Figure III. 6 : Résultats de l'activité anti-inflammatoires sur microplaques

(Trois répétitions pour chaque composé respectivement)

D'après les résultats présentés (Figure III. 7), l'effet protecteur observé augmente proportionnellement à la concentration pour les deux composés étudiés. Les composés **P1** et **P2** présentent des effets inhibiteurs comparables, atteignant respectivement $37,41 \pm 0,72 \%$ et $24,67 \pm 0,74 \%$ à une concentration de $1900 \mu\text{g/mL}$. Le composé **P1** se distingue par son activité

inhibitrice maximale, atteignant $85,71 \pm 0,74$ % à $7600 \mu\text{g/mL}$, tandis que le composé **P2** ne manifeste aucun effet protecteur à cette même concentration. Bien que les deux composés présentent une activité inhibitrice, celle-ci demeure inférieure à celle du standard, le **diclofénac sodique**, dont l'effet inhibiteur est de $91,04 \pm 0,72$ % à une concentration de $2000 \mu\text{g/mL}$.

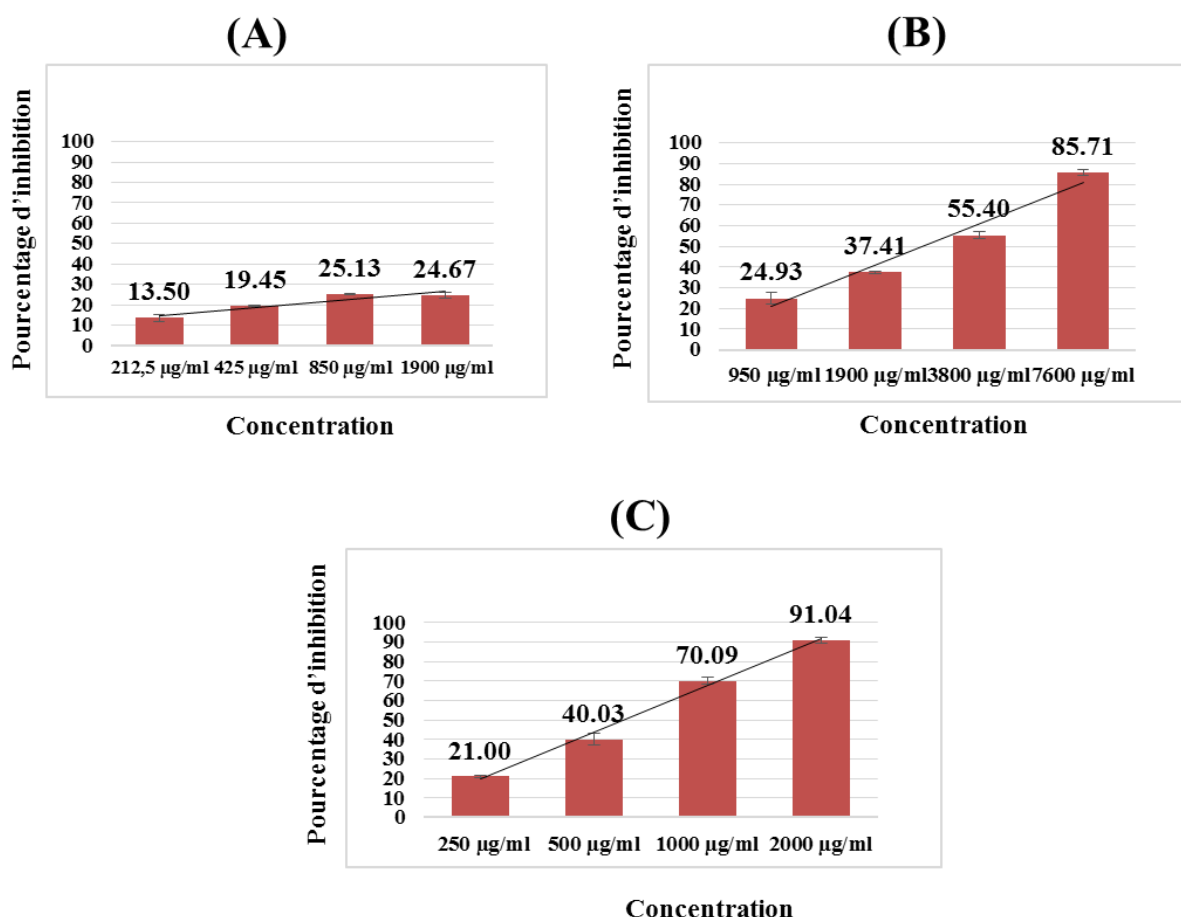


Figure III. 8 : Inhibition de la dénaturation de la BSA induite par la chaleur. Composé P1 (A), Composé P2 (B) et le standard diclofénac de sodium (C).

3.4. Activité antibactérienne :

Au cours des dernières années, quelques agents infectieux ont développé une résistance aux traitements actuels, ce qui a conduit à l'émergence de nouvelles maladies. Il est crucial de déterminer l'efficacité antibactérienne contre des organismes pathogènes spécifiques pour une thérapie adéquate. L'analyse peut révéler à quels agents un microbe pathogène est le plus réceptif et fournir une estimation de la dose thérapeutique appropriée. L'élaboration de nouvelles méthodes de synthèse et la quête de molécules présentant une activité thérapeutique potentielle demeurent une préoccupation constante pour de nombreux chercheurs [79].

3.4.1. Techniques d'études in vitro du pouvoir antimicrobien

Plusieurs méthodes sont employées pour démontrer l'activité antimicrobienne. L'explication de la diversité des méthodes utilisées [3-4] réside dans l'insolubilité de certains composés dans les milieux aqueux fréquemment employés en microbiologie. On peut les classer en fonction de la manière dont le contact avec le microbe se fait, en employant l'une des deux techniques majeures : la méthode de dilution ou la méthode de diffusion :

3.4.2. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en puits sur gélose :

- **Les souches utilisées :**

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée à l'aide de sept souches microbiennes, comprenant cinq bactéries (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella typhi* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* ATCC 6633 et *Staphylococcus aureus* ATCC (6538), ainsi que deux champignons (*Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 et *Candida albicans* ATCC 10231), issues des cultures de réserve du Département de biotechnologie industrielle du Centre de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt) de Constantine, en Algérie.

- **La méthode utilisée :**

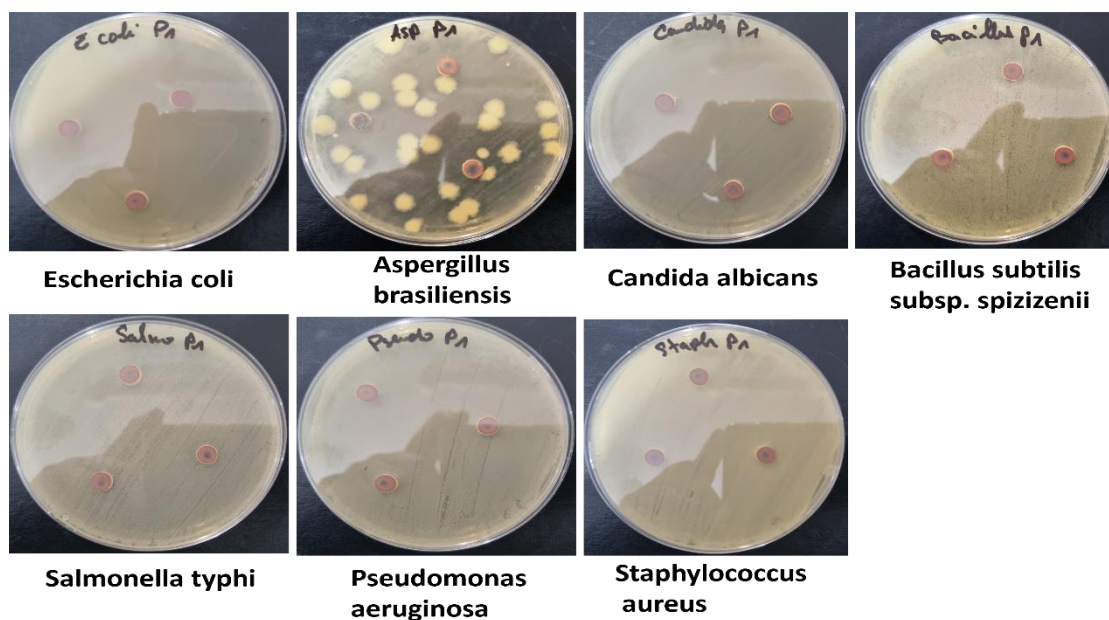
L'activité antimicrobienne des deux produits a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion en puits sur gélose. Des boîtes de gélose PDA (Potato Dextrose Agar) solidifiée ont été utilisées pour les champignons testés, en les ensemençant avec 100 µl de spores, tandis que des boîtes de gélose Muller Hinton ont été utilisées pour chaque pathogène bactérien, puis séchées. Sur chaque boîte, trois puits de 6 mm de diamètre ont été réalisés à l'aide d'un emporte-pièce stérile, puis remplis avec 50 µl de chaque échantillon à une concentration de 250 µg/ml. Les boîtes ont d'abord été incubées à 4°C pendant 2 heures, puis transférées à 37°C pendant 24 heures.

L'effet inhibiteur est représenté par une zone claire autour du puits contenant le composé actif, mesurée à l'aide d'un pied à coulisse (en mm). Les boîtes contenant uniquement les pathogènes, sans les composés testés, servent de témoins négatifs. Les seuils d'interprétation selon les critères de diffusion sur disque du CLSI ont été utilisés.

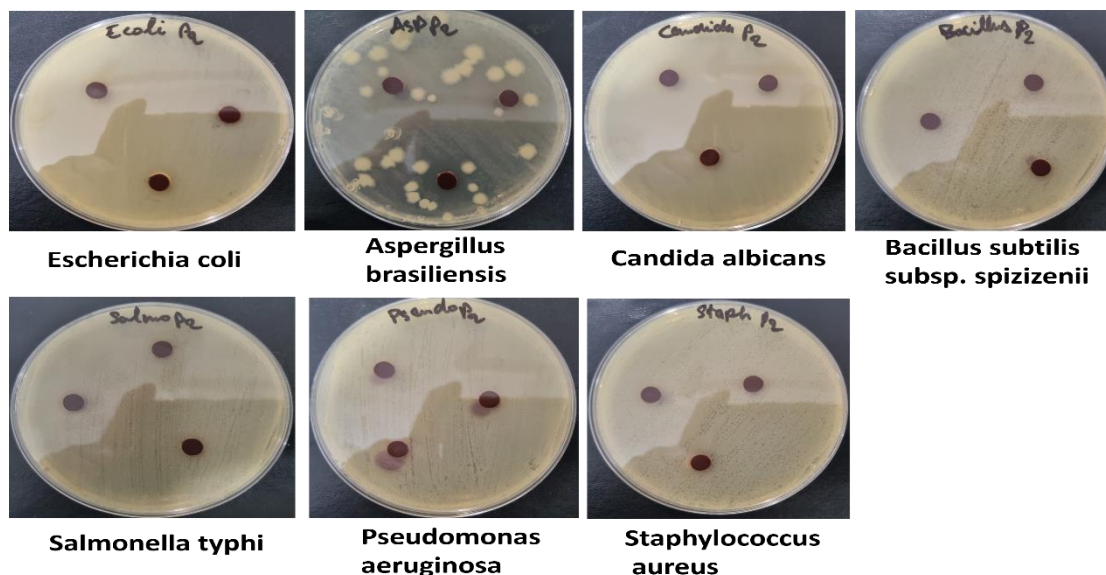
- Un diamètre ≥ 17 mm est interprété comme **sensible**
- Un diamètre compris entre 14 et 16 mm comme **sensible dépendant de la dose (S-DD)**
- Un diamètre ≤ 13 mm comme **résistant (R)**

- **Résultats et discussion :**

Les diamètres d'inhibition mesurés étaient égaux à zéro (Tableau III. 3) pour toutes les souches testées, ce qui reflète une résistance totale des micro-organismes aux échantillons appliqués donc la méthode de diffusion en puits n'a révélé aucune activité antibactérienne ni antifongique significative des substances examinées (Figure III. 9).



Molécule 1 (P1)



Molécule 2 (P2)

Figure III. 10 : Résultats de l'activité antimicrobienne des molécules de produits en utilisant la méthode de diffusion en puits sur gélose.

Tableau III. 4 : Zone d'inhibition (mm)

Isolats	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. brasiliensis</i>
P1	0	0	0	0	0	0	0
P2	0	0	0	0	0	0	0

Conclusion générale

À l'issue de ce parcours de recherche approfondi sur l'étude des composés azoïques, nous pouvons tirer un ensemble de résultats et de recommandations qui ouvrent de nouvelles perspectives pour la recherche et le développement dans ce domaine essentiel. Cette étude a démontré l'importance capitale des composés azoïques dans divers champs d'application, allant de leurs utilisations traditionnelles comme colorants industriels à leurs applications avancées dans le domaine pharmaceutique et médical.

À travers les trois chapitres de ce mémoire, nous avons pu mettre en lumière les aspects fondamentaux suivants :

En premier lieu, nous avons identifié les caractéristiques structurales et physico-chimiques distinctives des composés azoïques qui les rendent uniques parmi les composés organiques. Il a été démontré que la liaison azoïque ($-N=N-$) et ses groupes fonctionnels associés forment un système électronique dynamique, modulable selon les exigences des différentes applications.

Puis, nous avons analysé les mécanismes réactionnels fondamentaux auxquels ces composés sont soumis, en nous concentrant sur les réactions de diazotation et de couplage azoïque comme principales voies de synthèse. Les résultats ont montré que le contrôle des conditions réactionnelles peut améliorer le rendement et la pureté du produit final.

Nous avons aussi évalué une variété de techniques analytiques utilisées pour la caractérisation des composés azoïques, confirmant que les méthodes spectroscopiques et cristallographiques offrent une haute efficacité pour déterminer la structure moléculaire et étudier les propriétés physiques.

En fin, nous avons examiné les vastes activités biologiques de ces composés et leurs mécanismes d'action moléculaire, en illustrant par des exemples concrets leurs applications thérapeutiques. L'étude a révélé que des modifications structurales ciblées peuvent améliorer l'efficacité thérapeutique tout en réduisant les effets secondaires.

Malgré ces résultats prometteurs, l'étude a également souligné plusieurs défis nécessitant des recherches supplémentaires :

1. Défis scientifiques

- Lacunes dans la compréhension de certains mécanismes réactionnels précis
- Difficultés à prédire avec exactitude leurs propriétés
- Limitations de certaines techniques analytiques

2. Défis appliqués

- Difficultés dans le contrôle précis des conditions réactionnelles
- Enjeux liés à l'optimisation des rendements industriels
- Obstacles au développement de formulations pharmaceutiques stables

3. Défis sanitaires

- Préoccupations concernant leur toxicité à long terme
- Problématiques de biodisponibilité

À la lumière de ces résultats, les recommandations suivantes peuvent être formulées :

- a. Renforcer la collaboration entre chimistes et pharmaciens pour concevoir de nouveaux dérivés azoïques.
- b. Exploiter les techniques computationnelles avancées pour prédire leurs propriétés.
- c. Accentuer les études précliniques pour confirmer leur sécurité et efficacité.
- d. Élaborer des normes standardisées pour évaluer la qualité des composés azoïques pharmaceutiques.

En conclusion, cette étude a contribué à approfondir la compréhension scientifique des composés azoïques et de leurs applications, tout en traçant des pistes de recherche futures prometteuses. Les défis liés à leur utilisation dans les applications pharmaceutiques ne sont que des incitations à poursuivre des recherches innovantes et rigoureuses.

Les composés azoïques, avec leurs propriétés uniques et leur diversité structurale, restent un trésor scientifique encore sous-exploité. Nous espérons que ce mémoire servira de pierre à l'édifice des connaissances scientifiques et motivera les jeunes chercheurs à explorer ce vaste domaine, qui allie chimie fondamentale et applications pratiques au service de l'humanité.

Perspectives :

1. Conception de dérivés azoïques "intelligents" répondant à des stimuli biologiques.
2. Développement de systèmes d'administration médicamenteuse plus précis utilisant des composés azoïques.
3. Étude des interactions entre composés azoïques et systèmes biologiques à l'échelle moléculaire.
4. Exploration de nouvelles applications en médecine personnalisée et thérapies ciblées.

Avec cette vision globale, nous clôturons ce travail de recherche, en affirmant que les composés azoïques resteront un sujet riche d'investigations scientifiques dans les décennies à venir, alors que les besoins en solutions innovantes pour la santé humaine ne cessent de croître.

Références

- [1] Patai, S. (1978). Chemistry of the diazonium and diazo groups: Part 1. Wiley-Blackwell.
- [2] Nor, A., Suad, S., & Aljamali, N. M. (2019). Synthesis, characterization and thermal analysis for new Amoxil ligands. *Asian Journal of Chemistry*, 31(5), 1022-1026.
- [3] Ghafil, R. A. A., Alrazkb, N., & Aljamali, N. M. (2020). Synthesis of triazole derivatives via multi components reaction and studying of (organic characterization, chromatographic behavior, chem-physical properties). *Egyptian Journal of Chemistry*, 63(11), 4163-4174.
<https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2020.23541.2399>
- [4] Aljamali, N. M. (2016). Synthesis and biological study of hetero (atoms and cycles) compounds. *Der Pharma Chemica*, 8(6), 40-48.
- [5] Matheus, M. E., de Almeida Violante, F., & Garden, S. J. (2007). Isatins inhibit cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in a mouse macrophage cell line. *European Journal of Pharmacology*, 556(1-3), 200-206.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.11.008>
- [6] Fei, N., Sauter, B., & Gillingham, D. (2016). The pKa of Brønsted acids controls their reactivity with diazo compounds. *Chemical Communications*, 52(47), 7501-7504.
<https://doi.org/10.1039/C6CC03561B>
- [7] Mehta, S. L., Manhas, N., & Raghubir, R. (2007). Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics. *Brain Research Reviews*, 54(1), 34-66.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.12.003>
- [8] Naumann d'Alnoncourt, R., Csepei, L.-I., Hävecker, M., Girgsdies, F., Schuster, M. E., Schlögl, R., & Trunschke, A. (2014). The reaction network in propane oxidation over phase-pure MoVTaNb M1 oxide catalysts. *Journal of Catalysis*, 311, 369-385.
<https://doi.org/10.1016/j.jcat.2013.12.008>
- [9] Aljamali, N. M. (2019). The various preparation methods in synthetic chemistry (1st ed.). Evincepub Publishing.
- [10] Aljamali, N. M. (2021). Effect of conditions and catalysis on products (1st ed.). Eliva Press.
- [11] Aljamali, N. M. (2020). Alternative methods in organic synthesis (1st ed.). Eliva Press.
- [12] Aljamali, N. M. (2018). Reactions and mechanisms (1st ed.). IJMRA Publication.
- [13] Delorme, N. (2004). Elaboration de surfaces à mouillabilité photo-contrôlable [Doctoral dissertation, Université du Maine].
- [14] McLaren, K. (1983). The colour science of dyes and pigments. Adam Hilger Ltd.

- [15] Mokrani, T., van Reenen, A., & Amer, I. (2015). Molecular weight and toxicity effect on morphological and mechanical properties of Ziegler–Natta catalyzed isotactic polypropylenes. *Polímeros*, 25(6), 556–563. <https://doi.org/10.1590/0104-1428.2158>
- [16] Lim, S. W., Ting, K. N., Bradshaw, T. D., et al. (2011). *Acalypha wilkesiana* extracts induce apoptosis by causing single strand and double strand DNA breaks. *Journal of Ethnopharmacology*, 138(2), 616–623.
- [17] Lin, H. Y., Juan, S. H., Shen, S. C., et al. (2003). Inhibition of lipopolysaccharide-induced nitric oxide production by flavonoids in RAW264.7 macrophages involved heme oxygenase-1. *Biochemical Pharmacology*, 66(9), 1821–1832.
- [18] McLaughlin, P. J., & Weihrauch, J. L. (1979). Vitamin E content of foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 75(6), 647–665.
- [19] Natarajan, M., Mohan, S., Martinez, B. R., et al. (2000). Antioxidant compounds interfere with the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide cytotoxic assay. *Cancer Detection and Prevention*, 24(5), 405–414.
- [20] Nemes, Z., Dietz, R., & Luth, J. B. (1979). The pharmacological relevance of vital staining with neutral red. *Experientia*, 35(11), 1475–1476.
- [21] Nikolic, K., & Agababa, D. (2009). Design and QSAR study of analogs of γ -tocotrienol with enhanced antiproliferative activity against human breast cancer cells. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 27(7), 777–783.
- [22] Abdullabass, H. K., Jawad, A. M., & Aljamali, N. M. (2020). Synthesis of drugs derivatives as inhibitors of cancerous cells. *Biochem. Cell. Arch.*, 20(2), 5315. <https://connectjournals.com/03896.2020.20.5315>
- [23] Hedayatullah, M. (1972). Oxydation des amines aromatiques primaires. *Bulletin de la Société Chimique de France*, (8), 2957-2974.
- [24] Zollinger, H. (1961). *Azo and diazo chemistry: Aliphatic and aromatic compounds*. Interscience Publishers.
- [25] Zincke, T. (1884). Über die Tautomerie der Azoverbindungen. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 17(2), 3026-3034.
- [26] Smith, J. G. (2001). *Tautomerism in Azo Dyes: Mechanisms and Applications*. Wiley-VCH.
- [27] Tioursi, F., & Berrandou, S. (2021). Colorants azoïques: Synthèse et étude de stabilité [Azo dyes: Synthesis and stability study]. *Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen*, p. 2.
- [28] Albert, A. (1958). Chemical aspects of selective toxicity. *Nature*, 182(4633), 421. <https://doi.org/10.1038/182421a0>

- [29] Huttunen, K. M., Raunio, H., & Rautio, J. (2011). Prodrugs—From serendipity to rational design. *Pharmacological Reviews*, 63(3), 750–771. <https://doi.org/10.1124/pr.110.003459>
- [30] Karaman, R. (2013). Prodrugs design based on inter- and intramolecular chemical processes. *Chemical Biology & Drug Design*, 82(6), 643–668. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12166>
- [31] Karaman, R., Fattash, B., & Qtait, A. (2013). The future of prodrugs—Design by quantum mechanics methods. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 10(5), 713–729. <https://doi.org/10.1517/17460441.2013.794781>
- [32] Karaman, R. (2014). Using predrugs to optimize drug candidates. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 9(12), 1405–1419. <https://doi.org/10.1517/17460441.2014.967680>
- [33] Horani, W., Thawabteh, A., Scrano, L., Bufo, S. A., Mecca, G., & Karaman, R. (2015). Anti-cancer prodrugs—Three decades of design. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(7), 1751–1779.
- [34] Mutlu, H., Geiselhart, C. M., & Barner-Kowollik, C. (2018). Untapped potential for debonding on demand: The wonderful world of azo-compounds. *Materials Horizons*, 5(2), 162–183. <https://doi.org/10.1039/C7MH00999H>
- [35] Roldo, M., Barbu, E., Brown, J. F., Laight, D. W., Smart, J. D., & Tsibouklis, J. (2007). Azo compounds in colon-specific drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 4(5), 547–560. <https://doi.org/10.1517/17425247.4.5.547>
- [36] Chourasia, M., & Jain, S. (2003). Pharmaceutical approaches to colon targeted drug delivery systems. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 33–66.
- [37] Wiwattanapatapee, R., Lomlim, L., & Saramunee, K. (2003). Dendrimers conjugates for colonic delivery of 5-aminosalicylic acid. *Journal of Controlled Release*, 88(1), 1–9. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(03\)00003-6](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(03)00003-6)
- [38] Kennedy, D. A., Vembu, N., Fronczek, F. R., & Devocelle, M. (2011). Synthesis of mutual azo prodrugs of anti-inflammatory agents and peptides facilitated by α -aminoisobutyric acid. *The Journal of Organic Chemistry*, 76(23), 9641–9647. <https://doi.org/10.1021/jo2017745>
- [39] Yagai, S., Karatsu, T., & Kitamura, A. (2005). Photocontrollable self-assembly. *Chemistry—A European Journal*, 11(14), 4054–4063. <https://doi.org/10.1002/chem.200500175>
- [40] Tong, X., Wang, G., Soldara, A., & Zhao, Y. (2005). How can azobenzene block copolymer vesicles be dissociated and reformed by light? *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(43), 20281–20287. <https://doi.org/10.1021/jp0530949>

- [41] Mas, N., Agostini, A., Mondragón, L., Bernardos, A., Sancenón, F., Marcos, M. D., Martínez-Mañez, R., Costero, A. M., Gil, S., & Merino-Sanjuán, M. (2013). Enzyme-responsive silica mesoporous supports capped with azopyridinium salts for controlled delivery applications. *Chemistry—A European Journal*, 19(4), 1346–1356. <https://doi.org/10.1002/chem.201203262>
- [42] Li, X., Tang, T., Zhou, Y., Zhang, Y., & Sun, Y. (2014). Applicability of enzyme-responsive mesoporous silica supports capped with bridged silsesquioxane for colon-specific drug delivery. *Microporous and Mesoporous Materials*, 184, 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2013.10.006>
- [43] Alvarez-Lorenzo, C., Bromberg, L., & Concheiro, A. (2009). Light-sensitive intelligent drug delivery systems. *Photochemistry and Photobiology*, 85(4), 848–860. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2009.00548.x>
- [44] Alvarez-Lorenzo, C., & Concheiro, A. (2014). Smart drug delivery systems: From fundamentals to the clinic. *Chemical Communications*, 50(58), 7743–7765. <https://doi.org/10.1039/C4CC01457D>
- [45] Saint-Cricq, P., Deshayes, S., Zink, J. I., & Kasko, A. M. (2015). Magnetic field activated drug delivery using thermodegradable azo-functionalised PEG-coated core-shell mesoporous silica nanoparticles. *Nanoscale*, 7(31), 13168–13172. <https://doi.org/10.1039/C5NR02754H>
- [46] Wang, Y.-R., Tian, F.-L., Yan, M.-X., Fan, J.-H., Wang, L.-Y., Kuang, R.-G., & Li, Y.-Q. (2016). Sulfasalazine inhibits inflammation and fibrogenesis in pancreas via NF- κ B signaling pathway in rats with oxidative stress-induced pancreatic injury. *Drug Design, Development and Therapy*, 10, 1743–1753. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S109475>
- [47] Sontheimer, H., & Bridges, R. J. (2012). Sulfasalazine for brain cancer fits. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 21(5), 575–578. <https://doi.org/10.1517/13543784.2012.670221>
- [48] Robert, S. M., Buckingham, S. C., Campbell, S. L., Robel, S., Holt, K. T., Ogunrinu-Babarinde, T., Warren, P. P., White, D. M., Reid, M. A., & Eschbacher, J. M. (2015). SLC7A11 expression is associated with seizures and predicts poor survival in patients with malignant glioma. *Science Translational Medicine*, 7(289), 289ra86. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa8103>
- [49] Su, R., Lü, L., Zheng, S., Jin, Y., & An, S. (2015). Synthesis and characterization of novel azo-containing or azoxy-containing Schiff bases and their antiproliferative and cytotoxic activities. *Chemical Research in Chinese Universities*, 31(1), 60–64. <https://doi.org/10.1007/s40242-015-4325-x>

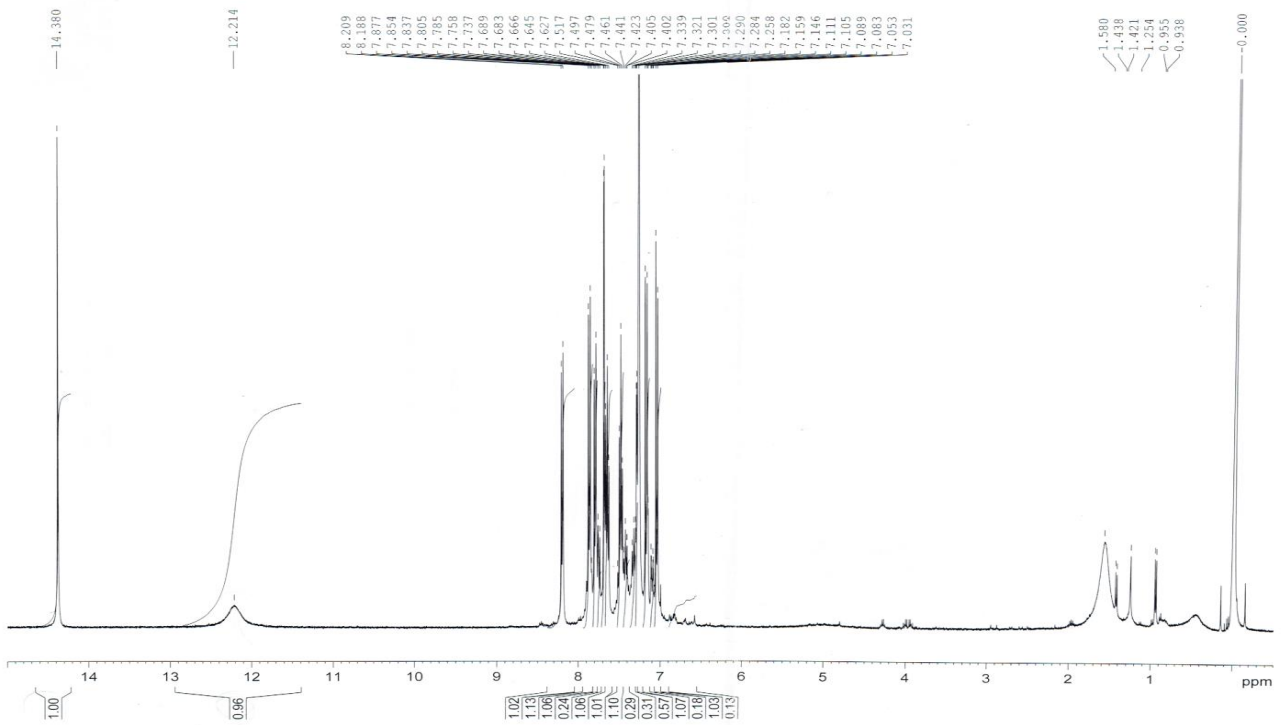
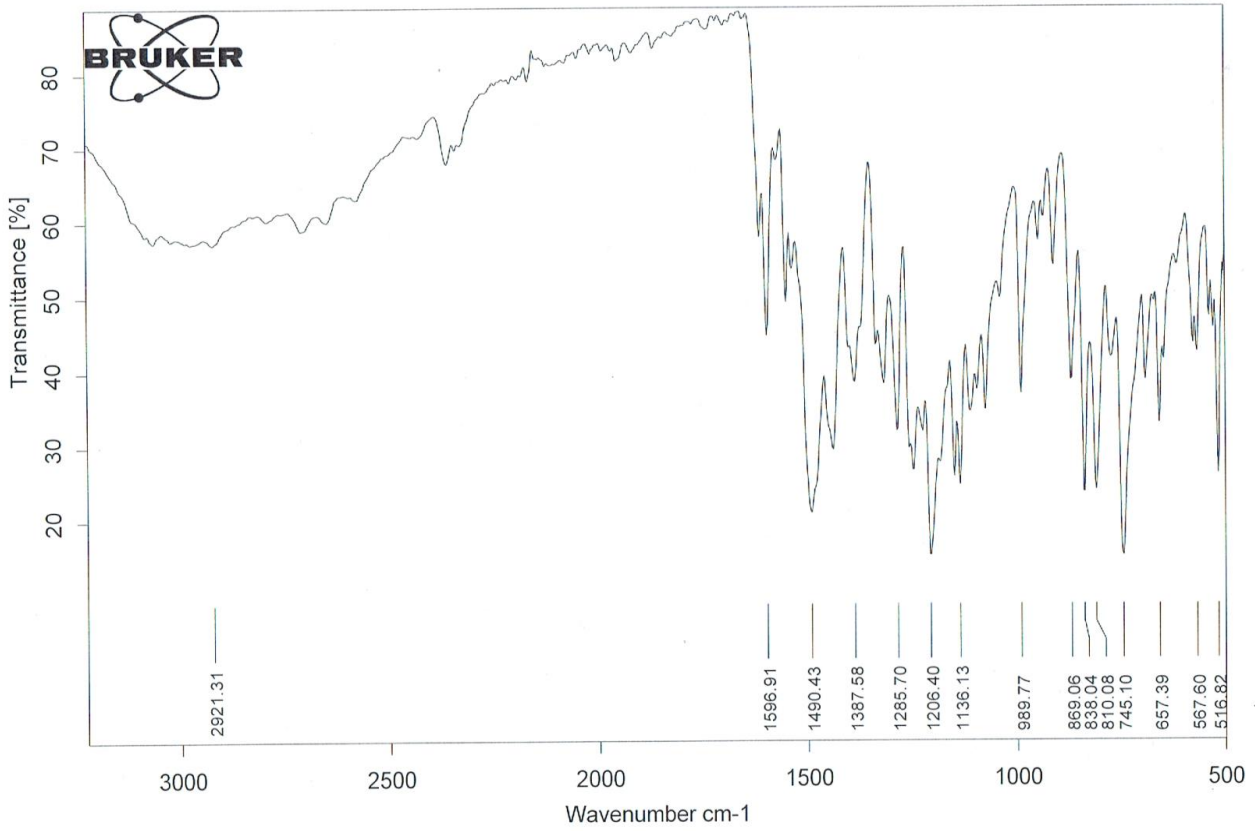
- [50] Farghaly, T. A., & Abdallah, Z. A. (2008). Synthesis, azo-hydrazone tautomerism and antitumor screening of N-(3-ethoxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[b]thien-2-yl)-2-arylhydrazono-3-oxobutanamide derivatives. *Arkivoc*, 2008(17), 295–305. <https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0009.h28>
- [51] Farghaly, T. A., & Abdalla, M. M. (2009). Synthesis, tautomerism, and antimicrobial, anti-HCV, anti-SSPE, antioxidant, and antitumor activities of arylazobenzosuberones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(23), 8012–8019. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.10.008>
- [52] Fujikawa, A., Nagahira, A., Sugawara, H., Ishii, K., Imajo, S., Matsumoto, M., Kuboyama, K., Suzuki, R., Tanga, N., & Noda, M. (2016). Small-molecule inhibition of PTPRZ reduces tumor growth in a rat model of glioblastoma. *Scientific Reports*, 6, 20473. <https://doi.org/10.1038/srep20473>
- [53] Kaur, H., Yadav, S., & Narasimhan, B. (2015). Diazényl derivatives as therapeutic and diagnostic agents acting on the central nervous system. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)*, 15(1), 42–51. <https://doi.org/10.2174/1871524915666150203094517>
- [54] Shridhar, A. H., Keshavayya, J., Peethambar, S. K., & Joy Hoskeri, H. (2016). Synthesis and biological activities of Bis alkyl 1,3,4-oxadiazole incorporated azo dye derivatives. *Arab. J. Chem.*, 9(2), 1643-1648.
- [55] Kumar, A., Sharma, P., Kumari, P., & Lal Kalal, B. (2011). Exploration of antimicrobial and antioxidant potential of newly synthesized 2,3-disubstituted quinazoline-4(3H)-ones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 21(14), 4353-4357.
- [56] Drews, J. (2000). Drug discovery: a historical perspective. *Science*, 287(5460), 1960-1964.
- [57] Naicker, K. P., Jiang, S., Lu, H., Ni, J., Boyer-Chatenet, L., Wang, L.-X., & Debnath, A. K. (2004). Synthesis and anti-HIV-1 activity of 4-[4-(4,6-bisphenylamino-[1,3,5]triazin-2-ylamino)-5-methoxy-2-methylphenylazo]-5-hydroxynaphthalene-2,7-disulfonic acid and its derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, 12(5), 1215-1220.
- [58] Tevyashova, A. N., Olsufyeva, E. N., Turchin, K. F., Balzarini, J., Bykov, E. E., Dezhenkova, L. G., Shtil, A. A., & Preobrazhenskaya, M. N. (2009). Reaction of the antitumor antibiotic olivomycin I with aryl diazonium salts. Synthesis, cytotoxic and antiretroviral potency of 5-aryldiazenyl-6-O-deglycosyl derivatives of olivomycin I. *Bioorg. Med. Chem.*, 17(14), 4961-4967.

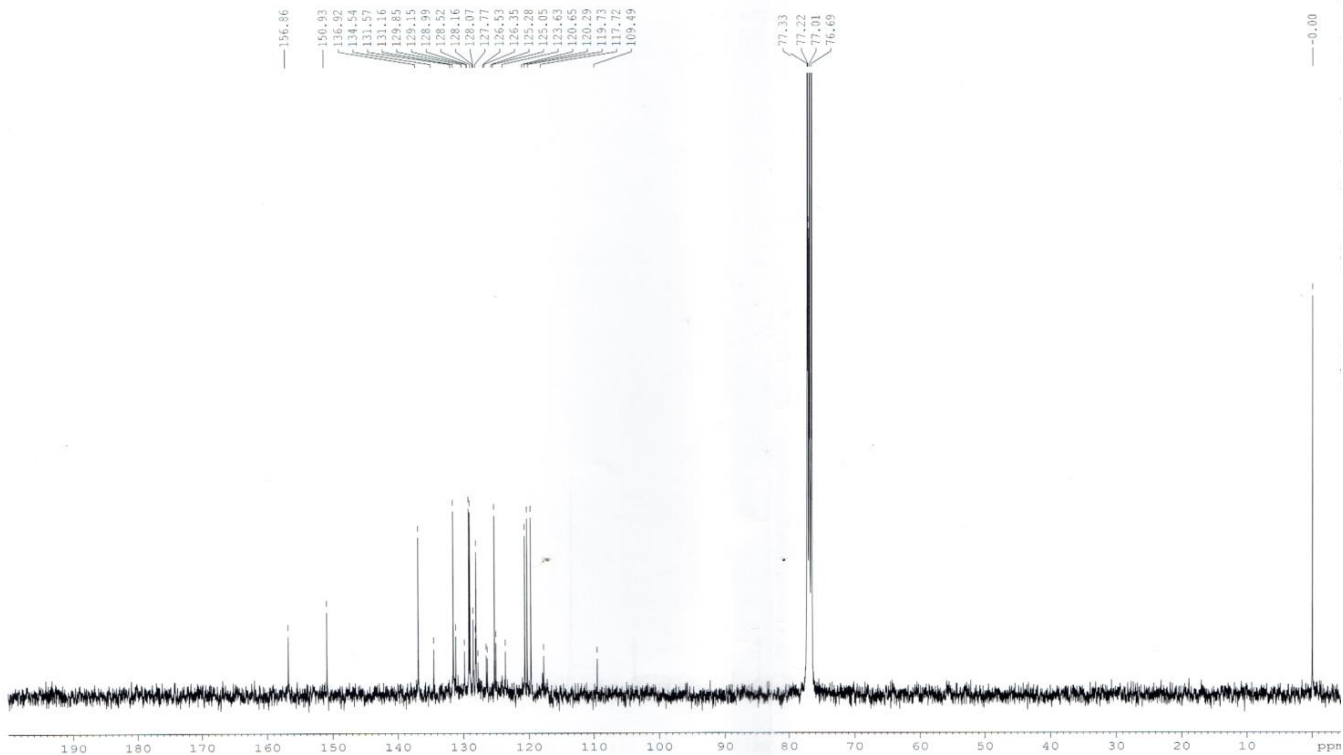
- [59] Farghaly, T. A., & Abdalla, M. M. (2009). Synthesis, tautomerism, and antimicrobial, anti-HCV, anti-SSPE, antioxidant, and antitumor activities of arylazobenzosuberones. *Bioorg. Med. Chem.*, 17(23), 8012-8019.
- [60] Yang, J., Ma, M., Wang, X.-D., Jiang, X.-J., Zhang, Y.-Y., Yang, W.-Q., Li, Z.-C., Wang, X.-H., Yang, B., & Ma, M.-L. (2015). Synthesis and quantitative structure–activity relationships study for phenylpropenamide derivatives as inhibitors of hepatitis b virus replication. *Eur. J. Med. Chem.*, 99, 82-91
- [61] Garg, A., Bhat, K. L., & Bock, C. W. (2002). Mutagenicity of aminoazobenzene dyes and related structures: A QSAR/QPAR investigation. *Dyes and Pigments*, 55(1), 35-52. [https://doi.org/10.1016/S0143-7208\(02\)00053-6](https://doi.org/10.1016/S0143-7208(02)00053-6)
- [62] Longstaff, E. (1983). An assessment and categorisation of the animal carcinogenicity data on selected dyestuffs and an extrapolation of those data to an evaluation of the relative carcinogenic risk to man. *Dyes and Pigments*, 4(4), 243-304. [https://doi.org/10.1016/0143-7208\(83\)80003-1](https://doi.org/10.1016/0143-7208(83)80003-1)
- [63] Gregory, P. (1986). Azo dyes: Structure-carcinogenicity relationships. *Dyes and Pigments*, 7(1), 45-56. [https://doi.org/10.1016/0143-7208\(86\)87004-7](https://doi.org/10.1016/0143-7208(86)87004-7)
- [64] Bafana, A., Devi, S. S., & Chakrabarti, T. (2011). Azo dyes: Past, present and the future. *Environmental Reviews*, 19, 350-371. <https://doi.org/10.1139/a11-018>
- [65] El-Bindary, A., Ghoneim, M., Diab, M., El-Sonbati, A., Shoair, A., & El-Kader, M. A. (2016). Molecular docking, potentiometric and thermodynamic studies of some azo compounds. *Journal of Solution Chemistry*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s10953-016-0486-6>
- [66] Benigni, R., & Passerini, L. (2002). Carcinogenicity of the aromatic amines: From structure–activity relationships to mechanisms of action and risk assessment. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 511(3), 191-206. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(02\)00008-X](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(02)00008-X)
- [67] Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science & Technology*.
- [68] Ouahes, C. (1988). *Chimie organique*. OPU.
- [69] *Encyclopédie Hachette* [CD-ROM]. (n.d.). Hachette.
- [70] Koh, J., & Greaves, A. J. (2001). *Dyes and pigments*, 50(1), 13.
- [71] Gaines, K. K. (2004). Phenazopyridine hydrochloride: The use and abuse of an old standby for UTI. *Urologic Nursing*, 24(3), 207.

- [72] Green, J. R., Lobo, A. J., Holdsworth, C. D., Leicester, R. J., Gibson, J. A., Kerr, G. D., Hodgson, H. J., Parkins, K. J., Taylor, M. D., & Group, A. I. (1998). Balsalazide is more effective and better tolerated than mesalamine in the treatment of acute ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 114(1), 15–22. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(98\)70628-6](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(98)70628-6)
- [73] Ibrahim, M. A., Elagawany, M., & Ibrahim, T. S. (2016). Green and catalyst-free synthesis of olsalazine analogs. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 9(2), 91–95. <https://doi.org/10.1080/17518253.2016.1165346>
- [74] Dhaneshwar, S. S., Kandpal, M., Gairola, N., & Kadam, S. (2006). Dextran: A promising macromolecular drug carrier. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68(6), 705. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.31006>
- [75] Ciz, M., Cizova, H., Denev, P., Kratchanova, M., Slavov, A., & Lojek, A. (2010). Different methods for control and comparison of the antioxidant properties of vegetables. *Food Control*, 21*(4), 518–523. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.08.003>
- [76] Bailey, H. R., Zacks, J. M., Hambrick, D. Z., Zacks, R. T., Head, D., Kurby, C. A., & Sargent, J. Q. (2013). Medial temporal lobe volume predicts elders' everyday memory. *Psychological Science*, 24*(6), 1113–1122.
- [77] Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55*(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- [78] Wang, Y.-R., Tian, F.-L., Yan, M.-X., Fan, J.-H., Wang, L.-Y., Kuang, R.-G., & Li, Y.-Q. (2016). Sulfasalazine inhibits inflammation and fibrogenesis in pancreas via NF- κ B signaling pathway in rats. *Drug Design, Development and Therapy*, 10, 1743–1753. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S109475> (Mechanistic study on sulfasalazine, an azo-based anti-inflammatory drug)
- [79] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation de colorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26, 1231–1237.
- [80] Farghaly, T. A., & Abdalla, M. M. (2009). Synthesis, tautomerism, and antimicrobial, anti-HCV, anti-SSPE, antioxidant, and antitumor activities of arylazobenzosuberones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(23), 8012–8019. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.10.008>. (Includes anti-inflammatory evaluation of azo compounds via protein denaturation assays)
- [81] Bouaziz, M., & Benhammou, N. (2023). Activité biologique partie theorique anti bactérienne [Unpublished manuscript]. Laboratoire de Chimie, Université de Constantine.

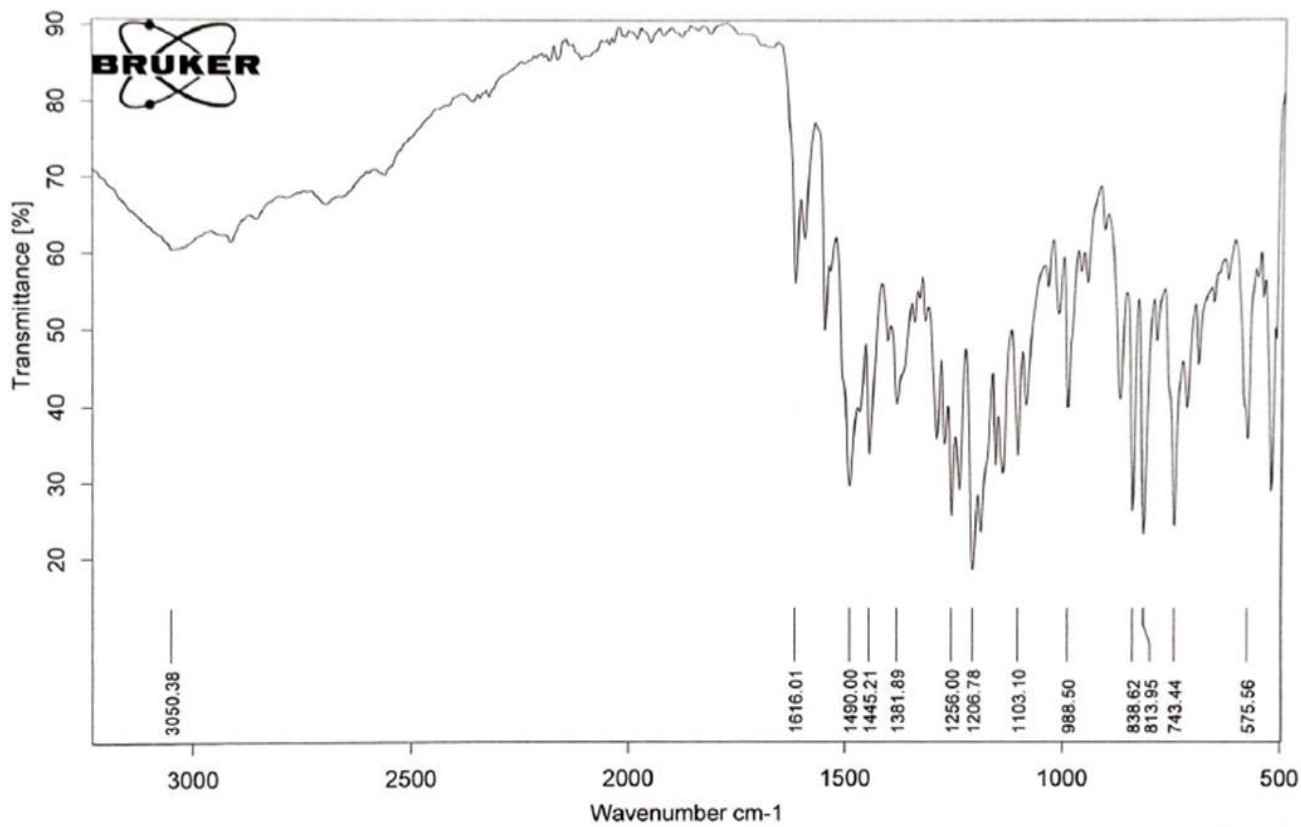
Annexes

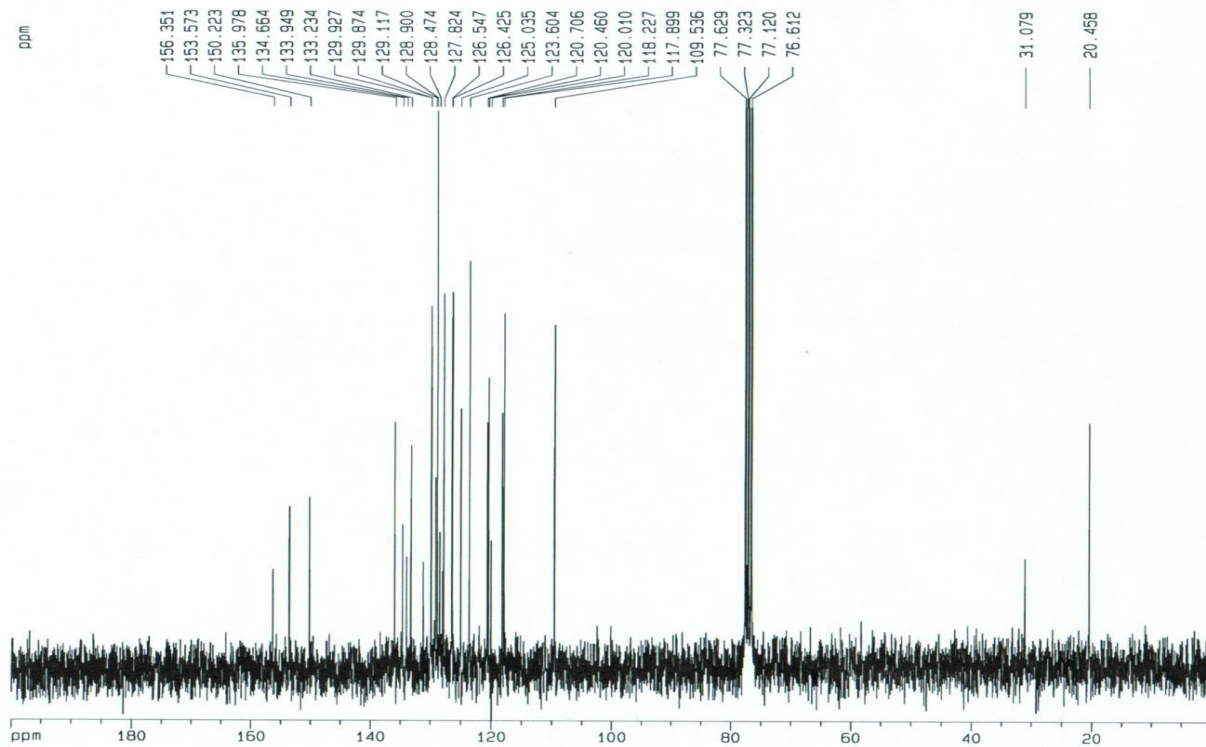
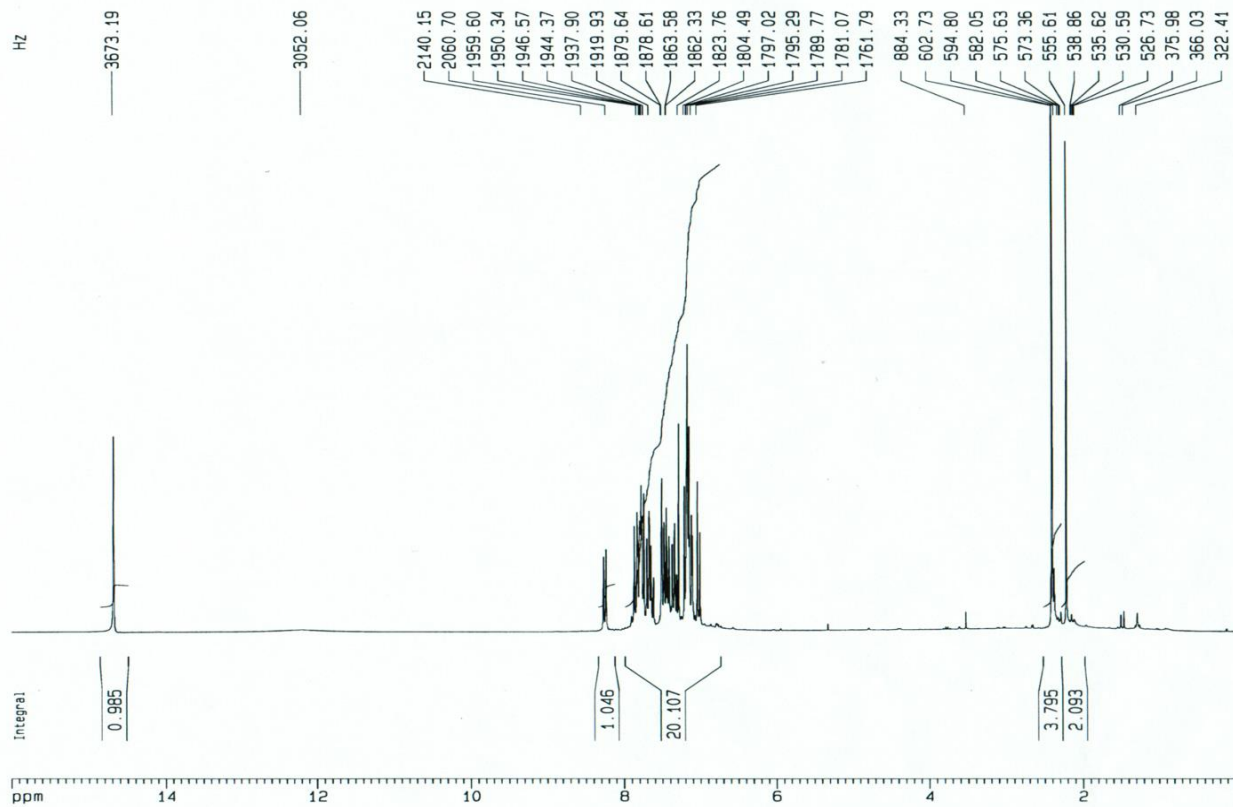
Spectres IR, RMN ¹H, RMN ¹³C du composé P-1 : C₁₆H₁₀ClN₂O₂





Spectres IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C du composé P-2 : $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$





Résumé

Ce travail traite des composés azoïques sous divers aspects, incluant leur structure chimique, leurs méthodes de synthèse, ainsi que leurs propriétés physico-chimiques. Nous avons synthétisé deux composés azoïques et évalué leur efficacité biologique, notamment leur activité antioxydante et anti-inflammatoire. Ces propriétés sont cruciales pour lutter contre les dommages cellulaires et réduire les inflammations associées aux maladies chroniques. Les résultats ont révélé des potentialités thérapeutiques prometteuses.

Cette étude vise à mettre en lumière les applications pharmaceutiques des composés azoïques et à explorer leurs perspectives pour le développement de nouveaux médicaments. Elle ouvre ainsi la voie à des recherches futures approfondies dans les domaines de la chimie pharmaceutique et de la biochimie

Summary

This work examines azo compounds from multiple perspectives, including their chemical structure, synthesis methods, and physicochemical properties. We prepared two azo compounds and evaluated their biological efficacy, particularly their antioxidant and anti-inflammatory activities, given the importance of these properties in combating cellular damage and reducing inflammation associated with chronic diseases. The results revealed promising therapeutic potential.

This study aims to highlight the pharmaceutical applications of azo compounds and explore their prospects for modern drug development. It paves the way for future in-depth research in the fields of pharmaceutical chemistry and biochemistry.

ملخص

تتناول هذه المذكرة دراسة المركبات الأزوية من جوانب متعددة تشمل بنيتها الكيميائية، طرق تحضيرها، وخصائصها الفيزيائية والكيميائية. وقد قمنا بتحضير مركبين أزويين.

كما تتناول المذكرة تقييم الفعالية البيولوجية للمركبين المحضرين، خاصةً فيما يتعلق بنشاطهما كمضادين للأكسدة ومضادين للالتهاب، نظرًا لأهمية هذه الخصائص في مواجهة الأضرار الخلوية والحد من الالتهابات المرتبطة بالأمراض المزمنة. وقد أظهرت النتائج إمكانيات علاجية واعدة.

وتهدف هذه الدراسة، في مجملها، إلى إبراز التطبيقات الصيدلانية للمركبات الأزوية، واستكشاف آفاقها كمركبات مرشحة لتطوير أدوية حديثة، مما يفتح المجال أمام أبحاث مستقبلية معمقة في مجالي الكيمياء الصيدلانية والكيمياء الحيوية.