

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



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

MEMOIRE

Pour l'option du diplôme de :

MAGISTER

Option : PHYSIQUE CHIMIE THEORIQUE CHIMIE INFORMATIQUE

Présenté par :

M^{elle} LOUANAS Hanane

Sujet :

**Prédiction théorique de l'activité antioxydante
de composés d'espèces naturelles**

Soutenue le : 16/05/2011

Devant la commission d'examen :

Mr A . DIBI	Professeur	U. Batna	Président
Mme D. HAMMOUTENE	Professeur	USTHB	Directeur de Thèse
Mme N. OUDDAI	Professeur	U. Batna	Examineur
Mr M . BELLOUM	Professeur	U. Batna	Examineur

Année universitaire 2010-2011

REMERCIEMENTS

Le présent travail a été réalisé dans le Laboratoire de Thermodynamique et Modélisation Moléculaire (LTMM) de la Faculté de Chimie, à l'USTHB d'Alger, sous la Direction de Mme le Professeur Dalila HAMMOUTENE.

Une partie de ce travail a été effectué dans le cadre de la réalisation du projet 'Net 45' : projet de coopération entre les différents pays d'Afrique (Cameroun-Sénégal-Algérie-Tunisie) financé par l'ICTP (International Center of Theoretical Physics).

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Mme Dalila HAMMOUTENE, Professeur à l'USTHB, pour son encadrement précieux, sa patience, son encouragement et l'atmosphère favorable qu'elle a créée autour de moi, afin que je mène à bien ce travail.

Une partie de ce travail de recherches a été réalisé au sein du Laboratoire de Spectroscopie Atomique Moléculaire et Applications (LSAMA) de la Faculté des Sciences de Tunis, où j'ai été co-encadrée par Mme Zoubeida DHAOUADI que je remercie particulièrement.

J'adresse mes vifs remerciements à Mr Amar DIBI, Professeur à l'Université de Batna, pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Je remercie également Mme Nadia OUDDAI, Professeur à l'Université de Batna, pour avoir accepté d'examiner judicieusement ce travail.

J'adresse mes remerciements à Mr Mohamed BELLOUM, Professeur à l'Université de Batna pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire.

Mes remerciements vont également à tous les membres du LTMM (Alger), sans oublier Mmes Samia KADDOUR et Ouardia ZEKRI et à tous les membres du LSASMA (Tunis), pour avoir contribué directement ou indirectement au bon déroulement de ce travail.

L'ICTP est vivement remercié pour le financement lors de mes séjours à Tunis.

A MA MERVEILLEUSE FAMILLE

A ma mère **Gania** pour ses sacrifices, pour son amour, ses encouragements
et ses prodigieux conseils.

A mon père **Ahmed** pour tout ce qu'il a fait de moi, pour son amour,
pour toute la confiance qu'il m'a toujours témoignée.

A mes sœurs Nadjoua, Soumia, Selma et Asma pour
les moments agréables que nous avons passés
ensemble.

A ma belle sœur Souhila.

A mes frères Adel, Houari et Seddik. A mon bon frère Walid
et à mon neveu Mouhamed Sirage.

A mes ami(e)s: Bakhouché Kahina, Baira Kaouther, Mahjoubé Sara, Tarelabet Imane, Laïb
Souhila, Amraoui Nour, Krim Lamia, Heddadi Zehira, Idjeri Nadia, Khedache Nadia, Azile
Wahid, Guidoum Bilal, Fertah Mouhamed, Mbessé Yvon, Goutom, Fifen Jules, Mahjoubi
Khaled, Makina Yassine...

A tous ceux qui me sont chers

Liste des figures

Introduction générale

Figure 1. Stabilisation de radicaux par l'hydroxytyrosol

Chapitre II :

Figure II-1. Les ROS représentant les différents états de réduction du dioxygène.

Figure II-2. Structure électronique de l'oxygène moléculaire

Figure II-3. Structure électronique de l'ion superoxyde

Figure II-4. Mécanismes de la peroxydation lipidique

Figure II-5. Structures chimiques des quelques composés phénoliques

Figure II-6. Structure des tocophérols

Figure II-7. Structure chimique des composés volatiles majoritaires

Chapitre III :

Figure III-1. Structure du tyrosol

Figure III-2. Barrière énergétique (en Hartree)

Figure III-3. Conformations optimisées du tyrosol

Figure III-4. Barrière énergétique relative à la variation de la torsion

Figure III-5. Structure de la molécule de salidroside

Figure III-6. Structure de l'hydroxytyrosol

Figure III-7. Conformations possibles de l'hydroxytyrosol

Figure III-8. Surface d'énergie potentielle

Figure III-9. Barrière énergétique relative à la variation de la torsion τ' (C7C8O8H8) pour les trois conformères B1, B2 et B3 de l'hydroxytyrosol.

Chapitre IV :

Figure IV-1. Mécanismes d'activité antioxydante

Figure IV-2. Interaction entre nos deux molécules et le radical hydroxyle

Figure IV-3. Projection d'une surface d'énergie potentielle à trois dimensions
(a) PES de l'hydroxytyrosol (b) PES du tyrosol.

Figure IV-4. Structures géométriques des produits, optimisées au niveau PBE0/6-311G*.

Figure IV-5. Evolution de l'énergie au cours du mécanisme réactionnel étudié pour la formation de Hty-O+H₂O

Figure IV- 6. Evaluation de l'énergie au cours du mécanisme réactionnel étudié pour la formation de Ty-O+H₂O

Figure IV-7. Répartition de la SOMO dans l'hydroxytyrosol et le tyrosol
en présence de $\cdot\text{OH}$, au niveau UPBE0/6-311G*

Figure IV-8. Interaction entre les deux molécules antioxydantes et le radical anion superoxyde

Figure IV-9. Projection d'une surface d'énergie potentielle à trois dimensions
(a) PES de l'hydroxytyrosol (b) PES du tyrosol

Figure IV-10. Structures des produits, optimisées au niveau UPBE0/6-311G*

Figure IV-11. Répartition de la SOMO dans l'hydroxytyrosol et le tyrosol
en présence de $\text{O}_2^{\cdot-}$, au niveau UPBE0/6-311G*

Liste des tableaux

Chapitre I :

Tableau I-1. Unité atomique

Chapitre II :

Tableau II-1. Composition en acide gras d'une huile d'olive selon les résultats d'Ollivier et al. (2003) [7] et selon la norme du codex alimentarius

Chapitre III :

Tableau III-1. Résultats de l'optimisation de structure du tyrosol

Tableau III-2. Temps de calcul

Tableau III-3. Erreur relative (Δ) en %.

Tableau III-4. Déplacements chimiques (ppm)

Tableau III-5. Erreurs calculées

Tableau III-6. Les cinq points de la surface d'énergie potentielle

Tableau III-7. Résultats de l'optimisation de géométrie de l'hydroxytyrosol

Tableau III-8. Erreur relative (Δ) en %.

Tableau III-9. Déplacements chimiques (ppm)

Tableau III-10. Paramètres calculés.

Tableau III-11. BDEs calculées pour le tyrosol et le Phénol (Kcal/mol).

Tableau III-12. Valeurs des énergies O - H BDE calculées pour l'hydroxytyrosol (Kcal/mol)

Chapitre IV :

Tableau IV-1. IP, PDE, PA, ETE et BDE (Kcal/mol) calculés pour le tyrosol et l'hydroxytyrosol

Tableau IV-2. Valeurs calculées au niveau UPBE0/6-311G*, des paramètres de liaison.

Tableau IV-3. Enthalpie (en Hartree) calculée dans le cas de la réaction de l'hydroxytyrosol et du tyrosol avec $\cdot\text{OH}$

Tableau IV-4. Somme des charges de Mulliken pour les deux fragments Ar-O et H₂O

Tableau IV-5. Paramètres de liaison, calculés au niveau UPBE0/6-311G*

Tableau IV-6. Enthalpie calculée dans le cas de l'attaque de l'hydroxytyrosol et du tyrosol par O_2^- (en Hartree)

Tableau IV-7. Somme des charges de Mulliken pour les deux fragments Ar-O et HO₂

SOMMAIRE

Introduction générale	1
------------------------------------	---

Chapitre I : Les méthodes de calculs utilisées

1. Equation de Schrödinger	9
1.1. Formulation générale.....	9
1.2. L'approximation de Born-Oppenheimer	11
1.3. Approximations orbitale	13
2. La théorie de la fonctionnelle de la densité.....	15
2.1. Les fondements	15
2.2. Premier théorème de Hohenberg et Kohn	15
2.3. Seconde théorème de Hohenberg et Kohn	16
2.4. Les fonctionnelles utilisées	17
2.4.1. L'approximation de la densité locale	17
2.4.2. Les méthodes de gradient corrigé	17
2.4.3. Les méthodes hybrides.....	18
3. Choix de la fonctionnelle	18
4. Choix de la base	19
Bibliographie	19

Chapitre II : Présentation des antioxydants

1. Les radicaux libres	22
1.1. Définition	22
1.2. Nature des radicaux libres.....	22
1.2.1. Les espèces réactives dérivées de l'oxygène	22
1.2.1.1. L'anion superoxyde : $O_2^{\bullet -}$	23
1.2.1.2. Le peroxyde: H_2O_2	24
1.2.1.3. L'hydroxyle : $OH^{\bullet}$	24
2. Dommage causé par les radicaux libres	24
2.1. Action sur l'ADN.....	24

2.2. Action sur les lipides.....	25
2.3. Action sur les glucides.....	25
2.4. Action sur les protéines.....	25
3. Systèmes de défense contre les ROS	26
3.1. Composition générale des huiles d'olive	26
3.1.1. Les acide gras	26
3.1.2. Les composés phénoliques	29
3.1.3. Les tocophérols	30
3.1.4. Les composés aromatiques	31
Bibliographie	33

Chapitre III : Etude théorique des propriétés structurale, spectroscopie RMN et activité antioxydante du tyrosol et du l'hydroxytyrosol

1. Introduction	36
2. Etude structurale et spectroscopie RMN du ^{13}C pour le tyrosol	37
2.1. Etude structurale	37
2.1.1. Etude de la surface d'énergie potentielle	37
2.1.2. Etude structurale de tyrosol	39
2.2. Etude RMN du ^{13}C	43
3. Etude structurale et spectroscopie RMN du ^{13}C du hydroxytyrosol.....	46
3.1. Etude structurale	46
3.1.1. Etude de la surface d'énergie potentielle	46
3.1.2. Etude structurale de hydroxytyrosol.....	49
3.2. Etude par spectroscopie RMN du ^{13}C	50
4. Activité antioxydante	54
5. Conclusion	57
Bibliographie.....	58

Chapitre IV : Prédiction théorique du mécanisme d'activité antioxydant

1. Introduction.....	64
2. L'interaction du radical hydroxyle avec le tyrosol et l'hydroxytyrosol	64
2.1. Le mécanisme et le site d'attaque probable	64
2.2. Etude structurale	67
2.3. Etude énergétique	71
2.4. Etude du mécanisme de piégeage du radical hydroxyle.....	73
2.4.1. Analyse des charges	73
2.4.2. Analyse de l'orbitale frontière SOMO.....	74
3. L'interaction du radical anion superoxyde avec le tyrosol et l'hydroxytyrosol.....	75
3.1. Etude structurale	75
3.2. Etude énergétique	79
3.3. Etude du mécanisme de piégeage du radical anion superoxyde.....	80
3.3.1. Analyse des charges	80
3.3.2. Analyse de l'orbitale frontière SOMO	80
4. Conclusion	81
 Bibliographie	 82
 Conclusion générale.....	 83

Introduction générale

Introduction générale

Les huiles végétales comme l'huile de noix de coco ou l'huile de palme, contiennent des acides aminés saturés, semblables à ceux d'origine laitière comme le beurre par exemple. L'huile d'olive, par contre, est riche en acides gras mono-insaturés (plus de 79 %) – principalement l'acide oléique. Celui-ci est responsable des bienfaits cardiovasculaires de l'huile d'olive. Des taux élevés de cholestérol associés à la présence de β -lipoprotéines (LDL) dans le sang, constituent un facteur de risque important des maladies cardiaques. Remplacer les graisses saturées par des graisses mono-insaturées, abaisse le cholestérol LDL, réduisant ainsi le risque cardiovasculaire.

En même temps, la concentration de cholestérol HDL (parfois désigné comme le 'bon' cholestérol) protège le cœur des maladies cardiaques. Le troisième facteur lipidique lié au risque cardiovasculaire est le taux élevé de triglycérides. Dans le flux sanguin, celles-ci rendent les particules LDL plus petites et plus denses, ce qui leur permet d'endommager plus facilement les parois des artères.

Le taux de cholestérol HDL dans le sang, est augmenté par la consommation d'huile d'olive, le cholestérol étant ramené vers le foie pour être traité sans se déposer sur les parois des artères, réduisant ainsi le risque de maladie cardiaque. Lorsque la consommation d'hydrates de carbone est remplacée par des graisses mono-insaturées, le taux de triglycérides dans le sang chute. Ceci entraîne une augmentation de la taille des particules de cholestérol LDL, ce qui limite également le risque cardiovasculaire.

Néanmoins, tous les effets bénéfiques de la consommation d'huile d'olive ne sont pas dus à l'acide oléique, et ils ne sont pas tous liés au métabolisme des graisses et au cœur. D'autres composants secondaires de l'huile d'olive ont des effets bénéfiques sur la santé:

1- Les tocophérols et tocotriénols, qui peuvent être classés parmi les antioxydants primaires [1]. Les tocophérols ont une double action bénéfique, comme vitamine (vitamine E) et comme antioxygène [2]. Ce sont des anti-toxines qui jouent un rôle important dans la réduction du risque cardiovasculaire.

2- Les composés phénoliques, dont certains sont responsables de la saveur caractéristique d'une huile, ont des propriétés antioxydantes marquées. L'huile d'olive, par exemple, contient des composés phénoliques simples et complexes qui augmentent sa stabilité oxydante, et améliorent considérablement sa saveur [3].

Dans ce groupe on retrouve l'hydroxytyrosol et le tyrosol [4- 6]. Ces deux composés sont directement dérivés de l'hydrolyse de l'oleuropéine et du ligstroside. Dans le groupe des

acides phénoliques, on peut citer l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique ou encore l'acide vanillique qui sont également, retrouvés généralement dans les huiles [7-11].

L'hydroxytyrosol et l'acide vanillique (à moindre échelle, le tyrosol) ont démontré de fortes activités antioxydantes [12]. Ils ont aussi été associés à certains effets bénéfiques dans la protection de certaines maladies. Ainsi l'hydroxytyrosol exerce une action inhibitrice sur les lipooxygénases ce qui protégerait les acides gras de l'oxydation et donc, réduirait in vivo le dépôt des LDL dans les parois artérielles [13]. L'hydroxytyrosol est capable de donner un hydrogène au radical $\text{LOO}^\bullet$ puis de se stabiliser (Figure 1). En ce qui concerne la prévention des maladies cardio-vasculaires, il a aussi été associé à une réduction de l'agrégation plaquettaire tout comme la lutéoline et l'apigénine [14]. La présence de quelques polyphénols et de l'hydroxytyrosol est également corrélée à une réduction de la formation de molécules pro-inflammatoires comme la thromboxane et les leucotriènes [15-16].

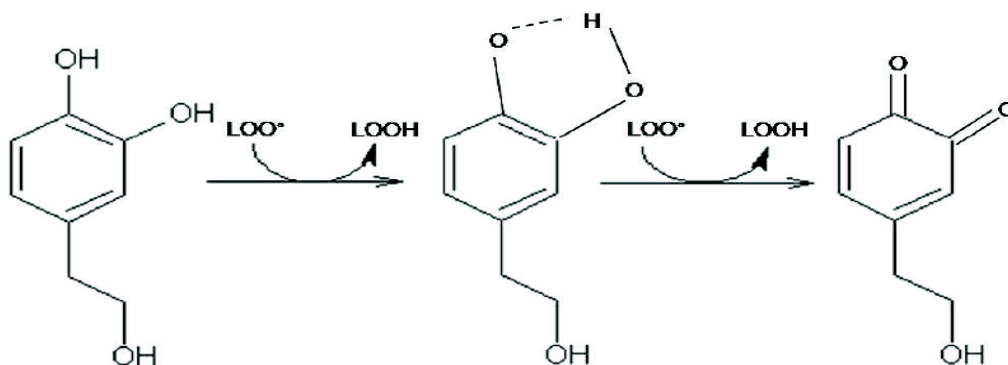


Figure 1. Stabilisation de radicaux par l'hydroxytyrosol [17]

Deux études ont montré un effet hypocholestérolémique et hypoglycémique de l'oleuropéine et de l'oleuropéine aglycone [18-19]. Ces deux composés et l'hydroxytyrosol sont également impliqués dans la protection de l'organisme contre certains agents pathogènes responsables de maladies intestinales ou du système respiratoire [20].

Ce qui semble acquis c'est qu'une ingestion régulière de composés phénoliques, comme ceux présents dans l'huile d'olive, est fortement corrélée à une diminution des risques de développement de maladies dégénératives, cardiovasculaires ou de cancers.

L'objectif de ce travail de mémoire de Magister, intitulé « prédiction théorique de l'activité antioxydante de composés d'espèces naturelles », est d'étudier l'activité antioxydante de composés phénoliques tels que le tyrosol et l'hydroxytyrosol. Notre stratégie consiste à rechercher les approches les plus fiables. Sur le plan purement théorique, nous nous proposons de rechercher la (les) méthode(s) de calcul et la base de fonctions à utiliser pour une meilleure description des liens intervenant dans ce type de molécule. Nous étudierons, d'autre part, l'activité antioxydante de ces molécules.

Après cette introduction générale, nous présentons dans le premier chapitre de ce mémoire, les principes généraux des méthodes de la chimie quantique en nous limitant, cependant, à celles utilisées dans ce travail.

Nous présentons ensuite, dans le deuxième chapitre, un bref rappel bibliographique sur les antioxydants.

Le troisième chapitre est consacré à l'étude théorique des propriétés structurales, spectroscopiques et de l'activité antioxydante du tyrosol et de l'hydroxytyrosol.

Nous avons ensuite étudié la réaction d'oxydation des antioxydants par le radical superoxyde et par le radical hydroxyle, dont le mécanisme est assez controversé. Cette partie est consignée dans le chapitre 4.

Nous portons enfin, dans la section des conclusions, un regard global sur la signification des résultats présentés dans ce mémoire ainsi que sur les perspectives ouvertes par ce travail.

Bibliographie

- [1] L. G. Machlin, Vitamin E. A comprehensive treatise, *Marcel Dekker, New-York*, **1980**.
- [2] G. W. Burton, K. U. INGOLD, Vitamin E: application of the principes of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *ACC. Chem. Res.*, (**1986**)19:194-201.
- [3] E.Fedeli, Lipids of olives in Progress in the chemistry of Fats and Other Lipids, edited by R.T. Hilman, *Academic Press, Oxford*, (**1977**):57-74.
- [4] C. Romero , M. Brenes, P. Garcia, A. Garrido Hydroxytyrosol 4- β -D-glucoside, an important phenolic compound in olive fruit and derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (**2002**)50(13):3835-3839.
- [5] G. Mazza, E. Miniati Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. *CRC press. Boca Raton, USA*.(**1993**):64-67.
- [6] J. J. Macheix , A. Fleuriet, J. Billot, Fruit phenolics. *CRC press. Boca Raton. USA*. (**1990**):1-126.
- [7] D. P. Yang, D. X. Kong, H. Y. Zhang, Multiple pharmacological effects of olive oil phenols. *Food Chemistry*. (**2007**)104(3):1269-1271.
- [8] P. Pinelli , C. Galardi , N. Mulinacci , F. F. Vincieri , A. Cimato, A.Romani, Minor polar compounds and fatty acid analyses in monocultivar virgin olive oils from Tuscany. *Food Chemistry*. (**2003**)80(3):331-336.
- [9] A. Garcia , M. Brenes, P. Garcia, C. Romero, A. Garrido, Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology*. (**2003**)216(6):520-525.
- [10] L. K. Tuck, P. J. Hayball, Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *Journal of nutritional biochemistry*. (**2002**) 13(11):636-644.

- [11] D. Ryan, K. Robards, Phenolic compounds in olives. *The Analyst*. (1998)123(5): 31R-44R
- [12] R. W. Owen, A. Giacosa , W. E. Hull, R. Haubner , B. Spiegelhalder, H. Bartsch, The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *European Journal of Cancer*. (2000)36(10):1235-1247.
- [13] F. Visioli, C. Galli, The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings. *Nutrition Reviews*. (1998)56(5):142-147.
- [14] A. Petroni, M. Blasevich, M. Salami, M. Servili, G. F. Montedoro, A. Galli, Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thrombosis Research*. (1995)78(1):51-160.
- [15] S. Rotondo, G. De Gaetano Protection from cardiovascular disease by wine and its derived products. Epidemiological evidence and biological mechanisms. *World Review of Nutrition and Dietetics*. (2000)87:90-113.
- [16] N. Kohyama , T. Nagata , S. Fujimoto, K. Sekiya, Inhibition of arachidonate lipoxygenase activities by 2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethanol, a phenolic compound from olives. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. (1997)61(2):347-350.
- [17] E. Tripoli, M. Giammanco, G. Tabacchi, D. Di Majo, S. Giammanco and M. La Guardia, The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition Research Reviews*. (2005)18(1):98-112.
- [18] B. Le Tutorand, D. Geudon, Antioxidative activities of *Olea europaea* L. leaves and related phenolic compounds. *Phytochemistry*. (1992)31(4):286-292.
- [19] P. Ficarra, R. Ficarra , A. De Pasquale, M. T. Monforte, M. L. Calabro, HPLC analysis of oleuropein and some flavonoids in leaf and bud of *Olea europaea* L. *Il farmaco*. (1991)46(6):803-809.

- [20] G. Bisignano, A. Tomaino, R. Lo Cascio , G. Crisafi, N. Uccella, A. Saita, On the in vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. (1999)31(8):971-974.

Les méthodes de calcul utilisées

1. Equation de Schrödinger

1.1. Formulation générale

On sait que l'état et toutes les propriétés observables d'un système quantique, atome, molécule, ensemble de molécules, macromolécule ou solide sont en principe, déterminés par sa fonction d'onde Ψ . Celle-ci dépend des variables d'espace (position) et de spin de chaque particule, soit quatre paramètres par particule, et doit satisfaire à l'équation de Schrödinger [1] :

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (\text{I-1})$$

Où E est l'énergie du système et $\hat{H}$ est l'opérateur hamiltonien du système. Ψ est la fonction d'onde du système, fonction des coordonnées des noyaux, des électrons et contient toute l'information du système, E est l'énergie totale. Les valeurs propres de $\hat{H}$ sont les valeurs observables de cette énergie et les fonctions d'onde correspondantes sont les fonctions propres associées.

Les propriétés moléculaires qui peuvent être calculées par la résolution de l'équation de Schrödinger sont la géométrie moléculaire, et donc les stabilités relatives, les spectres de vibrations, les moments dipolaires et quadripolaires, les spectres électroniques et aussi des fonctions descriptives de la réactivité, telles que les charges atomiques et les fonctions de Fukui. Toutefois, la précision avec laquelle on peut espérer calculer ces quantités est très variable en fonction de la nature de ces propriétés. Cette équation ne peut, en effet, pas être résolue de manière exacte pour les systèmes moléculaires, et l'on doit donc effectuer un certain nombre d'approximations.

L'hamiltonien pour un système à couches fermées et composé de charges ponctuelles ($2n$ électrons et N noyaux), sans prise en compte des effets relativistes, est donné par la relation:

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{U} = \hat{T}_n + \hat{T}_e + \hat{U}_{nn} + \hat{U}_{ee} + \hat{U}_{ne} \quad \text{avec :} \quad \left\{ \begin{array}{l} \hat{T}_n = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_{I=1}^M \frac{\Delta_I}{M_I} \\ \hat{T}_e = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_{i=1}^N \frac{\Delta_i}{m_e} \\ \hat{U}_{nn} = \sum_{I=1}^M \sum_{J \neq I}^M \frac{Z_I Z_J e^2}{4\pi\epsilon_0 R_{IJ}} \\ \hat{U}_{ee} = \sum_{i=1}^N \sum_{j \neq i}^N \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \\ \hat{U}_{ne} = -\sum_{I=1}^M \sum_{i=1}^N \frac{Z_I e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{Ii}} \end{array} \right. \quad (\text{I-2})$$

Où,

$\hat{T}$: L'opérateur de l'énergie cinétique.

$\hat{U}$: L'opérateur de l'énergie potentielle.

$\hat{T}_n$: L'énergie cinétique des noyaux.

$\hat{T}_e$: L'énergie cinétique des électrons.

$\hat{U}_{nn}$: L'énergie de répulsion entre les noyaux.

$\hat{U}_{ee}$: L'énergie de répulsion entre les électrons.

$\hat{U}_{ne}$: L'énergie de l'attraction entre noyaux et électrons.

$\hbar$ est la constante de Planck universelle, m_e est la masse de l'électron, e est la charge de l'électron, M_I est la masse du noyau I, r_{Ii} est la distance entre l'électron i et le noyau I, R_{IJ} est la distance entre les noyaux de l'atome I et de l'atome J dont les charges nucléaires sont respectivement Z_I et Z_J . Δ_i est le laplacien du $i^{\text{ième}}$ électron.

L'utilisation des unités atomiques, rappelées dans le Tableau I-1, permet de simplifier cette expression :

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \Delta_i - \frac{1}{2} \sum_{I=1}^M \frac{\Delta_I}{M_I} + \sum_{I=1}^M \sum_{J \neq I}^M \frac{Z_I Z_J}{R_{IJ}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j \neq i}^N \frac{1}{r_{ij}} - \sum_{I=1}^M \sum_{i=1}^N \frac{Z_I}{r_{Ii}} \quad (\text{I-3})$$

Tableau I-1. Unité atomique

Grandeur	Nom	Symbole	Valeur en unité SI [2]
Charge	Charge électrique élémentaire	e	1,60217653(14).10 ⁻¹⁹ C
Masse	Masse de l'électron	m _e	9,1093826(16).10 ⁻³¹ Kg
Action	Constante de Plank réduite	ħ	1,05457168(18).10 ⁻³⁴ Js
Longueur	Rayon de Bohr	$a_0 = \frac{4\pi\epsilon_0}{m_e e^2}$	0,5291772108(18).10 ⁻¹⁰ m
Energie	Energie de Hartree	$E_h = \frac{\hbar^2}{m_e a_0^2}$	4,35974417(75).10 ⁻¹⁸ J

L'équation permettant d'obtenir les états stationnaires du système, est ainsi donnée par :

$$\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \Delta_i \Psi_k + \sum_{I=1}^M \frac{\Delta_I \Psi_k}{2M_I} + \left(E_k - \sum_{I=1}^M \sum_{J \neq I} \frac{\mathbf{Z}_I \mathbf{Z}_J}{\mathbf{R}_{IJ}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j \neq i} \frac{1}{\mathbf{r}_{ij}} - \sum_{I=1}^M \sum_{i=1}^N \frac{\mathbf{Z}_I}{\mathbf{r}_{Ii}} \right) \Psi_k = 0 \quad (\text{I-4})$$

On constate que l'équation de Schrödinger, basée sur cet opérateur hamiltonien, est difficilement applicable à des molécules polyatomiques; on doit donc introduire des approximations telles que l'approximation de Born-Oppenheimer et l'approximation orbitalaire, pour la résoudre.

1.2. L'approximation de Born-Oppenheimer

L'approche de Born-Oppenheimer est fondée sur le fait que les électrons, dont la masse est beaucoup plus faible que celle des noyaux, se déplacent beaucoup plus rapidement que ces derniers. En d'autres termes, ils s'adaptent presque instantanément aux positions des noyaux. Leur comportement n'est donc pratiquement pas modifié par les faibles déplacements des noyaux, que l'on peut considérer comme figés dans leurs positions instantanées. On considère donc que les électrons se déplacent dans un champ de noyaux figés, ce qui permet de poser [3] :

$$\Psi(\vec{r}, \vec{R}) = \Psi_{\mathbf{R}}(\vec{r}) \phi(\vec{R}) \quad (\text{I-5})$$

où $\Psi(\vec{r}, \vec{R})$ est la fonction d'onde totale à n électrons et N noyaux; $\Psi_{\mathbf{R}}(\vec{r})$ est la fonction d'onde électronique correspondant à un jeu de positions R de noyaux figés, mais pas

forcément à l'équilibre; $\phi(\vec{R})$ est la fonction d'onde nucléaire, décrivant le mouvement des noyaux; r et R symbolisent les coordonnées des électrons et des noyaux, respectivement.

La fonction électrique $\Psi_R(\vec{r})$ ne dépend pas du mouvement des noyaux, mais seulement de leurs positions.

$$\begin{aligned} \hat{H}\Psi_k(\vec{r})\phi(\vec{R}) = & -\frac{1}{2}\frac{\partial\Psi_R(\vec{r})}{\partial\vec{r}^2}\phi(\vec{r}) + \hat{U}_{ne}\Psi_R(\vec{r})\phi(\vec{r}) + \hat{U}_{ee}\Psi_R(\vec{r})\phi(\vec{r}) \\ & -\sum_I^M \frac{1}{2M_I}\frac{\partial^2\phi(\vec{r})}{\partial\vec{R}^2}\Psi_R(\vec{r}) - \sum_I^M \frac{1}{2M_I}\left(2\frac{\partial\Psi_R(\vec{r})}{\partial R}\frac{\partial\phi(\vec{r})}{\partial R} + \frac{\partial^2\Psi_R(\vec{r})}{\partial R^2}\phi(\vec{r})\right) + \hat{U}_{nn}\Psi_R(\vec{r})\phi(\vec{r}) \end{aligned} \quad (\text{I-6})$$

Dans cette approche, l'énergie cinétique des noyaux peut être négligée, tandis que la répulsion entre les noyaux peut être considérée comme constante. Ainsi, si l'on remplace $\Psi(\vec{r}, \vec{R})$ par $\Psi_R(\vec{r})\phi(\vec{R})$ dans l'équation de Schrödinger (équation I-1) on obtient :

$$\begin{aligned} \hat{H}\Psi_R(\vec{r})\phi(\vec{R}) &= (\hat{T}_e + \hat{U}_{ne} + \hat{U}_{ee})\Psi_R(\vec{r}) + (\hat{T}_n + \hat{U}_{nn})\phi(\vec{R}) \\ &= (E^e + \hat{T}_n + \hat{U}_{nn})\phi(\vec{R}) = E\phi(\vec{R}) \end{aligned} \quad (\text{I-7})$$

et moyennant certaines approximations:

$$H^e\Psi_R(\vec{r}) = E_R^e\Psi_R(\vec{r}) \quad (\text{I-8})$$

avec

$$H^e = -\frac{1}{2}\sum_i^N \Delta_i - \sum_I^M \sum_i^N \frac{Z_I}{r_{Ii}} + \sum_i^N \sum_{j \neq i}^N \frac{1}{r_{ij}} \quad (\text{I-9})$$

Cette équation ne contient plus que des termes cinétiques relatifs aux électrons, des termes d'interactions électron-noyau et électron-électron. Cet hamiltonien ne prend donc pas en considération les interactions entre les électrons et des champs extérieurs au système (par exemple la résonance paramagnétique électronique RPE) ou entre les électrons et les spins nucléaires (visibles par exemple en résonance magnétique nucléaire RMN).

La résolution de l'équation de Schrödinger pour cet hamiltonien électronique mène aux fonctions d'onde électroniques. Une fonction d'onde électronique donnée, dépend

paramétriquement des coordonnées nucléaires, dans le sens où pour un choix différent de ces paramètres, on obtient différentes fonctions d'ondes électroniques.

1.3. Approximation orbitalaire

La fonction d'onde électronique Ψ_e est une fonction des coordonnées de tous les électrons du système. Si $2n$ est le nombre d'électrons, Ψ est une fonction à $(2n) \times 3$ variables que l'on note communément $\Psi(1, 2, \dots, 2n)$.

L'approximation orbitalaire, introduite par Hartree en 1928 [4], consiste à découpler les $2n$ électrons en développant la fonction $\Psi(1, 2, \dots, 2n)$ en un produit de $2n$ fonctions mono-électroniques, de sorte que:

$$\Psi(1, 2, \dots, 2n) = \prod_{i=1}^{2n} \phi_i(i) \quad (\text{I-10}) \quad \text{où l'indice } i \text{ désigne l'orbitale } i$$

Cette situation correspond physiquement à un modèle de particules indépendantes dans lequel chaque électron se déplace dans un champ moyen créé par les noyaux et la densité électronique moyenne des autres électrons. Cela signifie que chaque électron ressent les autres en moyenne, ce qui constitue naturellement une approximation.

La fonction d'onde n'a cependant pas de terme décrivant le spin car celui-ci est absent de l'hamiltonien électronique. Pour décrire complètement la distribution des électrons, la coordonnée de spin s doit donc être introduite, et celle-ci prendra les valeurs $+1/2$ ou $-1/2$. Le spin est une propriété intrinsèque de l'électron, de nature purement quantique, et n'a donc pas d'équivalent en mécanique classique. La fonction d'onde de spin pour le spin aligné le long de l'axe $(+)z$ sera $\alpha(s)$ et celle pour le spin aligné le long de $(-)z$ sera $\beta(s)$.

La fonction d'onde électronique est donc composée d'une partie spatiale, l'orbitale, et d'une partie de spin. La fonction ϕ est ce que l'on appelle une spin-orbitale et on l'écrit :

$$\phi(r, s) = \chi(r) \eta(s) \quad (\text{I-11})$$

Où r et s sont les coordonnées d'espace et de spin, respectivement.

Pour un système à $2n$ électrons la fonction d'onde polyélectronique Ψ la plus simple s'écrit donc sous la forme d'un produit de spin-orbitales supposées normalisées :

$$\Psi = \phi_1(1) \cdot \phi_2(2) \cdot \phi_3(3) \cdot \dots \cdot \phi_{2n}(2n) \quad (\text{I-12})$$

La fonction d'onde représentée par l'équation ci-dessus n'est cependant pas encore complète, car elle ne prend pas en compte l'indiscernabilité des électrons, ni le principe d'exclusion de Pauli [5]. Celui-ci a montré que pour les fermions (particules à spin $\frac{1}{2}$), une spin-orbitale doit être antisymétrique par rapport à la permutation impaire des coordonnées d'espace et de spin. En permutant deux électrons, il vient par exemple:

$$\Psi(1, 2, \dots, k, \dots, 2n) = -\Psi(1, k, \dots, 2, \dots, 2n) \quad (\text{I-13})$$

Une telle fonction obéit au principe d'exclusion de Pauli qui impose à deux électrons de ne pas pouvoir occuper la même spin-orbitale, ainsi qu'à l'indiscernabilité des électrons. Or, dans la formulation de Hartree de la fonction d'onde, cela n'est pas le cas, car l'électron i occupe précisément la spin-orbitale i .

Hartree et Fock ont généralisé ce concept en montrant que le principe d'exclusion de Pauli est respecté si l'on écrit la fonction d'onde sous la forme d'un déterminant construit à partir de n spin-orbitales [6]; on obtient alors ce qui est connu sous le nom de «déterminant de Slater» :

$$\Psi(x_1, x_2, \dots, x_{2n}) = \frac{1}{\sqrt{2n!}} \begin{vmatrix} \phi_1(x_1) & \phi_2(x_1) & \dots & \phi_{2n}(x_1) \\ \phi_1(x_2) & \phi_2(x_2) & \dots & \phi_{2n}(x_2) \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \phi_1(x_{2n}) & \phi_2(x_{2n}) & \dots & \phi_{2n}(x_{2n}) \end{vmatrix} \quad (\text{I-14})$$

Les variables x_i représentent ici les coordonnées d'espace et de spin. $\frac{1}{\sqrt{2n!}}$ est le facteur de normalisation; $2n$ étant le nombre d'électrons.

On constate que la forme déterminantale de la fonction d'onde respecte le principe de Pauli: l'inversion de deux électrons correspond à la permutation de deux lignes (ou de deux colonnes), ce qui a pour effet de changer le signe du déterminant. Les spin-orbitales ϕ_i doivent, d'autre part, être différentes les unes des autres, car dans le cas contraire, le déterminant (I -13) s'annule.

2. La théorie de la fonctionnelle de la densité

2.1 Les fondements

L'idée fondamentale de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) est de chercher à formuler l'énergie exacte de l'état fondamental d'un système moléculaire comme une fonctionnelle de la densité électronique ρ .

La densité électronique ρ de l'état fondamental est une fonctionnelle du potentiel extérieur $V_{ext}(\vec{r})$. Hohenberg et Kohn ont démontré par l'absurde, en 1964, que la réciproque est également vraie: le potentiel externe $V_{ext}(\vec{r})$ est, à une constante près, une fonctionnelle unique de $\rho(\vec{r})$. Cette relation biunivoque entre densité ρ de l'état fondamental et potentiel extérieur V_{ext} est le fondement du premier théorème énoncé par Hohenberg et Kohn.

2.2. Premier théorème de Hohenberg et Kohn [7]

Le potentiel externe $V_{ext}(\vec{r})$ est, à une constante près, une fonctionnelle de $\rho(\vec{r})$; par conséquent, comme $V_{ext}(\vec{r})$ définit l'Hamiltonien du système, l'énergie de l'état fondamental est une fonctionnelle unique de $\rho(\vec{r})$.

D'après le premier théorème, il existe une et une seule fonctionnelle de la densité donnant l'énergie de l'état fondamental d'un système à N électrons. Le second théorème assure que cette fonctionnelle obéit au principe variationnel.

2.3. Second théorème de Hohenberg et Kohn [7]

La fonctionnelle de ρ qui donne l'énergie de l'état fondamental d'un système à N électrons n'atteint son minimum que pour la densité électronique exacte correspondant à cet état.

Le problème majeur de la DFT est que l'expression de cette fonctionnelle, reste inconnue. Abordons maintenant l'approche de Kohn et Sham [8], pour obtenir E .

$$E[\rho] = T[\rho] + E_{en}[\rho] + E_{ee}[\rho] + E_{nn} \quad (\text{I-15})$$

T étant l'énergie cinétique, E_{en} - l'énergie d'interaction électron-noyau, E_{ee} - l'énergie d'interaction électron-électron. Dans le cadre de l'approximation de Born-Oppenheimer, l'énergie d'interaction noyau-noyau E_{nn} est une constante. Nous ne la considérons plus par la suite. De plus, E_{ee} peut s'écrire comme la somme d'un terme de Coulomb J et d'un terme d'échange K . L'équation I-14 s'écrit alors:

$$E[\rho] = T[\rho] + E_{en}[\rho] + J[\rho] + K[\rho] + E_{nn} \quad (\text{I-16})$$

Les expressions analytiques de E_{ne} et J sont bien connues :

$$E_{ne}[\rho] = \sum_i \int \frac{Z_i \rho(\vec{r})}{|\vec{R}_i - \vec{r}|} d\vec{r} \quad (\text{I-17})$$

$$J[\rho] = \frac{1}{2} \int \frac{\rho(\vec{r}) \rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r} d\vec{r}' \quad (\text{I-18})$$

Tandis que les termes d'énergie cinétique T et d'échange K ne peuvent être exprimés analytiquement à ce jour. L'idée fondatrice de l'approche de Kohn et Sham est d'écrire l'énergie cinétique T en deux termes, un terme calculable exactement et un terme de correction plus petit. Le terme calculable exactement est évalué en introduisant un système fictif de N électrons indépendants ayant la même densité électronique que le système réel. L'équation de Schrödinger de ce système fictif admet comme solution exacte le déterminant de Slater des orbitales moléculaires ψ_i . L'énergie cinétique de ce même système est donc donnée par :

$$T_s = \sum_i^N \langle \Psi_i | -\frac{1}{2} \nabla^2 | \Psi_i \rangle \quad (\text{I-19})$$

La différence entre T_s et T est petite. Elle est absorbée dans un terme d'échange-corrélation. En effet, une expression générale de l'énergie DFT peut être donnée par :

$$E_{\text{DFT}}[\rho] = T_s[\rho] + E_{\text{nc}}[\rho] + J[\rho] + E_{\text{xc}}[\rho] \quad (\text{I-20})$$

En écrivant $E_{\text{DFT}} = E$, cette expression définit E_{xc} :

$$E_{\text{xc}}[\rho] = (T[\rho] + T_s[\rho]) + (E_{\text{ee}}[\rho] - J[\rho]) \quad (\text{I-21})$$

La première parenthèse de l'équation I-20 peut être considérée comme l'énergie cinétique de corrélation tandis que le deuxième terme de l'équation I-20 contient à la fois un terme d'échange et celui d'énergie potentielle de corrélation. Ce terme d'échange-corrélation concentre les approximations de la DFT.

2.4. Les fonctionnelles utilisées

2.4.1. L'approximation de la densité locale

Dans l'approximation de la densité locale (LDA pour Local Density Approximation), la densité est localement traitée comme un gaz uniforme d'électrons, c'est à dire variant peu localement. Même en introduisant la densité de spin (LSDA pour Local Spin Density Localisation), ce type d'approximation conduit généralement à des erreurs supérieures à l'énergie de corrélation.

2.4.2. Les méthodes de gradient corrigé

Les améliorations de la LDA doivent considérer un gaz d'électron non-uniforme. Une manière de réaliser cela est de rendre E_{xc} dépendante non seulement de la densité $\frac{1}{2}$ mais également de ses variations à travers les dérivées de $\frac{1}{2}$. Ce sont les méthodes de gradient corrigé ou approximation du gradient généralisé (GGA pour Generalized Gradient

Approximation). Pour aller plus loin, les méthodes méta GGA introduisent également une dépendance en densité d'énergie cinétique τ . Dans le cadre de ces méthodes, l'énergie d'échange-corrélation peut donc s'écrire sous la forme suivante:

$$E_{xc} = \int e^{xc} (\rho_{\uparrow}(\vec{r}), \rho_{\downarrow}(\vec{r}), \nabla \rho_{\uparrow}(\vec{r}), \nabla \rho_{\downarrow}(\vec{r}), \tau_{\uparrow}, \tau_{\downarrow}) d\vec{r} \quad (\text{I-22})$$

2.4.3 Les méthodes hybrides

Dans le cas d'un gaz d'électrons sans interaction, l'échange est évalué exactement par la théorie Hartree-Fock et la corrélation est nulle. Nous pouvons introduire le terme d'échange Hartree-Fock évalué sur les orbitales de Kohn-Sham Ψ_i , dans l'évaluation de l'énergie d'échange E_x^{KS} , par exemple sous la forme suivante :

$$E_{xc}^{B3} = (1 - a) E_x^{LSDA} + a E_x^{KS} + b \Delta E_x^{GGA} + E_c^{LSDA} + c \Delta E_c^{GGA} \quad (\text{I-23})$$

Les trois paramètres a , b , c sont choisis de façon à rendre compte le mieux possible des résultats expérimentaux. Ils dépendent de la fonctionnelle GGA choisie. Cette forme correspond aux fonctionnelles de type B3 (fonctionnelles de Becke à 3 paramètres). Les méthodes qui introduisent l'échange exact E_x^{KS} sont appelées méthodes hybrides. L'introduction de ce terme nécessite un calcul de type Hartree-Fock, pouvant devenir l'étape limitante du calcul de l'énergie. Ces fonctionnelles sont donc moins performantes en temps de calcul mais sont généralement plus précises.

3. Choix d'une fonctionnelle

Le choix d'une fonctionnelle dépend de sa performance en précision pour le système et des propriétés étudiées ainsi que du temps de calcul. Nous avons essentiellement utilisé la fonctionnelle B3LYP [9] et la fonctionnelle PBE0 [10] pour l'étude de systèmes.

4. Choix d'une base

Une fonction inconnue peut être écrite comme la combinaison linéaire de fonctions connues, si et seulement si le jeu de fonctions connues utilisées constitue une base complète de l'espace dans lequel est définie cette fonction. Dans les cas des fonctions d'onde, une base complète comporte une infinité d'éléments. Une telle base est inutilisable pour calculer une fonction d'onde actuellement. Il faut nous restreindre à une base finie. Dans ce cadre, l'information contenue dans les dimensions manquantes est inaccessible. Seules les composantes de la fonction d'onde, selon les fonctions de base, sont accessibles. Plus la base choisie est petite, plus la représentation de la fonction d'onde est pauvre. Les fonctions de base choisies influencent également la qualité de la représentation. Plus, une seule de ces fonctions est capable de décrire la fonction d'onde, plus la base est précise. Autrement dit, un choix judicieux permet de réduire le nombre de fonctions nécessaires pour atteindre une précision donnée.

Bibliographie

- [1] E. Schrödinger, Quantising als Eigenwertproblem, *Ann. Phys.* **(1926)**79 : 361-376.
- [2] Bureau International des Poids et Mesures et Organisation Intergouvernementale de la Convention du Mètre, « Le système international d'unités (SI) », 8^{ème} éd. **2006**, Bureau International des Poids et Mesures et Organisation Intergouvernementale de la Convention du Mètre.
- [3] M. Born and J. R. Oppenheimer, On the Quantum Theory of Molecules, *Ann. Physik*, **(1927)**84 : 457. Translated by S M Blinder, January 23, **2002**
- [4] (a) Hartree, D.R. *Proc. Cambridge Philos.* **1928**, 24, 89. (b) Hartree, D.R. *Proc. Cambridge Philos.* **1928**, 24, 426.
- [5] W. Pauli, The connection between spin and statistics, *Phys. Rev.* **(1940)**58 :719-722.
- [6] Slater, J.C. Statistical Exchange-Correlation in the Self-Consistent Field , *Adv. Quantum Chem.* **(1972)**6:1.
- [7] P. Hohenberg and W. Kohn. Inhomogeneous electron gas. *Phys.Rev.*, **(1964)**136 :B864-B871.
- [8] W. Kohn and L. J. Sham. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Phys. Rev.*, **(1965)**140:A1133-A1138.
- [9] Axel D. Becke. Density-functional thermochemistry. III. the role of exact exchange. *J. Chem. Phys.*, **(1993)**98 :5648–5652,.
- [10] John P. Perdew, Kieron Burke, and Matthias Ernzerhof. Generalized gradient approximation made simple [phys. rev. lett. 77, 3865 (1996)]. *Phys. Rev. Lett.*, **(1997)** 78(7) :1396, Feb.

Présentation des antioxydants

1. Les radicaux libres

1.1. Définition

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié sur l'orbitale externe [1]. Ces électrons non appariés rendent ces espèces très instables et donc très réactives et pour se stabiliser, elles vont tenter d'apparier leur électron célibataire. Les radicaux libres peuvent avoir des origines externes ou internes à l'organisme [2] :

- Externes : tabagisme actif ou passif, alcool, certains modes de cuisson (barbecue, micro-ondes), pollution, stress, fatigue, rayons X (radiographie), exposition au soleil, changement hormonal, certains médicaments et l'exercice physique intensif.
- Internes : allergies, inflammations, infections et micro-lésions tissulaires.

Plusieurs espèces radicalaires existent dans la nature, celles dérivant de l'oxygène sont appelées radicaux libres oxygénés (ROS de l'acronyme anglais Reactive Oxygen Species), celles dérivant du carbone et celles dérivant de l'azote (oxyde nitrique $\cdot\text{NO}$, peroxyxynitrite $\cdot\text{NO}_3^-$, ...). Dans ce qui suit, nous citerons juste les ROS.

1.2. Nature des radicaux libres

1.2.1. Les espèces réactives dérivées de l'oxygène

Les ROS résultent de réductions mono-électroniques successives du dioxygène (O_2) aboutissant à la formation d'eau (Figure II-1) [3].

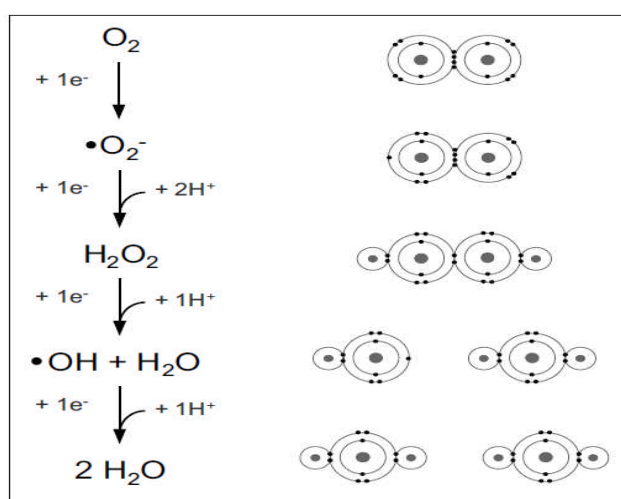


Figure II-1. Les ROS représentant les différents états de réduction du dioxygène.

La configuration électronique du dioxygène montre qu'il est avide d'électrons, ce qui lui confère un caractère oxydant. Sa faible réactivité s'explique par sa structure électronique. En effet, bien qu'il possède un nombre pair d'électrons, il présente deux électrons non appariés au niveau de ses orbitales moléculaires (Figure II-2) de spin parallèles ($m_s = +1/2$), afin de réagir avec une molécule, il faut que celle-ci contienne deux électrons non appariés à spin parallèles ($m_s = -1/2$). Ceci est une contrainte, appelée « restriction de spin », qui conduit à une restriction du pouvoir oxydant de O_2 à l'état triplet.

Le dioxygène est « contraint » à réagir en transférant un seul électron à la fois, ce qui conduit, par ordre de réduction, à la formation du radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et du radical hydroxyle ($\cdot OH$) (Figure II-1).

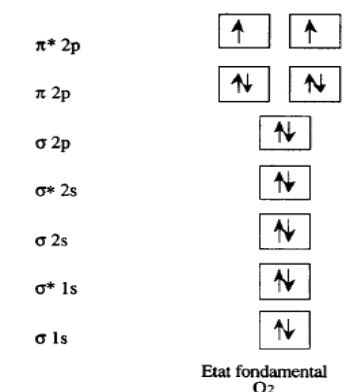


Figure II-2. Structure électronique de l'oxygène moléculaire

1.2.1.1. L'anion superoxyde : $O_2^{\cdot-}$

Si l'oxygène, dans son état fondamental, accepte un premier électron, celui-ci va occuper l'une des orbitales antiliantes $\pi\pi^*$ et former le radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$ (Figure II-3).

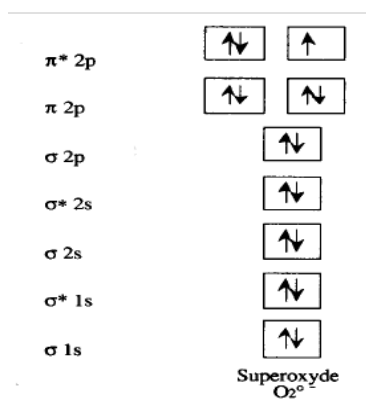
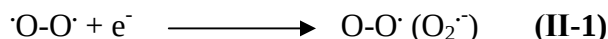


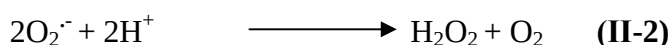
Figure II-3. Structure électronique de l'ion superoxyde

Il est plus instable et plus réactif que la molécule d'oxygène du fait que l'électron supplémentaire se place dans une orbitale antiliante.



1.2.1.2. Le peroxyde: H_2O_2

Le peroxyde est considéré comme une espèce réactive dérivée de l'oxygène (ROS), même s'il n'a pas une structure radicalaire car il est capable d'initier ou de propager des dommages oxydatifs. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) provient d'une réaction entre deux anions superoxyde, qui met fin au processus radicalaire.



1.2.1.3. L'hydroxyle : $\cdot\text{OH}$

L'hydroxyle ($\cdot\text{OH}$) est très réactif. Son temps de demi-vie en milieu aqueux est de 10^{-6} secondes. La coupure homolytique de la liaison O-O du peroxyde d'hydrogène donne deux radicaux hydroxyles.



Cette rupture de liaison peut être causée par la chaleur ou par des radiations ionisantes. Cependant, une solution de peroxyde d'hydrogène avec des ions ferreux suffit à fournir des radicaux hydroxyle. Cette réaction fut observée pour la première fois par Fenton en 1894 [4].



2. Dommages causés par les radicaux libres

Les radicaux libres sont à l'origine de réactions en chaîne qui conduisent à des destructions cellulaires. Leurs structures cibles essentielles sont l'ADN, les membranes cellulaires, les lipides, les glucides et les protéines.

2.1. Action sur l'ADN

Les radicaux et en particulier $\cdot\text{OH}$, s'attaquent aux différents nucléotides de l'ADN par modification des bases azotées, par rupture des brins de la chaîne nucléotidique, ou par déstabilisation de la forme géométrique de l'ADN en rompant les liaisons hydrogène entre bases complémentaires (pontage entre bases A-T ou C-G)*. Ils peuvent également être à l'origine de multiples lésions cellulaires en attaquant les membranes cellulaires.

Toutes ces actions conduisent au développement de maladies telles que le cancer, le vieillissement cellulaire,..., etc.

2.2. Action sur les lipides

Les lipides sont une cible privilégiée des radicaux libres qui provoquent l'oxydation des acides gras poly-insaturés (AGPI) des phospholipides membranaires. Le phénomène d'auto-oxydation ou peroxydation lipidique (Figure II-4), consiste en l'attaque par un radical libre, d'origine exogène ou endogène, de dérivés lipidiques.

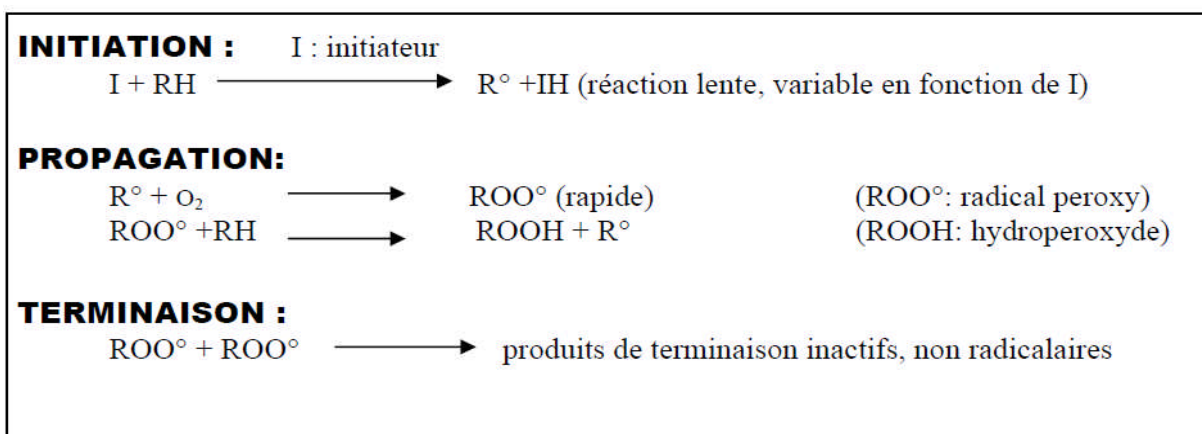


Figure II-4. Mécanismes de la peroxydation lipidique

Cette réaction est à l'origine de la formation d'hydroperoxydes (ROOH) lipidiques. Les peroxydes lipidiques (ROO) peuvent aussi réagir avec d'autres composés cellulaires et être à l'origine de molécules très toxiques. Par exemple, ils peuvent réagir avec l'ADN et être à l'origine de substances mutagènes.

2.3. Action sur les glucides

Les radicaux libres peuvent aussi agir sur le glucose et générer des intermédiaires réactifs. Les dommages oxydatifs peuvent alors se propager via l'attaque de radicaux formés sur d'autres molécules.

2.4. Action sur les protéines

Les radicaux libres peuvent réagir avec les différents acides aminés et donc altérer la structure des protéines. Les fonctions de multiples enzymes, de récepteurs et de protéines

de transport cellulaire peuvent ainsi être modifiées. C'est donc toute la machinerie cellulaire qui peut être affectée.

3. Systèmes de défense contre les ROS

Comme nous venons de le voir, les radicaux libres se produisent spontanément et d'une manière continue. Cependant, ils sont rigoureusement contrôlés par des antioxydants. Par conséquent, un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats [5].

L'huile d'olive est composée d'environ 1,5% d'une fraction insaponifiable constituée d'antioxydants et d'autres composés mineurs qui se trouvent en plus grande proportion dans l'huile d'olive vierge.

3.1. Composition générale des huiles d'olive

Les huiles d'olive vierges jouent un rôle important dans l'industrie agroalimentaire et sont importantes en nutrition humaine pour plusieurs raisons. En premier lieu, car les lipides sont la principale source d'énergie pour le corps humain en comparaison de leur masse.

De plus, l'intérêt pour les huiles d'olive a été accru depuis la découverte de leur richesse en vitamines liposolubles et en polyphénols qui sont des antioxydants. Elles sont également une source importante d'acides gras poly-insaturés essentiels car non synthétisables par le corps humain. Si les acides gras sont les constituants majeurs de l'huile d'olive, ce sont les constituants mineurs qui permettent l'authentification d'une huile, tant sur le plan de la provenance géographique que sur sa qualité physico-chimique.

3.1.1 Les acide gras

Les acides gras appartiennent à la famille des lipides. Ces lipides contiennent une fraction principale dite saponifiable (phospholipides, triglycérides) et une fraction mineure insaponifiable (stéroïdes, vitamines liposolubles, caroténoïdes).

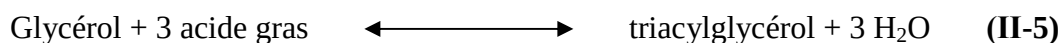
Les lipides sont caractérisés par leur insolubilité dans l'eau et leur solubilité dans les solvants organiques.

Les acides gras sont des molécules organiques comprenant une chaîne carbonée terminée par un groupement carboxyle. Cette chaîne carbonée peut être dépourvue de toute double liaison carbone-carbone, dans ce cas, les acides gras sont dits « saturés ». Elle peut

également contenir une double liaison (acides gras mono-insaturés AGMI) ou plusieurs doubles liaisons (acides gras poly-insaturés AGPI).

Pour les acides gras insaturés, ils sont souvent référencés selon la position de la première double liaison par rapport au groupement méthyle terminal. Il existe deux grandes familles d'AGPI: La série en n-6 (ou oméga 6) et la série en n-3 (ou oméga 3).

Dans l'huile d'olive on trouve de l'acide linoléique (oméga 6) et de l'acide alpha-linolénique (oméga 3). Ces acides gras sont dits « essentiels » car ils ne peuvent pas être synthétisés par l'homme et doivent donc être apportés par l'alimentation. Dans la nature, les acides gras sont, généralement, sous forme de tri-esters entre des acides gras et du glycérol selon la formule:



Dans le cas de l'huile d'olive les triacylglycérides représentent entre 98% et 99% de la masse totale. Quelques rares acides gras libres peuvent être trouvés et témoignent d'une oxydation du tri-ester. La composition en acide gras est très variable et dépend de la variété d'olives, la région de production et de l'année de la récolte (influence des conditions environnementales).

Des normes telles que celle du codex alimentarius régulent cependant cette variabilité en plaçant des limites hautes et basses sur les proportions de chacun des acides gras (Tableau II-1).

La variabilité en acides gras est relativement importante, mais en moyenne, l'huile d'olive vierge se compose de 72% d'acides gras mono-insaturés (AGMI), 14% d'acides gras poly-insaturés (AGPI) et de 14% d'acides gras saturés (AGS) [6]

L'acide gras majoritaire est l'acide oléique qui représente à lui seul près de 70% des acides gras. Les acides gras poly-insaturés représentent une fraction non négligeable de l'huile et sont majoritairement composés d'acide linoléique.

Tableau II-1. Composition en acide gras d'une huile d'olive selon les résultats d'Ollivier et al. (2003) [7] et selon la norme du codex alimentarius.

Acide gras	Formule brute	Ollivier et al. (%)	Codex alimentarius(%)
Acide myristique	C14:0	Tr	<0,1
Acide palmitique	C16:0	7,5-15,6	7,5-20,0
Acide sapiénique	C16:1n-9	0,1-0,2	0,3-3,5
Acide palmitoléique	C16:1n-7	0,3-1,9	0,3-3,5
Acide margarique	C17:0	<0,3	<0,5
Acide margaroléique	C17:1n-8	<0,5	<0,6
Acide stéarique	C18:0	1,4-3,4	0,5-5
Acide oléique	C18:1n-9	60,9-82,1	55,0-83,0
Acide vaccénique	C18:1n-7	0,7-3,6	-
Acide linoléique	C18:2n-6	4,5-16,1	3,5-21,0
Acide α -linoléique	C18:3n-3	0,4-1,2	<1,5
Acide arachidonique	C20:0	0,3-0,5	<0,8
Acide gadoléique	C20:1n-9	0,2-0,5	-
Acide béhénique	C22:0	<0,2	<0,2
Acide lignocérique	C24:0	<0,1	<1,0

Cx:yn-z où x:le nombre de carbones, y: le nombre de doubles liaisons, z:la position de la double liaison en partant du méthyle terminal. Tr : trace.

3.1.2 Les composés phénoliques

Si les acides gras représentent la très grande majorité de la composition de l'huile d'olive en termes de masse, les composés mineurs tels que les composés phénoliques jouent un rôle très important dans la caractérisation des huiles et pour leur intérêt nutritionnel.

L'huile d'olive contient des composés phénoliques simples et complexes qui augmentent sa stabilité et lui confèrent des propriétés antioxydantes et modulent sa saveur [8-9]. Les composés phénoliques contribuent fortement au goût piquant, à l'astringence et à l'amertume des huiles [10].

Les composés phénoliques trouvés dans l'huile d'olive vierge sont: l'Oléuropéin (un hétérosidique ester d'acide élenoléique avec 3,4- dihydroxyphenethylalcohol (hydroxytyrosol)); le dimethyloléuropéin (acide dérivé de l'oléuropéin); le ligstroside (un hétérosidique ester d'acide élenoléique avec 4 hydroxyphenethylalcohol (tyrosol)); l'acide caféique [11-12]. La majorité des composés phénoliques existant dans l'huile d'olive vierge est constituée de tyrosol et d'hydroxytyrosol [13]. La Figure II-5 présente les structures chimiques de quelques composés phénoliques.

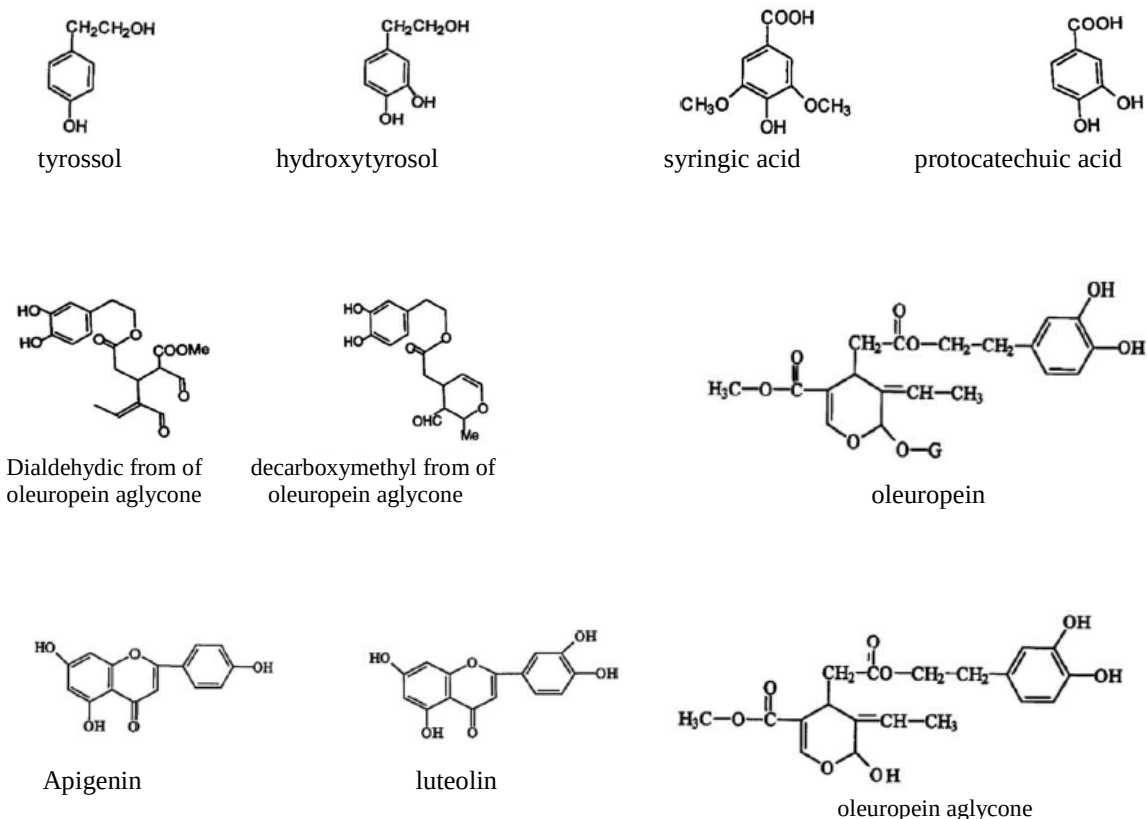


Figure II-5. Structures chimiques des quelques composés phénoliques [14]

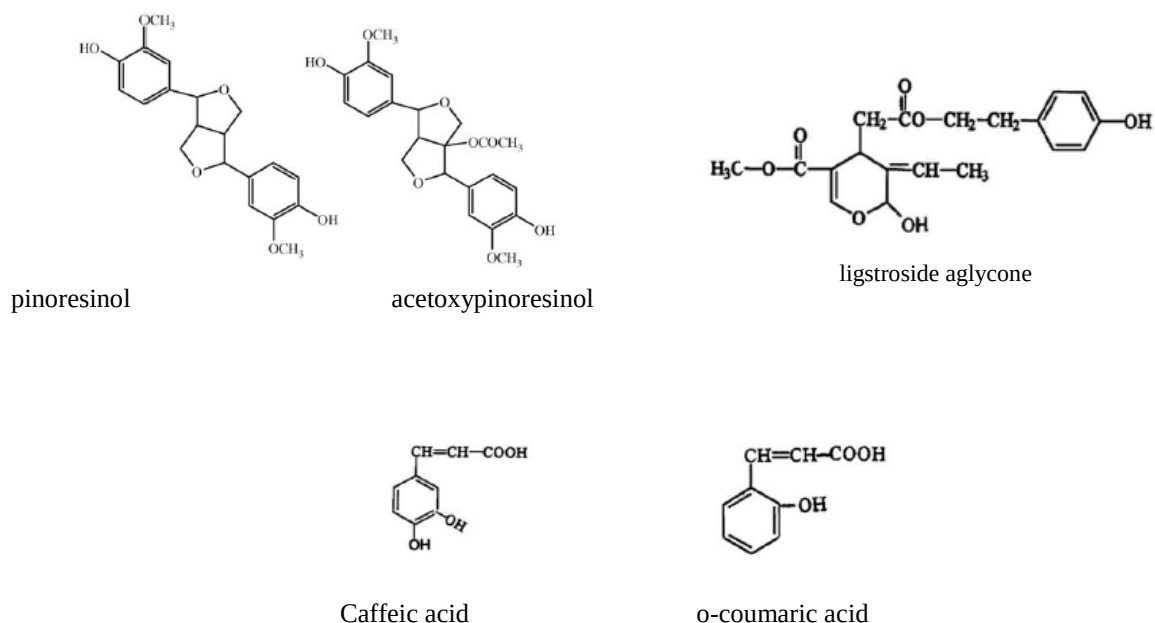


Figure II-5. Suite

M. Brenes et al. [15] ont montré que la concentration en hydroxytyrosol diminue rapidement pendant le chauffage de l'huile d'olive vierge à 180 °C pendant 25 heures, mais en comparaison avec l'hydroxytyrosol, le tyrosol diminue plus lentement après une augmentation de sa concentration pendant les cinq premières heures du chauffage.

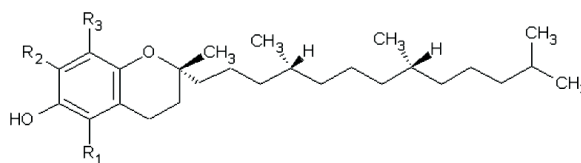
M.H. Gordon et al. [16] ont ajouté des antioxydants (hydroxytyrosol, alpha-tocophérol et oléuropéin) à l'huile d'olive, pour étudier leurs activités antioxydantes. Ils ont trouvé que cette activité est plus grande pour l'hydroxytyrosol que pour l'alpha-tocophérol, l'activité antioxydante de ce dernier étant plus grande que pour l'oléuropéin.

M. Nissiotis et al. [17] ont montré que l'hydroxytyrosol est le premier antioxydant qui se dégrade dans l'huile d'olive vierge pendant le chauffage à 100 °C, que le tyrosol est un composant phénolique stable dans cette huile au cours du chauffage, et que l'alpha-tocophérol commence à se dégrader une fois que la concentration d'hydroxytyrosol a diminué significativement.

3.1.3. Les tocophérols

La vitamine E ou tocophérol (Figure II-6) est une vitamine liposoluble. Elle est reconnue comme étant essentiellement un antioxydant. Les tocophérols sont constitués d'un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à 16 atomes de carbone. L'alpha-tocophérol représente à lui seul 90% de la totalité des tocophérols [18]. Cependant, on trouve

également un peu de beta- et gamma-tocophérols, alors que le delta-tocophérol n'est présent qu'à l'état de traces [19].



	R1	R2	R3
Alpha-tocophérol	CH ₃	CH ₃	CH ₃
Beta-tocophérol	CH ₃	H	CH ₃
Gamma-tocophérol	H	CH ₃	CH ₃
Delta-tocophérol	H	H	CH ₃

Figure II-6. Structure des tocophérols

L'alpha-tocophérol est en effet connu pour être l'antioxydant lipophile le plus puissant pour limiter le processus d'oxydation radicalaire. Il est aussi l'antioxydant le plus important dans les LDL et pourrait donc jouer un rôle clé en inhibant leur oxydation. Une fois oxydé, l'alpha-tocophérol peut être régénéré par l'acide ascorbique (vitamine C) ou l'ubiquinol [20]. En plus de leur activité antioxydante, les tocophérols ont été associés à un ralentissement de la propagation cellulaire, de l'agrégation plaquettaire et de l'adhésion des monocytes dans les vaisseaux sanguins.

3.1.4 Les composés aromatiques

Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire possédant une volatilité à température ambiante. Ce sont les hydrocarbures, les alcools, les aldéhydes, les esters, les phénols et les dérivés phénoliques, les terpènes oxygénés, et les dérivés du furfuranne. Ils ne sont pas tous odorants: l'hexane, l'octane et quelques dérivés du furfuranne sont inodores, d'autres, à la concentration trouvée dans l'huile d'olive, n'apportent qu'une contribution minime à la saveur.

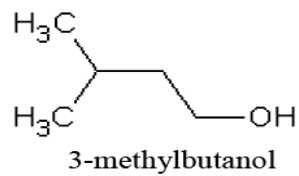
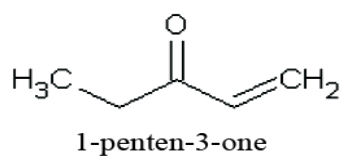
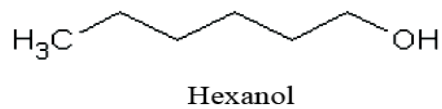
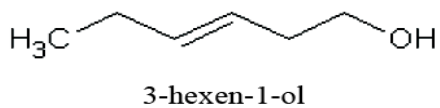
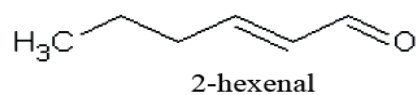
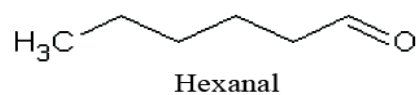


Figure II-7. Structure chimique des composés volatiles majoritaires

Bibliographie

- [1] G. Jadot, Antioxydant et vieillissement, *Jhon Libbey Eurotext, Paris*, (1994):pp34.
- [2] M.A.R. Bhuiyan, M.Z. Hoque, S.J. Hossain, Free Radical Scavenging Activities of *Zizyphus mauritiana*, *World Journal of Agricultural Sciences* (2009)5 (3): 318-322.
- [3] S. B. Farr, T. Kogoma, Oxidative stress responses in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*, *Microbiol rev* (1991)55: 561-585.
- [4] E. Dersoti, Trace elements, micronutrients, and free radicals, *The Humana Press Inc*, (1991): pp 62.
- [5] M.M. Berger, Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, (2006)20 : 48-53.
- [6] J. L.Harwood, Aparicio R. (Eds.) Handbook of olive oil : analysis and properties. Gaithersburg, Maryland, USA: *Aspen publications, Inc.* (2000):620 pages.
- [7] D. Ollivier, J. Artaud, C. Pinatel, J. P. Durbec, M. Gueérère , Triacylglycerol and Fatty Acid Compositions of French Virgin Olive Oils. Characterization by Chemometrics, *J. Agric. Food Chem.* (2003)51: 5723-5731.
- [8] M. Brenes , A. Garcia , J. J. Rios , P. Garcia and A. Garrido Use of 1-acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils. *The International Journal of Food Science and Technology*. (2002) 37 (6) : 615-625.
- [9] F. Visioli and C. Galli, The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings. *Nutrition Reviews*.(1998) 56(5):142-147.
- [10] M. Brenes , F. J. Hidalgo ,A. Garcia ,J. J. Rios ,P. Garcia ,R. Zamora, A. Garrido Pinoresinol and 1 acetoxypinoresinol, two new phenolic compounds identified in olive oil. *Journal of American oil Chemist's Society*. (2000)77 (7):715-720.

- [11] G. Binchi Bianchi, N. Pozzi, 3,4-dihydroxyphenylglycol, a major C6-C2 phenolic in *Olea europaea* fruits. *Phytochemistry* (1994) 35:1335-1337.
- [12] B. Le Tutour, D. Guedon, Antioxidative activities of *Olea europaea* leaves and related phenolic compounds. *Phytochemistry* (1992) 31:1173-1178.
- [13] G. Montedoro, M. Servili, M. Baldioli, E. Miniati, Simple and Hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semi quantitative evaluation by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* (1992) 40:1571-1576.
- [14] B. Dimitrios, sources of natural phenolic antioxidants, *Trends in Food Science & Technology* (2006) 17:505–512
- [15] M. Brenes, A. Gracia, M. C. Dobarganes, J. Velasco, C. Romero. Influence of Thermal Treatments Simulating Cooking Processes on the Polyphenol Content in Virgin Olive Oil. *J. Agric. Food Chem.* (2002) 50:5962-5967.
- [16] M. H. Gordon, F. Paiva-Matins, M. Almeida, Antioxidant Activity of Hydroxytyrosol Acetate Compared with That of Other Olive Oil Polyphenols. *J. Agric. Food Chem.* (2001) 49:2480-2485.
- [17] M. Nissiotis, M. Tasioula-Margari, Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. *J. Food Chemistry.* (2002) 77:371-376.
- [18] E. R. Sherwin, Antioxidants for vegetable oils. *Journal of the American Chemical Society.* (1976) 53: 430-436.
- [19] E. Psomiadou, M. Tsimidou, D. Boskou, α -tocopherol content of Greek virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* (2000) 48(5):1770-1775.
- [20] L. Gille, T. Rosenau, A. V. Koslov, and W. Gregor, Ubiquinone and tocopherol: Dissimilar siblings. *Biochemical Pharmacology.* (2008) 76(3):289-302.

Etude théorique des propriétés
structurales, spectroscopie RMN
et activité antioxydante
du tyrosol et de l'hydroxytyrosol

1. Introduction

L'huile d'olive est une huile aux qualités nutritionnelles reconnues. Cela est en partie, dû à la nature des graisses qu'elle contient [1]. Les graisses de l'huile d'olive sont de type saturées, mono-insaturées et poly-insaturées. Les lipides sont formés de bonnes graisses et de mauvaises graisses, les mauvaises graisses sont celles qui ont un mauvais impact sur la santé humaine, ces graisses sont associées aux acides gras de type trans. Les acides gras mono-insaturés ont un impact modéré sur le mauvais cholestérol, mais jouent un rôle plutôt protecteur contre les maladies cardiovasculaires [2].

Cependant, l'huile d'olive contient d'autres éléments bénéfiques à la santé: les polyphénols. Ces composés font partie de la famille des antioxydants, et permettent de lutter contre les radicaux libres aux effets néfastes: agressions des cellules, modification de l'ADN, oxydation du cholestérol [3]. L'huile d'olive est riche en polyphénols, elle contient au moins une vingtaine de composés phénoliques [4]. Mais deux seulement sont réellement absorbés par l'organisme: l'hydroxytyrosol et le tyrosol (Figure III-1) [5]. Une étude européenne - Euroolive - a montré que la consommation d'une huile d'olive riche en polyphénols avait un impact favorable sur les risques cardiovasculaires. Ce régime méditerranéen permettait d'augmenter le bon cholestérol (HDL) et de baisser le mauvais cholestérol (LDL) [2].

Notamment, les composés phénoliques dans l'huile d'olive, sont responsables de son goût piquant particulier et aussi de sa grande stabilité. Parmi les différents phénols contenus dans l'huile d'olive, citons l'hydroxytyrosol et le tyrosol [7]. Ces deux molécules retiennent particulièrement l'attention, elles sont largement étudiées en raison de leur grande utilisation dans le domaine pharmaceutique (les traitements cardiovasculaires, les traitements contre le vieillissement, ...). La recherche dans ce domaine a débuté dans les années 90, au moment où les chercheurs ont isolé l'hydroxytyrosol et le tyrosol purs de l'huile d'olive extra vierge, en utilisant la chromatographie en phase liquide (HPLC de l'acronyme anglais High Pressure Liquid Chromatography).

Ce travail est une étude théorique, utilisant les méthodes de la chimie quantique (chapitre I) qui permettent d'étudier aussi bien la structure, la spectroscopie et la réactivité des molécules, les composés étudiés étant Nous le tyrosol et l'hydroxytyrosol. La vérification de l'états stationnaires est possible grâce à un calcul vibrationnel de fréquences (pour un minimum, toutes les fréquences doivent être positives). Tous les calculs théoriques ont été

effectués en utilisant le programme Gaussian03 [10], le logiciel de visualisation des différentes structures étant Molden, la méthode adéquate à l'étude des molécules dont le nombre d'atomes dépasse quatre, est la DFT [11,12]. Nous avons effectué les calculs en utilisant les fonctionnelles B3LYP [13] et PBE0 [14] et des bases de plus en plus étendues allant de la 6-31G* à la 6-311+G*. La spectroscopie RMN a été utilisée pour déterminer les déplacements chimiques statiques de différents atomes en utilisant l'approche GIAO [15]. Les données théoriques, aussi bien structurales que spectroscopiques, ont été validées par les études expérimentales faites antérieurement [16,17,23].

2. Etude structurale et spectroscopie RMN du ^{13}C pour le tyrosol

2.1. Etude structurale

2.1.1. Etude de la surface d'énergie potentielle

Pour une molécule à plusieurs degrés de liberté, la surface d'énergie potentielle est une hypersurface présentant plusieurs minima et maxima. Les maxima correspondent aux états de transition et les minima correspondent aux différentes géométries d'équilibre ou conformations de la molécule. Le plus bas des minima s'appelle minimum global et représente la conformation la plus stable. Nous présentons dans cette partie la démarche suivie lors de la recherche des conformations relatives à la molécule de tyrosol (Figure III-1).

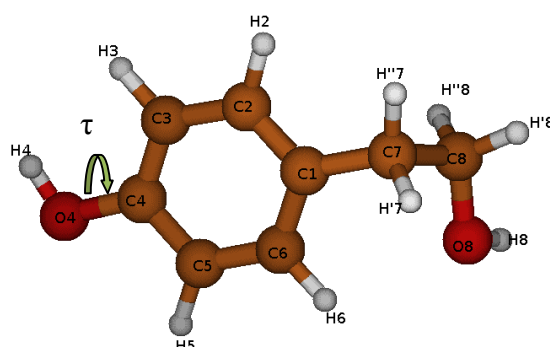


Figure III-1. Structure du tyrosol

Dans un premier lieu, nous avons fait une rotation de l'hydroxyle autour de liaison C4-O4 pour faire varier l'angle de torsion τ (H4O4C4C3) d'un angle allant de 0° jusqu'à 180° , avec un pas de 10° . La Figure III-2 montre deux minima possibles et un état de transition, la plus stable des conformations est A1 pour laquelle $\tau=0^\circ$. Quant à la conformation A2 obtenue à $\tau=180^\circ$, elle est décalée énergétiquement de A1 par $\Delta E=1.35$ kcal/mol.

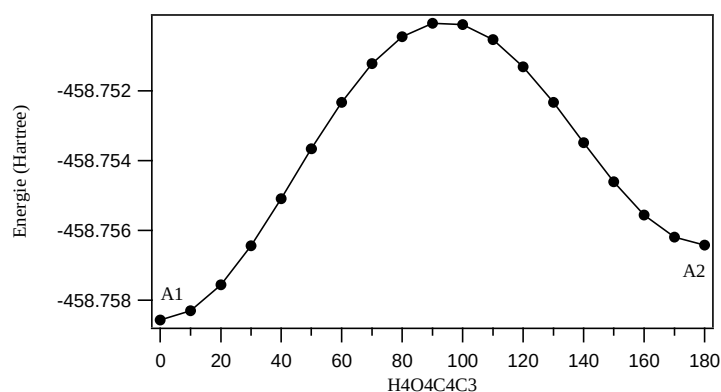


Figure III-2. Barrière énergétique (en Hartree)
relative à la variation de la torsion τ (H4O4C4C3)

Les structures des deux conformations A1 et A2 sont représentées sur la Figure III-3.

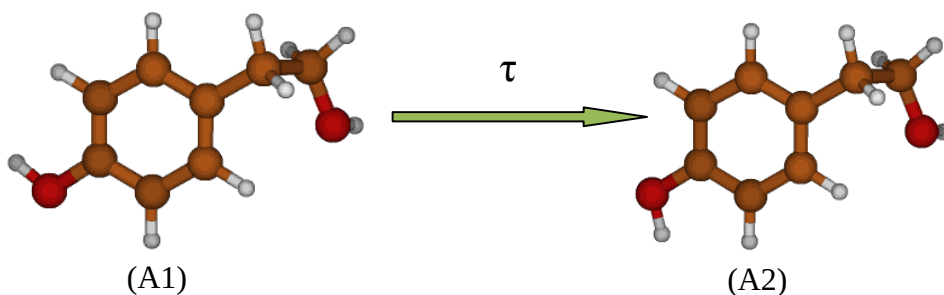


Figure III-3. Conformations optimisées du tyrosol

Dans un deuxième lieu, nous allons effectuer une rotation de l'hydroxyle autour de liaison C8-O8, pour les deux conformères A1 et A2, en faisant varier l'angle de torsion τ' (C7C8O8H8). La surface d'énergie potentielle obtenue est représentée sur la Figure III-4, elle montre l'existence d'un minimum à 170° pour le conformère A1, le plus stable.

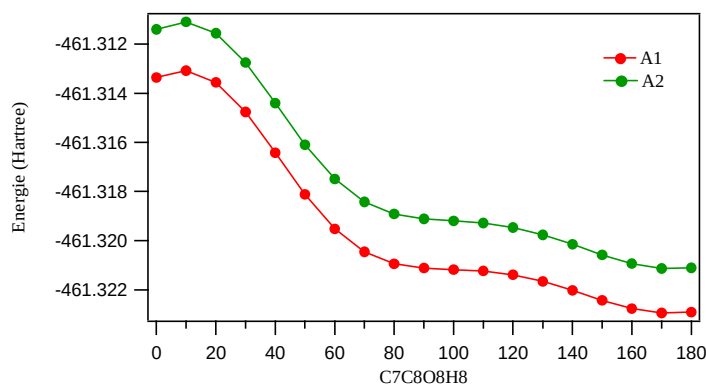


Figure III-4. Barrière énergétique relative à la variation de la torsion

τ' (C7C8O8H8) pour les deux conformères du tyrosol A1 et A2

2.1.2. Etude structurale du tyrosol

Dans nos calculs, nous avons choisi la conformation la plus stable A1 du tyrosol afin d'effectuer l'optimisation de géométrie en utilisant les fonctionnelles hybrides B3LYP et PBE0. Le calcul d'erreur dû à l'écart entre la valeur théorique et celle expérimentale permettra de trancher laquelle de ces deux fonctionnelles est la plus adéquate à la détermination des paramètres géométrique du tyrosol. Nous avons choisi d'utiliser 4 bases différentes 6-31G*, 6-31+G*, 6-311G* et 6-311+G* afin de déterminer le meilleur compromis temps –qualité de calcul en comparant nos résultats avec l'expérience.

La structure optimisée du tyrosol est représentée sur la figure III-1.

Les valeurs calculées, aux différents niveaux de calcul cités auparavant, des différents paramètres géométriques (longueurs de liaison, angles) sont rassemblées dans le Tableau III-1. Ces grandeurs géométriques sont comparées aux seules données expérimentales existantes, obtenues par diffraction aux rayons X de la molécule de salidroside [16], molécule analogue au Tyrosol du fait qu'elle contient une unité Tyrosol (Figure III-5).

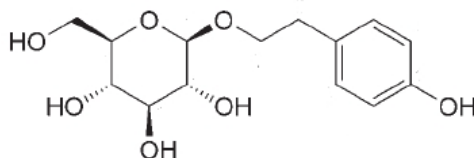


Figure III-5. Structure de la molécule de salidroside

Tableau III-1. Résultats de l'optimisation de structure du tyrosol.

Fonctionnelle		B3LYP				PBE0			
Liaison (Å)	Exp	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*
C1- C2	1,386	1,399	1,400	1,396	1,396	1,400	1,396	1,399	1,392
C 2 -C3	1,393	1,396	1,398	1,394	1,395	1,387	1,394	1,385	1,391
C3 - C4	1,389	1,396	1,397	1,394	1,393	1,396	1,393	1,393	1,390
C4 - C5	1,378	1,399	1,399	1,396	1,395	1,393	1,395	1,391	1,392
C5 - C6	1,390	1,391	1,393	1,388	1,389	1,392	1,389	1,391	1,389
C6 - C1	1,388	1,405	1,405	1,403	1,402	1,395	1,401	1,392	1,399
C1 - C7	1,513	1,514	1,515	1,513	1,513	1,507	1,507	1,505	1,505
C7 - C8	1,496	1,531	1,531	1,528	1,528	1,523	1,523	1,519	1,519
C8 - O8	1,438	1,425	1,430	1,426	1,429	1,414	1,418	1,414	1,416
Angle (°)									
C8 C7 C1	115,6	114,5	114,6	114,6	114,6	114,1	114,2	114,2	114,2
C1 C2 C3	121,7	121,6	121,6	121,6	121,6	121,6	121,6	121,6	121,6
C4 C5 C6	120,1	119,9	119,8	120,0	119,9	120,0	119,9	120,1	120,0
O4 C4 C5	117,4	117,6	117,4	117,6	117,5	117,6	117,5	117,7	117,6
C6 C1 C7	120,0	121,4	121,4	121,9	121,4	121,4	121,4	121,3	121,4
C5 C4 C3	119,5	119,6	119,8	119,5	119,7	119,6	119,7	119,4	119,6
C2 C1 C6	117,6	117,7	117,7	117,7	117,7	117,7	117,7	117,7	117,7
C4 C3 C2	119,6	119,7	119,7	119,8	119,7	119,8	119,7	119,9	119,8
O4 C4 C3	123,1	122,8	122,8	122,9	122,8	122,8	122,8	122,8	122,8
C1 C6 C5	121,5	121,4	121,5	121,4	121,5	121,4	121,5	121,4	121,4
O8 C8 C7	105,8	108,4	108,5	108,4	108,5	108,9	108,4	108,4	108,4

Concernant les valeurs calculées des longueurs de liaison, en utilisant aussi bien la fonctionnelle B3LYP et la fonctionnelle PBE0, nous remarquons que:

- L'extension de la base (passage de 6-31G* à 6-311G*) permet de s'approcher de plus en plus des valeurs expérimentales. L'extension de la base par des orbitales diffuses n'a pas d'effets remarquables.
- La fonctionnelle PBE0 donne de meilleures longueurs de liaison comparée à la fonctionnelle B3LYP.
- Les deux fonctionnelles PBE0 et B3LYP fournissent des angles de liaison analogues.

Dans le Tableau III-2, nous avons comparé les temps de calcul relatifs à l'optimisation de géométrie et le calcul de fréquences, dans le cas de deux fonctionnelles PBE0 et B3LYP en utilisant le lot des quatre bases sélectionnées auparavant. Nous remarquons qu'il n'y a pas de différence notable des temps de calcul pour chaque fonctionnelle.

Tableau III-2. Temps de calcul.

Fonctionnelle	B3LYP				PBE0			
Base	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*
Temps de calcul	1h 28min	2h 53min	2h 30min	4h 44min	1h 30min	2h 51min	2h 38min	4h 48min

Nous représentons dans le Tableau III-3 les valeurs du calcul des erreurs relatives produites par l'utilisation des fonctionnelles PBE0 et B3LYP, avec les quatre bases choisies. Ce calcul d'erreur se fait en utilisant la formule ci-dessous:

$$\Delta = \frac{|\text{Val}_{\text{exp}} - \text{Val}_{\text{théo}}|}{\text{Val}_{\text{exp}}} \quad \text{(III-1)}$$

Tableau III-3. Erreur relative (Δ) en %.

Fonctionnelle	B3LYP				PBE0			
	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*
Liaison								
C1- C2	0,94	1,01	0,72	0,72	1,01	0,72	0,94	0,43
C 2 -C3	0,22	0,36	0,07	0,14	0,43	0,07	0,57	0,14
C3 - C4	0,50	0,58	0,36	0,29	0,50	0,29	0,29	0,07
C4 - C5	1,52	1,52	1,31	1,23	1,09	1,23	0,94	1,02
C5 - C6	0,07	0,22	0,14	0,07	0,14	0,07	0,07	0,07
C6 - C1	1,22	1,22	1,08	1,01	0,50	0,94	0,29	0,79
C1 - C7	0,07	0,13	0,00	0,00	0,40	0,40	0,53	0,53
C7 - C8	2,34	2,34	2,14	2,14	1,80	1,80	1,54	1,54
C8 - O8	0,90	0,56	0,83	0,63	1,67	1,39	1,67	1,53
Angle								
C8 C7 C1	0,95	0,87	0,87	0,87	1,30	1,21	1,21	1,21
C1 C2 C3	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
C4 C5 C6	0,17	0,25	0,08	0,17	0,08	0,17	0,00	0,08
O4 C4 C5	0,17	0,00	0,17	0,09	0,17	0,09	0,26	0,17
C6 C1 C7	1,17	1,17	1,58	1,17	1,17	1,17	1,08	1,17
C5 C4 C3	0,08	0,25	0,00	0,17	0,08	0,17	0,08	0,08
C2 C1 C6	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
C4 C3 C2	0,08	0,08	0,17	0,08	0,17	0,08	0,25	0,17
O4 C4 C3	0,24	0,24	0,16	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
C1 C6 C5	0,08	0,00	0,08	0,00	0,08	0,00	0,08	0,08
O8 C8 C7	2,46	2,55	2,46	2,55	2,93	2,46	2,46	2,46

Les résultats du tableau III-3 conduisent aux déductions suivantes :

- Dans le cas de la fonctionnelle B3LYP, l'intervalle d'erreur relative ne dépasse pas 2.55 % dans le cas des bases augmentées par les orbitales diffuses, celui-ci atteint 2.46% pour les bases 6-311G* et 6-31G*. On peut facilement conclure qu'il n'y a pas de différence notable.
- La fonctionnelle PBE0 donne une gamme d'erreurs relatives comprise entre 2.93% et 2.46 %, la plus grande déviation est observée avec la base 6-31G*. Nous ne constatons pas une différence notable entre les résultats structuraux produits par les deux fonctionnelles, à ce stade du calcul.

Ni les temps de calcul, ni les erreurs, ni les paramètres structuraux ne diffèrent de manière appréciable en utilisant la fonctionnelle PBE0 ou B3LYP. A ce stade, on ne peut pas trancher sur la meilleure d'entre elles. Ceci nous conduit à poursuivre l'étude RMN en utilisant les deux fonctionnelles.

2.2. Etude RMN du ^{13}C

Dans cette partie, les déplacements chimiques relatifs à la spectroscopie RMN du ^{13}C sont calculés pour le tyrosol par rapport à une molécule de référence: le TMS (tétraméthylsilane prise au niveau GIAO B3LYP-6311G*(2d,p)).

Les résultats obtenus en utilisant les deux fonctionnelles B3LYP et PBE0 avec l'ensemble des quatre bases, sont représentés dans le Tableau III-4. Ces résultats sont comparés à ceux produits par l'expérience de la référence [17].

Tableau III-4. Déplacements chimiques (ppm).

Fonctionnelle		B3LYP				PBE0			
Atome	Exp	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*
C1	129,4	118,0	120,1	137,2	138,2	113,0	114,9	129,3	130,3
C2	129,6	115,6	115,9	131,5	132,4	112,1	117,6	125,6	126,5
C3	114,9	98,3	99,1	112,4	113,8	94,4	98, 0	106,4	107,7
C4	155,4	139,3	141,7	161,3	161,7	134,8	136,4	153,1	153,6
C7	38,2	30,8	32,4	39,5	39,9	25,2	26,7	32,9	33,3
C8	62,5	57,4	59,0	68,1	68,3	51,5	52,7	60,2	60,3

A partir des comparaisons expérimentales et théoriques faites au tableau ci-dessus, nous pouvons conclure que:

- Un bon accord entre la théorie et l'expérience est observé.
- Plus on se déplace dans le cycle aromatique (squelette carboné), plus les déplacements augmentent, vu qu'il y a une croissance du nombre de carbones voisins.
- Dans le cas de la fonctionnelle PBE0, l'extension de la base donne un meilleur accord avec les résultats expérimentaux et l'augmentation de la base par les fonctions diffuses n'améliore pas les résultats de calcul et ne peut qu'augmenter le temps relatif à ces calculs.

Nous avons calculé les erreurs relatives en utilisant trois critères: le MAD (Déviation moyenne absolue de l'anglais Mean Absolute Deviation), RMS (l'écart type Root Mean Square) et le coefficient de corrélation R [18] pour les deux fonctionnelles et les quatre bases.

$$\text{MAD} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |\delta_i(\text{exp}) - \delta_i(\text{cal})| \quad (\text{III-2})$$

$$\text{RMS} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (\delta_i(\text{exp}) - \delta_i(\text{cal}))^2}{N}} \quad (\text{III-3})$$

$$R = \frac{\sum_{i=1}^N (\delta(\text{exp}) - \overline{\delta(\text{exp})}) \cdot (\delta(\text{cal}) - \overline{\delta(\text{cal})})}{\sqrt{\sum_{i=1}^N (\delta(\text{exp}) - \overline{\delta(\text{exp})})^2 \cdot \sum_{i=1}^N (\delta(\text{cal}) - \overline{\delta(\text{cal})})^2}} \quad (\text{III-4})$$

Ces trois grandeurs statistiques vont nous renseigner sur la validité de la fonctionnelle utilisée dans nos calculs et la base la plus adéquates. Plus les valeurs du MAD et du RMS sont faibles, meilleures sont la fonctionnelle et la base, et une valeur proche de 1 pour le coefficient de corrélation (R) indique une bonne qualité du calcul.

Tableau III-5. Erreurs calculées

Base	MAD		RMS		R	
	B3LYP	PBE0	B3LYP	PBE0	B3LYP	PBE0
6-31G*	11,8	16,5	12,5	16,9	0,998074	0,998082
6-31+G*	10,3	14,0	11,2	14,3	0,997377	0,997659
6-311G*	4,2	3,7	4,8	4,6	0,996762	0,998139
6-311+G*	4,4	3,3	5,2	4,0	0,992895	0,993184

Les résultats du calcul d'erreur sont reportés dans le tableau III-5 et montrent que:

- Les bases 6-311G* et 6-311+G* et la fonctionnelle PBE0 sont les plus appropriées pour cette étude.

3. Etude structurale et spectroscopie RMN du ^{13}C pour l'hydroxytyrosol

3.1. Etude structurale

3.1.1. Etude de la surface d'énergie potentielle

La figure ci-dessous représente l'hydroxytyrosol, la surface d'énergie potentielle relative à cette molécule a été déterminée en faisant une rotation du groupement hydroxyle autour des liaisons O3C3 et O4C4 et en faisant varier les deux angles de torsions $\tau_1(\text{H3O3C3C4})$ et $\tau_2(\text{H4O4C4C3})$ de 0° à 180° .

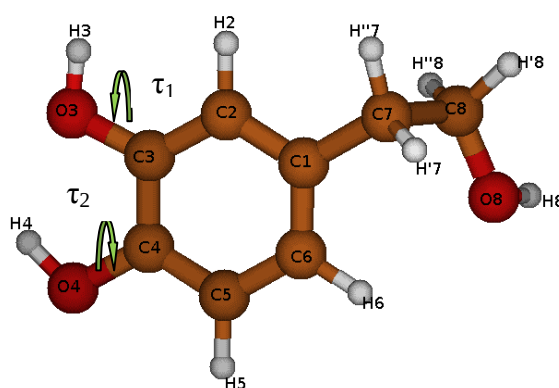


Figure III-6. Structure de l'hydroxytyrosol

En partant par exemple de la géométrie représentée dans la Figure III-7 qu'on a désignée par B1 et en faisant varier τ_1 de 0° à 180° , on aboutit à la géométrie TS1. De la géométrie B1, on fait varier τ_2 de 0° à 180° afin d'aboutir à la géométrie B2. En partant de la géométrie B2 nous pouvons également faire varier τ_1 de 0° à 180° pour arriver à la géométrie B3.

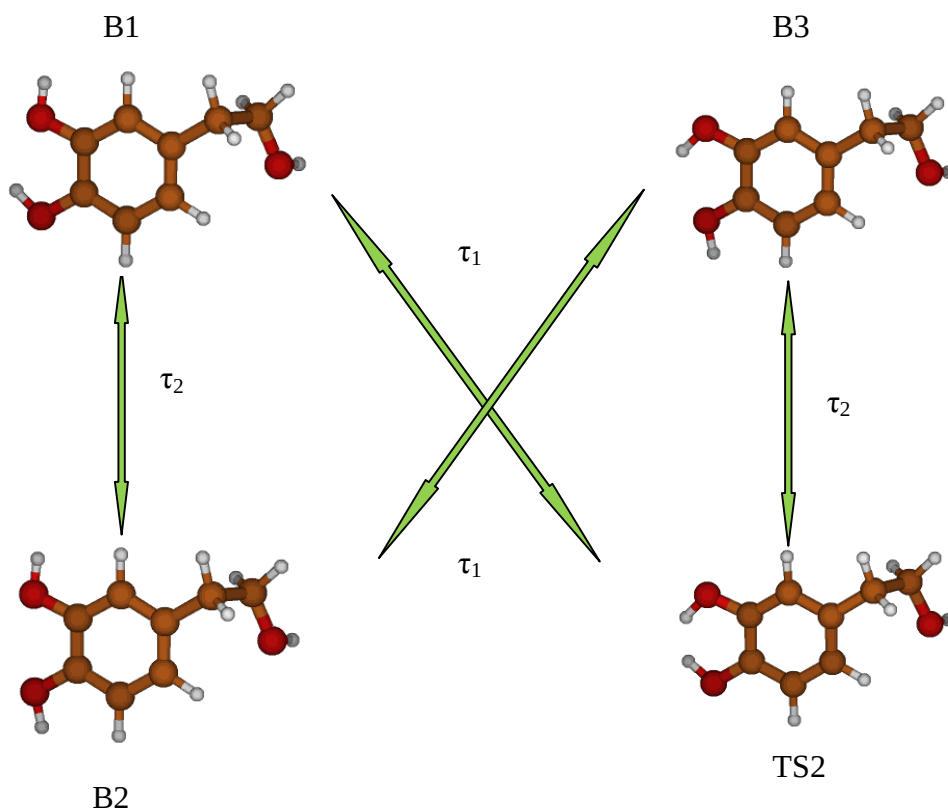


Figure III-7. Conformations possibles de l'hydroxytyrosol

La surface d'énergie potentielle est représentée sur la Figure III-8, elle montre l'existence de trois minima (B1, B2 et B3) et de deux maxima (TS1 et TS2).

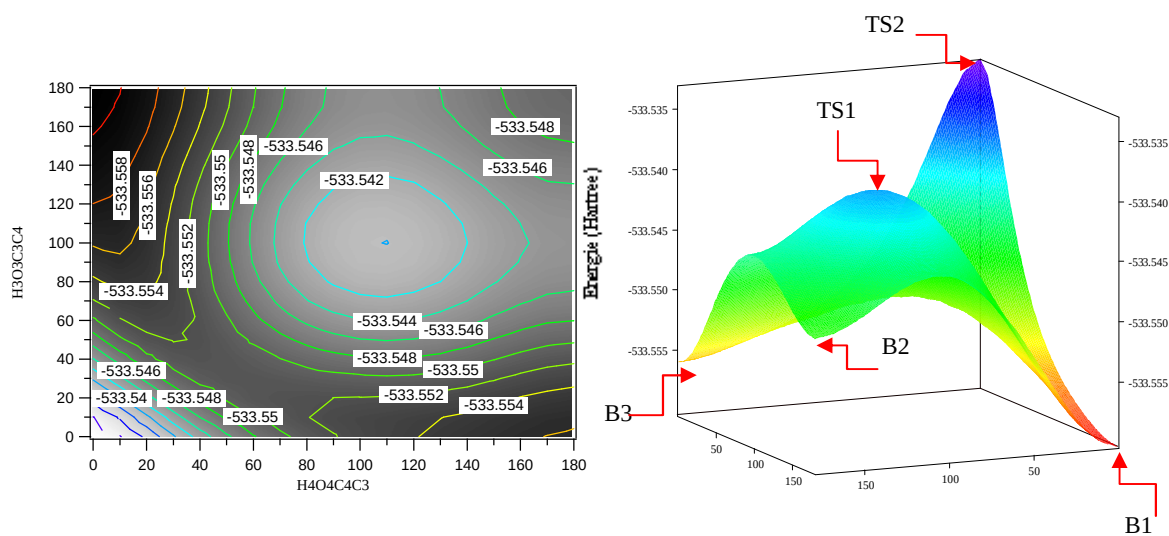
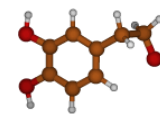
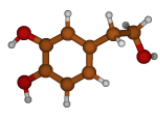
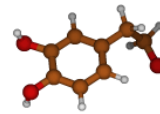
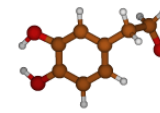


Figure III-8. Surface d'énergie potentielle

Les écarts énergétiques, par rapport à la conformation la plus stable (prise comme référence énergétique), ainsi que les valeurs des torsions τ_1 et τ_2 de ces cinq points de la surface d'énergie potentielle, sont reportés dans le tableau III-6.

Tableau III-6. Les cinq points de la surface d'énergie potentielle

	Conformer	Energie (Hartree)	ΔE (Kcal/mol)
B1	$\tau_1 = 180^\circ$ $\tau_2 = 0^\circ$ 	-533,5605	0,00
B2	$\tau_1 = 180^\circ$ $\tau_2 = 180^\circ$ 	-533,5494	7,00
B3	$\tau_1 = 0^\circ$ $\tau_2 = 180^\circ$ 	-533,5562	2,74
TS1	$\tau_1 = 90^\circ$ $\tau_2 = 90^\circ$ 	-533,5329	12,25
TS2	$\tau_1 = 0^\circ$ $\tau_2 = 0^\circ$ 	-533,5410	17,34

Le tableau ci-dessus montre que la conformation B1 est la plus basse énergétiquement, l'écart entre B1 et B3 est faible (2,74 Kcal/mol) alors que l'écart entre B1 et B2 est assez élevé (7 Kcal/mol). Nous pouvons prédire facilement, en utilisant l'électrostatique, que la conformation B2 sera la moins stable puisqu'il y a une forte répulsion entre les doublets libres de l'oxygène. Les conformations B1 et B2 sont stabilisées respectivement par les liaisons hydrogène entre l'oxygène 3 et l'hydrogène 4 et entre l'oxygène 4 et l'hydrogène en position 3. Les conformations B3, TS1 et TS2 sont les moins stables à cause de la répulsion électrostatique entre les deux oxygène 3 et 4 (B3), ou entre les hydrogène en position 3 et 4 (TS2).

La plus grande différence énergétique se situe au niveau du passage de la conformation TS2 à B1. En effet, dans la conformation TS2, les deux hydrogène 3 et 4 étant très proches, leur répulsion électrostatique est très forte ce qui confère à la quatrième conformation, la

moins grande stabilité (état de transition). Le passage de B1 à B3 ne se fait pas directement, en effet il peut s'effectuer en suivant deux cheminements différents: (i) passer de B1 à B2 en variant τ_2 et puis de B2 à B3 par variation de τ_1 , ou (ii) passer de B1 à TS2 par variation de τ_2 et ensuite de TS2 à B3 en variant τ_1 (Figure III-7). La surface d'énergie potentielle est représentée sur la Figure III-8, elle montre que TS1 correspond à l'état de transition du passage direct de B1 à B3.

Ensuite, nous effectuons une rotation de l'hydroxyle autour de la liaison C8-O8, pour les trois conformations en faisant varier l'angle de torsion τ' (C7C8O8H8). La surface d'énergie potentielle est représentée sur la Figure III-9, elle montre l'existence de minima à 170° avec B1 pour conformation la plus stable.

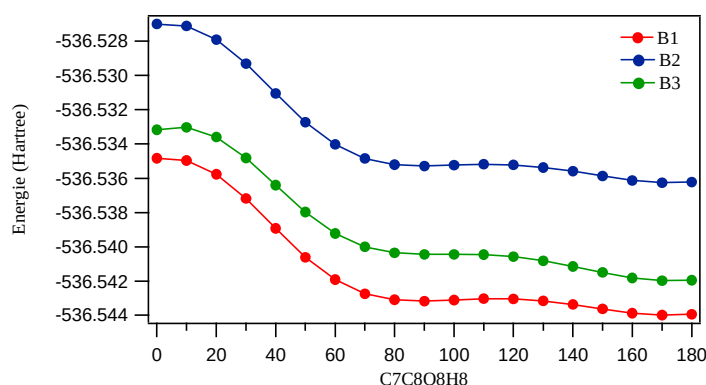


Figure III-9. Barrière énergétique relative à la variation de la torsion τ' (C7C8O8H8) pour les trois conformères B1, B2 et B3 de l'hydroxytyrosol.

3.1.2 Etude structurale de l'hydroxytyrosol

Nous avons effectué l'optimisation de géométrie de la conformation la plus stable de l'hydroxytyrosol (B1). Afin de s'assurer que la géométrie obtenue est bien un minimum dans la courbe d'énergie potentielle, nous avons fait un calcul de fréquences. Les calculs DFT sont effectués en utilisant les deux fonctionnelles hybrides B3LYP et PBE0 et un ensemble de quatre bases allant de 6-31G* à 6-3111G*. Les résultats obtenus, relatifs à la structure de la conformation B1 de l'hydroxytyrosol, sont reportés dans le tableau III-7 et comparés à ceux obtenus par diffraction aux rayons X de la molécule de Salidroside [16].

Tableau III-7. Résultats de l'optimisation de géométrie de l'hydroxytyrosol.

Fonctionnelle		B3LYP				PBE0			
Liaison(Å)	Exp	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*
C1- C2	1,386	1,403	1,404	1,401	1,401	1,399	1,400	1,397	1,397
C 2 -C3	1,393	1,391	1,392	1,388	1,389	1,387	1,389	1,385	1,386
C3 - C4	1,389	1,403	1,402	1,400	1,398	1,400	1,399	1,397	1,396
C4 - C5	1,378	1,392	1,394	1,389	1,390	1,389	1,389	1,386	1,386
C5 - C6	1,390	1,396	1,397	1,394	1,393	1,392	1,393	1,390	1,390
C6 - C1	1,388	1,401	1,402	1,398	1,399	1,397	1,397	1,394	1,394
C1 - C7	1,513	1,515	1,515	1,513	1,513	1,507	1,507	1,505	1,505
C7 - C8	1,496	1,532	1,532	1,528	1,528	1,524	1,523	1,520	1,520
C8 - O8	1,438	1,424	1,430	1,425	1,428	1,413	1,417	1,413	1,415
Angle(°)									
C8 C7 C1	115,6	114,5	114,6	114,7	114,7	114,1	114,2	114,2	114,2
C1 C2 C3	121,7	120,9	120,8	120,9	120,9	120,8	120,8	120,9	120,9
C4 C5 C6	120,1	120,4	120,3	120,5	120,4	120,4	120,4	120,6	120,5
O4 C4 C5	117,4	120,4	120,1	120,5	120,2	120,6	120,3	120,5	120,4
C6 C1 C7	120,0	121,6	121,6	121,6	121,5	118,2	118,2	121,5	121,5
C5 C4 C3	119,5	119,0	119,1	118,9	119,0	119,0	119,0	118,9	118,9
C2 C1 C6	117,6	118,2	118,2	118,1	118,1	118,2	118,2	118,2	118,2
C4 C3 C2	119,6	120,5	120,5	120,5	120,5	120,5	120,5	120,5	120,5
O4 C4 C3	123,1	120,6	120,9	120,6	120,8	120,4	120,6	120,5	120,6
C1 C6 C5	121,5	121,0	121,1	121,0	121,0	121,0	121,0	121,0	121,0
O8 C8 C7	105,8	108,4	108,5	108,4	108,5	108,4	108,4	108,4	108,4

Concernant les longueurs de liaison calculées en utilisant les fonctionnelles B3LYP et PBE0, nous remarquons que:

- L'extension de la base se rapproche le plus des résultats expérimentaux.
- Le rajout des fonctions diffuses n'influence pas trop la structure et présente a l'inconvénient d'augmenter considérablement les temps de calcul.
- Les longueurs de liaison sont mieux représentées par la PBE0 alors que les angles de liaison ont des valeurs similaires en utilisant l'une ou l'autre des deux fonctionnelles.

Le pourcentage d'erreur relative Δ , est calculé à partir de l'équation (III-1) et est reporté dans le Tableau III-8.

Les résultats du tableau III-8 montrent que l'écart relatif par rapport à l'expérience ne dépasse pas les 2.5 % et les valeurs obtenues sont analogues dans le cas des deux fonctionnelles utilisées, l'extension de la base n'améliorant pas ces résultats.

Tableau III-8. Erreur relative (Δ) en %.

Fonctionnelle	B3LYP				PBE0			
	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*
Liaison								
C1- C2	1,23	1,30	1,08	1,08	0,94	1,01	0,79	0,79
C 2 -C3	0,14	0,07	0,36	0,29	0,43	0,29	0,57	0,50
C3 - C4	1,01	0,94	0,79	0,65	0,79	0,72	0,58	0,50
C4 - C5	1,02	1,16	0,80	0,87	0,80	0,80	0,58	0,58
C5 - C6	0,43	0,50	0,29	0,22	0,15	0,22	0,00	0,00
C6 - C1	0,94	1,01	0,72	0,79	0,65	0,65	0,43	0,43
C1 - C7	0,13	0,13	0,00	0,00	0,40	0,40	0,53	0,53
C7 - C8	2,41	2,41	2,14	2,14	1,87	1,87	1,60	1,60
C8 - O8	0,97	0,56	0,90	0,70	1,74	1,46	1,74	1,60
Angle								
C8 C7 C1	0,95	0,87	0,78	0,78	1,30	1,21	1,21	1,21
C1 C2 C3	0,70	0,72	0,64	0,68	0,70	0,71	0,64	0,67
C4 C5 C6	0,24	0,19	0,35	0,28	0,26	0,23	0,37	0,31
O4 C4 C5	2,58	2,28	2,62	2,37	2,76	2,51	2,60	2,59
C6 C1 C7	1,31	1,30	1,30	1,29	1,46	1,49	1,25	1,26
C5 C4 C3	0,42	0,36	0,51	0,44	0,44	0,39	0,53	0,47
C2 C1 C6	0,51	0,48	0,45	0,45	0,55	0,52	0,48	0,48
C4 C3 C2	0,77	0,79	0,78	0,79	0,75	0,77	0,76	0,78
O4 C4 C3	2,05	1,82	2,01	1,84	2,20	2,01	2,15	2,02
C1 C6 C5	0,37	0,36	0,40	0,38	0,39	0,39	0,43	0,40
O8 C8 C7	2,49	2,53	2,45	2,52	2,44	2,46	2,43	2,47

3.2. Etude par spectroscopie RMN du ^{13}C

Les déplacements chimiques, par rapport au TMS, sont reportés dans le tableau III-9 en considérant les fonctionnelles B3LYP et PBE0 et l'ensemble des quatre bases. Les résultats théoriques ainsi obtenus sont comparés avec les valeurs expérimentales données par Bernini et al [23].

Tableau III-9. Déplacements chimiques (ppm) obtenus pour l'hydroxytyrosol.

Fonctionnelle		B3LYP				PBE0			
Atome	Exp	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*	6-31G*	6-31+G*	6-311G*	6-311+G*
C1	130,6	117,2	120,1	136,1	137,3	112,2	114,7	128,2	129,4
C2	115,3	99,9	99,8	113,4	114,7	95,9	95,8	107,3	108,5
C3	144,2	126,5	128,6	146,3	146,4	121,6	122,8	137,9	138,2
C4	142,8	129,1	130,8	149,2	149,6	124,5	125,5	141,2	141,7
C5	116,0	102,0	103,0	117,4	119,0	98,3	99,1	111,3	112,8
C6	120,6	111,6	113,0	128,2	129,5	107,9	109,3	122,0	123,2
C7	38,1	31,0	32,6	39,8	40,1	25,5	27,0	33,2	33,5
C8	63,4	57,2	58,8	67,9	68,0	51,3	52,4	60,0	60,1

Nous constatons que:

- L'accord entre la théorie et l'expérience est assez bon.
- Les valeurs des déplacements chimiques augmentent dans le cycle aromatique vu l'augmentation du nombre de carbones proches voisins.
- Le rajout des fonctions diffuses n'améliore pas les résultats aussi bien avec la B3LYP qu'avec la PBE0.
- Les déplacements chimiques obtenus avec la fonctionnelle PBE0 sont en meilleur accord avec l'expérience.

Comme pour le tyrosol, le calcul d'erreur se fait de manière statistique en calculant le MAD, le RMS et le coefficient de corrélation R. Les résultats des erreurs calculées sont reportés dans le tableau III-10.

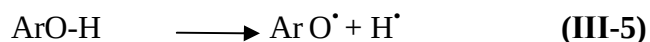
Tableau III-10. Paramètres calculés.

	MAD		RMS		R	
	B3LYP	PBE0	B3LYP	PBE0	B3LYP	PBE0
Base						
6-31G*	12,0	16,7	12,6	17,1	0,913619	0,935126
6-31+G*	10,5	15,6	11,3	16,0	0,918479	0,931248
6-311G*	3,9	4,1	4,5	4,6	0,928764	0,943209
6-311+G*	4,4	3,6	5,1	4,1	0,928856	0,949543

Ce tableau montre que la fonctionnelle PBE0 et la base 6-311+G* sont la plus appropriées pour cette étude (MAD et RMS les plus faibles accompagnés d'un facteur de corrélation proche de 1).

4. Activité antioxydante

L'activité antioxydante du composé phénolique est mesurée par plusieurs paramètres physico-chimiques: gap (Ecart énergétique HOMO-LUMO), potentiel d'ionisation, affinité électronique, enthalpie de dissociation de la liaison hydrogène (de l'acronyme anglais Bond Dissociation Enthalpy BDE). Dans ce qui suit, nous nous limitons au calcul de la BDE.



ArO-H est la molécule initiale, avant la brisure de la liaison OH, ArO et H sont les produits de la réaction après le départ de l'atome d'hydrogène, la BDE relative à la réaction (III-5) est calculée comme suit:

$$\text{BDE} = H(\text{ArO}^\bullet) + H(\text{H}^\bullet) - H(\text{ArO-H}) \quad (\text{III-6})$$

Où H représente l'enthalpie de chaque fragment de la réaction.

Dans la pratique, nous optimisons la molécule ArO-H (tyrosol et hydroxytyrosol) au niveau de théorie voulu, le même type d'optimisation est effectué par la suite au radical ArO[•], de cette molécule.

Les calculs ont été effectués en utilisant les deux fonctionnelles B3LYP et PBE0 et les quatre bases allant de la base 6-31G* à la base 6-311+G*. Tous les résultats théoriques relatifs à ce calcul sont reportés dans le tableau III-11 et comparés avec la BDE expérimentale et calculée, du phénol.

Nous avons reporté dans le tableau 11 les valeurs de la BDE (en Kcal/mol) pour le tyrosol

Tableau III-11. Enthalpie des dissociations calculées pour le tyrosol et le Phénol (Kcal/mol).

Base	BDE tyrosol		BDE phénol ^a	
	B3LYP	PBE0	B3LYP	PBE0
6-31G*	77,52	77,92	75,87	76,18
6-31+G*	77,83	78,67	76,84	77,07
6-311G*	76,67	76,81	75,09	75,08
6-311+G*	76,64	76,77	75,53	75,44

^a les valeurs expérimentales O-H BDE du phénol sont comprises entre 83,3 à 89,6 Kcal/mol [22].

L'examen des valeurs de ce tableau montre que c'est la fonctionnelle PBE0 en base 6-31+G* qui donne pour le phénol la valeur la plus proche de l'expérience. Pour le tyrosol, la valeur avec cette même méthode est plus élevée d'entre toutes. Donc l'activité antioxydante du phénol est mieux prédite par **PBE0/6-31+G***.

Les énergies issues des différentes optimisations de géométrie, nous permettent de calculer la BDE: plus cette BDE est faible, plus il est facile d'arracher l'atome d'hydrogène à l'hydroxyle choisi.

Nous avons reporté dans le tableau III-12 les valeurs de la BDE (en Kcal /mol) pour les hydrogène des hydroxyles en position 3 et 4 de l'hydroxytyrosol.

Tableau III-12. Valeurs des énergies O - H BDE calculées pour l'hydroxytyrosol (Kcal/mol)

	BDE O-H ₄		BDE O-H ₃	
	B3LYP	PBE0	B3LYP	PBE0
Base				
6-31G*	77,31	77,72	67,14	77,84
6-31+G*	78,28	78,57	78,34	78,63
6-311G*	76,75	76,84	76,82	76,92
6-311+G*	77,18	77,24	77,22	77,29

Nous pouvons conclure que l'hydrogène le plus facile à arracher est celui qui se trouve en position 4 pour l'hydroxytyrosol. Les valeurs de la BDE, issues des calculs avec les différentes méthodes, sont très proches les unes des autres.

Nous pouvons conclure que l'hydroxytyrosol (BDE=78,57 Kcal /mol) est bien plus actif que le tyrosol (BDE=78,67 Kcal /mol), et cela en raison de l'existence de la liaison hydrogène intramoléculaire formée entre l'hydrogène 4 et l'oxygène 3.

5. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons réalisé une étude théorique en utilisant la méthode de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) de deux composés phénoliques antioxydants présents dans l'huile d'olive : le tyrosol et l'hydroxytyrosol. Une première étude de la surface d'énergie potentielle des deux molécules nous a permis de déterminer la conformation la plus stable dans chaque cas. La conformation la plus stable a été optimisée en géométrie et un calcul de fréquence nous a permis de s'assurer qu'elle représente bien un minimum dans la PES. Nous avons effectué nos calculs en utilisant les deux fonctionnelles hybrides B3LYP et PBE0 et un ensemble de 4 bases de la moins étendue vers la plus étendue. Les résultats structuraux nous ont permis de savoir si l'extension de la base a un effet remarquable ou pas sur la structure mais la comparaison avec les résultats expérimentaux obtenus par diffraction au rayon X montre qu'il est impossible de trancher sur la meilleure fonctionnelle.

Nous avons également fait des calculs RMN du ^{13}C pour les deux molécules et la comparaison avec l'expérience montre que la fonctionnelle à retenir est celle PBE0 car elle donne un écart statistique meilleur que la B3LYP.

L'activité antioxydante du tyrosol et de l'hydroxytyrosol est mesurée dans ce travail par le calcul de l'énergie de dissociation de l'atome d'hydrogène BDE. Les résultats de calcul de cette activité ont été comparés à ceux expérimentaux du phénol. La bonne fonctionnelle et la bonne base qui reproduit par le calcul la BDE du phénol est la PBE0/6-31+G*. Cette base et cette fonctionnelle seraient alors les plus appropriées à une étude complète de ces composés phénoliques.

Bibliographie

- [1] F. Gigon, R. Le Jeune, Huile d'olive, *Olea europaea* L., *Phytothérapie* (2010) 8: 129-135.
- [2] E. L. Carralafuente ,Les bienfaits de l'huile d'olive, *Diabète et société* (2003) 48(4):36-38.
- [3] A. Bendini, L. Cerretani , A. Carrasco-Pancorbo , A. M. Gómez-Caravaca , A. Segura-Carretero , A. Fernández-Gutiérrez and G. Lercker, Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. An Overview of the Last Decade,*Molecules* (2007) 12:1679-1719.
- [4] B. Dimitrios, Sources of natural phenolic antioxidants,*Trends in Food Science & Technology* (2006) 17:505-512.
- [5] E. Miró-Casas, M-I. Covas, M. Fitó , M. Farreé-Albadalejo, J. Marrugat and R; de la Torre, Tyrosol and hydroxytyrosol are absorbed from moderate and sustained doses of virgin olive oil in humans,*Clinical Nutrition* (2003) 57:186-190
- [6] V. R. Gutierrez , R. Puerta and A. Catalá , The effect of tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein on the non-enzymatic lipid peroxidation of rat liver microsomes,*Molecular and Cellular Biochemistry* (2001) 217: 35-41.
- [7] T. Vassiliki Papoti, Maria Z. Tsimidou, Looking through the qualities of a fluorimetric assay for the total phenolcontent estimation in virgin olive oil, olive fruit or leaf polar extract,*Food Chemistry* (2009)112 : 246-252.
- [8] C. Giovannini et al., Tyrosol, the major olive oil, protects against oxidized-LDL - induced injury in cacao-2 cells, *Journal of Nutrition* (1999)129: 1269-1277.
- [9] H. Chimia, J. Cillardb, P. Cillardband M. Rahmanib, Peroxyl and Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Some Natural Phenolic Antioxidants, *Journal of the*

American Oil Chemists Society, (1991) 68 (5): 307-312,

- [10] Gaussian 03, Revision B.02,

M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria,
M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven,
K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi,
V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega,
G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota,
R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao,
H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross,
C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev,
A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala,
K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg,
V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain,
O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari,
J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford,
J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz,
I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham,
C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill,
B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople,
Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, **2003**.

- [11] J. P. Perdew, A. Ruzsinszky, L. A. Constantin, J. Sun, and G. I. Csonka, Some Fundamental Issues in Ground-State Density Functional Theory: A Guide for the Perplexed, *Journal of Chemical Theory and Computation*, (2009) 5 (4): 902_908,
- [12] S. F. Sousa, P. A. Fernandes, and M. J. Ramos, General Performance of Density Functionals, *Journal of Physical Chemistry A*, (2007) 111:10439-10452,
- [13] A. D. Becke. Density-functional thermochemistry. III. the rôle of exact exchange. *J. Chem. Phys.*, (1993) 98 :5648-5652,.

- [14] J. P. Perdew, K. Burke, and M. Ernzerhof. Generalized gradient approximation made simple [phys. rev. Lett. 77, 3865 (1996)]. Phys. Rev. Lett., 78(7) :1396, Feb 1997
- [15] M.R. Belmecheri Thèse de Magister, Alger, (1998)
- [16] Peizhong Yu, Changqi Hu, Edward J. Meehan, Liqing Chen, X-Ray Crystal Structure and Antioxidant Activity of Salidroside, a Phenylethanoid Glycoside, *Chemistry and Biodiversity* , (2007) 4:508-513
- [17] R. Mateos, M. Trujillo, G. Pereira-Caro, A. Madrona, A. Cert and J. L. Espartero, New Lipophilic Tyrosyl Esters. Comparative Antioxidant Evaluation with Hydroxytyrosyl Esters, *J Agric Food Chem* , (2008) 56:10960,
- [18] Xin-Fang Su, Hong Zhang, Ju-Xiang Shao and Hai-Ying Wu, Theoretical study on the structure and properties of crenulatin molecule in herb *Rhodiola crenulata*, *J Mol Struct (Theochem)* ,(2007) 847:59_67.
- [19] Min-Jie Li, Lei Liu, Yao Fu , Qing-Xiang Guo, Accurate bond dissociation enthalpies of popular antioxidants predicted by the ONIOM-G3B3 method, *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* (2007) 815: 1–9.
- [20] N. Nenadis, L. Wang, M. Z. Tsimidou, and H. Zhang , Radical Scavenging Potential of Phenolic Compounds Encountered in *O. europaea* Products as Indicated by Encountered in *O. europaea* Products as Indicated by Calculation of Bond Dissociation Enthalpy and Ionization Potential Values, *J. Agric. Food Chem.* (2005) 53:295-299.
- [21] M. Leopoldini, T. Marino, N. Russo, and M. Toscano, Antioxidant Properties of Phenolic Compounds: H-Atom versus Electron Transfer Mechanism, *J. Phys. Chem. A* (2004) 108:4916-4922.

- [22] Gino A. Dilabio et al, *J chem Phys Lett* ,(2005) 406 :300
- [23] R. Bernini, E. Mincione, M. Barontini, and F. Crisante , Convenient Synthesis of Hydroxytyrosol and Its Lipophilic Derivatives from Tyrosol or Homovanillyl Alcohol , *J. Agric. Food Chem.* (2008) 56:8897–8904.

Prédiction théorique du mécanisme
d'activité antioxydante

1. Introduction

Les radicaux libres sont très instables, leur durée de vie est généralement très courte (10^{-4} secondes). Leur réactivité réside dans la recherche d'un électron afin de ré-apparier leur électron célibataire; elle entraîne la propagation du phénomène par création d'un nouveau radical. Toute substance capable de capter l'électron célibataire d'un radical libre sans donner elle-même un produit radicalaire est définie comme un piègeur de radicaux libres. Ces piègeurs se caractérisent par leur affinité élevée pour les radicaux libres et leur spécificité pour certains d'entre eux [1].

Il existe des « piègeurs occasionnels » de radicaux libres. Ce sont des molécules endogènes qui captent les électrons célibataires aux dépens de leur propre intégrité, comme par exemple les acides gras insaturés, les fonctions thiols de protéines, l'ADN et les acides aminés phénoliques. Les autres principaux piègeurs de radicaux libres, sont les chélateurs du fer et du cuivre et les antioxydants comme le tyrosol et l'hydroxytyrosol [2-3].

Dans ce chapitre, nous avons étudié l'interaction du tyrosol et de l'hydroxytyrosol avec les espèces radicalaires de l'oxygène $\cdot\text{OH}$ et $\text{O}_2\cdot^-$ [4]. Pour cela, nous avons démontré au cours de ce travail que la structure influence particulièrement la réactivité, le transfert de proton ou de l'électron ..., etc. L'étude structurale nécessitant un temps de calcul excessivement long, a été complétée par une étude énergétique (BDE) et par celle des orbitales frontières.

2. L'interaction du radical hydroxyle avec le tyrosol et l'hydroxytyrosol

2.1. Mécanisme et site d'attaque probables

Après le choix justifié de la fonctionnelle (PBE0) et de la base (6-31+G*) dans le troisième chapitre, nous avons effectué une série de calculs sur d'autres paramètres du mécanisme d'activité antioxydante de ces composés phénoliques (généralement de type ArOH), qui sont représentés dans la figure IV-1 [5].

Le but principal de cette partie est de calculer quelques paramètres utilisant l'enthalpie de réaction liée à l'action antioxydante de ces trois mécanismes pour les deux molécules

(tyrosol et l'hydroxytyrosol) puis de chercher le processus et le site d'attaque les plus probables.

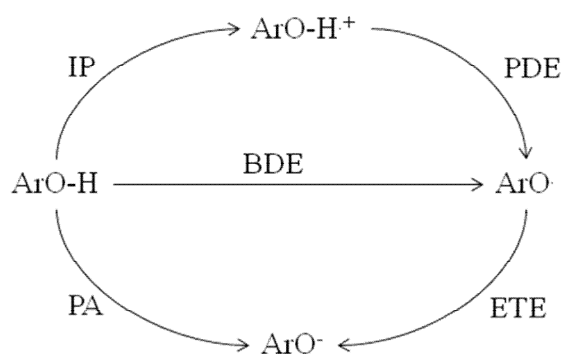
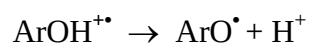


Figure IV-1. Mécanismes d'activité antioxydante [5]

Ces paramètres sont notés comme suit :

Transfert d'électron suivi d'un transfert de proton (Single-Electron Transfer – Proton Transfer (SET-PT)) :



A cet effet, nous avons calculé le potentiel d'ionisation (IP) et l'enthalpie de dissociation protonique (PDE), à partir des équations suivantes:

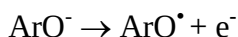
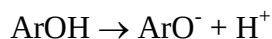
IP – potentiel d'ionisation,

$$\text{IP} = H(\text{ArOH}^{+\bullet}) - H(\text{ArOH})$$

PDE – enthalpie de dissociation de proton,

$$\text{PDE} = H(\text{ArO}^\bullet) + H(\text{H}^+) - H(\text{ArOH}^{+\bullet})$$

- Récemment, un autre mécanisme pouvant se produire a alors été établi. Il s'agit du transfert de proton suivi par un transfert d'électron (Sequential Proton Loss Electron Transfer (SPLET)) :



Nous avons calculé le PA et l'ETE comme suit :

PA – affinité protonique de l'ion phenoxide

$$\text{PA} = H(\text{ArO}^-) + H(\text{H}^+) - H(\text{ArOH})$$

ETE – enthalpie de transfert d'électron,

$$\text{ETE} = H(\text{ArO}^\bullet) + H(\text{e}^-) - H(\text{ArO}^-)$$

Avec:

$H(\text{ArOH})$: Enthalpie de la molécule neutre

$H(\text{ArO}^\bullet)$: Enthalpie du radical

$H(\text{ArOH}^{+\bullet})$: Enthalpie du cation radical

$H(\text{ArO}^-)$: Enthalpie de l'anion

$H(\text{e}^-)$: Enthalpie de l'électron

$H(\text{H}^+)$: Enthalpie du proton

L'enthalpie du proton, $H(\text{H}^+)$, étant de 1.482 Kcal/mol, et celle de l'électron 0.752 Kcal/mol [6].

Nous avons reporté dans le tableau IV-1, les valeurs des grandeurs HAT, SPLET et SETPT (en Kcal/mol), pour les hydrogènes des hydroxyles en position 4 (TyO4-H4) et 8 (TyO8-H8) pour le tyrosol et les hydrogènes des hydroxyles en position 3 (HtyO3-H3), 4 (HtyO4-H4) et 8 (HtyO8-H8) pour l'hydroxytyrosol. Nous rappelons que ces calculs sont effectués au niveau PBE0/6-31+G*.

Tableau IV-1. IP, PDE, PA, ETE et BDE (Kcal/mol) calculés pour le tyrosol et l'hydroxytyrosol

	IP	PDE	PA	ETE	SETPT	SPLET	HAT
					IP+PDE	PA+ETE	BDE
TyO4-H4	179,13	212,28	336,09	54,59	391,41	390,68	78,67
TyO8-H8	179,13	230,22	364,14	44,48	409,35	408,62	96,15
HtyO3-H3	171,82	220,01	325,29	65,80	391,83	391,10	78,63
HtyO4-H4	171,82	219,94	340,47	50,57	391,77	391,04	78,57
HtyO8-H8	171,82	235,90	363,65	43,34	407,72	406,99	94,52

A partir des résultats obtenus, nous constatons que:

- Les enthalpies obtenues pour ces trois mécanismes HAT, SETPT, et SPLET confirment que le HAT est le processus le plus probable à se produire puisqu'il nécessite, relativement aux autres mécanismes, une valeur d'enthalpie très faible pour produire le radical phénolique $\text{ArO}^\bullet$.
- Nous pouvons conclure que l'hydrogène le plus facile à arracher est celui qui se trouve en position 4, pour les deux molécules (tyrosol et hydroxytyrosol).

2.2. Etude structurale

Nous présentons ci-dessous, les résultats de calculs théoriques relatifs à l'interaction du radical hydroxyle avec le tyrosol ainsi qu'avec l'hydroxytyrosol. Nous rappelons que ces calculs sont effectués en utilisant la DFT au niveau PBE0/6-31+G*. Nous pouvons également déterminer la nature du processus impliqué dans cette interaction (transfert de proton, transfert d'électron ou transfert d'atome d'hydrogène) par identification des fragments issus de ces réactions.

L'identification de ces fragments de réaction se fait par une étude de l'orbitale moléculaire occupée par l'électron célibataire, la SOMO (Single Occupied Molecular Orbital) en l'occurrence.

La figure IV-2 représente la démarche de l'interaction entre le tyrosol ($R=H$) et l'hydroxytyrosol ($R=OH$), avec le radical hydroxyle.

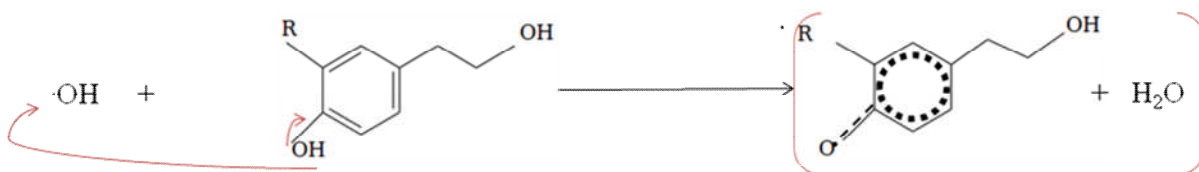


Figure IV-2. Interaction entre nos deux molécules et le radical hydroxyle

Les PESs (figures IV-3a et IV-3b) sont représentées ci-dessous. La PES a été définie par deux coordonnées internes. Il existe deux chemins d'énergie minimum pour relier le réactant et le produit. Les coordonnées de réaction associées sont notées O4-H4 et C4- O_r (O_r : l'oxygène du radical hydroxyle).

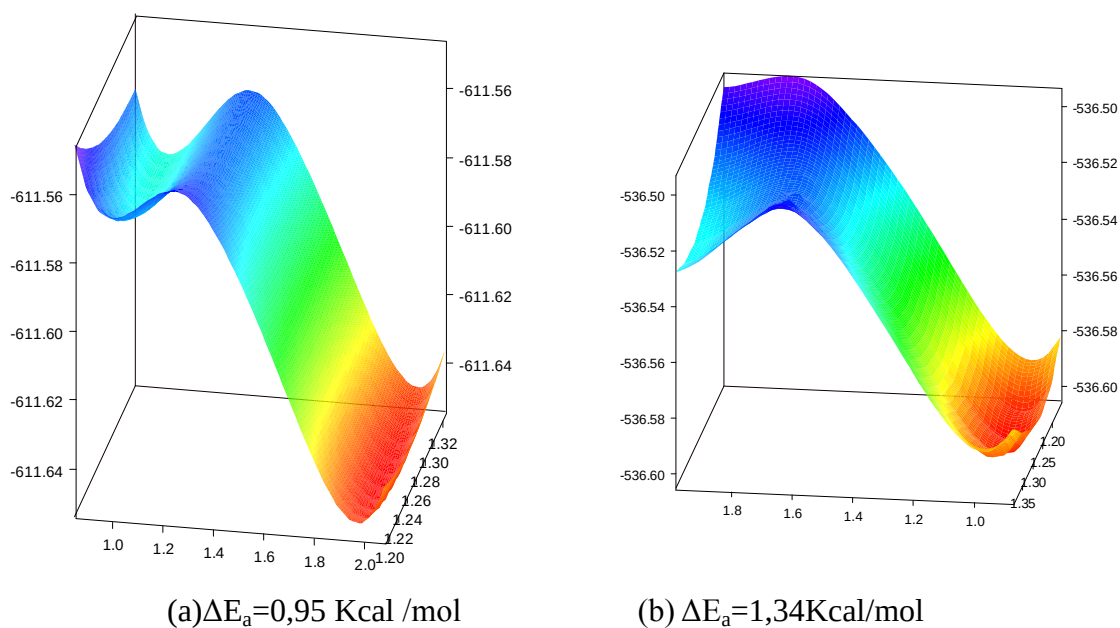


Figure IV-3. Projection d'une surface d'énergie potentielle à trois dimensions

(a) PES de l'hydroxytyrosol (b) PES du tyrosol.

Sur la figure IV-4, nous représentons les géométries des produits, optimisées au niveau PBE0/6-311G*, suite à l'interaction de l'hydroxyle $\cdot OH$ avec l'hydroxytyrosol et le tyrosol.

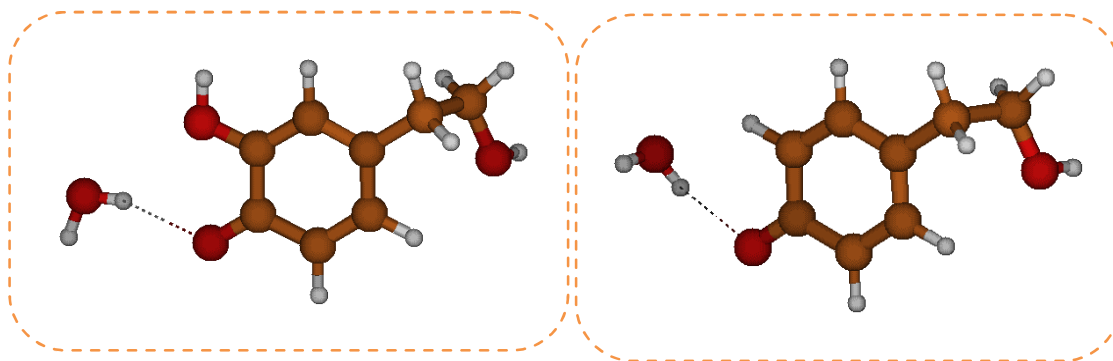


Figure IV-4. Structures géométriques des produits, optimisées au niveau PBE0/6-311G*.

Les valeurs des longueurs de liaison et de l'angle de liaison, en absence et en présence du radical, sont représentées dans tableau IV-2 pour les deux molécules, la position de l'attaque radicalaire étant du côté de l'hydrogène du site O4.

En présence de l'hydroxyle, des variations significatives sont observées au voisinage de la perturbation. Citons, par exemple, la liaison C3-C4 qui s'allonge, de même que la liaison C4-C5, au dépend de la liaison C4-O4 qui se rétrécit fortement de 0,111Å dans le cas de l'hydroxytyrosol et de 0,107Å dans le cas du tyrosol, en tendant à acquérir le caractère d'une double liaison (délocalisation des électrons π).

Des différences notables sont remarquées au niveau de l'angle de liaison O4C4C4 qui s'ouvre de 3° après l'interaction du tyrosol avec le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$, ce qui entraîne une fermeture de 2° de l'angle de liaison C5C4C3. De plus, nous remarquons que l'angle de liaison C4O4H4, s'ouvre de 3°.

Un comportement analogue est observé dans le cas de l'interaction de l'hydroxytyrosol avec le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$ qui mène à une ouverture de 13° pour l'angle C4O4H4.

Tableau IV-2. Valeurs calculées au niveau UPBE0/6-311G*, des paramètres de liaison.

Liaison	Exp ^[7]	Hydroxytyrosol	Hydroxytyrosol avec OH	Tyrosol	Tyrosol avec OH
C1- C2	1,386	1,397	1,396	1,399	1,410
C 2 -C3	1,393	1,385	1,384	1,385	1,371
C3 - C4	1,389	1,397	1,461	1,393	1,446
C4 - C5	1,378	1,386	1,441	1,391	1,445
C5 - C6	1,390	1,390	1,365	1,391	1,368
C6 - C1	1,388	1,394	1,419	1,392	1,415
C1 - C7	1,513	1,505	1,500	1,505	1,498
C7 - C8	1,496	1,520	1,522	1,519	1,523
C8 - O8	1,438	1,413	1,411	1,414	1,411
O4 - H4	-	0,963	2,057	0,960	1,252
O3 - H3	-	0,959	0,962	-	-
O8 - H8	-	0,959	0,959	0,959	0,959
C4 – O4		1.354	1.243	1.359	1.252
Angle					
C8 C7 C1	115,6	114,2	113,9	114,2	113,5
C1 C2 C3	121,7	120,9	121,0	121,6	121,5
C4 C5 C6	120,1	120,6	121,9	120,1	121,1
O4 C4 C5	117,4	120,5	123,2	117,7	121,1
C6 C1 C7	120,0	121,5	120,4	121,3	120,5
C5 C4 C3	119,5	118,9	115,8	119,4	117,1
C2 C1 C6	117,6	118,2	119,3	117,7	119,0
C4 C3 C2	119,6	120,5	121,1	119,9	120,4
O4 C4 C3	123,1	120,5	123,2	122,8	121,8
C1 C6 C5	121,5	121,0	121,0	121,4	120,9
O8 C8 C7	105,8	108,4	108,2	108,4	108,1
C4 O4 H4	-	107,9	121,3	109,3	112,7
C3 O3 H3	-	110,2	111,2	-	-

2.3. Etude énergétique

Nous nous sommes proposées ensuite, de calculer les enthalpies des réactions des deux molécules antioxydantes (Tyrosol et Hydroxytyrosol) avec le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau IV-3.

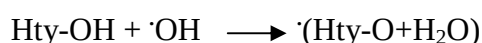
L'évolution de l'énergie correspondante, au cours du mécanisme réactionnel pour la formation des systèmes $\text{Hty-O}+\text{H}_2\text{O}$ et $\text{Ty-O}+\text{H}_2\text{O}$, est représentée graphiquement sur les Figures IV-5 et IV-6.

Tableau IV-3. Enthalpie (en Hartree) calculée dans le cas de la réaction de l'hydroxytyrosol et du tyrosol avec $\cdot\text{OH}$

Hydroxytyrosol	Enthalpie	Tyrosol	Enthalpie
$H \cdot(\text{hty-O}+\text{H}_2\text{O})$	-611,564231	$H \cdot(\text{ty-O}+\text{H}_2\text{O})$	-536,407414
$H (\text{hty-OH})$	-535,852009	$H (\text{ty-OH})$	-460,692605
$H (\cdot\text{OH})$	-75,652932	$H (\cdot\text{OH})$	-75,652932

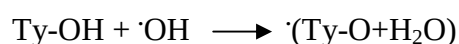
Nous utilisons les données de tableau IV-3 pour calculer l'enthalpie de dissociation de l'hydrogène (BDE) dans le cas de l'hydroxytyrosol et du tyrosol, suite à l'attaque du radical hydroxyle par les deux molécules antioxydantes.

Pour l'hydroxytyrosol :



$$\text{BDE} = H \cdot(\text{Hty-O}+\text{H}_2\text{O}) - H (\text{Hty-OH}) - H (\cdot\text{OH}) = 37,21 \text{ Kcal/mol}$$

Pour le tyrosol :



$$\text{BDE} = H \cdot(\text{Ty-O}+\text{H}_2\text{O}) - H (\text{Ty-OH}) - H (\cdot\text{OH}) = 38,83 \text{ Kcal/mol}$$

Le ΔH de réaction est négatif, du fait que l'enthalpie des produits est plus petite que celle du réactif, il s'agit donc d'une réaction exothermique. L'énergie dégagée par la formation de la liaison $O_{\text{radical}}-H_4$ dans le produit est supérieure à l'énergie requise pour briser la liaison O_4-H_4 dans le réactif.

Par ailleurs, sa faible valeur de $\Delta H_{\text{réaction}}$ nous indique que l'hydroxytyrosol est la plus active des deux molécules antioxydante, il en résulte que le produit $\cdot(Hty-O+H_2O)$ est stabilisé par la formation, au maximum, de trois liaisons hydrogène, contrairement au tyrosol, pour lequel, il existe une seule possibilité de formation de liaison hydrogène. Nos calculs sont, par conséquent, en parfait accord avec l'expérience [8].

De plus, la valeur du BDE de l'hydroxytyrosol est plus faible que celle du tyrosol, ce qui implique que l'hydrogène le plus simple à arracher est celui qui se trouve en position 4, dans l'hydroxytyrosol. Ce résultat montre bien que l'existence du deuxième groupement hydroxyle augmente l'activité antioxydante de l'hydroxytyrosol.

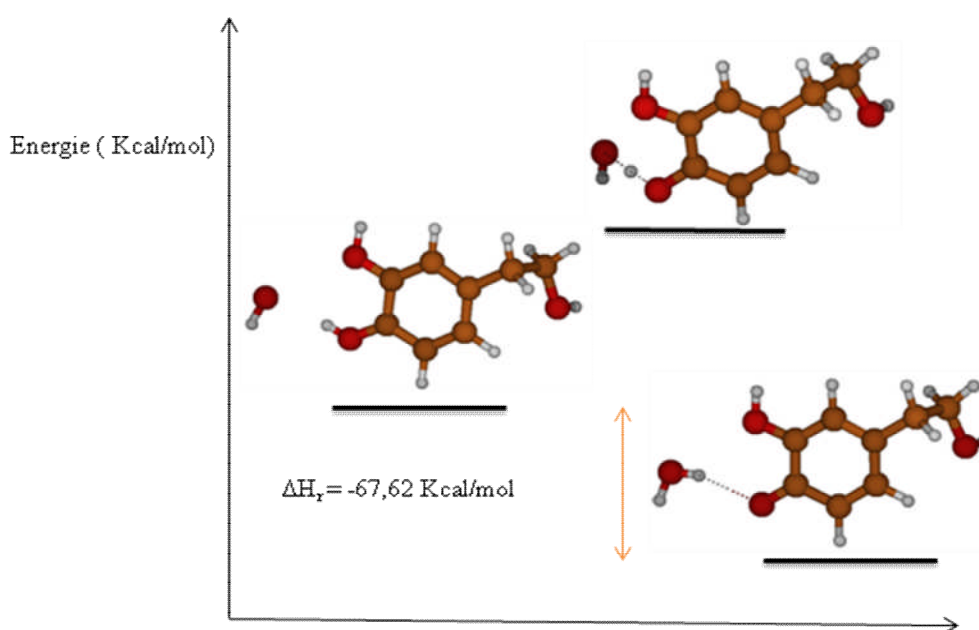


Figure IV-5. Evolution de l'énergie au cours du mécanisme réactionnel étudié pour la formation de $Hty-O+H_2O$

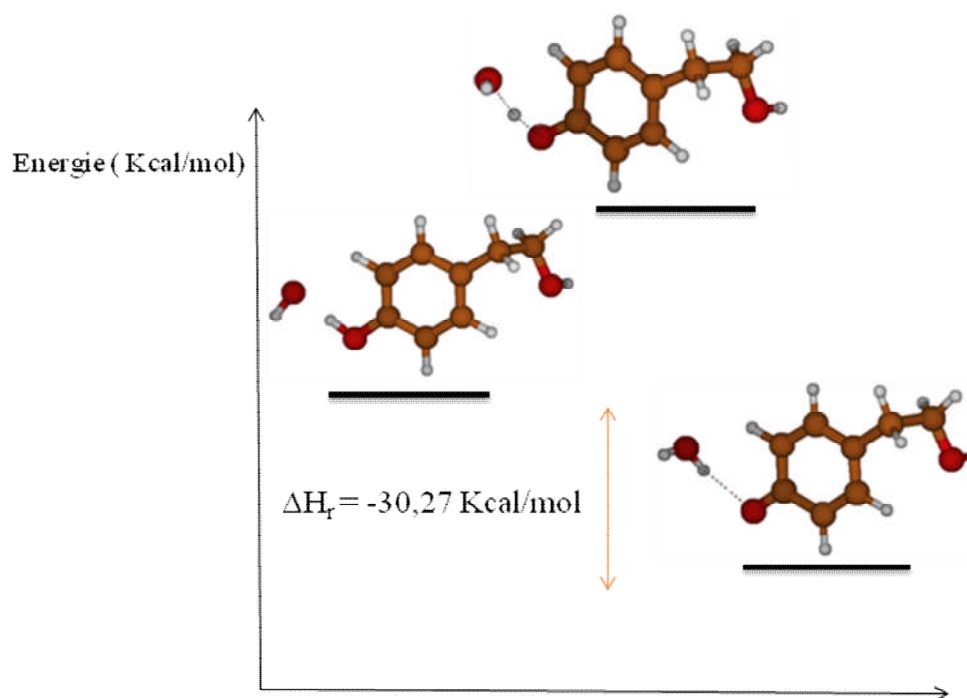


Figure IV- 6. Evaluation de l'énergie au cours du mécanisme réactionnel étudié pour la formation de Ty-O+H₂O

2.4. Etude du mécanisme de piégeage du radical hydroxyle

Dans cette partie, nous nous sommes proposées de déterminer la nature du mécanisme de piégeage du radical hydroxyle par le tyrosol et l'hydroxytyrosol.

Pour cela, nous effectuons d'une part, une analyse de charges et d'autre part, une analyse de l'orbitale moléculaire (SOMO), occupée par le seul électron célibataire.

2.4.1. Analyse de charges

Dans le tableau IV-4, nous avons reporté les charges de Mulliken des fragments Ar-O et H₂O, calculées pour l'hydroxytyrosol et le tyrosol. Nous remarquons que les deux complexes (Ar-O,H₂O) ainsi formés, portent la charge 0.

Tableau IV-4. Somme des charges de Mulliken pour les deux fragments Ar-O et H₂O

Somme des charges (ua)	Ar-O	H ₂ O
Hydroxytyrosol	0,040	-0,040
Tyrosol	0,004	-0,004

2.4.2. Analyse de l'orbitale frontière SOMO

La figure IV-7 montre la répartition de la SOMO calculée lors de l'interaction de l'hydroxyle $\cdot\text{OH}$ avec l'hydroxytyrosol et le tyrosol. L'examen de cette figure montre que c'est le fragment Ar-O qui est de nature radicalaire.

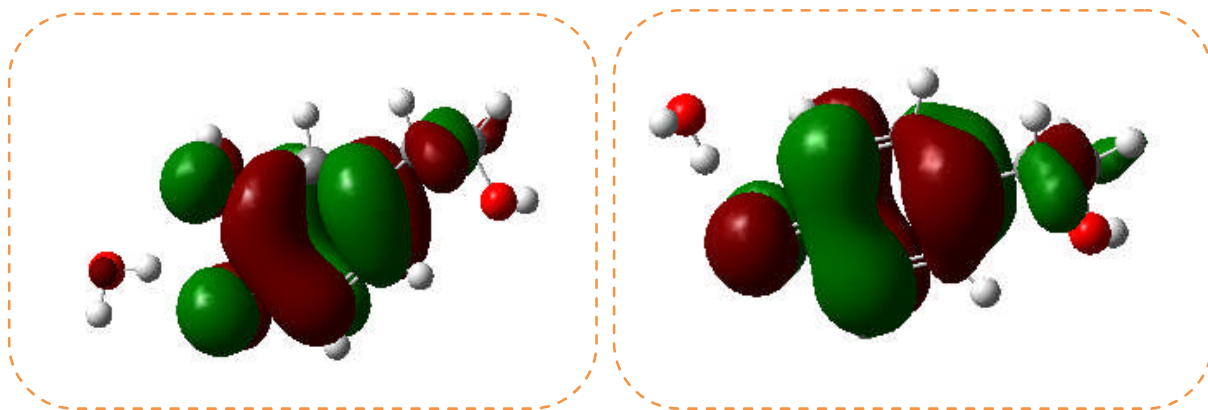
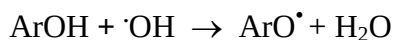


Figure IV-7. Répartition de la SOMO dans l'hydroxytyrosol et le tyrosol en présence de $\cdot\text{OH}$, au niveau UPBE0/6-311G*

A partir de ces deux répartitions (de charges et d'orbitale frontière SOMO), nous pouvons conclure que dans le cas des deux molécules antioxydantes (tyrosol et hydroxytyrosol) et après abstraction de l'hydrogène par l'hydroxyle, les produits obtenus sont le radical $\text{ArO}\cdot$ et la molécule H_2O . Ces résultats montrent que le mécanisme mis en jeu lors de l'interaction du tyrosol et de l'hydroxytyrosol avec le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$, est celui d'un transfert d'atome hydrogène.

La réaction s'écrit alors comme suit, lors de l'attaque du radical hydroxyle:



ArOH étant l'hydroxytyrosol ou le tyrosol.

3. Interaction du radical anion superoxyde avec l'hydroxytyrosol et le tyrosol

Dans cette partie, nous nous intéressons à l'interaction du radical anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ avec les molécules antioxydantes (Hydroxytyrosol et Tyrosol). De même que pour le radical hydroxyle, une étude structurale ainsi qu'une étude énergétique seront menées. La nature du mécanisme réactionnel le plus probable sera ensuite, élucidée.

3.1. Etude structurale

Nous présentons ci-dessous, les calculs théoriques relatifs à l'interaction du radical anion superoxyde avec le tyrosol ainsi que l'hydroxytyrosol. Nous rappelons que ces calculs sont effectués en utilisant la méthode DFT au niveau PBE0/6-31+G*. Nous pouvons également déterminer la nature du processus impliqué dans cette interaction (transfert de proton, transfert d'électron ou transfert d'atome d'hydrogène) par identification des fragments issus de ces réactions. Celle-ci, se faisant par une étude des charges et par celle de la nature de l'orbitale moléculaire (SOMO) occupée par l'électron célibataire.

La figure IV-8 représente le mécanisme d'interaction du tyrosol ($R = H$) et de l'hydroxytyrosol ($R = OH$) avec le radical anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$.

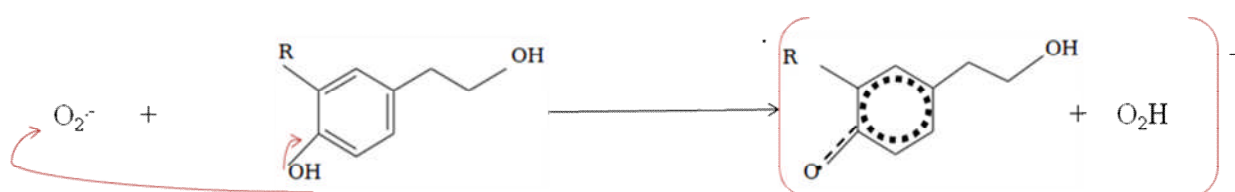


Figure IV-8. Interaction entre les deux molécules antioxydantes et le radical anion superoxyde

Les PESs (figure IV-9a et IV-9b) sont représentées ci-dessous. Elles sont définies par deux coordonnées internes. Il existe deux chemins d'énergie minimale pour relier le réactant et le produit. Les coordonnées de réaction associées sont respectivement notées O4-H4 et C4-O4.

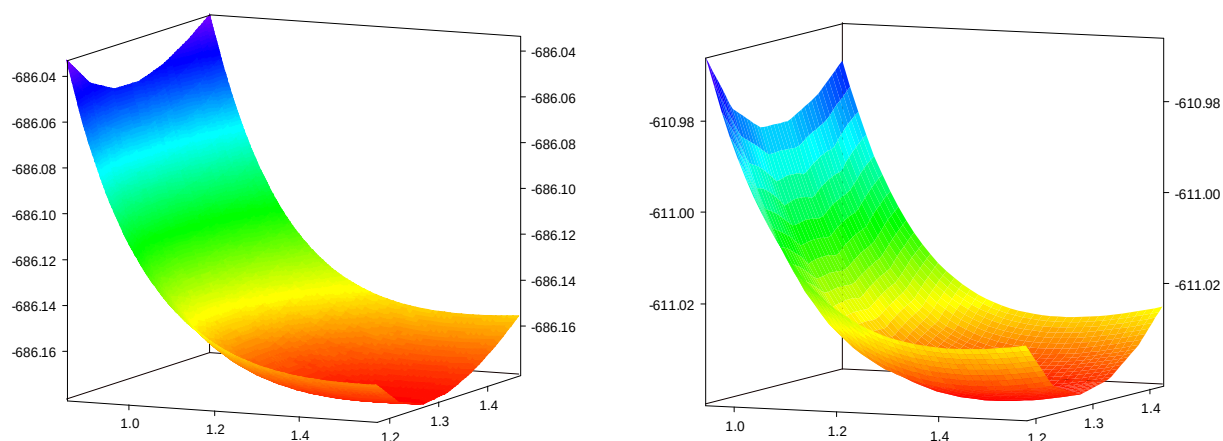


Figure IV-9. Projection d'une surface d'énergie potentielle à trois dimensions
(a) PES de l'hydroxytyrosol (b) PES du tyrosol

Sur la figure IV-10, nous représentons les géométries des produits, optimisées au niveau PBE0/6-311G* suite à l'interaction du radical anion superoxyde avec l'hydroxytyrosol et le tyrosol.

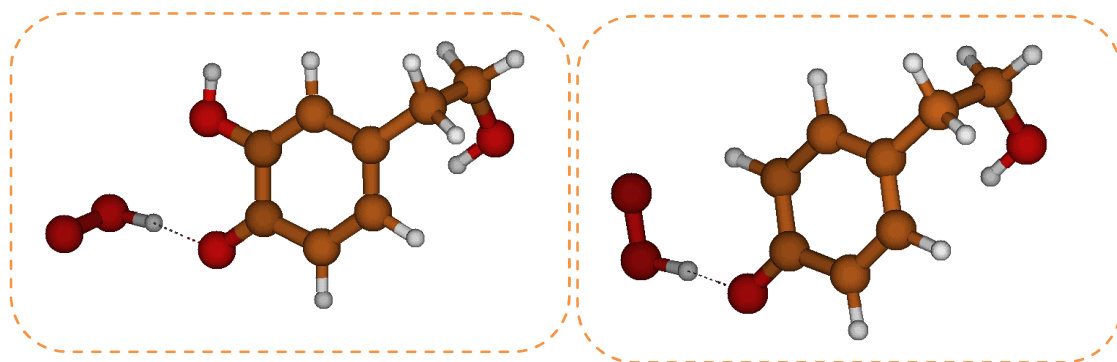


Figure IV-10. Structures des produits, optimisées au niveau UPBE0/6-311G*

Les valeurs des longueurs de liaison et de l'angle de liaison, en absence et en présence du radical, sont représentées dans le tableau IV-5 pour les deux molécules, la position de l'attaque radicalaire se trouve préférentiellement du côté de l'hydrogène 4.

En présence du radical anion superoxyde, il a été remarqué que la liaison C3-C4 s'allonge, de même que la liaison C4-C5, au dépend de la liaison C4-O4 qui se raccourcit de 0,08Å dans le cas de l'hydroxytyrosol et de 0,07Å dans le cas du tyrosol. Comme pour l'attaque du radical hydroxyle, cette liaison C-O tend à acquérir le caractère d'une double liaison.

Quant aux angles de liaison, quelques différences significatives ont été remarquées, notamment au niveau de l'angle O4C4H4 qui s'ouvre de 19°, après interaction de hydroxytyrosol avec O_2^- (12° dans le cas du tyrosol) ce qui entraîne une fermeture de 5° de l'angle de liaison C5C4C3 (4° dans le cas du tyrosol).

Il est également remarqué que l'angle C8O8H8 se referme de 3° pour les deux molécules.

Tableau IV-5. Paramètres de liaison, calculés au niveau UPBE0/6-311G*

Liaison	Exp ^[7]	Hydroxytyrosol	Hydroxytyrosol avec O ₂ ⁻	Tyrosol	Tyrosol avec O ₂ ⁻
C1- C2	1,386	1,397	1,406	1,399	1,401
C 2 -C3	1,393	1,385	1,380	1,385	1,382
C3 - C4	1,389	1,397	1,439	1,393	1,427
C4 - C5	1,378	1,386	1,418	1,391	1,423
C5 - C6	1,390	1,390	1,392	1,391	1,386
C6 - C1	1,388	1,394	1,394	1,392	1,401
C1 - C7	1,513	1,505	1,503	1,505	1,504
C7 - C8	1,496	1,520	1,529	1,519	1,529
C8 - O8	1,438	1,413	1,408	1,414	1,409
O4 - H4	-	0,963	1,504	0,960	1,410
O3 - H3	-	0,959	0,960	-	
O8 - H8	-	0,959	0,968	0,959	0,967
C4 – O4		1.354	1,274	1.359	1,285
Angle					
C8 C7 C1	115,6	114,2	111,9	114,2	111,9
C1 C2 C3	121,7	120,9	122,2	121,6	122,4
C4 C5 C6	120,1	120,6	123,3	120,1	122,1
O4 C4 C5	117,4	120,5	123,2	117,7	121,2
C6 C1 C7	120,0	121,5	122,0	121,3	121,6
C5 C4 C3	119,5	118,9	113,9	119,4	115,2
C2 C1 C6	117,6	118,2	116,6	117,7	116,5
C4 C3 C2	119,6	120,5	122,4	119,9	121,7
O4 C4 C3	123,1	120,5	122,9	122,8	123,6
C1 C6 C5	121,5	121,0	121,6	121,4	116,5
O8 C8 C7	105,8	108,4	111,8	108,4	112,0
C4 O4 H4	-	107,9	127,0	109,3	121,7
C3 O3 H3	-	110,2	108,2	-	-
C8 O8 H8	-	108,8	105,7	108,9	105,7

3.2. Etude énergétique

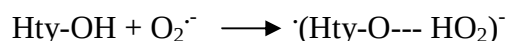
Les enthalpies calculées au niveau UPBE0/6-311G*, pour les deux molécules antioxydantes sont reportées dans le tableau IV-6.

Les données de ce tableau sont utilisées pour le calcul de l'enthalpie de dissociation de l'hydrogène (BDE) dans le cas de hydroxytyrosol et du tyrosol, suite à l'attaque du radical anion superoxyde.

Tableau IV-6. Enthalpie calculée dans le cas de l'attaque de l'hydroxytyrosol et du tyrosol par $O_2^{\cdot-}$ (en Hartree).

Hydroxytyrosol	Enthalpie	Tyrosol	Enthalpie
$H^{\cdot}(\text{Hty-O---HO}_2)^{\cdot-}$	-686.115150	$H^{\cdot}(\text{Ty-O---HO}_2)^{\cdot-}$	-610.966374
$H(\text{hty-OH})$	-535,852009	$H(\text{ty-OH})$	-460,692605
$H(O_2^{\cdot-})$	-149.744901	$H(O_2^{\cdot-})$	-149.744901

Pour l'hydroxytyrosol :



$$\text{BDE} = H^{\cdot}(\text{Hty-O---HO}_2)^{\cdot-} - H(\text{Hty-OH}) - H(O_2^{\cdot-}) = 325,20 \text{ Kcal/mol}$$

Pour le tyrosol :



$$\text{BDE} = H^{\cdot}(\text{Ty-O---HO}_2)^{\cdot-} - H(\text{Ty-OH}) - H(O_2^{\cdot-}) = 331,87 \text{ Kcal/mol}$$

La valeur du BDE de l'hydroxytyrosol est moins importante que celle du tyrosol. Ce résultat confirme bien que, dans le cas de l'hydroxytyrosol, l'hydrogène situé en position 4 est plus facile à arracher. De même que dans le mécanisme d'attaque par le radical hydroxyle, la présence d'un second hydroxyle, exalte l'activité antioxydante.

En conclusion, nous attestons que la nature du radical qui attaque joue un rôle important. Une attaque par le radical anion (ici le superoxyde) pourrait être différente de celle d'un radical non chargé (hydroxyle). Des changements considérables ont été générés lors du calcul des BDE quand l'attaque se fait par le radical $\cdot\text{OH}$.

3.3. Etude du mécanisme de piégeage du radical anion superoxyde

Dans cette partie, la nature du mécanisme de piégeage du radical anion superoxyde par le tyrosol et l'hydroxytyrosol, est à élucider. A cet effet, deux études supplémentaires sont réalisées : Il s'agit d'une première analyse de charges de Mulliken et d'une seconde analyse de l'orbitale moléculaire SOMO, occupée par l'unique électron célibataire du radical anion superoxyde.

3.3.1. Analyse de charges

Dans le tableau IV-7, nous avons reporté les charges de Mulliken des fragments Ar-O et HO₂ calculées pour l'hydroxytyrosol et pour le tyrosol. Les résultats obtenus montrent que la charge -1, initialement portée par le radical anion superoxyde, se retrouve actuellement répartie, en majorité, sur le fragment Ar-O après détachement de l'hydrogène, aussi bien de l'hydroxytyrosol que du tyrosol.

Tableau IV-7. Somme des charges de Mulliken pour les deux fragments Ar-O et HO₂

Somme des charges (ua)	Ar-O	HO ₂
Hydroxytyrosol	-0,850	-0,150
Tyrosol	-0,841	-0,159

3.3.2. Analyse de l'orbitale frontière SOMO

La figure IV-11 montre la répartition de la SOMO après réaction avec le radical anion superoxyde. Nous constatons que le radical anion superoxyde garde sa nature radicalaire aussi bien à l'issue de son attaque sur l'hydroxytyrosol qu'à celle du tyrosol.

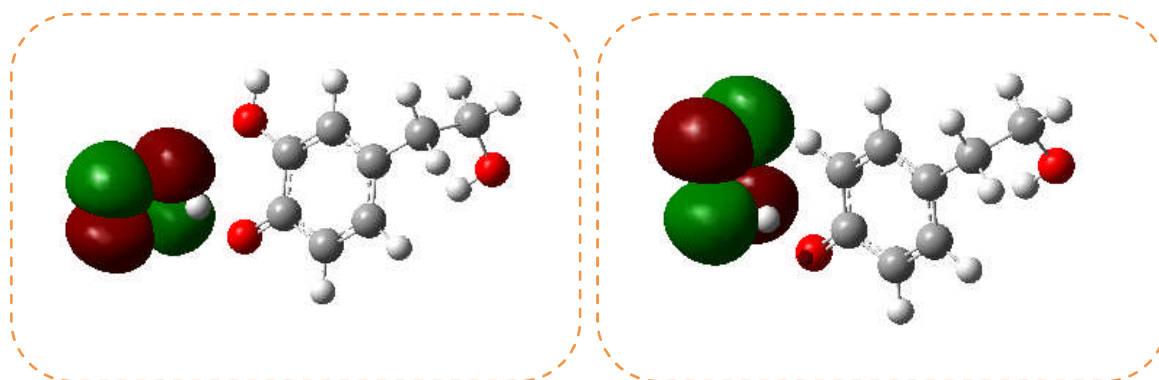
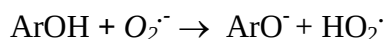


Figure IV-11. Répartition de la SOMO dans l'hydroxytyrosol et le tyrosol en présence de $O_2^{\cdot-}$, au niveau UPBE0/6-311G*

A partir de ces deux répartitions (charges de Mulliken et SOMO), nous pouvons conclure que dans les deux antioxydants et après abstraction de l'hydrogène par le radical anion superoxyde, les produits obtenus sont l'anion $Ar-O^{\cdot-}$ et le radical $^{\cdot}O_2H$. Ces résultats montrent que le mécanisme impliqué lors de l'interaction des deux antioxydants avec le radical anion superoxyde est un transfert de proton, contrairement à celui observé dans le cas de l'interaction avec le radical hydroxyle, et où un atome d'hydrogène a été transféré.

La réaction d'attaque avec le radical anion superoxyde est alors:



ArOH étant l'hydroxytyrosol ou le tyrosol.

4. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons mené une étude prédictive théorique du mécanisme d'activité antioxydante des deux molécules antioxydantes (Hydroxytyrosol et Tyrosol). Pour cela, nous avons pris en considération trois mécanismes potentiels. Le premier sert à calculer le BDE, le second est à deux paramètres (IP et PDE), tout comme le troisième (PA et ETE). Les résultats obtenus au niveau UPBE0/6-31+G*, montrent que le mécanisme le plus favorable est celui d'un transfert d'atome hydrogène (HAT), du fait qu'il met en jeu la plus basse énergie et que le site préférentiel d'attaque est l'hydrogène de l'hydroxyle du groupement O4H.

Ces études préliminaires nous ont donc permis d'étudier l'interaction de l'hydroxytyrosol et celle du tyrosol avec les espèces réactives radicalaires de l'oxygène ($\cdot\text{OH}$ et $\text{O}_2\cdot^-$) en considérant des approches du radical vers des sites d'attaque potentiellement intéressants. Les résultats générés ont montré que ce mécanisme de piégeage du radical change en fonction de la nature du radical. Il s'agissait donc d'un transfert de proton dans le cas du radical anion superoxyde et d'un transfert d'atome d'hydrogène dans le cas du radical hydroxyle.

Bibliographie

- [1] J. Cillard, P. Cillard , Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations, Oléagineux, *OLC.* **(2006)**13: 24-29.
- [2] J. W. Hilton, Ph.D, Les antioxydants rôles, types et nécessites dans les aliments pour animaux de compagnie, *Can Vet J* , **(1989)**30: 834-837.
- [3] M. Laguerre, L. J. López-Giraldo, J. Lecomte, M. Pina & P. Villeneuve, outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante, *OCL* **(2007)**14 :278-292.
- [4] G. Bartosz, Oxidative stress in plants, *ACTA Physiologiae Plantarum*, **(1997)**19:47-64.
- [5] G. C. Justino, A. J. S. C. Vieira, Antioxidant mechanisms of quercetin and myricetin in the gas phase and in solution – a comparison and validation of semi-empirical methods, *J Mol Model.* **(2009)**.
- [6] J.E. Bartmess, Thermodynamics of the electron and the proton, *The Journal of Physical Chemistry* **(1994)** 98:6420-6424.
- [7] P. Yu, C. Hu, E. J. Meehan, L. Chen, X-Ray Crystal structure and antioxidant activity of salidroside, a Phenylethanoid Glycoside, *Chemistry and Biodiversity* **(2007)** 4:508-513.
- [8] G. Papadopoulos, D. Boskou, Antioxidant Effect of Natural Phenols on Olive Oil, *JAACS*,**(1991)**68: 669-671.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif de ce travail est l'étude de l'activité antioxydante de composés phénoliques de l'huile d'olive tels que le tyrosol et l'hydroxytyrosol. L'étude a été réalisée au moyen des méthodes DFT/PBE0 avec une base étendue de fonctions (6-31G augmentée de fonctions diffuses et de fonctions de polarisation dont les paramètres ont été déterminés pour reproduire au mieux les polarisabilités électriques de molécules modèles) .

Une étude théorique, des propriétés structurales, spectroscopiques du tyrosol et de l'hydroxytyrosol, nous a permis de dégager la meilleure fonctionnelle à utiliser dans le cadre de la méthode DFT ainsi que la meilleure base de fonctions à utiliser dans une telle étude. Il en ressort que la fonctionnelle PBE0 est plus appropriée que la fonctionnelle B3LYP et la base 6-311G* est suffisante pour une estimation correcte des longueurs de liaison, des angles et des déplacements chimiques du carbone 13.

Après un choix justifié de la fonctionnelle et de la base de fonctions, nous nous sommes intéressées à l'étude de l'activité antioxydante de deux antioxydants de l'huile d'olive. Nos résultats confirment les études de la littérature faites sur les deux molécules et montrent que l'activité antioxydante de l'hydroxytyrosol est bien plus importante que celle du tyrosol. Nous concluons que pour l'activité antioxydante du tyrosol et de l'hydroxytyrosol, la méthode la plus appropriée serait la PBE0/6-31+G* sur une géométrie optimisée en PBE0/6-311G*.

Nous avons ensuite effectué une analyse théorique des mécanismes de deux réactions les plus importantes dans l'huile d'olive, à savoir: Le mécanisme de piégeage du radical hydroxyle, et du radical anion superoxyde, par l'antioxydant. Cette étude présente deux caractéristiques principales:

- Elle a été effectuée à un haut niveau de théorie DFT.
- Elle a été réalisée sur les deux systèmes de tyrosol et de l'hydroxytyrosol.

Les résultats que nous avons obtenus viennent compléter les données expérimentales et contribuent à une description cohérente et détaillée des processus d'oxydation.

Les réactions traitées dans cette dernière partie, sont complexes et délicates, à cause de la participation d'états électroniques peu stables. Cependant, la comparaison entre les paramètres physico-chimiques calculés ici et ceux déterminés expérimentalement (lorsqu'ils existent) montre un accord très satisfaisant. Cela constitue une preuve de l'efficacité des méthodes DFT utilisées, et de leur pouvoir de prédiction.

Néanmoins, beaucoup de choses restent à faire dans ce domaine. Nous envisageons donc de poursuivre ce travail en examinant de près les aspects suivants:

- L'évolution du pouvoir antioxydant en fonction du radical et de l'antioxydant.
- La détermination des mécanismes antioxydants, menés avec d'autres ROS: $\text{CH}_3\text{O}\cdot$, $\text{NO}\cdot$, $\text{HOO}\cdot$...
- La prise en compte du solvant.

Résumé

L'hydroxytyrosol et le tyrosol (**Figure 1**) sont des antioxydants phénoliques existant dans une variété de sources naturelles. La principale source dans l'alimentation humaine est l'huile d'olive. Ces deux molécules retiennent particulièrement l'attention car elles sont largement utilisées dans le domaine pharmaceutique (ex: les traitements cardiovasculaire et le traitement contre le vieillissement) du fait qu'elles possèdent des propriétés antioxydantes.

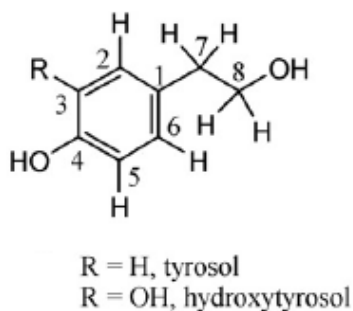


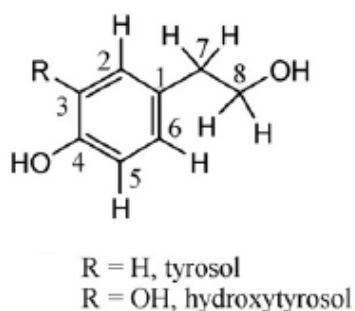
Figure 1: Structure de l'hydroxytyrosol et du tyrosol

Les propriétés structurales, spectroscopiques et l'activité antioxydante du tyrosol et de l'hydroxytyrosol sont étudiées dans ce travail; ensuite nous avons étudié la réaction d'oxydation des antioxydants par le radical superoxyde et par le radical hydroxyle.

Mots clé : tyrosol, hydroxytyrosol, activité antioxydante, DFT.

Abstract

Hydroxytyrosol and tyrosol (**Scheme 1**) are phenolic antioxidants that exist in a variety of natural sources. The main source in human diet is olive oil. These two molecules are particularly interesting, and they are widely used in the pharmaceutical field (e.g. the cardiovascular treatment and treatment against aging) because they are good scavengers of reactive Oxygen Species (ROS) like hydroxyl ($\cdot\text{OH}$) and superoxide ($\cdot\text{O}_2^-$) radicals.



Scheme 1: Hydroxytyrosol and Tyrosol structures

The structural, spectroscopic and antioxidant activity of tyrosol and hydroxytyrosol are studied in this work, and then we studied the oxidation reaction with the superoxide and the hydroxyl radicals.

Keywords: tyrosol, hydroxytyrosol, antioxidant activity, DFT.